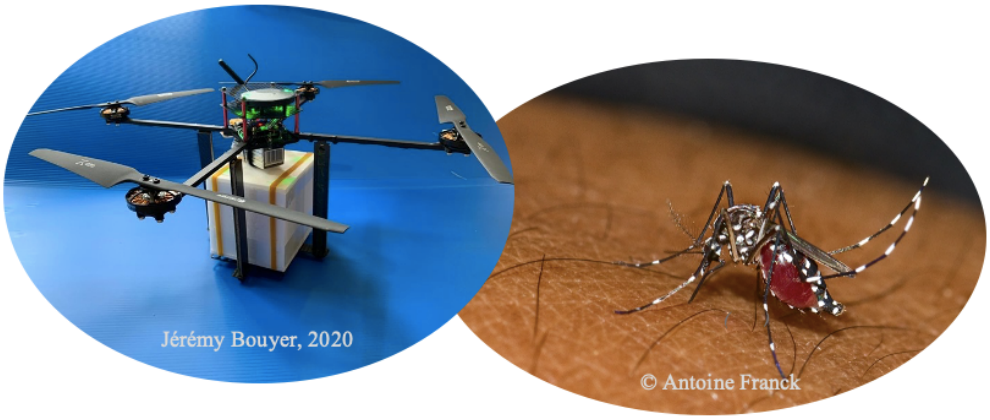
Rapport de stage

Evaluation sur le terrain 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

Version corrigée après soutenance



« Le présent rapport constitue un exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager la responsabilité de l'Entreprise ou du Laboratoire d'accueil »

Encadrants :
Jérémy BOUYER, UMR ASTRE, Cirad La Réunion
Thierry BALDET, UMR ASTRE, Cirad La Réunion

Présenté par
Adeline MOYNIER
Master 2 Biodiversité des Ecosystèmes Tropicaux Terrestres
Université de La Réunion

Stage du 4 janvier 2021 au 30 juin 2021
sous la direction du
Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomiqu
pour le Développement (CIRAD Réunion)
UMR Animal – Santé – Territoires – Risques – Ecosystèmes (ASTRE)
Accueillie par le Pole de Protection des Plantes
Financé par l'ERC REVOLINC

Année 2020-2021

Remerciements

Je tenais à remercier tout d'abord, l'équipe du projet REVOLINC sans qui ce stage n'aurait pas été possible. Merci aux assistants ingénieurs pour l'aide sur le terrain et au laboratoire. Un remerciement particulier à mes deux tuteurs de stage : Thierry BALDET pour son écoute attentive, sa réactivité et la correction de mon rapport. Mais aussi Jérémy BOUYER qui est toujours resté optimiste et qui m'a accordé beaucoup de son temps.

Ensuite, je voudrais remercier deux personnes sans qui le stage n'aurait pas eu la même saveur, deux personnes qui m'ont soutenu dans mes moments de doute, deux personnes qui ont apporté de la joie de vivre dans une ambiance parfois pesante : Chloé CORBANINI et Raphaëlle HOARAU, mes deux collègues stagiaires. Merci pour l'aide sur le terrain, les pauses cafés , les pauses méridiennes ! Merci pour tout.

Un clin d'œil à Jessica WIN-CHIN, ma collègue de bureau, toujours fidèle au poste et toujours prête à écouter nos histoires.

Egalement, j'aimerais remercier Manon MORIN et Océane DIJOUX, mes deux soutiens dans le master comme durant le stage. Merci également au reste de la classe de MASTER 2 BEST T.

Je tenais à remercier particulièrement l'équipe pédagogique du MASTER 2 BEST-T et surtout Pascale BESSE pour avoir été compréhensive sur les difficultés que je rencontrais durant mon stage.

Enfin, je remercie ma sœur Aurore MOYNIER , toujours prête à me relire et à me soutenir.

Table des matières

Introduction ***3***

Moustiques vecteurs d'arbovirus **3**

Le genre Aedes à La Réunion **3**

Aedes aegypti 4

Technique de l'Insecte Stérile **5**

Technique de l'Insecte Stérile contre les moustiques du genre *Aedes* **5**

TIS renforcée et lâchers aériens **6**

Contexte des essais terrain à La Réunion **7**

Problématiques et objectifs **9**

Matériel et méthodes ***9***

Matériel **9**

Lot de moustiques 9

Tests qualité au laboratoire **10**

Capacité de vol 10

Survie 10

Dommages et contamination par les femelles 11

Marquage - lâcher - recapture sur le terrain **11**

Traitement des mâles stériles par le pyriproxifène 11

Lâchers des mâles stériles 12

Recapture des moustiques mâles marqués 14

Identification du contenu des filets **15**

Suivi de la fécondité **15**

Critères de jugement de l'efficacité des lâchers **15**

Mesure de la compétitivité 15

Mesure de la dispersion 16

Mesure de la longévité 16

Estimation du nombre de mâles sauvages 17

Statistiques **17**

Résultats ***18***

Tests qualité au laboratoire **18**

Survie 18

Contamination par les femelles 18

Capacité de vol 18

Dommages 18

Marquage-lâcher-recapture **18**

Paramètres de lâcher par drone 19

Recapture et survie 19

Estimation du nombre de mâles sauvages 20

Dispersion 20

Comparabilité des sites d'étude 20

Compétitivité 21

Discussion *22*

Tests qualité au laboratoire **22**

Survie en laboratoire 22

Contamination par les femelles 22

Flight test et dommages 22

Paramètres de lâcher **23**

Recapture et survie **23**

Estimation de la taille de la population **24**

Dispersion attendue **25**

Comparabilité des sites d'étude **25**

Compétitivité **26**

Conclusion *27*

Introduction

Moustiques vecteurs d'arbovirus

Les maladies à transmission vectorielle telles que la dengue, le Zika, le paludisme ou encore la fièvre jaune représentent 17% de la morbidité totale des maladies infectieuses humaines. Les maladies à arbovirus ou arboviroses transmises par les moustiques du genre *Aedes* telles que dengue, chikungunya, Zika ont connu une croissance spectaculaire ces dernières décennies avec la moitié de la population humaine qui est désormais susceptible d'être infectée par ces virus (Brady et al., 2012). De plus, 99% de ces épidémies sont causées par seulement deux espèces du genre *Aedes* : *Aedes albopictus* Skuse, 1894 et *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (World Health Organization, 2017) La dengue, transmise par les moustiques du genre *Aedes*, est la maladie à transmission vectorielle qui connaît la croissance la plus rapide au monde, avec une multiplication par 30 de son incidence au cours des 50 dernières années. D'après l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), le moustique *Aedes aegypti* est le principal vecteur de la dengue. Toutefois, *Aedes albopictus* peut être localement le vecteur principal de la dengue comme c'est le cas à La Réunion (Delatte et al., 2008). Le virus se transmet à l'homme par la piqûre des femelles infectées, lesquelles acquièrent le virus en se nourrissant du sang d'une personne infectée avec du virus circulant dans le sang périphérique. Il existe quatre sérotypes de la dengue. Souvent, en zone tropicale, plusieurs sérotypes circulent dans la même région, exacerbant la situation notamment en terme de sévérité des infections. (Dhanoa et al., 2016).

Le genre Aedes à La Réunion

A La Réunion, les deux espèces vectrices de la dengue du genre *Aedes* sont présentes, *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* (Boussès et al., 2013; Salvan and Mouchet, 1994). Les populations *d'Ae. albopictus* sont structurées par habitat (Delatte et al., 2013). En effet *Ae. albopictus* est préférentiellement présent dans les zones urbaines où des gites larvaires artificiels (récipients, pots de fleur, …) sont disponibles ainsi que les humains sur lesquelles les femelles se gorgent préférentiellement. Les zones rurales ou naturelles sont aussi colonisés du fait que l'espèce est capable de se développer dans des gites larvaires naturels (creux d'arbres, creux de rochers, bambous coupés, …). Il est donc retrouvé dans toute l'île jusqu'à 1200 m d'altitude. *Ae. albopictus* concurrence *Ae. aegypti (Bagny Beilhe et al., 2013)*, espèce qui est elle limité à quelques ravines dans l'ouest et le sud de l'île (figure 1). Des facteurs écologiques tels que les interactions compétitives pourraient expliquer la régression d'*Ae. aegypti* au détriment d'*Ae. albopictus* observée dès les années 1950 et les campagnes d'élimination des Anophèles vecteur du paludisme utilisant du DDT en aspersion intradomiciliaire de contrôle des vecteurs au cours de ces années pourraient avoir accéléré ce processus (Bagny et al., 2009).

Aedes aegypti et *Ae. albopictus* sont reconnaissables par les rayures blanches sur leurs pattes. Leur thorax permet de différencier les deux espèces. *Aedes aegypti* a deux minces lignes médianes

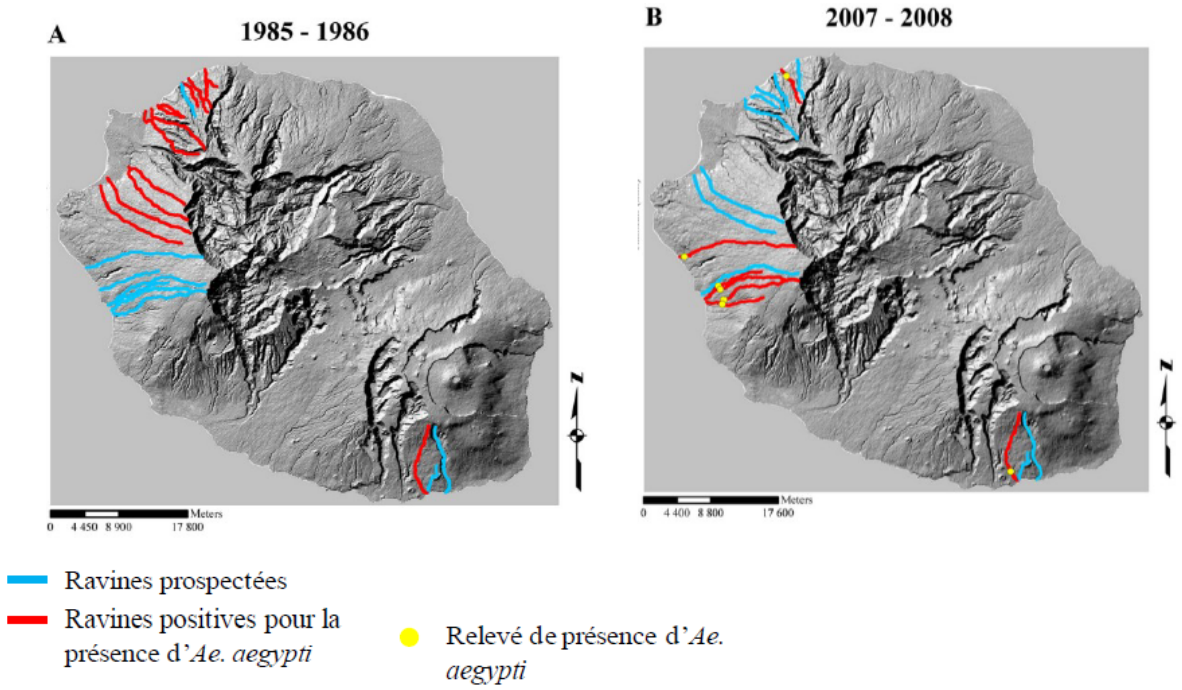


Fig. 1 Carte de distribution des ravines prospectées pour la présence d'Aedes aegypti à La Réunion en 1985-1986 (A), et en 2007-2008 (B) (Bagny, 2009). La zone entourée en vert correspondant à la zone sélectionnée pour l'essai de lâcher de moustiques mâles stériles, plus détaillée dans la figure 5.

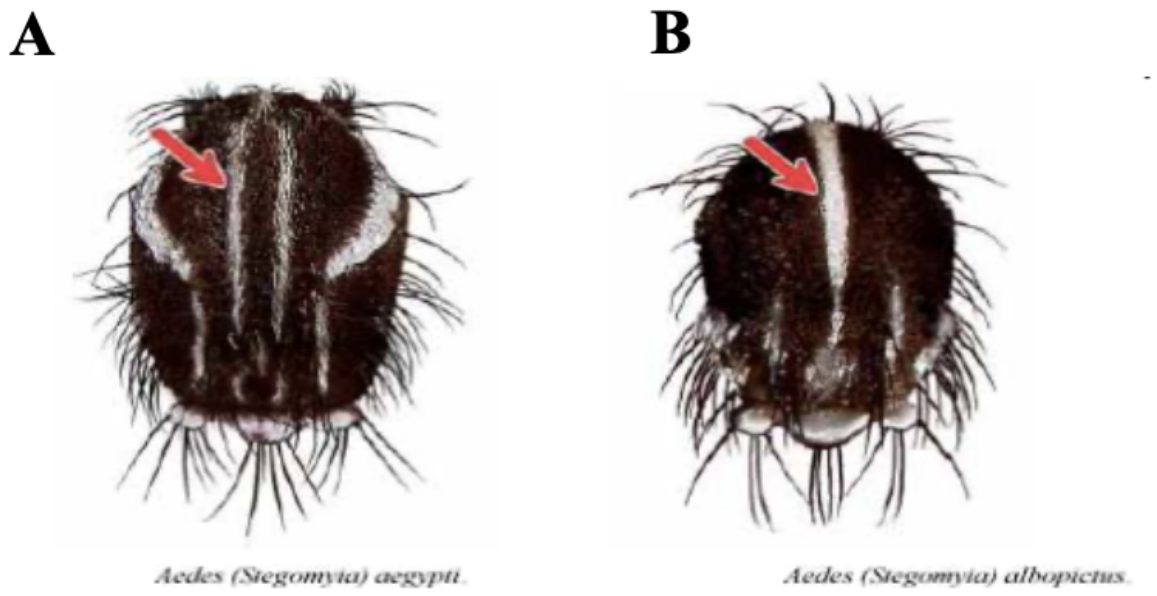


Fig. 2 Critère de détermination à l'âge adulte pour les espèces du genre Aedes. (A) Le thorax de Aedes aegypti est orné de deux minces lignes argentées médianes et deux larges lignes latérales en croissant sur la moitié supérieure du thorax. (B) Le thorax de Aedes albopictus est orné d'une ligne argentée médiane sur la moitié antérieure du thorax (Dehecq, 2014).

d'écailles argentées et deux larges lignes latérales en croissant sur la moitié latérale de la face dorsale du thorax (figure 2A). *Aedes albopictus* a lui une ligne médiane d'écailles argentées sur son thorax (figure 2B). (Dehecq, 2014). *Aedes aegypti* a également une tache blanche sur son clypeus (figure 3A) alors que *Ae. albopictus* n'en a pas (figure 3B). Il est également possible de différencier les deux espèces au stade larvaire L3 ou L4 sous une loupe binoculaire. Le genre *Aedes* se différencie des autres genres par la présence marquée d'un siphon respiratoire et il ne présente qu'une seule paire de touffes de soies sur le siphon respiratoire. *Aedes aegypti* se reconnait au stade larvaire L3 ou L4 grâce aux deux paires de crochets présentes sur son thorax contrairement à *Ae. albopictus* qui n'en présente pas. Une autre caractéristique qui permet de différencier les deux espèces du genre *Aedes* sont les écailles du peigne du segment VIII. Les écailles des dents du segment VIII sont formées de dents multiples pour *Ae. aegypti* (figure 4A) et formées de dents simples (spiniformes) pour *Ae. albopictus* (figure 4B). Le sexe peut également être différencié au stade adulte. Les mâles se différencient des femelles grâce à leurs antennes plumeuses alors que les femelles ont des antennes glabres. Les mâles ont leurs palpes aussi longs que leur trompe alors que chez la femelle, les palpes sont plus courts que la trompe (Dehecq, 2014).

Aedes aegypti

Aedes aegypti est une espèce tropicale et subtropicale retrouvée à travers le monde (Powell and Tabachnick, 2013). Ancestralement, *Ae. aegypti* est originaire d'Afrique, où l'on trouve encore des populations dans les forêts avec des femelles qui se reproduisent dans des gites larvaires naturels et se nourrissent du sang de mammifères non humains (Lounibos, 1981; McBride et al., 2014). Au fur et à mesure que l'Afrique s'est urbanisée, *Ae. aegypti* a évolué et s'est associé aux habitats humains. Les femelles ont commencé à pondre dans des gites larvaires artificiels et ont commencé à piquer les humains. Cette forme associée à l'Homme a quitté l'Afrique pour coloniser le reste du monde (Powell and Tabachnick, 2013). Ces deux formes, l'une sylvatique africaine et l'autre domestique pantropicale ont reçu des noms sous-spécifiques : *Aedes aegypti formosus* pour la forme sylvatique et *Aedes aegypti aegypti* pour la forme domestique (Soghigian et al., 2020). Malgré les efforts de prospection à La Réunion, *Ae. aegypti* n'a jamais été retrouvé dans des habitats larvaires urbains. Ce fait est plutôt surprenant car, à La Réunion, *Aedes aegypti aegypti* la forme domestique, a été identifiée sur les caractères morphologiques, alors qu'elle présente les caractères écologiques de la sous-espèce *formosus* (Bagny Beilhe et al., 2013). La population de La Réunion semble avoir gardé des caractéristiques de la forme domestique puisqu'elle pique toujours les humains et est toujours un vecteur compétent de la dengue (Failloux et al., 2002). On peut supposer que l'espèce présente à La Réunion serait une forme ancestrale atypique (Soghigian et al., 2020).

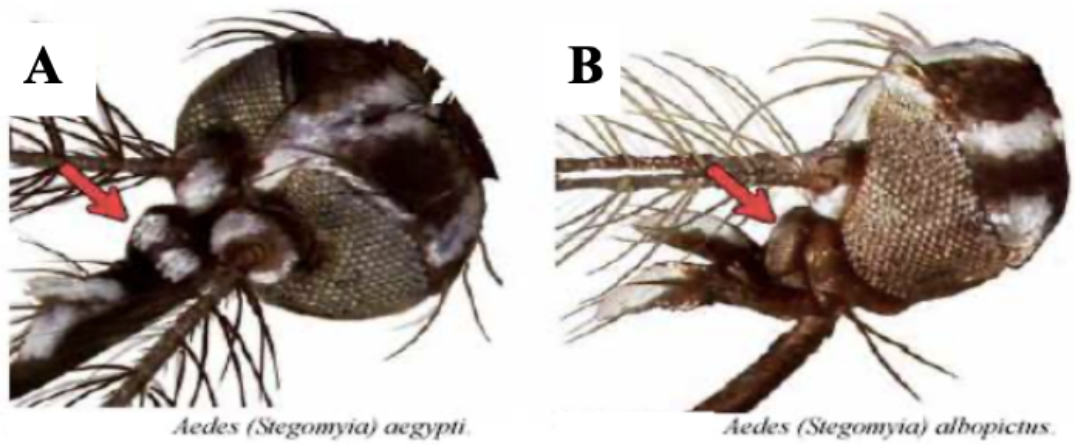


Fig. 3 Critère de détermination chez les adultes du genre Aedes. (A) Clypeus tacheté de blanc pour Aedes aegypti. (B) Clypeus noir uni chez Aedes albopictus (Dehecq, 2014).

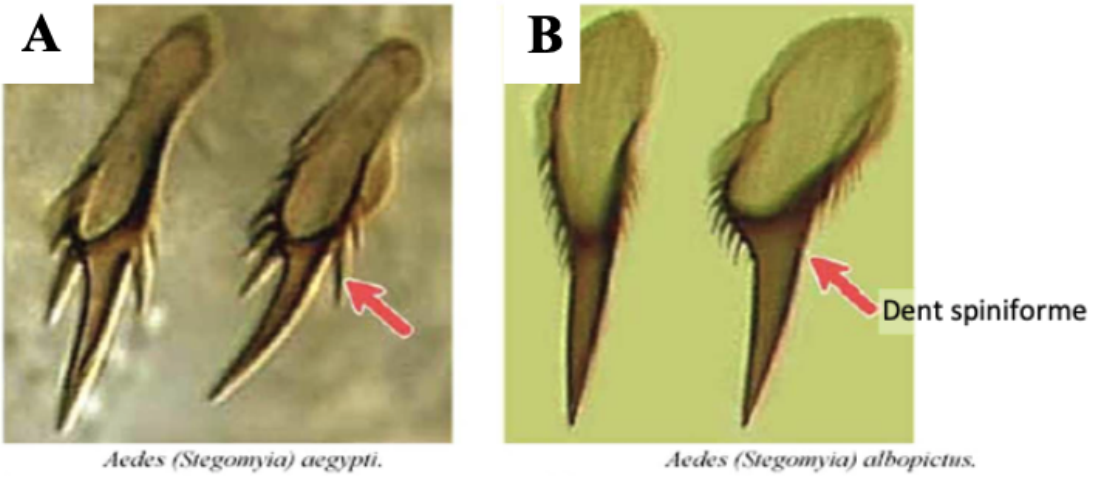


Fig. 4 Ecailles du peigne du segment VIII permettant la différenciation entre Aedes aegypti et Aedes albopictus au stade larvaire L3 ou L4. (A) Les écailles du peigne du segment VIII chez Aedes aegypti présentent de fortes dentifications de chaque côté de la dent principale. (B) Les écailles du peigne du segment VIII sont formées de dents simples (spiniformes). (Dehecq, 2014)

Technique de l'Insecte Stérile

La lutte anti-vectorielle (LAV) contre les *Aedes* vecteurs de la dengue consiste essentiellement en des pulvérisation d'aldulticide (deltaméthrine) et la destruction des gîtes larvaires ou leur traitement par un bio-larvicide (Bti) (Dehecq et al., 2011). Cependant, l'utilisation d'insecticides chimiques est à long terme peu efficace. En effet, les vecteurs ont tendance à développer rapidement des résistances aux insecticides utilisés (Cui et al., 2006; Tantely et al., 2010; Vontas et al., 2012). L'autre inconvénient à la pulvérisation d'insecticide est la non-spécificité de ces traitements qui pose également des problèmes pour la faune non cible et l'environnement (Couteyen, 2008). La Technique de l'Insecte Stérile est alors intéressante pour pallier aux deux principaux problèmes des outils actuels de lutte antivectorielle que sont la résistance aux insecticides et l'impact sur la faune non cible (Boyer, 2012).

La Technique de l'Insecte Stérile (TIS) consiste à stériliser des mâles par irradiation puis à les relâcher massivement au contact d'une population sauvage sur le terrain. Une fois lâchés dans la nature, les mâles stériles entreront en compétition avec les mâles sauvages pour l'accouplement avec des femelles sauvages. Après accouplement avec un mâle stérile, les femelles sauvages pondront des œufs non viables permettant ainsi la diminution de la population sauvage (Hendrichs and Robinson, 2009). La TIS a déjà été utilisée avec succès pour d'autres insectes d'intérêt économique vétérinaire ou agricole. Par exemple, cette technique a permis d'éliminer la Lucilie bouchère, *Cochliomyia hominivorax,* mouche des myiases du bétail, du Nord et du Centre de l'Amérique (Wyss, 2006). Elle est également utilisée avec succès pour lutter contre le Carpocapse des pommes et des poires, *Cydia pomonella,* depuis 25 ans au Canada (Thistlewood and Judd, 2019).

Technique de l'Insecte Stérile contre les moustiques du genre *Aedes*

La TIS appliquée aux moustiques s'est rapidement développée ces dernières années grâce aux avancées majeures dans plusieurs domaines tels que le sexage génétique (Lutrat et al., 2019), la séparation morphologique des sexes (Bellini et al., 2018), l'élevage en masse (Nicole Jean Culbert et al., 2018; Mamai et al., 2020), la manipulation (Culbert et al., 2019), la radiation (Andreasen and Curtis, 2005; Du et al., 2019) et les technologies de lâcher (Bouyer et al., 2020; Mubarqui et al., 2014).

La TIS a déjà été utilisée contre les moustiques, notamment pour lutter contre *Ae. albopictus* en Italie, cinq essais ont été réalisés entre 2005 et 2009 dans trois petites villes du Nord du pays. Dans ces essais, les mâles ont été lâchés au stade de pupe et ont permis une diminution de la fertilité des femelles sur le terrain (Bellini et al., 2020) Au Brésil, la TIS a également été utilisée pour lutter contre *Ae. aegypti* et l'étude a montré que les moustiques mâles stériles pouvaient être compétitifs et induire une stérilité chez les populations de femelles sauvages (Bouyer et al., 2020). Les moustiques mâles

stériles peuvent être relâchés à l'état de pupe ou à l'état d'adulte. Dans le premier cas, les moustiques mâles sont stérilisés à l'état de pupe à l'aide de rayon gamma puis les pupes irradiées sont disposées une à deux heures après l'irradiation dans des conteneurs en plastique dans des zones à l'ombre et des zones vertes pour les lâchers. Les adultes mâles stériles émergeront deux à trois jours plus tard (Bellini et al., 2013). Dans d'autres études, les moustiques mâles stériles sont relâchés adultes mais tout de même irradiés au stade de pupe, notamment lors de lâcher aérien où il ne serait pas possible de faire autrement (Bouyer et al., 2020). Les moustiques élevés à l'AIEA sont maintenant irradiés au stade adulte, compactés dans les boîtes pour les envois en conditions réfrigérées, afin de réduire la mortalité (Jérémy Bouyer, 2021, communication personnelle). Les lâchers de moustiques au stade de pupe se font de moins en moins car les moustiques mâles adultes ont une meilleure survie, une meilleure dispersion et une meilleure compétitivité lorsqu'ils sont nourrit avec une solution sucrée avant le lâcher (Puggioli et al., 2013). Lorsque les moustiques sont lâchés au stade de pupe, il faudrait leur assurer une source de solution sucrée à proximité de leur station d'émergence pour leur assurer les mêmes qualités (Bellini et al., 2014). L'avantage de lâcher des individus adultes est donc de pouvoir les nourrir au préalable en laboratoire pour leur assurer une meilleure qualité mais aussi de pouvoir réaliser des lâchers aériens par drone.

TIS renforcée et lâchers aériens

Le principal frein à la TIS contre les moustiques *Aedes* à l'heure actuelle, outre les capacités de production de masse de mâles compétitifs lâchés sur le terrain, réside dans les difficultés à réduire préalablement les densités de populations sauvages. Pourtant, il est important de le faire en préalable aux lâchers en raison de l'abondance des adultes et de la large distribution des habitats larvaires à la fois de petite taille et omniprésents (Devine et al., 2009). Cependant, la pulvérisation d'insecticides ou l'utilisation d'agents de lutte biologique à grande échelle n'est pas possible. Une approche d'auto-dissémination a été proposée pour réduire préalablement les populations *d'Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* (Bonizzoni et al., 2013; Caputo et al., 2012; Devine et al., 2009). Pour cette méthode, des lieux artificiels de repos appelés station de diffusion sont contaminés avec de la poudre de pyriproxifène, un larvicide analogue d'une hormone juvénile inhibant la métamorphose de la pupe à l'état adulte (Hustedt et al., 2020), de sorte que lorsque les femelles adultes ressortent de cette station, elles puissent contaminer les gites larvaires avec le pyriproxyfène. L'effet de cette approche est favorisé par le comportement de pontes des femelles d'*Aedes* qui disséminent leurs œufs dans de nombreux gîtes larvaires au cours de la même ponte (Reinbold-Wasson and Reiskind, 2021). Cependant, l'approche d'autodissémination est limitée par la faible attractivité des stations de diffusion et une faible plage d'action car la dispersion active des moustiques du genre *Aedes* est relativement faible, notamment en milieu urbain (Lacroix et al., 2009; Reiter, 2007). La TIS dite renforcée (Bouyer and Lefrançois, 2014) est donc une combinaison de ces deux approches (figure 5).

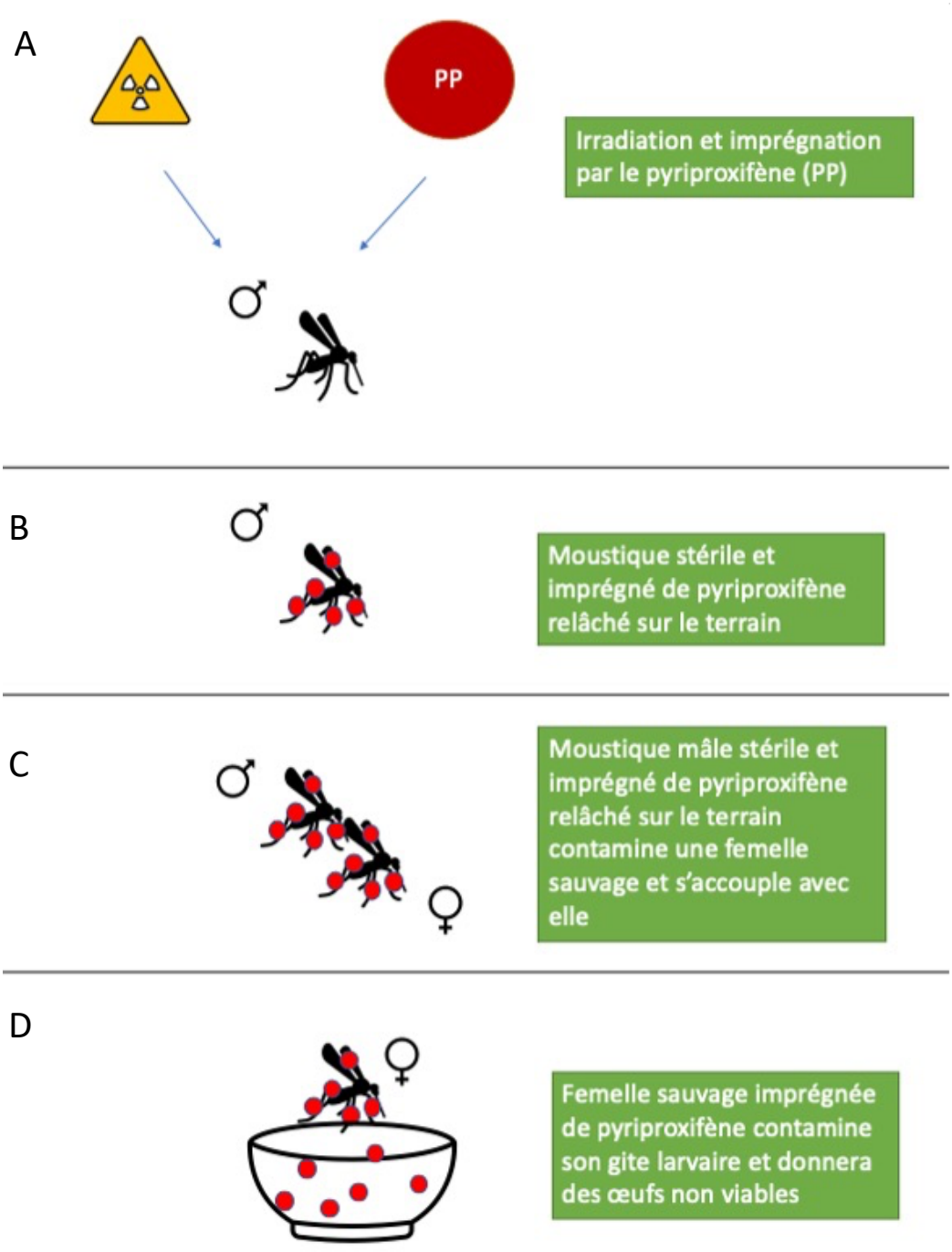


Fig. 5 Schéma expliquant la TIS renforcée. (A) Le moustique mâle est d'abord irradié avec des rayons gamma. Il est ensuite revouvert d'une formulation de pyriproxifène et (B) lâché sur le terrain. (C) Lorsque le moustique mâle stérile s'accouple avec une femelle sauvage, elle ne produit pas de descendance. (D) En cas d'accouplement infructueux, le mâle aura au moins déposé le pyriproxifène sur la femelle sauvage. Enfin, la femelle contamine les gites larvaires.

Les mâles stériles irradiés sont recouverts de pyriproxifène puis lâchés sur le terrain au contact de la population sauvage. Les femelles sont ensuite contaminées par le pyriproxifène lors de l'accouplement avec un mâle contaminé. Cependant, même lors d'un accouplement infructueux, la femelle est quand même contaminée par simple contact avec le mâle et ira ainsi contaminer des gîtes larvaires par le pyriproxifène lors de ses pontes successives, permettant d'atteindre les larves des femelles, qui n'auront pas rencontré de mâles stériles. L'auto-dissémination de pyriproxyfène par les mâles stériles irradiés principe de la TIS renforcée apporte un réel « coup de pouce » à la TIS classique (Pleydell and Bouyer, 2019).

Cette approche de TIS renforcée s'inscrit dans le projet ERC REVOLINC (https://revolinc.cirad.fr/). Ce projet cible trois modèles biologiques qui correspondent aux moustiques (*Ae. albopictus* et *Ae. aegypti*) dans le domaine médical, à la mouche tsétsé (*Glossina palpalis gambiensis*) dans le domaine vétérinaire et à la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata*) dans le domaine agricole. Dans le cadre du projet Revolinc, des essais préliminaires réalisés au laboratoire à Montpellier ont permis de mettre au point des formulations adaptées à base de pyriproxyfène qui ont été testées en 2020 en essais confinés contre les *Aedes* à La Réunion et en Espagne avant de passer à des essais pilotes sur le terrain.

L'autre innovation récente de la TIS est le lâcher aérien par drone d'insectes mâles stériles (figure 6). Des essais de lâchers aériens par drone ont déjà été réalisés dans le cadre de la TIS contre les mouches des fruits (Mubarqui et al., 2014) mais aussi contre les moustiques (*Ae. aegypti*) en zone périphérique d'une ville du Nordeste au Brésil (Bouyer et al., 2020).

Le projet POC ERC Mosquarel relié au projet Revolinc vise à évaluer les lâchers aériens de moustiques mâles stériles par drone (https://www.cirad.fr/espace-presse/communiques-de-presse/2020/moustiques-steriles-lacher-aerien-drone). Le but de ce projet est de commercialiser des drones capables de lâcher des moustiques mâles stériles par voie aérienne dans le respect de la réglementation en vigueur. L'avantage des drones est de réduire les coûts humains et économiques que représentent les lâchers à la main réalisés au sol. A La Réunion, les essais de lâchers par drone du projet Mosquarel seront réalisés dans le cadre des essais pilotes de TIS renforcée du projet Revolinc.

Contexte des essais terrain à La Réunion

La Réunion connait une épidémie de dengue depuis 2017. En 2020, plus de 16 000 cas autochtones ont été confirmés à La Réunion. Ces dernières années, trois des quatre sérotypes ont déjà été présents simultanément à La Réunion, ce qui montre une endémisation de la dengue et un risque accru de sévérité cliniques chez les cas infectés (Dhanoa et al., 2016; Vincent et al., 2019). Le principal moustique vecteur de la dengue à La Réunion est *Ae. albopictus*, qui est omniprésent à jusqu'à 1200

Fig. 6 Drone et système de lâcher de moustiques mâles stériles utilisés au Brésil pesant 12 kg. Ce drone est capable de lâcher 50 000 moustiques lors d'un vol. (Bouyer et al., 2020).

Table 1 : Tableau résumant la date d'envoi, la date d'arrivée et le nombre de moustiques envoyés des différents lots. Seuls les données des tests qualité ont été utilisées pour les lots 7 et 8.

Lot	**Date d'envoi**	**Date d'arrivée**	**Nombre de moustiques envoyés**
1	08/03/2021	12/03/2021	12000
2	17/03/2021	22/03/2021	14400
3	25/03/2021	02/04/2021	7200
4	29/03/2021	06/04/2021	7200
5	26/04/2021	28/04/2021	29000
6	10/05/2021	14/05/2021	28000
7	25/05/2021	31/05/2021	11000
8	31/05/2021	04/06/2021	11000

m d'altitude. *Ae. aegypti*, une autre espèce d'*Aedes* est également présente à La Réunion historiquement vectrice de la fièvre jaune et de la dengue mais est aujourd'hui isolée dans les ravines du Sud et de l'Ouest de l'île. Dans ces ravines, *Ae. aegypti* entre en compétition avec *Ae. albopictus* qui a une distribution plus large (Bagny Beilhe et al., 2013).

Suite à la demande d'autorisation de l'IRD d'effectuer un essai TIS contre le vecteur de la dengue à La Réunion*, Ae. albopictus*, il a été souligné par plusieurs groupes d'experts qu'en cas de succès, *Ae. aegypti*, meilleur vecteur de la dengue, pourrait recoloniser la niche écologique laissée vide par *Ae. albopictus* i.e. les zones urbaines littorales de l'île et maintenir voire amplifier le risque vectoriel lié aux arboviroses (Rapport des comités d'experts AFB et HCSP ; (Agence Française pour la Biodiversité, 2021; Haut Conseil de la santé publique, 2018). Il a donc été décidé dans le cadre du projet ERC Revolinc en concertation avec l'IRD et l'ARS Réunion, de cibler les populations résiduelles *d'Ae. aegypti*, vecteur historique de la dengue, pour les essais pilotes de la TIS renforcée à La Réunion. Ces essais pilotes de terrain ont commencé en mars 2021 au niveau de deux sites d'étude sur le littoral de la commune de St Joseph où ces populations sont relativement isolées. Aussi, un des objectifs du projet Revolinc est de démontrer la possibilité d'élimination par l'approche TIS renforcée d'une espèce vectrice et ceci n'est réalisable dans le cadre d'un essai pilote que lorsque les populations de cette dernière sont isolées, ce qui est le cas d'*Ae. aegypti* à La Réunion. Les deux sites d'étude de Saint Joseph pour réaliser les essais pilotes du projet Revolinc servent également de sites expérimentaux pour évaluer les essais de lâchers par drone prévus dans le cadre du projet Mosquarel. C'est la première fois que le concept de la TIS renforcée et l'utilisation de drones pour les lâchers de moustiques mâles est testé en zone urbaine. L'équipe en charge du projet est basée au Pole de Protection des Plantes (3P) du Cirad à St Pierre site d'accueil pour mon stage de recherche. 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 et accord de subvention n° 899888 - MOSQUAREL), dans le cadre du réseau One Health Indian Ocean (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.

Les essais pilotes du projet REVOLINC comprennent deux phases conduites de mars à août 2021 :

- Une phase de marquage-lâcher-recapture de mi mars à fin mai, pendant laquelle 10 000 mâles stériles par semaine ont été lâchés afin d'estimer leur survie, leur compétitivité sexuelle, leur dispersion avec les mâles sauvages, ainsi que deux techniques de lâcher, au sol ou par drone.
- Une phase de suppression, utilisant la meilleure technique et les paramètres de lâcher éprouvés au cours de la phase précédente, aura lieu de juin à août avec des lâchers de 50 000 mâles stériles par semaine.

Problématiques et objectifs

Les arboviroses causées par les *Aedes* en particulier la dengue sont actuellement en train d'exploser dans le monde y compris à La Réunion (Vincent et al., 2019; World Health Organization, 2017). Cependant, la lutte antivectorielle actuelle a atteint ses limites aussi bien au niveau de la perte d'efficacité suite aux résistances aux insecticides (Tantely et al., 2010; Vontas et al., 2012) qui sont sélectionnées par les traitements mais aussi du point de vue de l'impact environnemental (Couteyen, 2008). En effet, les insecticides utilisés (pyréthrinoïdes) restent à ce jour dangereux pour la faune non cible telle que les autres insectes, les reptiles ou les poissons (Adamou et al., 2010). De nouveaux outils de lutte anti vectorielle doivent donc être développés.

L'objectif général de mon stage était de préciser les conditions d'application de la TIS renforcée à travers des lâchers aériens par drone, en particulier la densité des lâchers, la fréquence des lâchers et la distance entre lâchers nécessaires pour appliquer cette méthode. Pour cela, il est nécessaire d'évaluer respectivement la compétitivité, la longévité et la dispersion des mâles *Ae. aegypti* lâchés par drone sur le terrain et de comparer ces paramètres à un lâcher au sol à travers un marquage-lâcher-recapture. Cependant, la situation sanitaire à La Réunion n'a pas permis de recevoir suffisamment de lots de moustiques et à intervalles réguliers pour obtenir des résultats probants sur ces trois paramètres et n'a pas permis de comparer les lâchers par drone et au sol. La compétitivité et la longévité ont pu être évaluées mais pas la dispersion. D'autres objectifs étaient d'évaluer la qualité des moustiques après le transport aérien et surtout avant les lâchers sur le terrain réunionnais à travers des tests qualité évaluant la survie en laboratoire, la contamination par les femelles du lot, les dommages et le test de capacité de vol.

Matériel et méthodes

Matériel

Lot de moustiques

Les moustiques mâles stériles d'*Aedes aegypti* sont produits à l'AIEA (Agence Internationale de l'Energie Atomique) à Vienne en Autriche. Ces moustiques sont produits à partir de la souche réunionnaise entretenue depuis 2020 dans l'insectarium sécurisé de l'AIEA. Ils sont ensuite transportés par avion via FedEx pour une expédition rapide. Les moustiques mâles stériles sont envoyés dans un système de transport sécurisé avec triple emballage et refroidis à 10°C pour qu'ils dorment pendant le trajet selon des procédures éprouvées par l'AIEA.

Les envois ont commencé le 08 mars 2021 et était censé être renouvelé toutes les semaines pendant six semaines pour la phase de marquage-lâcher-recapture (Table 1). Le dernier envoi aurait donc dû être le 12 avril 2021. Le premier colis de mâles stériles a bien été envoyé de Vienne le 8 mars et est arrivé au 3P du Cirad à St Pierre, La Réunion le 12 mars. Le second colis a été envoyé le 17 mars et

a été reçu le 22 mars. Le troisième colis a été envoyé de Vienne le 25 mars et a été reçu le 2 avril. Le quatrième colis le 29 mars et a été reçu à La Réunion le 6 avril 2021. Le cinquième envoi a été fait le 26 avril 2021 et est arrivé le 28 avril soit à peine deux jours après son départ de Vienne. Enfin, le sixième envoi a été fait le 10 mai et a été réceptionné le 14 mai. Les envois ont été plus espacés que prévu afin de régler les problèmes de délai de livraison dus aux tensions mondiales sur le fret aérien liées à la crise covid-19, ce qui explique que les six envois ont été espacés du 8 mars au 10 mai. Afin d'avoir plus de résultats, les résultats des tests qualité des deux autres lots ont été pris en compte envoyé entre le 25 mai et 31 mai 2021.

Tests qualité au laboratoire

Différents test de qualité ont été effectués sur les lots de moustiques mâles stériles : la capacité de vol, la survie, la contamination par les femelles et les dommages. Certains tests n'ont pas pu être toujours effectués en raison du manque d'effectif.

Capacité de vol

La capacité de vol des moustiques mâles stériles est testée grâce à un dispositif de *flight test* développée spécifiquement à cet effet (Nicole J. Culbert et al., 2018). Elle est testée en aspirant un échantillon de 100 moustiques mâles stériles d'*Ae. aegypti* qui est ensuite mis dans le dispositif de test de vol par un petit orifice situé en bas du cylindre vertical de vol. En haut du dispositif se trouve un ventilateur avec une bille d'attractif de type BG-lure® (Annexe 1). Les moustiques se retrouvant alors confinés dans un espace de 1 cm de hauteur, leur instinct et l'effet de l'attractif les poussent à s'échapper par les cylindres verticaux de 1 cm de diamètre pour accéder à un espace plus grand. Ce test dure deux heures après lesquelles le ventilateur est arrêté et sont comptés les moustiques restées dans les cylindres verticaux ou dans l'espace de 1 cm et ceux qui ont réussi à s'échapper des cylindres.

Survie

La survie des mâles stériles est un paramètre important. Le suivi de la survie se fait grâce à trois cages de 25 moustiques mâles stériles d'*Ae. aegypti* chacune avec solution sucrée et trois cages avec 25 moustiques chacune sans solution sucrée. Chaque jour, le nombre de morts est comptabilisé dans chaque cage et noté (Jérémy Bouyer, communication personnelle, 2021). Ce test n'a été réalisé que deux fois : avec le premier envoi et le quatrième envoi. En effet, en raison des faibles taux de survie dans les autres colis dus aux délais prolongés de transport, la priorité a été donné pour les 4 autres envois pour réaliser les lâchers de terrain prévus pour les marquage-lâcher-recapture plutôt qu'aux tests qualité.

Fig. 7 Tube de 100 mL utilisés pour marquer 1000 moustiques stériles Aedes avec une formulation de pyriproxyfène et de poudre flurorescente (FAO/IAEA, 2020).

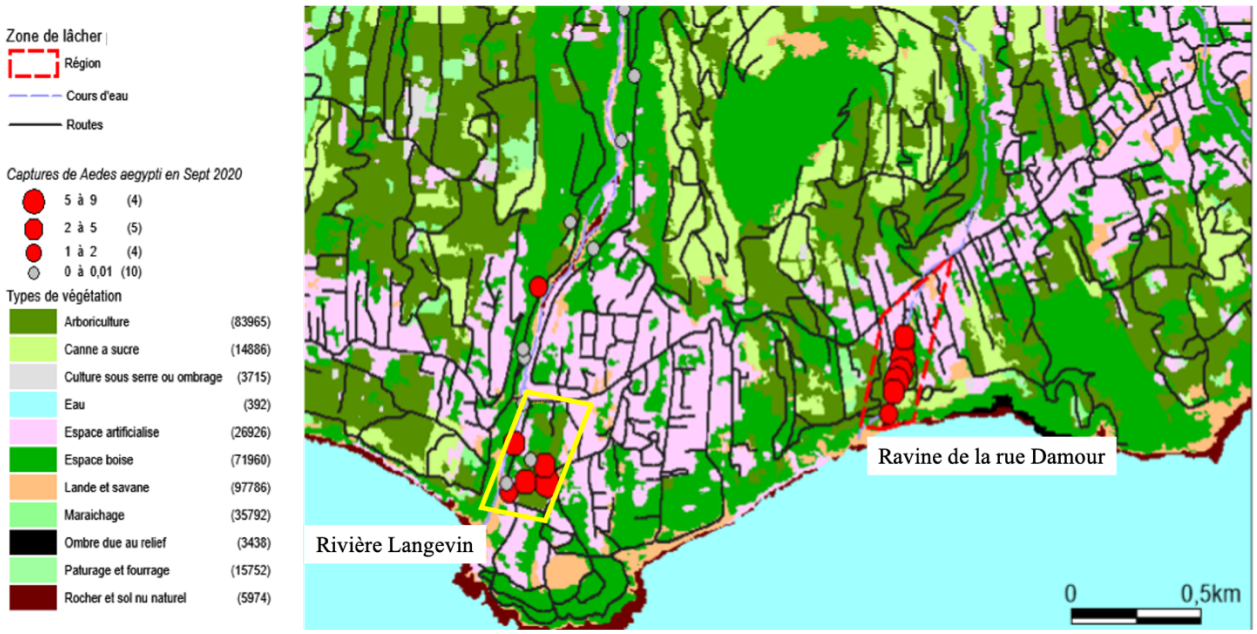


Fig. 8 Localisation des sites infestés par Aedes aegypti dans la commune de Saint-Joseph. Les zones infestées à Saint Joseph sont donc la rivière Langevin et la ravine de la rue Damour. Le polygone entouré par des pointillés rouges représente la zone de lutte (ravine de la rue Damour). La zone témoin étant la partie basse de la rivière Langevin. Les densités de moustiques correspondent à des captures par piège et par jour (Bouyer, Communication personnelle, 2021)

Dommages et contamination par les femelles

Les dommages des moustiques mâles stériles sont observés sur les moustiques mâles stériles morts à l'arrivée à La Réunion. Un échantillon de 150 moustiques est prélevé pour observer sous une loupe binoculaire le nombre de pattes manquantes, la présence d'ailes endommagées ou manquantes ainsi que noter le sexe. La proportion de femelle était calculé sur chaque lot afin de s'assurer qu'elle était inférieure à 1% conformément à l'arrêté préfectoral.

Marquage - lâcher - recapture sur le terrain

L'objectif de la mise en place de ce protocole est l'évaluation de la capacité de dispersion des mâles stériles, de leur longévité et de leur compétitivité sur le terrain dans les conditions naturelles (FAO/IAEA, 2020).

Traitement des mâles stériles par le pyriproxifène

Les moustiques mâles stériles tout droit arrivés de l'AIEA (Vienne, Autriche) sont d'abord réveillés dans une cage placés dans des conditions standard de température (24-26°C) et d'hygrométrie (80%) et remis en forme avec de l'eau sucrée (solution à 8%) pendant au moins 24 heures avant leur traitement par le pyriproxifène.

Au préalable, les tubes dans lesquels seront traités les moustiques sont préparés. Leurs parois intérieures sont d'abord poncées avec du papier de verre afin de permettre l'adhérence de la formulation de pyriproxifène. La formulation de pyriproxifène (40% de pyriproxyfène MA pour 60% de poudre fluorescente rose Dayglo©) a été préparé au Vectopole montpelliérain de l'UMR MIVEGEC de l'IRD, partenaire du projet Revolinc et qui a mis au point et évalué au laboratoire cette formulation afin de la sélectionner pour les essais confinés et les essais pilotes de terrain. La quantité de formulation utilisée pour le traitement des moustiques est pesée à l'aide d'une balance analytique (figure 7) en respectant la dose de 1mg pour 100 moustiques dans un tube cylindrique de 100 ml, tout en évitant de dépasser la quantité de 2 000 moustiques par tube. Une étude a montré qu'au-dessus de 5 mg de poudre fluorescente pure pour 1 000 moustiques, la longévité des moustiques mâles stériles était significativement différente de celle des moustiques mâles témoins (Culbert et al., 2020). Cependant, les moustiques stériles seront tout de même recouverts avec 10 mg de formulation pour 1 000 moustiques car la longévité des moustiques stériles reste tout de même satisfaisante pour l'essai de marquage (FAO/IAEA, 2020), considérant aussi la proportion de 60% de poudre fluorescente dans la formulation de pyriproxifène utilisée.

Les tubes sont ensuite secoués vigoureusement afin de répartir les pigments de poudre fluorescente uniformément sur les surfaces avant d'être placés en chambre froide au minimum 30 minutes avant le traitement des moustiques.

Les cages contenant les moustiques mâles stériles sont placées dans la chambre froide (4°C) du 3P du Cirad à St Pierre pendant un peu moins de dix minutes. Lorsque les moustiques sont endormis, ils sont transférés dans les tubes contenant la formulation de pyriproxifène. Les tubes sont ensuite roulés pendant 20 secondes entre les mains pour s'assurer que les mâles soient imprégnés uniformément.

Lâchers des mâles stériles

Zone d'étude

En sachant que *Ae. aegypti* est isolé dans des ravines de l'Ouest et du Sud de l'île, après discussion avec l'ARS Réunion, les deux sites d'études sélectionnés sont l'embouchure de la Rivière Langevin (site témoin) et la Ravine de la rue Damour (site des lâchers) qui se trouvent dans la commune de Saint Joseph, au sud de l'île de La Réunion (figure 8). En effet, des études préliminaires ont permis de confirmer la présence importante *d'Ae. aegypti* dans ces ravines. Les deux ravines ont des paysages similaires avec une combinaison de maisons avec jardin, de vergers (arboriculture) et d'espaces boisés naturels plus ou moins anthropisés. De plus, nous avons constaté que le site témoin situé au niveau de l'embouchure de la rivière Langevin (verger de M. Elois Boyer) n'était pas isolé, avec des captures d'*Ae. aegypti* réalisées en amont de la rivière Langevin, jusqu'à 0,5km au nord de ce site. En revanche, le site des lâchers de la ravine de la rue Damour est totalement isolé par la destruction de sa partie en amont, remplacé par un réseau d'assainissement urbain, impropre à la survie d'*Ae. aegypti*. Ce site représente donc une zone infestée isolée d'environ 10 ha, idéale pour un essai d'élimination, expliquant le choix de la ravine de la rue Damour comme site de lâcher. La rivière Langevin servira donc de site témoin. On suppose que l'espace urbain situé entre les ravines n'est pas colonisé par *Ae. aegypti*. Les 2 sites éloignés de 2 km l'un de l'autre serait donc isolés entre eux. Suite à plusieurs réunions d'information réalisées en partie avec l'ARS Réunion, la sous-préfecture de Saint-Pierre, la mairie de Saint-Joseph, la DREAL (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement) et l'Office de l'Eau Réunion, l'ensemble de ces acteurs locaux se sont déclarés favorables à la réalisation de ces essais sur les deux sites identifiés de la commune de Saint-Joseph. L'avis de la population locale a été consulté lors d'une réunion organisée à la mairie de Saint-Joseph en présence de tous les acteurs le 16 février 2021 suivie de campagnes de communication et d'information auprès de la population de la commune et plus particulièrement par des actions de porte à porte des habitants riverains des deux sites d'étude.

Lâchers des mâles stériles imprégnés

Sur les six lots de moustiques reçus, seuls deux d'entre eux ont pu être lâchés dans la ravine de la rue Damour : le premier lot avec environ 2 250 moustiques, le cinquième qui a été lâché en deux fois (8 000 par drone et 8 500 au sol) et le sixième où 1 000 moustiques ont été lâchés au sol.

Fig. 9 Carte montrant les points de lâcher au sol lors du premier lâcher (15/03/2021). Pour ce lâcher, les 2000 moustiques lâchés ont été marqués avec de la poudre rose fluorescente.

Fig. 10 Carte montrant les points de lâcher au sol lors du second lâcher (30/04/2021). Les moustiques en P21 ont été marqués en bleu pour les différencier des autres moustiques marqués en rose et ainsi pouvoir évaluer la dispersion d'Aedes aegypti. Ici 8400 moustiques ont été lâchés.

Le premier lâcher de moustiques mâles stériles a eu lieu le 15 mars 2021 à 17 heures. Environ 2 250 moustiques mâles stériles marqués avec une formulation de pyriproxyfène de couleur rose ont été lâchés au sol à cinq points différents. Ces points correspondent aux emplacements de nos pièges à adultes : P16, P18, P19, P20 et P21 (Figure 9). A chacun de ces points a été ouvert un tube en plastique contenant environ 450 moustiques. Les tubes ont été laissés ouverts pendant 10 minutes. Les moustiques restants dans le tube à la fin des 10 minutes sont considérés comme morts.

Le second lâcher a été réalisé le 30 avril vers 14h où environ 8 400 moustiques ont été lâchés au sol à quatre points différents (Figure 10). Trois lots de moustiques ont été marqués avec la formulation rose et le dernier lot en bleu. Le lot marqué en bleu a été lâché au début de la ravine pour mesurer sur le terrain la dispersion des moustiques mâles stériles traités.

Le troisième lâcher s'est déroulé le 4 mai entre 14 et 15 heures où environ 8 400 moustiques marqués en jaune ont été lâchés par drone et 1 400 marqués en orange ont été lâchés au sol au début de la ravine de la rue Damour (P21) (figure 11). Les moustiques devaient être lâchés à 50 m de hauteur.

Système de lâcher par drone

Le drone utilisé ici, est le modèle ULD 550, spécialement conçu pour transporter un dispositif de lâcher d'insectes afin d'effectuer des lâchers aériens d'insectes pour lutter contre les maladies à transmission vectorielle (figure 12). L'objectif de la conception était d'obtenir un drone d'un poids minimal (800 g) mais capable de porter le système de lâcher d'insectes (Bouyer, communication personnelle, 2021).

Dans le cadre de travaux antérieurs, une première version d'un système de lâcher automatisée a été développé par MAPA en collaboration avec le Cirad et la section de lutte contre les insectes nuisibles de la division mixte FAO-AIEA pour être utilisé avec des drones légers dans le but de lâcher des moustiques mâles stériles au-dessus de zones urbaines.

En raison des limitations en termes de charge utile du drone léger, la conception et les matériaux ont été optimisés pour limiter la masse du système de lâcher. Le système de lâcher automatisé, incluant la masse des moustiques, a une masse de 200 g. La charge totale du drone incluant le système des lâchers ne dépasse 1kg (Bouyer, communication personnelle, 2021).

Le système a été conçu pour ne pas causer de dommages aux moustiques mâles stériles durant les lâchers. Ces dommages ont été évalués préalablement par le laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles de la division FAO-AIEA et ont été jugés acceptables. Il est composé de deux cylindres rainurés en forme d'hélice tournant en sens inverse dans le bas du conteneur à moustique. Ces cylindres permettent de doser le nombre de moustiques à lâcher. Concernant la cassette contenant les moustiques, elle peut contenir trois sachets de matériaux à changement de phase qui transfèrent le froid à la chambre à moustiques tout en fondant durant le vol. En suivant les recommandations de compactage, la cassette peut contenir jusqu'à 35 000 moustiques. Le système de lâcher est également entouré d'une couche de 12 mm d'EPS pour l'isolation thermique. En effet, les moustiques devant

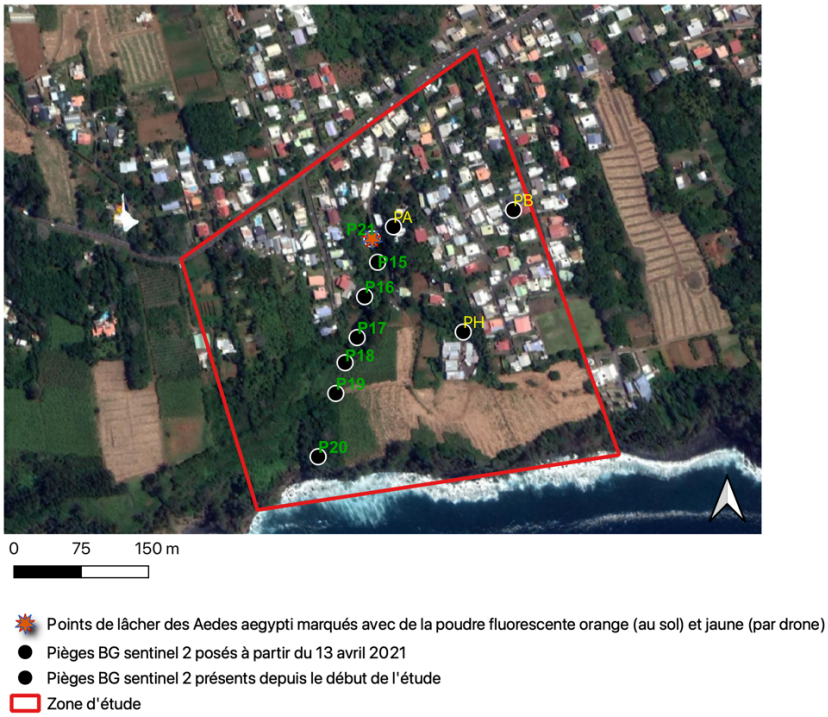


Fig. 11 Carte montrant les points de lâcher au sol lors du troisième lâcher (04/05/2021). Tous les moustiques ont été lâchés en P21 : 8400 moustiques mâles marqués en jaune lâchés par drone et 1400 moustiques mâles marqués en orange au sol.

Fig. 12 Drone et système de lâcher capable de lâcher 35 000 moustiques mâles stériles en moins de 10 minutes et pesant moins de 900g (Bouyer, Communication Personnelle, 2021).

rester inactif durant le vol, une température basse doit être maintenue (Bouyer, communication personnelle, 2021).

Enfin, la configuration du système de lâcher est indépendante du drone pour libérer différents débits de moustiques à différentes positions en la programmant sur une carte micro SD (Bouyer, communication personnelle, 2021).

L'utilisation d'un drone est soumise à réglementation. Le sous-contractant local autorisé à l'utilisation des drones pour réaliser des lâchers aériens a fait une demande d'autorisation auprès de la Direction de la Sécurité de l'Aviation Civile Océan Indien (DSAC OI) pour les lâchers prévus dans le site d'étude de la ravine de la rue Damour à Saint Joseph.

Recapture des moustiques mâles marqués

Pour recapturer les moustiques mâles marqués, des pièges à moustiques adultes *BG sentinel 2 TM* (Biogents, Regensburg, Germany) sont posés plusieurs jours de suite (figure 13). Les pièges *BG sentinel 2 TM* (Biogents, Regensburg, Germany) sont des pièges à moustiques adultes de référence pour capturer les *Aedes (Geier et al., 2006)* et ont été éprouvés sur *Ae. albopictus* dans le contexte réunionnais (Le Goff et al., 2017). De forme cylindrique et de couleur bleu et blanc, le piège BG aspire les moustiques ou autres insectes se rapprochant à proximité. En effet, le piège branché sur secteur ou sur batterie est doté d'un système de ventilation qui permet l'aspiration des moustiques dans un filet relevé toutes les 24 heures. Afin d'attirer les moustiques et plus particulièrement *Ae. aegypti*, une bouteille de CO2 est placée dans le piège avec un débit de trois bulles par seconde (0,2L/24h). 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*.

Pour le premier lâcher, sept pièges *BG sentinel 2 TM* (Biogents, Regensburg, Germany) ont été placés dans la zone de lâcher (ravine de la rue Damour) et six pièges *BG sentinel 2 TM* dans la zone témoin (rivière Langevin). Les pièges à moustiques adultes étaient placés pendant trois jours au même endroit. En plus de ces pièges à adultes, des pièges pondoirs ou ovitraps en anglais ont été posés à proximité (ovitraps ; figure 14). Ces pièges pondoirs servent à évaluer la fécondité des femelles d'*Ae. aegypti* (i.e. section suivante).

Pour le second et le troisième lâcher, tous les pièges n'ont pas été posés à cause d'un manque d'effectif dans l'équipe du projet. Dans la zone de lâcher, neuf pièges à adultes et neuf pièges pondoirs ont été posés (sept dans la ravine et deux chez des habitants). Dans la zone témoin, aucun piège à adulte n'a été posé. Cependant, afin de suivre la fécondité des femelles *Ae. aegypti* (i.e. section suivante), cinq pièges pondoirs ont été posés en P01, P04, P05, P06 et P07 dans la zone témoin pendant quatre jours.

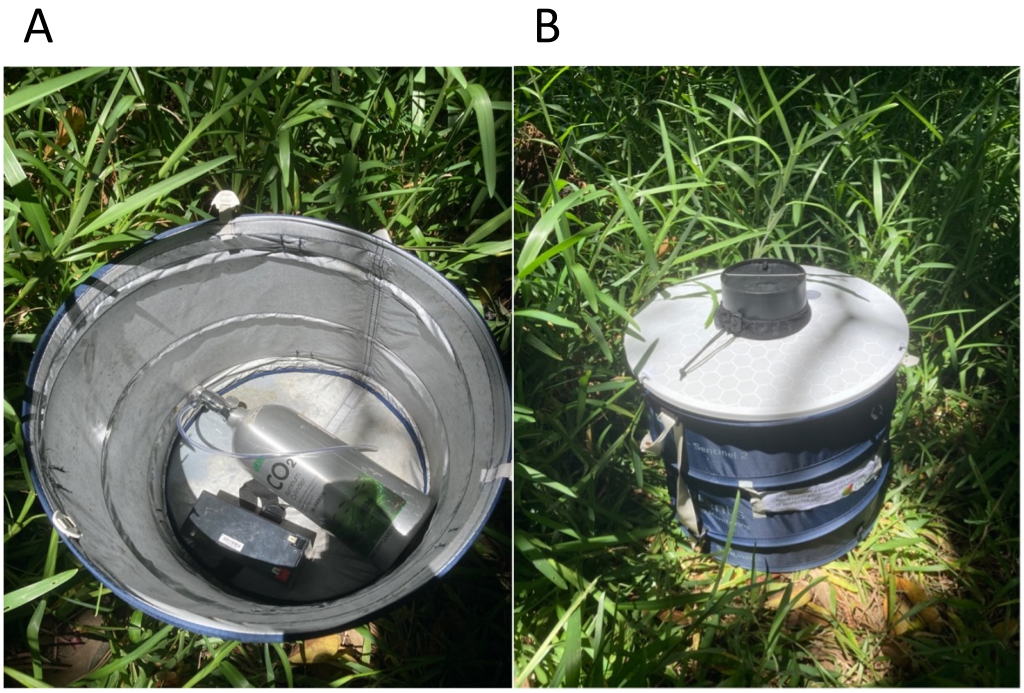


Fig.13 (A) Pièges *BG sentinel 2 TM servant à capturer les moustiques adultes. (B) Le piège contient une batterie fonctionnant pendant 24h pour aspirer les moustiques à l'intérieur du filet. La bouteille de CO2 joue le rôle de l'attractant. (Photos © Adeline Moynier)*

Fig. 14 Pièges à œufs. Les pièges sont remplis d'eau à hauteur de 2 à 3 cm. A gauche, une feuille de papier buvard est disposé à l'intérieur et à droite des feuilles de Pandanus sp.. Les deux substrats ont été testé dans une étude préliminaire pour savoir lequel était le plus efficace. (Photo © Iris Claudel et Ronan Brouazin)

Identification du contenu des filets

Une fois les filets récupérés des pièges à adultes, ils sont mis au congélateur afin de tuer les moustiques collectés. Le contenu du filet est ensuite transféré dans des boîtes de Pétri pour procéder à l'identification sous loupe binoculaire des insectes capturés. Chaque boite de Pétri a une identification unique avec le numéro du piège, la date et l'heure de pose. Ne sont gardés que les insectes de la famille des Psychodidae et des Chironomidae mais aussi les insectes du genre *Culex, Aedes* ou *Lutzia*.Les individus du genre *Aedes* sont identifiés *(Ae. aegypti ou Ae. albopictus)* et débombrés dans chaque boîte puis leur sexe est déterminé. Les moustiques marqués sont aussi notés à ce moment en prenant soin de noter la couleur du pigment.

Suivi de la fécondité

Afin de suivre la fécondité des femelles *Ae. aegypti*, des pièges pondoirs sont disposés à proximité des pièges à adultes de préférence dans des Vacoas (*Pandanus sp.)* ou en hauteur (1m-1,5m) dans un autre arbre. Les pièges pondoirs sont des récipients en plastique noir contenant chacun deux feuilles de Vacoa (*Pandanus sp.*) et 250 mL d'eau du robinet. Des travaux préliminaires réalisés dans les 2 sites d'étude ont montré que ce système était le plus performant dans le contexte local pour récolter des pontes d'*Ae. aegypti*.

Ces pièges pondoirs sont posés en début de semaine et sont ramassés le quatrième jour afin de récolter le maximum d'œufs sans qu'ils n'aient le temps d'éclore avant leur ramassage. Lors du ramassage des pièges pondoirs, l'eau filtré à l'aide d'un filtre à café est récupérée dans des bouteilles en verre. Le jour même, les œufs sont comptés et entourés afin de faciliter la mise en eau. Une semaine à 10 jours après, les morceaux de feuilles et de filtre contenant des œufs conservés à température au laboratoire du 3P sont mis en eau (l'eau des ovitraps ou le cas échéant de l'eau du robinet). Quatre jours après la mise en eau, le nombre de larves est comptée puis tous les deux jours les nombres de larves, nymphes et adultes émergents sont comptés. Les moustiques adultes sont ensuite identifiés.

Lors du premier lâcher, sept pièges pondoirs ont été posés dans la zone de lâcher à proximité des pièges BG sentinel 2 et six pièges pondoirs dans la zone témoin. Lors du deuxième et du troisième lâcher, neuf ovitraps étaient placés dans la zone de lâcher aux côtés des pièges à adultes et cinq ovitraps dans la zone témoin.

Critères de jugement de l'efficacité des lâchers

Mesure de la compétitivité

La compétitivité C d'un mâle stérile est la probabilité qu'une femelle sauvage s'accouple avec un mâle stérile plutôt qu'un mâle sauvage lorsqu'elle est exposée aux deux en nombre égal. La

compétitivité est mesurée grâce aux données de terrain. Pour cela, nous avons utilisé les pièges pondoirs, récupérés les oeufs, compter et mis en élevage les œufs. La compétitivité est souvent estimée en utilisant l'indice de Fried et peut se calculer de la façon suivante : $C = \frac{\frac{(Ha - E)}{E}}{R}$

où **Ha** est la fertilité naturelle des femelles c'est-à-dire le pourcentage d'œufs éclos dans la zone témoin, **E** le pourcentage d'œufs éclos attendus avec la présence de mâles sauvages et de mâles stériles dans la population (l'indice de fécondité observé pour un rapport **R** donné entre les mâles stériles et les mâles sauvages) (Carrieri, 2020; Fried, 1971). Cette formule peut être appliquée lorsque le taux de fertilité résiduelle des mâles est négligeable comme c'est le cas ici.

Mesure de la dispersion

La dispersion des mâles peut être analysée grâce à plusieurs paramètres (FAO/IAEA, 2020). La distance moyenne de dispersion est une méthode d'estimation simple calculée à partir de la formule suivante : $\sum n_i\, d_i / \sum n_i$ où **n** est le nombre de moustiques capturés dans le piège **i** et $\mathbf{d_i}$ la distance entre le piège **i** et le point de lâcher (Carrieri, 2020).

La plage de vol peut être estimée par une régression linéaire des captures estimées cumulées dans chaque station de recapture (axe des abscisses) et le logarithme décimal de la distance entre le lieu de recapture et le point de lâcher. Le FR50 et le FR90 indiquent la distance maximum parcourue depuis le point de lâcher pour laquelle 50% et 90% des individus relâchés sont recapturés (FAO/IAEA, 2020). L'évaluation de la dispersion et d'autant plus l'estimation de la plage de vol des moustiques mâles stériles permettront de définir la distance requise entre deux lâchers de mâles stériles. La distance entre deux lâchers de mâles stériles sera ensuite définie comme égale à deux FR50 (FAO/IAEA, 2020).

Mesure de la longévité

La longévité est un paramètre important à estimer pour prévoir la fréquence optimale de lâchers de moustiques mâles stériles. La probabilité de survie quotidienne des mâles stériles peut être mesurée grâce à une méthode linéaire corrigée avec $\boldsymbol{\theta} = \boldsymbol{e^a} / (\boldsymbol{N} + \boldsymbol{e^a})$ **et** $\boldsymbol{s} = \boldsymbol{e^b} / (\mathbf{1} - \boldsymbol{\theta})^{\mathbf{1}/\boldsymbol{d}}$ où **a** est l'ordonnée à l'origine, **b** le coefficient de régression de la régression linéaire du logarithme du nombre de capture comme une fonction du temps, **N** le nombre d'individus relâchés, $\boldsymbol{\theta}$ le taux de recapture, **d** le nombre de jours de recapture, et **s** le taux de survie journalier (Buonaccorsi et al., 2003).

Une autre estimation de la longévité des moustiques peut être faite grâce à la probabilité de survie quotidienne qui est l'espérance de vie moyenne grâce à la formule : **1 – ln(s).**

Estimation du nombre de mâles sauvages

La taille de la population sauvage est un paramètre à considérer dans un programme de TIS dans le but de prévoir le nombre de moustiques stériles à lâcher pour permettre la suppression de la population. Le nombre de mâles sauvages sur la zone de lâcher peut être estimé grâce aux nombres de mâles stériles marqués lâchés ainsi que le nombre de mâles sauvages et marqués recapturés (Carrieri, 2020) :

$N=(R*n)/m$ où R est le nombre d'adultes lâchés, n le nombre total de recapture (moustiques mâles adultes sauvages et marqués) et m le nombre de recaptures de moustiques mâles marqués.

La variance peut être calculée à partir de la formule suivante :

$$Var\ (N) = n^2\ R\ (R-m)\ /\ m^3$$

Cette estimation appelé indice de Lincoln est la méthode d'estimation la plus facile à obtenir et la plus vieille mais elle est biaisée. Le biais est négligeable sur de gros échantillons mais est important sur des échantillons avec moins de 20 mâles marqués recapturés. L'indice de Lincoln ajusté pour les faibles taux de recapture est (P) :

$$P = [R*S^t(n-m+1)]/(m+1)$$

Où *S* est la survie quotidienne, *t* le nombre de jours total de recapture et la variance est calcul de la façon suivante :

$$Var\ (P) = [(R*S^t)^2(n-m+1)(n-2m)]/[(m+1)^2(m+2)]$$

Statistiques

Un modèle de Cox avec effets mixtes (R studio 1.2.1335., package « coxme ») a été utilisé pour estimer les effets de la mise à disposition de solution sucrée sur la probabilité quotidienne de survie des moustiques mâles stériles. Les réplicas ont été inclus comme effets aléatoires et le sucre comme un effet fixe. A partir de ce modèle, ont été tracés des courbes de survie pour les lots qui ont été lâchés afin de voir leur survie en condition de laboratoire avec et sans solution sucrée à disposition. Les corrélations ont été testées à partir des tests de corrélation de Pearson. Les taux moyens de développement des moustiques ont été comparés entre le site témoin et le site de lâcher avec un test de Wilcoxon.

Le nombre d'adultes par piège et par jour *d'Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* a été comparé avant le lâcher grâce à un modèle de poisson mixte. Les sites ont été considérés comme des effets fixes alors que les dates et les numéros de pièges comme des effets aléatoires (Burnham et al., 2002; Hurvich and Tsai, 1995).

Le taux d'éclosion des œufs toutes espèces confondues et le taux d'*Ae. aegypti* parmi les *Aedes* mesurés par les ovitraps ont été comparés avant le lâcher grâce à un modèle binomial mixte avec un lien logit. Les sites ont été considérés comme des effets fixes alors que les dates et les numéros de pièges comme des effets aléatoires (Burnham et al., 2002; Hurvich and Tsai, 1995).

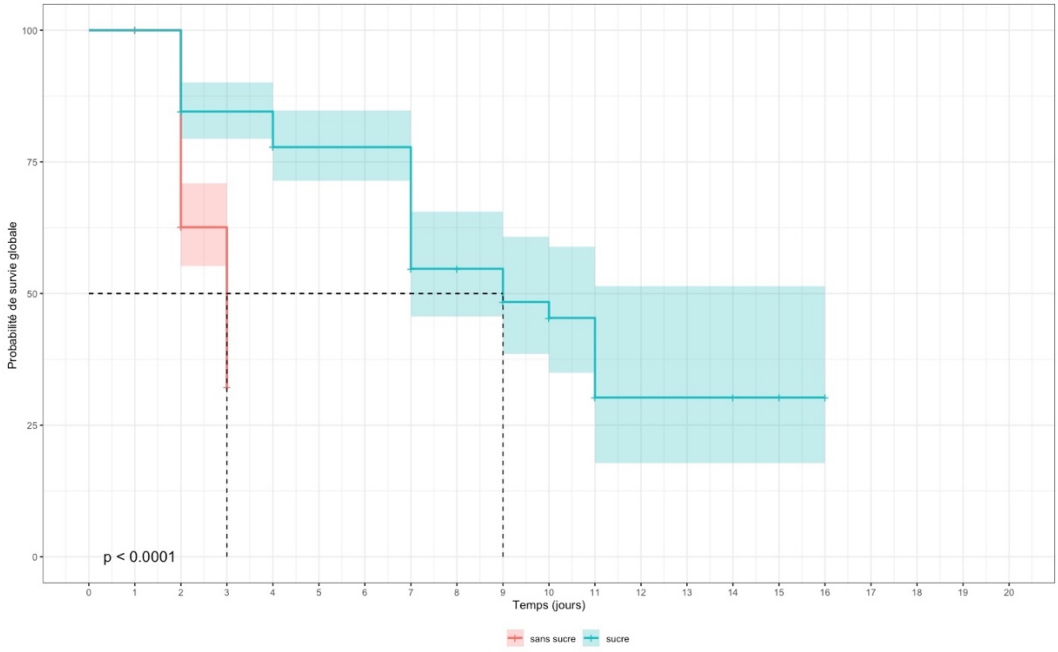


Fig. 15 Courbe de survie de Kaplan-Meier du premier lot de moustiques mâles stériles reçu. L'analyse de survie montre une survie médiane de la population de 3 jours sans sucre contre 9 jours avec du sucre dans des conditions de laboratoire. La survie médiane est significativement différente pour les moustiques n'ayant pas reçu de solution sucrée que ceux ayant eu à disposition une solution sucrée (P < 0,0001).

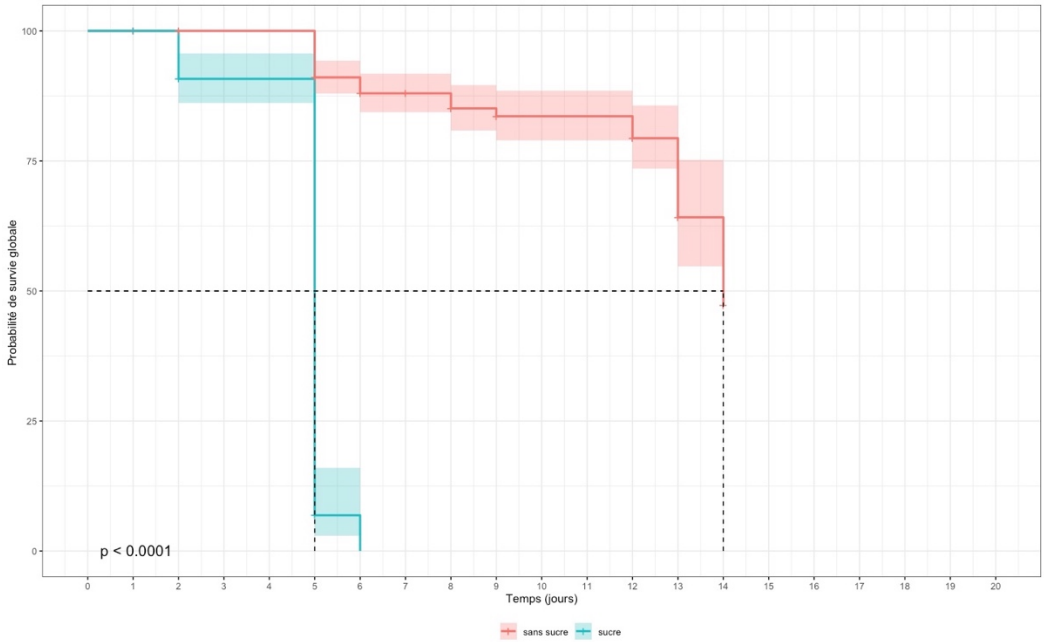


Fig. 16 Courbe de survie de Kaplan-Meier du cinquième lot de moustiques mâles stériles reçu. L'analyse de survie montre une survie médiane de la population de 5 jours sans sucre contre 14 jours avec du sucre dans des conditions de laboratoire. La survie médiane est significativement différente pour les moustiques n'ayant pas reçu de solution sucrée que ceux ayant eu à disposition une solution sucrée (P < 0,0001).

Les cartes ont été réalisées avec le logiciel QGIS 3.10..

Résultats

Tests qualité au laboratoire

Survie

Pour le premier lot, l'analyse de survie a montré une survie médiane de la population de 3 jours sans sucre contre 9 jours avec du sucre dans des conditions de laboratoire. La survie des moustiques mâles stériles sans sucre était significativement moins bonne que celle des mâles stériles avec sucre ($P < 0,0001$) (figure 15).

L'analyse de survie du cinquième lot a montré une survie médiane de la population sans sucre de 5 jours contre 14 jours avec sucre dans des conditions de laboratoires. La survie des moustiques mâles stériles sans sucre était significativement moins bonne que celle des mâles stériles avec sucre ($P < 0,0001$) (figure 16).

Contamination par les femelles

Nous avons observé que plus le nombre de moustiques mâles stériles envoyés augmentait, plus la proportion de femelles dans le lot était importante (figure 17). Le pourcentage de femelles observées sur les lots était compris entre 0% et 1%. Le pourcentage de femelles est corrélé positivement aux nombre de mâles envoyés (test de Pearson, $t = 6,8406$, $df = 4$, $cor = 0.96$, $P = 0,00239$) lorsqu'on élimine le lot 8 qui présentait une valeur ectopique. Cependant, le pourcentage de femelle est resté en-dessous du taux légal (< 1%) pour les lâchers.

Capacité de vol

Nous pouvons observer que le pourcentage de moustiques échappés du dispositif de *flight test* était plus important pour une durée de transport de deux jours que pour les durées de transport de 4 ou 5 jours (figure 18). Cependant, cette corrélation n'est pas significative, en raison d'un faible nombre de mesures (test de Pearson, $t = -1,71$, $df = 4$, $cor = -0,65$, $P = 0,16$).

Dommages

Les dommages sur les ailes des moustiques ne sont pas corrélés avec le pourcentage d'échappés (Test de Pearson, $t = -0,82$, $cor = -0,43$, $df = 3$, $P = 0,47$). Les dommages sur les pattes de moustiques (nombre de pattes manquantes) n'est pas non plus corrélé avec le pourcentage de moustiques mâles échappés du flight test (Test de Pearson, $t = -0.17$, $df = 3$, $cor = -0,10$, $P = 0,88$).

Marquage-lâcher-recapture

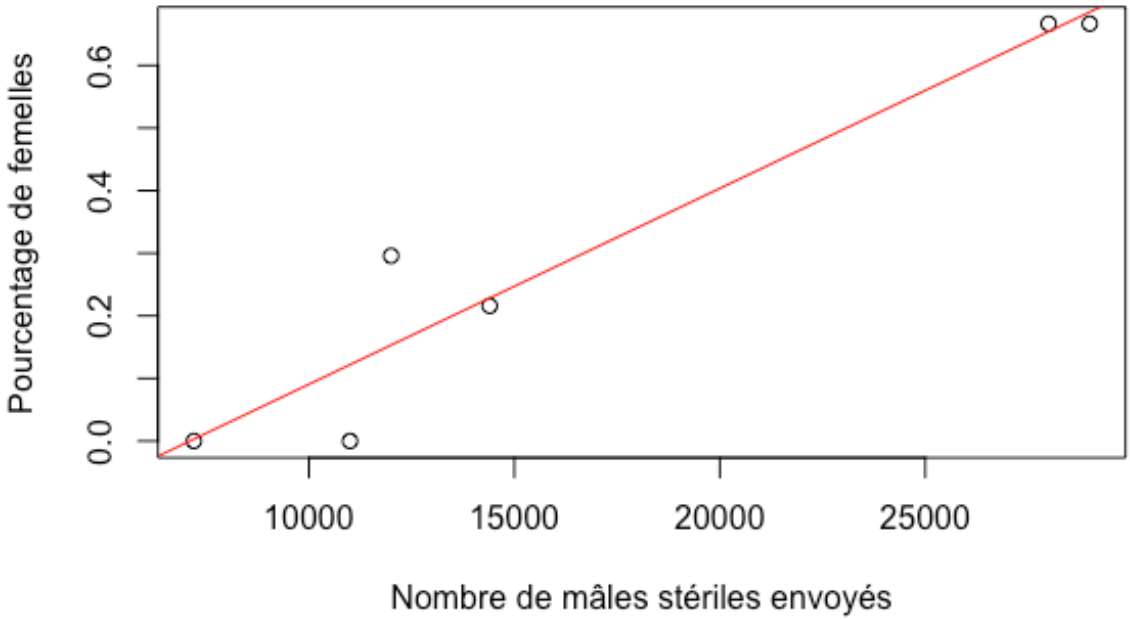


Fig. 17 Pourcentage de contamination par les femelles des lots d'Aedes aegypti mâles en fonction du nombre de mâles envoyés. Le pourcentage de femelles est corrélée positivement aux nombre de mâles envoyés (test de Pearson, t = 6,8406, df = 4, cor = 0,96, P = 0,00239).

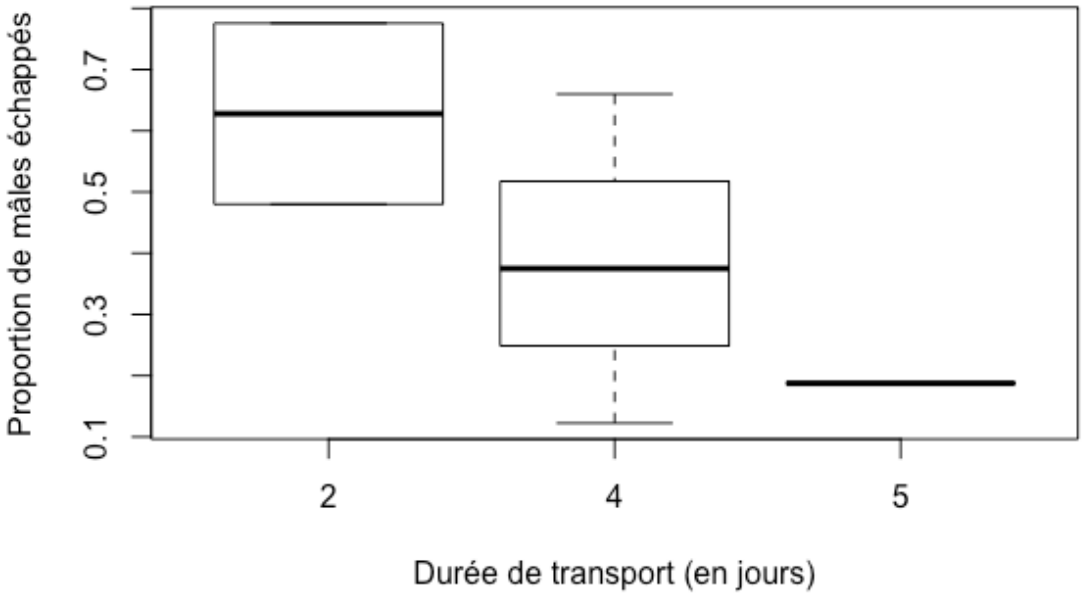


Fig. 18 Propotion de mâles d'Aedes aegypti ayant réussi à s'échapper du flight test en fonction de la durée du transport aérien. La corrélation entre la proportion de mâles ayant réussi à s'échapper et la durée du transport n'est pas (*test de Pearson, t = -1,71, df = 4, cor = -0,65, P = 0,16).*

Paramètres de lâcher par drone

Les informations du drone concernant le vol du troisième lâcher ont été recueillies. Concernant l'altitude de lâcher des mâles stériles marqués, elle était comprise entre 90 et 140 m au moment du lâcher (figure 19). La température à l'intérieur du système de lâcher contenant les moustiques a également été prise pendant toute la durée du vol à l'aide de sonde. La température du système de lâcher était comprise entre 18 et 28°C pendant les sept minutes qu'ont duré le lâcher (figure 20).

Recapture et survie

Lors du premier marquage-lâcher-recapture, 20 moustiques mâles marqués et une femelle marquée ont été recapturés sur les deux jours de capture. Nous avons eu un pourcentage de recapture θ de 1% et un taux de survie quotidienne s de 0,08. L'espérance de vie moyenne de ces moustiques est de 3,48 jours. La mortalité μ était de 0,92 et la demi vie de 1,09 jour. Deux jours après le lâcher, le 17/03/2021, deux pièges sur sept (28,57%), le P19 et le P17 étaient positifs à la recapture de mâles stériles avec des ratios mâles stériles sur mâles sauvages de 0,64 et 0,25 respectivement (figure 21), et de 0,20 pour tout le site et toute la période d'étude. Trois jours après le lâcher, un piège, le P19, était encore positif à la recapture de mâles stériles avec un ratio de mâles stériles sur males sauvages de 0,11 (figure 22). Lors du deuxième lâcher, sur 8400 moustiques lâchés, seuls cinq moustiques marqués en rose ont été recapturés. Aucun moustique marqué en bleu lâchés de manière ponctuelle en P21 n'a été recapturé. Le taux de recapture θ pour ce lâcher est de 0,028%. En effet, le taux de recapture de mâles stériles a été extrêmement faible mais le nombre de captures de mâles sauvages était également faible. Les ratios mâles stériles sur mâles sauvages étaient de 2 pour le piège P19 le 3 et le 4 mai (figure 23 ; figure 24) et de 0 pour le piège P21 le 4 mai (figure 24) (un mâle stérile recapturé pour aucun mâle sauvage recapturé), et de 0,88 pour tout le site et toute la période d'étude. La probabilité de survie quotidienne était d'environ 0,86 avec mortalité μ de 0,14 et une demi vie des moustiques pour ce lâcher d'environ 7,2 jours. L'espérance de vie moyenne des mâles stériles pour ce lâcher était de 6,68 jours.

Lors du troisième lâcher où 8400 moustiques marqués en jaune ont été lâchés par drone et 1400 marqués en orange ont été lâchés au sol au début de la ravine de la rue Damour (P21), deux moustiques ont été recapturés. Un mâle marqué en orange a été recapturé un jour après le lâcher (figure 25) et un mâle marqué en jaune (figure 26) a été recapturé deux jours après le lâcher. Les trop faible taux de recapture (0,07% au sol et 0,01% par drone) n'ont pas permis de calculer les différents paramètres tels que la mortalité, la survie ou la demi-vie. Cependant, ces deux taux de recapture n'étaient pas significativement différents entre les deux méthodes de lâcher (Chi-2 = 0,1872, df = 1, P = 0,6653).

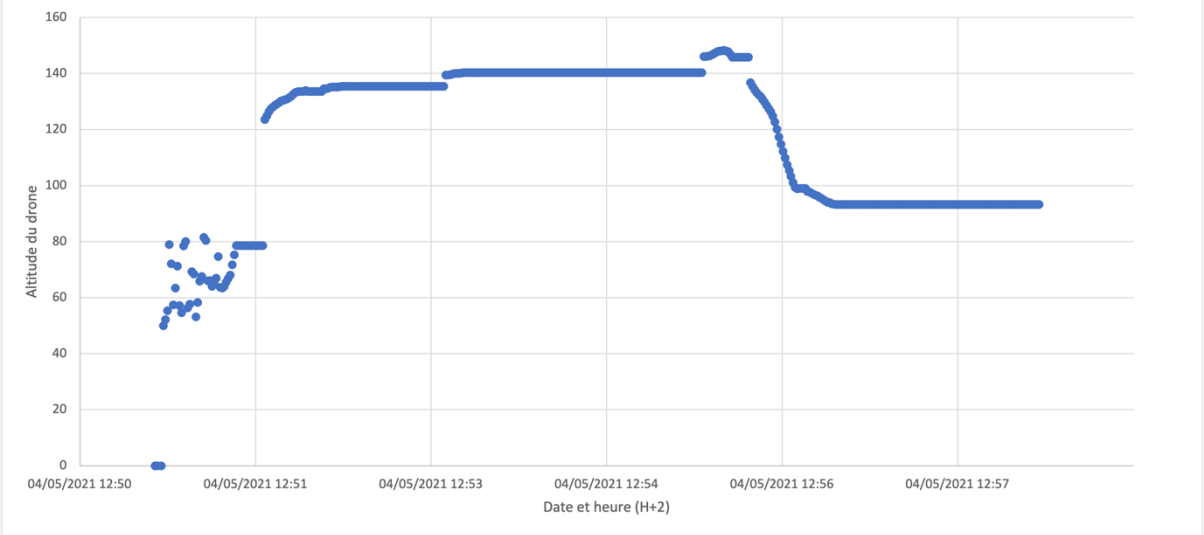


Fig.19 Altitude du drone en fonction du temps lors du troisième lâcher. Le drone a commencé à lâcher 30 secondes après le décollage à environ 120 m d'altitude en montant jusqu'à 140 m puis est redescendu à un peu plus de 90 m d'altitude.

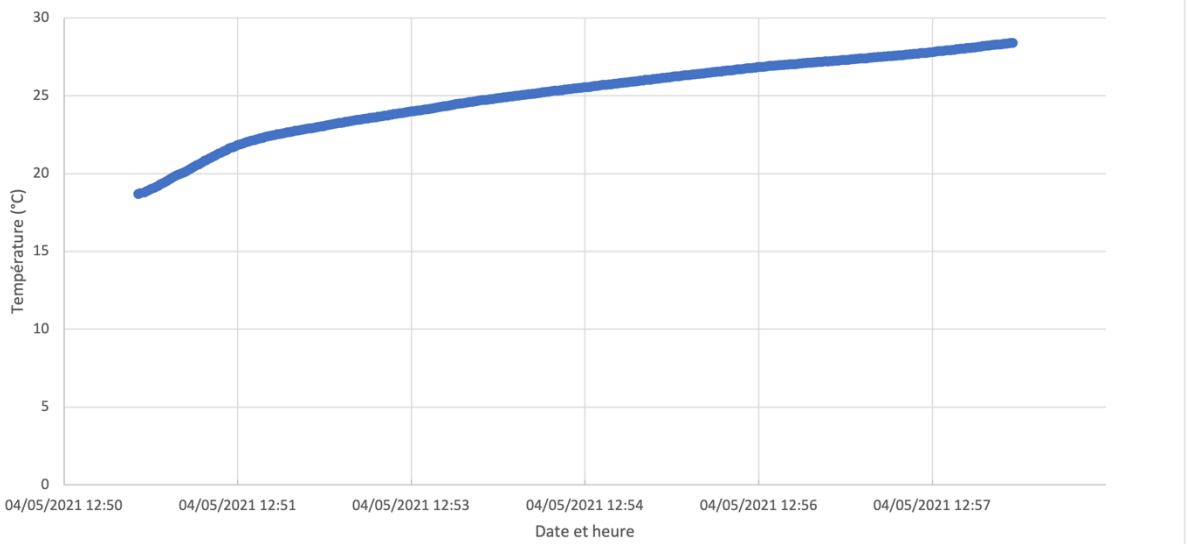


Fig 20. Température à l'intérieur du système de lâcher en fonction du temps durant le troisième lâcher. La température du système de lâcher était comprise entre 18 et 28°C pendant les sept minutes qu'ont duré le lâcher.

Estimation du nombre de mâles sauvages

Les premier et second lâchers ont permis d'avoir des estimations de la taille de la population d'Ae. *aegypti* dans la zone de lâcher. Pour le premier lâcher, l'estimation était de 11 900 mâles (écart-type = 2647) sauvages sur la zone de 10 ha. Pour le second lâcher, un mois et demi après le premier, l'estimation du nombre de mâles sauvages a doublé, soit 20 809 (écart-type = 1296).

Dispersion

La recapture des mâles stériles marqués lâchés de manière ponctuelle n'a pas permis d'obtenir de résultats. Lors du second lâcher, aucun mâle du lot marqué avec la poudre bleu fluorescente n'a été recapturé. Lors du troisième lâcher, un seul mâle lâché au sol, marqué avec la poudre fluorescente orange a été recapturé, au même endroit que le point de lâcher, et un jour après le lâcher. Un mâle lâché par drone et marqué avec de la poudre jaune a lui été recapturé été deux jours après le lâcher à environ 175 m du point de lâcher par drone.

Comparabilité des sites d'étude

Avant le premier lâcher, il n'existait pas de différence significative du nombre d'*Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* adultes capturés par piège et par jour entre le site témoin et le site de lâcher. Le nombre moyen d'*Ae. aegypti* capturé par piège et par jour dans la zone témoin (Rivière Langevin) variait entre 0 et 40 individus. Dans la zone de lâcher (Ravine de la rue Damour), le nombre moyen d'*Ae. aegypti* capturé par piège et par jour variait entre 0 et 15 sur la période du 15 décembre 2020 au 15 mars 2021. Le nombre d'*Ae. aegypti* dans la zone de lâcher n'était pas différente de la zone témoin (Modèle de poisson linéaire généralisé mixte ajusté avec le maximum de vraisemblance, Estimation = 0,08593, Ecart-type = 0,76295, z = 0,113, P = 0,910).

Avant le premier lâcher, il n'existait pas de différence significative du taux d'éclosion par jour et par piège de la densité des œufs récoltés toutes espèces confondues dans les pièges pondoirs entre le site témoin et le site de lâcher (Modèle linéaire généralisé mixte ajusté avec le maximum de vraisemblance, Estimation = -0,1065, Ecart-type = 0,3856, z = -0,276, P = 0,7825). Le taux d'éclosion médian des œufs par jour et par piège avant le lâcher sur les deux sites variait entre 0,4 et 0,8 (figure 27). La proportion d'*Ae. aegypti* émergents à partir des œufs récoltés sur le terrain n'était pas non plus différente entre les deux sites avant le lâcher (Modèle binomial linéaire généralisé mixte ajusté avec le maximum de vraisemblance Estimation : -0,1065 Erreur standard = 0,3856, Z = - 0,276, P = 0,7825) (figure 28).

Le nombre de larves d'*Ae. aegypti* dans la zone de lâcher n'était pas non plus différent du nombre observé dans la zone témoin (Modèle de poisson linéaire généralisé mixte ajusté avec le maximum de vraisemblance, Estimation = 0,8996, Ecart-type = 0,8173, z = 1,101, P = 0,27101).

Fig. 21 Carte montrant les pièges postifis (en jaune) le 17/03/21 à la recapture des mâles stériles Aedes aegypti lâchés le 15/03/2021. Le ratio de mâles stériles recapturés d'Aedes aegypti par rapport aux mâles sauvages est de 0,25 pour le piège P17 : un seul mâle stérile marqué a été recapturé contre 4 mâles sauvages. Pour le piège P19, le ratio est de 0,64 : 18 mâles stériles et 28 mâles sauvages.

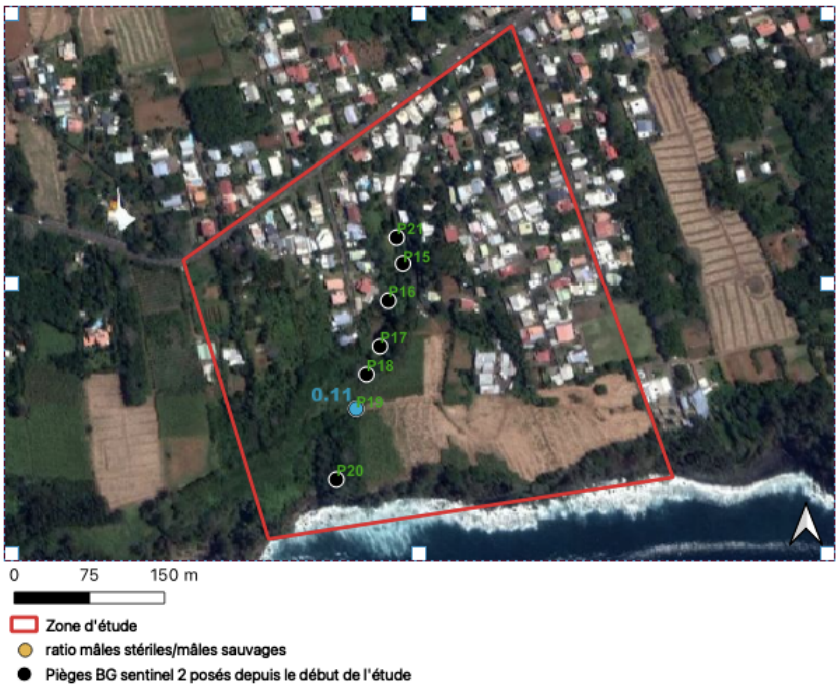


Fig. 22 Carte montrant les pièges positifs (en bleu) le 18/03/2021 à la recapture des mâles stériles lâchés le 15/03/2021. Le ratio des mâles stériles Aedes aegypti recapturés par rapport aux mâles sauvages est de 0,11 : un seul mâle a été recapturé contre 9 mâles sauvages dans le piège à adultes (BG sentinel 2) P19.

Compétitivité

Après le second lâcher, les taux d'éclosion et de développement ont été mesurés pour connaître l'impact du lâcher.

Le taux d'éclosion des œufs toutes espèces d'*Ae.* confondues dans la zone de lâcher était de 0,38 (écart-type =0,32) alors que celui de la zone témoin était de 0,63 (écart-type = 0,09). La variabilité du taux d'éclosion de la zone de lâcher était d'ailleurs supérieure à celle de la zone témoin. Bien que le taux d'éclosion global de la zone de lâcher était plus faible que celui de la zone témoin, il n'était pas significativement différent (Test de Wilcoxon, W=30, P = 0,09).

Le taux global de développement des larves en nymphes dans la zone témoin était supérieur à celui de la nymphose dans la zone de lâcher (test de Wilcoxon, W=34, p=0,018). En effet, le taux de nymphose de la zone témoin était de 0,99 (écart-type = 0,01) alors que celui dans la zone de lâcher 0,71 (écart-type = 0,44) (figure 29).

Le taux d'émergence des nymphes en adultes des *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* confondus n'était pas significativement plus faible dans la zone de lâcher que dans la zone témoin (Test de Wilcoxon, W= 19, P = 0,27). Le taux d'émergence des nymphes en adultes dans la zone témoin était de 0,90 (écart-type = 0,09) et celui dans la zone de lâcher était de 0,75 (écart-type = 0,37).

Le taux de développement des œufs en adultes pour les deux espèces confondues n'était pas significativement différent (Test de Wilcoxon, W=30, P = 0,08), même si nous pouvons observer que ce taux dans la zone témoin était de 0,57 (écart-type = 0,10) alors qu'il était de 0,30 (écart-type = 0,32) dans la zone de lâcher.

Si nous considérons les espèces séparément, la proportion d'*Ae. aegypti* adulte qui s'est développée à partir des œufs était significativement plus importante dans la zone témoin que dans la zone de lâcher après le deuxième et le troisième lâcher (test de Wilcoxon, W=31, p = 0,03) (figure 29). La proportion d'adulte *Ae. aegypti* qui s'est développée à partir des œufs dans la zone témoin était de 0,07 (écart-type = 0,09) alors que dans la zone de lâcher elle était de 0,005 (écart-type = 0,013). La proportion d'*Ae. albopictus* qui s'est développée à partir des œufs dans la zone témoin n'était pas significativement supérieure à celle de la zone de lâcher (test de Wilcoxon, W = 28, p = 0,13). Dans la zone témoin, la proportion d'adultes *Ae. Albopictus* qui s'est développée à partir des œufs était de 0,50 (écart-type = 0,2) alors que dans la zone de lâcher elle était de 0,29 (écart-type = 0,32).

A l'échelle des sites, il a été possible d'utiliser la proportion d'*Ae. aegypti* dans la zone témoin, pour calculer le taux d'éclosion des œufs d'*Ae. aegypti*, qui étaient de 0,62 (écart-type = 0,06) et 0,38 (écart-type = 0,08) dans les sites témoin et de lâcher respectivement. L'indice de Fried, calculé à partir de ces taux d'éclosion dans la zone témoin et dans la zone de lâcher, ainsi qu'à partir du ratio de mâles stériles sur mâles sauvages R de 0,88 capturés dans les pièges à adultes, était égal à 0,74.

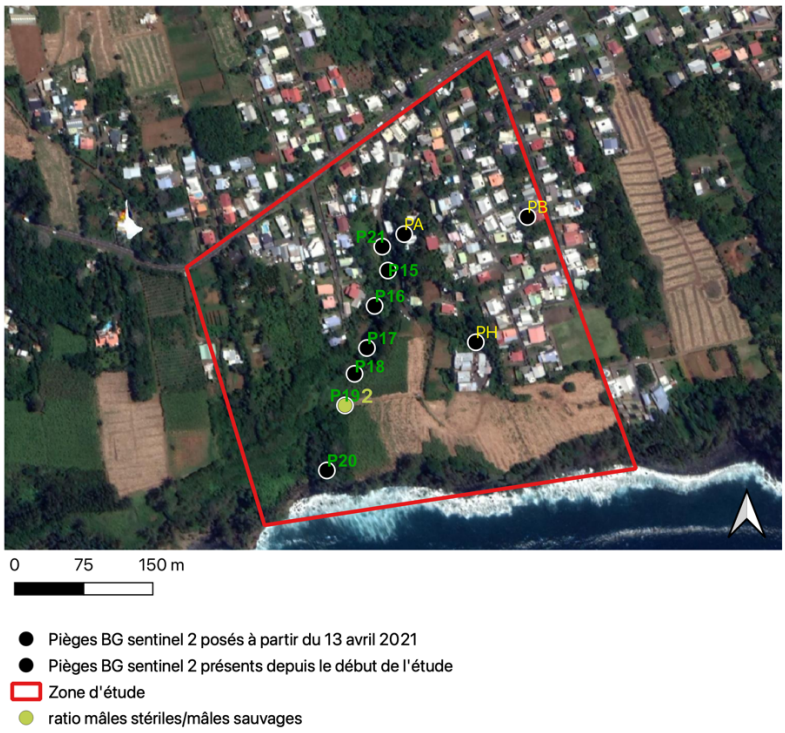


Fig. 23 Carte montrant les pièges positifs le 03/05/2021 (en jaune) à la recapture des mâles stériles Aedes aegypti lâchés le 30/04/2021. Le ratio de mâles stériles recapturés d'Aedes aegypti par rapport aux mâles sauvages est de 2 pour le piège P19 : deux mâles stériles marqués ont été recapturés contre 1 mâle sauvage.

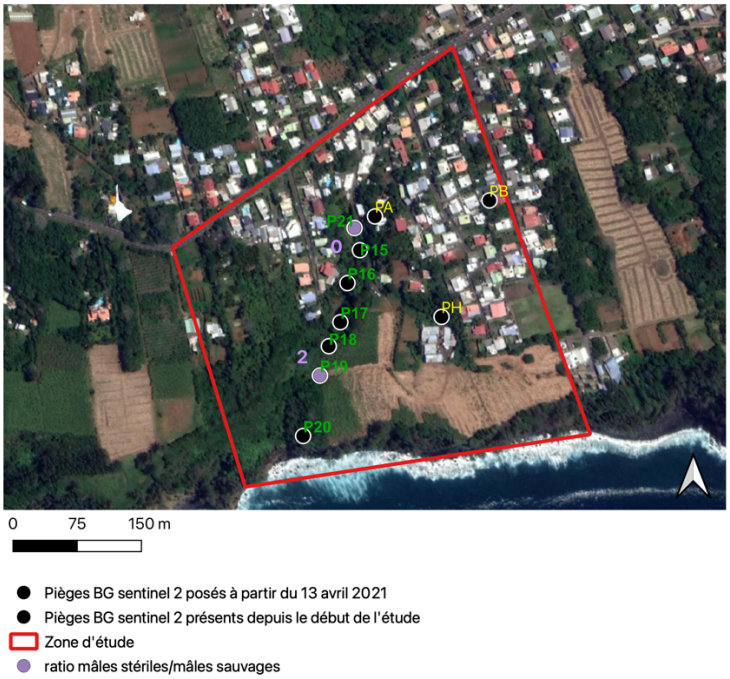


Fig. 24 Carte montrant les pièges positifs le 04/05/2021 (en violet) à la recapture des mâles stériles Aedes aegypti lâchés le 30/04/2021. Le ratio de mâles stériles recapturés d'Aedes aegypti par rapport aux mâles sauvages est de 2 pour le piège P19 : deux mâles stériles marqués ont été recapturés contre 1 mâle sauvage. Pour le piège P21, le ratio est de 0 : 1 mâle stérile et 0 mâle sauvage.

Le taux de réduction de la production d'adultes *d'Ae. aegypti* à partir des œufs dans la zone de lâcher par rapport à la zone témoin était de 95,5% (Test de Wilcoxon, W = 31, P = 0.03) alors que celui *d'Ae. albopictus* est seulement de 36 %, et non significatif (Test de Wilcoxon, W = 28, P = 0,13).

Discussion

Tests qualité au laboratoire

Survie en laboratoire

Les moustiques mâles stériles ont une meilleure survie en laboratoire lorsqu'ils sont nourris avec une solution sucrée à 8% que lorsqu'ils ne sont pas nourris. Nous pouvons faire l'hypothèse que le très faible taux de survie des moustiques mâles stériles du premier lâcher est dû au fait qu'ils n'ont pas réussi à se nourrir sur le terrain. Bellini en 2014 a montré que l'administration de sucre aux moustiques émergents *d'Ae. albopictus* permettait d'augmenter leur probabilité de survie et leur compétitivité (Bellini et al., 2014). Au contraire, la durée de vie moyenne des individus du second lâcher semble plus proche de celle des moustiques ayant reçu du jus sucré.

Contamination par les femelles

La contamination par les femelles a été généralement vérifiée sur 150 moustiques, parfois plus. Néanmoins, il serait préférable pour les prochains lots de vérifier la contamination sur au moins 300 moustiques afin d'avoir un échantillon plus représentatif du lot. En effet, le taux légal étant de 1% de femelles[1], compter 300 moustiques permettrait d'avoir une latitude de 1 à 3 femelles observées au maximum, alors qu'il n'est que de 1 pour 150.

Flight test et dommages

Le flight test est un bon estimateur de la qualité des moustiques. Culbert en 2018, a utilisé ce dernier afin de donner des recommandations sur l'irradiation, le refroidissement ainsi que le compactage des moustiques pour leur assurer la meilleure qualité possible (Nicole J. Culbert et al., 2018). Le pourcentage de moustiques échappés excède rarement les 85 à 90% sans traitement dans cette dernière étude. Comparativement à nos résultats où nous avons obtenu un pourcentage maximal d'échappés d'environ 77% pour les moustiques du second lâcher, nous pouvons dire que ces moustiques avaient une bonne qualité. En effet, la capacité de vol est un bon indicateur de la qualité des insectes volants (Benedict et al., 2009; Carpenter et al., 2012). Ici, le pourcentage de mâles stériles échappés n'est pas corrélé à la durée de transport mais cela est sûrement dû au fait qu'il n'y a pas eu

[1] http://www.reunion.gouv.fr/IMG/pdf/2021-282.pdf

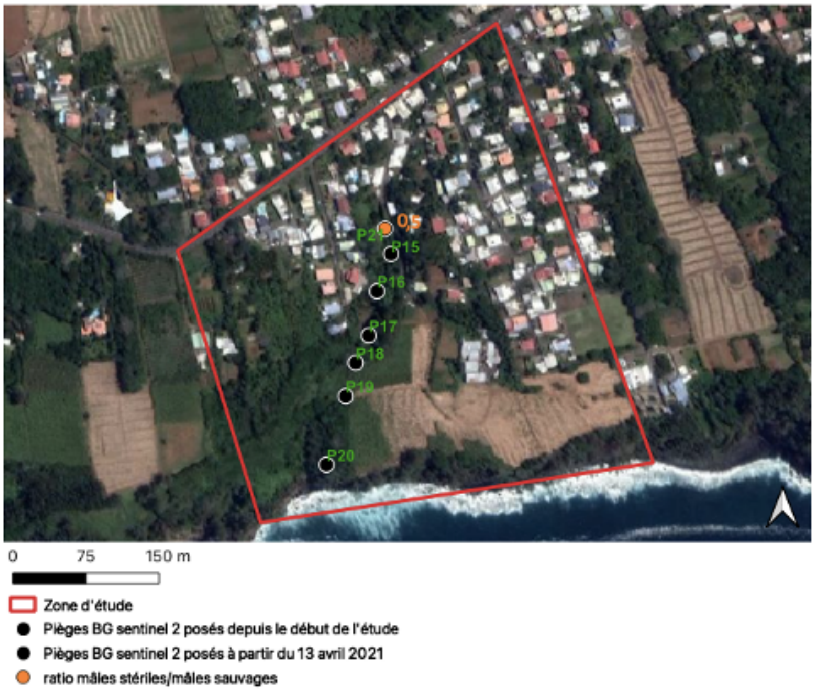


Fig. 25 Carte montrant les pièges positifs le 05/05/2021 (en orange) à la recapture des mâles stériles Aedes aegypti lâchésau sol le 04/05/2021. Le ratio de mâles stériles recapturés d'Aedes aegypti par rapport aux mâles sauvages est de 0,5 pour le piège P21 : 1 mâle stérile marqué a été recapturé contre 2 mâles sauvages.

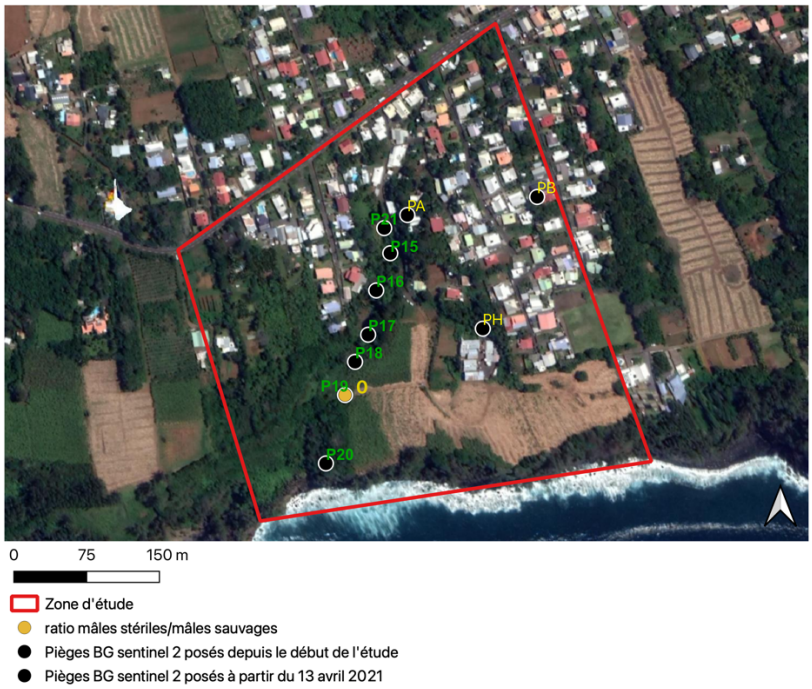


Fig. 26 Carte montrant les pièges positifs le 06/05/2021 (en jaune) à la recapture des mâles stériles Aedes aegypti lâchés par drone le 04/04/2021. Le ratio de mâles stériles recapturés d'Aedes aegypti par rapport aux mâles sauvages est de 0 pour le piège P21 : 1 mâle stérile marqué a été recapturé contre aucun mâle sauvage.

suffisamment de répétitions des tests de vol et ils n'ont pas toujours été réalisés avec le bon effectif (100 moustiques) par manque de moustiques.

Paramètres de lâcher

Nous n'avons pas pu comparer les lâchers par drone et au sol à cause des problèmes de fret aérien qui ne nous ont pas permis de recevoir suffisamment de moustiques. Cependant, une étude en 2020 au Brésil, a montré que les lâchers par drone à une altitude de 100 m avaient de meilleurs résultats en terme de dispersion que les lâchers à 50 m ou au sol mais une meilleure survie pour les lâchers à 50 m plutôt qu'à 100 m d'altitude (Bouyer et al., 2020). De bons résultats sur la dispersion et la survie ont été obtenus lors de lâchers aériens de *Ceratitis capitata (FAO/IAEA, 2007)* ou d'*Ae. aegypti* par drone au Brésil (Bouyer et al., 2020). De plus, les lâchers aériens sont connus pour être moins chers et plus efficaces (Tan and Tan, 2013), il est donc intéressant de continuer à tester les lâchers par drone lors de la phase de suppression.

La dispersion n'a pas pu être évaluée sur ces lâchers mais une attention particulière devra être portée sur l'altitude du drone pour les prochains lâchers. La température du système de lâcher est également un paramètre important à prendre en compte lors des lâchers. En effet, le système de lâcher contenant les moustiques devrait être maintenu à une température entre 8 et 12°C afin que les moustiques se comportent comme des particules inertes (Nicole J. Culbert et al., 2018). Durant le lâcher par drone du 4 mai , la température est montée jusqu'à 28°C à la fin du lâcher à cause du manque de paquets de soluté à changement de phase. Grâce à la présence de paquets de soluté à changement de phase pour les prochains lâchers, les moustiques mâles stériles pourront être maintenus à une basse température durant le vol.

Recapture et survie

Tout d'abord, le pourcentage de pièges ayant recapturé des mâles marqués pour le premier lâcher est plus faible que celui du lâchers par drone d'*Ae. aegypti* par drone au Brésil en 2020 (69%) (Bouyer et al., 2020). Les lâchers ponctuels au sol, ne permettent pas une répartition homogène des mâles stériles dans la zone d'étude contrairement aux lâchers par drone comme le montre l'essai TIS au Brésil (Bouyer et al., 2020). Le taux de recapture (1% et 0,03%) ont été très variables dans notre étude, mais restent dans la gamme des taux observés pour les *Ae. aegypti* lâchés par drone au Brésil (0,32%) mais aussi pour les mâles *Ae. aegypti* génétiquement modifiés (0,04 %) lâchés au sol au Brésil (Harris et al., 2011) ou celui des *Ae. albopictus* dans l'essai TIS-T2I en Chine (0.09%; SD, 0.07%) (Zheng et al., 2019). Le taux de recapture du second lâcher (0,03%) est nettement inférieur à celui du premier lâcher. Ce très faible taux de recapture malgré une meilleure qualité des moustiques peut s'expliquer par la météo durant cette semaine de recapture. En effet, il a plu chaque jour de recapture, empêchant les pièges *BG sentinel 2* d'aspirer les éventuels moustiques marqués. Lorsque

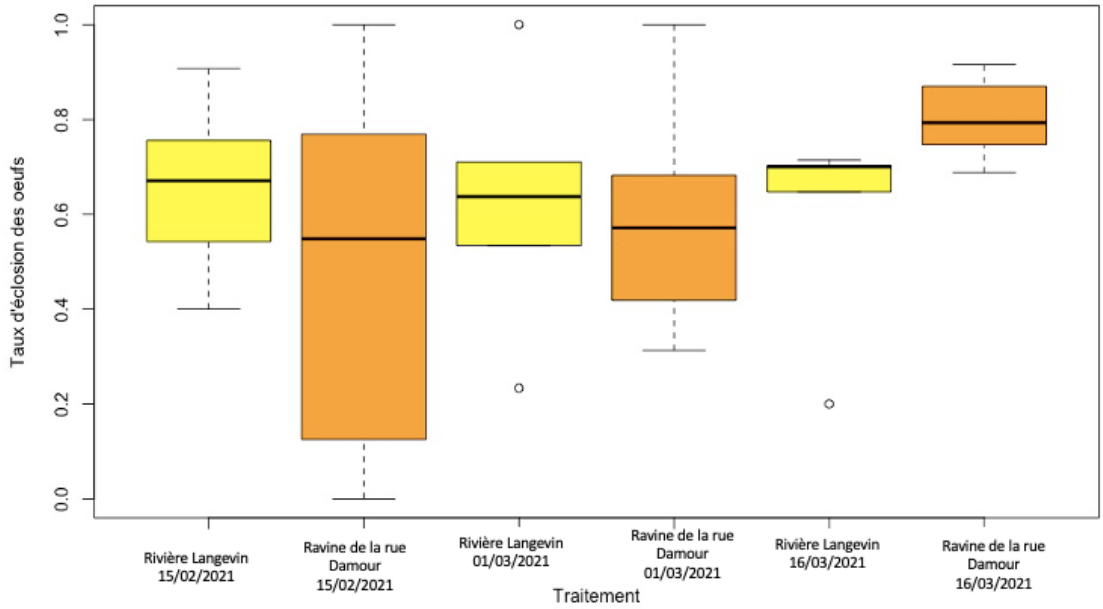


Fig. 27 Boxplot des taux d'éclosion des œufs récoltés dans les pièges pondoirs en fonction du site et de la date. Le taux d'éclosion médian des œufs par jour et par piège avant le lâcher sur les deux sites varie entre 0,4 et 0,8. Avant le premier lâcher, il n'existait pas de différence significative du taux d'éclosion par jour et par piège de la densité des œufs récoltés toutes espèces confondues dans les pièges pondoirs entre le site témoin et le site de lâcher (Modèle linéaire généralisé mixte ajusté avec le maximum de vraisemblance, Estimation = - 0,1065, Ecart-type = 0,3856, z = -0,276, P = 0,7825).

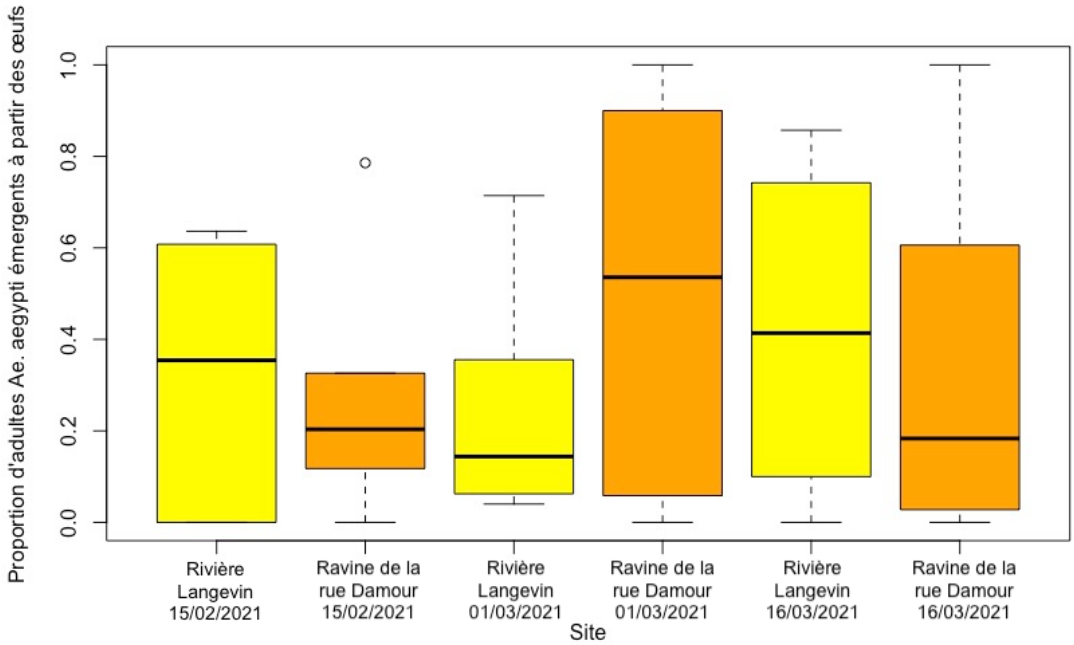


Fig. 28 Fig. Boxplot des proportions d'adultes Aedes aegypti à partir des œufs récoltés sur le terrain en fonction du site et de la date. La proportion d'*Ae. aegypti* émergents à partir des œufs récoltés sur le terrain n'était pas différente entre les deux sites avant le lâcher *(GLMM de type binomial avec lien logit, Estimation : 0,8996, Ecart-type = 0,8173, z= 1,101, P = 0,27101)*

les gouttelettes de pluie viennent boucher les aérations présentes sur le couvercle, le cône d'aspiration se ferme partiellement ou totalement et attrape moins, voire plus de moustiques. La quasi-totalité des pièges étaient fermés ou juste entrouverts lors de la relève des filets durant les quatre jours. Aussi, la pluie a pu lessiver le biocide et la poudre fluorescente présents sur les moustiques, diminuant notre capacité de les détecter. La seule comparaison entre un lâcher au sol et par drone réalisée lors du 3eme lâcher n'a pas montré de différence significative entre les deux méthodes.

Ensuite, la présence de nombreux mâles recapturés dans un des pièges avec des mâles sauvages est un phénomène encourageant dans un programme TIS (Howell and Knols, 2009). Ce résultat suggère que les mâles stériles ont pris part à un essaim. Chez *Ae. aegypti*, les mâles en recherche de femelles se regroupent et forment un essaim. La femelle probablement en recherche de repas de sang s'approche de l'essaim et entre à l'intérieur (Hartberg, 1971). Les mâles repèrent la femelle grâce à ses battements d'ailes différents de ceux d'un mâle et la poursuivent pour s'accoupler (Aldersley and Cator, 2019). Le résultat du premier lâcher avec la capture de 18 mâles marqués dans un même piège parmi de nombreux mâles sauvages suggère que les mâles marqués ont pris part à un essaim et ont pu, peut-être, s'accoupler avec des femelles.

La probabilité de survie quotidienne des individus du premier lâcher était extrêmement faible comparativement aux résultats obtenus dans l'étude de Lacroix à propos de la survie des mâles et des femelles d'*Ae. albopictus* (0,94-0,96 pour les mâles) avec des mâles marqués recapturés jusqu'à 23 jours après le lâcher (Lacroix et al., 2009). La probabilité de survie quotidienne des mâles du second lâcher (0,86) était nettement meilleure et comparable aux résultats de Lacroix. De même, un marquage-lâcher-recapture *d'Ae. aegypti en* Australie a montré des probabilités de survie largement supérieures à celle du premier lâcher (0,57-0,91) (Muir and Kay, 1998). Les moustiques du second lâcher n'ayant voyagé que deux jours au lieu de quatre pour le premier lâcher ont semblé avoir une survie qui se rapprochait de celle observée dans d'autres études.

Enfin, les lâchers ont montré une espérance de vie moyenne des moustiques stériles marqués courte comprise en 3 et 6 jours pour le premier et le second lâcher respectivement comparé aux résultats de Lacroix où l'espérance de vie moyenne des mâles *Ae. albopictus* non irradiés variait entre 16,2 et 24, 5 jours. Bien que nos résultats d'espérance de vie moyenne soit plus faible que dans la précédente étude, ces résultats permettent d'évaluer la fréquence des lâchers qui pourra être espacée d'une semaine si les moustiques mâles stériles sont de bonne qualité.

Estimation de la taille de la population

Aedes aegypti est peu étudié à la Réunion mais une étude en 2008 a montré sa présence dans des ravines à Saint Joseph entre autre. Aucune estimation de la taille n'a été faite mais une prospection a été réalisé afin de trouver des larves. Dans cette étude, 330 larves d'*Ae. aegypti* avaient été trouvé

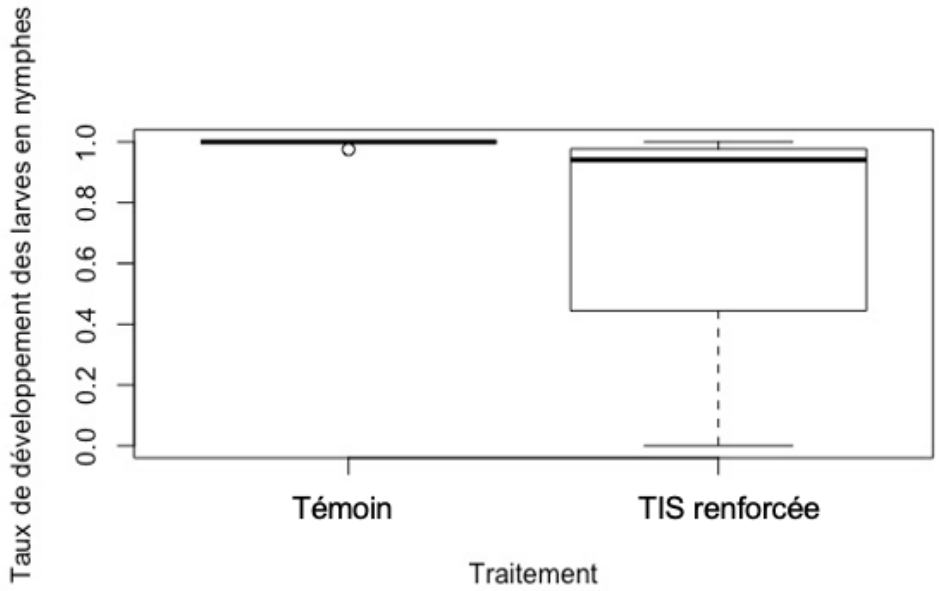


Fig. 29 Boxplot du taux de développement des larves en nymphes toutes espèces confondues en fonction du traitement (TIS renforcée ou témoin). Le taux global de développement des larves en nymphes dans la zone témoin est supérieur à celui de la nymphose dans la zone de lâcher (test de Wilcoxon, W=34, p=0,018).

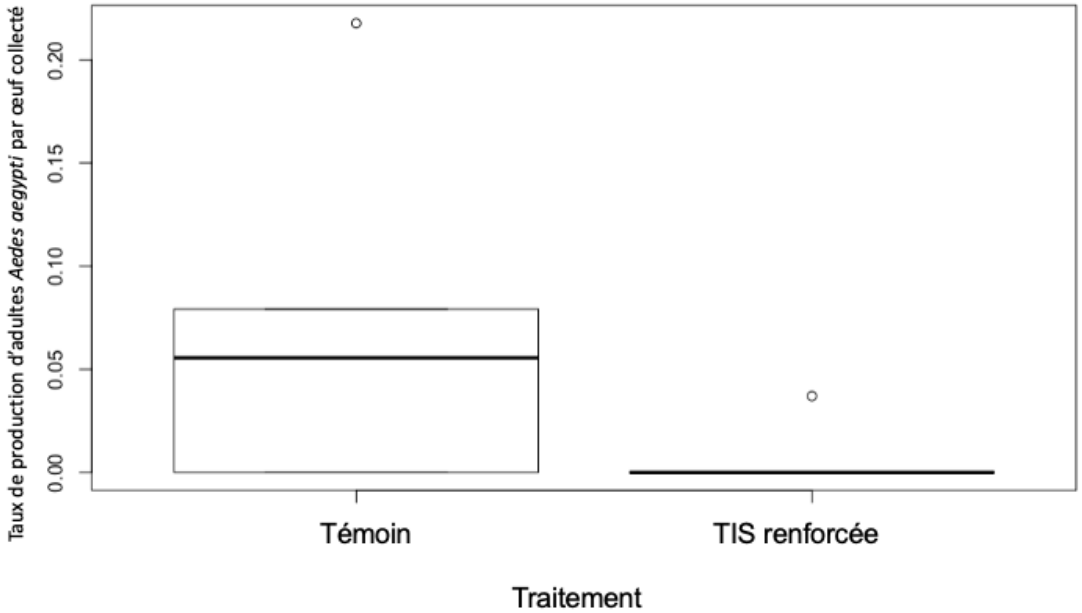


Fig. 30 Boxplot du taux de production d'adultes Aedes aegypti par œuf collecté en fonction du site d'étude. La proportion d'Aedes aegypti adulte qui s'est développée à partir des œufs était significativement plus importante dans la zone témoin que dans la zone de lâcher (test de Wilcoxon, W=31, p = 0,03). La proportion d'adulte Aedes aegypti qui s'est développée à partir des œufs dans la zone témoin était de 0,07 (écart-type = 0,09) alors que dans la zone de lâcher elle était de 0,005 (écart-type = 0,013).

(Bagny et al., 2009). Au vu des résultats de nos estimations (11 900 mâles en mars et environ 20 000 mâles en mai), le nombre d'*Ae. aegypti* présents dans les sîtes infestés de l'île pourrait être sous-estimé. Aussi, cette fluctuation dans l'estimation de la taille de notre population pourrait s'expliquer par des variations saisonnières comme c'est le cas pour *Ae. albopictus* au Nord de l'île (Gouagna et al., 2015) ou par des fluctuations d'échantillonage liées à notre faible taux de recapture.

Dispersion attendue

Il existe peu d'études sur la dispersion des mâles d'*Ae. aegypti*. Bouyer et ses collaborateurs en 2020 ont estimé la dispersion des mâles stériles marqués d'*Ae. aegypti* lâchés par drone (Bouyer et al., 2020). La dispersion augmentait avec l'altitude de lâcher avec une dispersion moyenne allant de 133 à 153 m pour des altitudes de lâcher de respectivement 50 m et 100 m. La dispersion moyenne dans cette étude diminuait lorsque les mâles stériles étaient lâchés au sol (83 m). Le mâle ayant été recapturé à plus de 170 m du point de lâcher pourrait être un mâle restant dans le système de lâcher qui s'est dispersé à partir de l'endroit où les voitures étaient garées. En effet, la dispersion de mâles non stériles d'*Ae. aegypti* a été calculée dans une étude en 2012 au Sud du Mexique et a montré une distance moyenne parcourue allant de 12 à 166 mètres (Scott et al., 2012). Nous n'avons pas assez de données pour estimer la dispersion des moustiques mâles stériles lâchés dans cette étude. Cependant, la faible dispersion des mâles d'*Ae. aegypti* montre l'importance de lâchers uniformes de mâles stériles dans un programme de TIS comme dans l'étude réalisée au Brésil avec des lâchers aériens (Bouyer et al., 2020).

Comparabilité des sites d'étude

La comparaison du site témoin et du site de lâcher est importante à faire avant de commencer les lâchers afin de pouvoir dire si le déclin de la population dans la zone de lâcher est dû à la TIS ou si les populations déclinent dans les deux zones d'étude (Oliva et al., 2021). En effet, un déclin de la population pourrait être dû aux variations saisonnières des populations par exemple (Gouagna et al., 2015). Avant de commencer un programme TIS, il est donc important de s'assurer que le nombre d'*Ae. aegypti* capturés par piège et par jour est le même dans la zone témoin et dans la zone d'étude. Si les deux zones ne sont pas comparables en terme de densité *d'Ae. aegypti*, la zone témoin ne peut pas être utilisée pour calculer la compétitivité des mâles stériles. Dans notre étude, les populations d'*Ae. aegypti* sont comparables entre les deux sites. Le taux d'éclosion des œufs ainsi que la proportion d'adultes d'*Ae. aegypti* capturés dans la zone de lâcher toutes espèces confondues n'étaient pas différents de ceux dans la zone témoin même en incluant les taux d'éclosion de la première semaine de lâcher . Le taux d'éclosion des œufs toutes espèces confondues dans la zone de lâcher n'étant pas différent de celui de la zone témoin, y compris en intégrant les données du premier

lâcher, nous pouvons en déduire que le premier lâcher n'a pas eu d'impact sur le taux d'éclosion des œufs, probablement en raison du faible nombre de mâles stériles lâchés (2000). La compétitivité de ces mâles stériles n'a donc pas pu être calculée.

Compétitivité

Tout d'abord, la variabilité observée des taux de développement des larves dans la zone de lâcher peut-être due à une contamination variable des pièges. En effet, ceux-ci peuvent être contaminés indirectement par un nombre variable de femelles (Haramboure et al., 2020) ayant rencontré un mâle stérile ou même directement par un mâle stérile.

La forte compétitivité obtenue (0,74) est inattendue. En effet, ces résultats sont meilleurs que ceux obtenus dans tous les essais menés précédemment pour la TIS classique (Bouyer and Vreysen, 2020). Par exemple, lors des lâchers de mâles stériles *d'Ae. albopictus* au Nord de l'Italie, la compétitivité obtenue variait entre 0,02 et 0,37 (Bellini et al., 2020). Pour des lâchers au sol d'*Ae. aegypti* génétiquement modifiés, la compétitivité était inférieure à 0,06 (Harris et al., 2011). Lors des lâchers par drone de mâles stériles d'*Ae. aegypti* au Brésil, les auteurs ont obtenu un ratio de 0,8 mâles stériles pour 1 mâle sauvage et ont estimé un indice de compétitivité de Fried de 0,26 avec un taux d'éclosion faible dans la zone de lâcher (50%) (Bouyer et al., 2020). Le résultat obtenu lors du second lâcher indique donc que nos mâles stériles sont très compétitifs face aux mâles sauvages. Le taux de stérilité induite (39%) est relativement faible lorsque l'on compare ce résultat aux taux de stérilité induite moyenne obtenus dans l'essai TIS au Nord de l'Italie allant de 18,72% à 68,46% (Bellini et al., 2020), mais relativement élevé pour un ratio inférieur à 1, et considérant que l'objectif de ce lâcher n'était pas de réduire la population cible.

L'imprégnation avec du pyriproxifène des mâles *Ae. aegypti* a permis d'augmenter l'impact du lâcher de mâles stériles. En effet, les mâles stériles ont permis de faire diminuer le taux d'éclosion des œufs d'*Ae. aegypti* mais le pyriproxifène a sûrement contribué aussi au pourcentage élevé de réduction de la production d'adultes d'*Ae. aegypti* à partir des œufs (de 95,5%). Des études avec des *Ae. albopictus* et des *Ae. aegypti* contaminés avec du pyriproxifène (mais non irradiés) aux États-Unis, ont montré que les mâles pouvaient permettre la contamination de l'eau des gites larvaires à des taux élevés diminuant significativement la survie des nymphes ou même empêchant l'émergence de la totalité des nymphes présentes (Brelsfoard et al., 2019; Mains et al., 2015).

Les résultats obtenus sont encourageants pour la phase de suppression de la population d'*Ae. aegypti* dans la ravine de la rue Damour qui commencera prochainement. En effet, les mâles stériles doivent être suffisamment compétitifs face aux mâles sauvages pour s'assurer qu'ils stériliseront un nombre suffisant de femelles sauvages. D'après les recommandations de l'approche conditionnelle pour les essais TIS de l'AIEA, la compétitivité des mâles évaluée au cours de la phase de marquage-lâchers-recapture doit être supérieure à 0,2 pour commencer la phase de suppression. Une compétitivité de

0,2 signifie qu'il faut cinq mâles stériles par mâle sauvage pour induire 50% de stérilité. En dessous de ce seuil, il serait nécessaire d'augmenter le nombre de mâles stériles lâchés et la TIS ne serait alors plus rentable (Bouyer and Vreysen, 2020).

Conclusion

Pour conclure, la comparaison entre les lâchers aériens par drone et les lâchers au sol a pu être réalise qu'une seule fois, ce qui est insuffisant pour en tirer des conclusions. En ce qui concerne les paramètres, la dispersion n'a pas pu être calculée avec pour cause les difficultés pour les transports aériens des moustiques et par conséquent le manque de lâchers. Cependant, nous avons pu calculer la compétitivité sur un lâcher. La compétitivité des mâles stériles du second lâcher était de 0,74 pour un ratio de mâles stériles sur les mâles sauvages de 0,88. La bonne compétitivité des mâles a permis d'observer une baisse significative du taux d'éclosion des œufs d'*Ae. aegypti* ainsi que de la production d'adultes d'*Ae. aegypti* à partir des œufs récoltés lors de la session de marquage-lâcher-recapture après le second lâcher. Une réduction de la production d'adultes d'*Ae. aegypti* à partir des œufs de 95,5% a été observée par rapport à la zone témoin. Préalablement à ces calculs, nous avons dû prouver que les deux sites étaient comparables avant les lâchers, en terme de densités d'adultes *Ae. aegypti* capturés et d'œufs d'*Ae. aegypti* récoltés dans les deux sites d'étude. La survie des moustiques a été meilleure lors du second lâcher avec une probabilité de survie quotidienne de 0,86 et se rapproche des probabilités de survie observées dans d'autres études.

Bien que la comparaison entre les lâchers au sol et par drone n'ait pu être faite qu'une seule fois, il serait intéressant de continuer à utiliser le drone notamment pour permettre une meilleure dispersion des moustiques et augmenter la rapidité des lâchers. Les tests qualité n'ayant pas été faits rigoureusement à cause de la mortalité importante liés aux temps de transport trop longs, les liens entre les dommages sur les moustiques et les paramètres de transport (durée, température, humidité) n'ont pas pu être établis, mais avec plus de résultats rigoureux, des recommandations de transport pourront être écrites pour les prochains envois. De même, pour le test de la capacité de vol des moustiques, les mesures sur les prochains lâchers devraient permettre d'établir des corrélations entre la capacité de vol, qui est un bon indicateur de qualité chez les insectes volants, et les paramètres de transport. Enfin, le test qualité vérifiant la contamination des femelles devrait être fait sur des échantillons au moins égal à 300 moustiques pour permettre une plus grande latitude de décision par rapport au taux légal autorisé (de 1%).

Les résultats de cette étude et plus particulièrement ceux obtenus pour le second lâcher sont prometteurs pour la suite du projet.

Références

Adamou, R., Abdoulaye, A., Soumaïla, M., Moussa, I., Coly, A., Tine, A., 2010. Dégradation abiotique de la Deltaméthrine et de l'Etofenprox dans les eaux naturelles du Niger 11.

Andreasen, M.H., Curtis, C.F., 2005. Optimal life stage for radiation sterilization of Anopheles males and their fitness for release. Med. Vet. Entomol. 19, 238–244. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00565.x

Bagny Beilhe, L., Delatte, H., Juliano, S.A., Fontenille, D., Quilici, S., 2013. Ecological interactions in *Aedes* species on Reunion Island. Med. Vet. Entomol. 27, 387–397. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01062.x

Bellini, R., Carrieri, M., Balestrino, F., Puggioli, A., Malfacini, M., Bouyer, J., 2020. Field Competitiveness of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Irradiated Males in Pilot Sterile Insect Technique Trials in Northern Italy. J. Med. Entomol. tjaa235. https://doi.org/10.1093/jme/tjaa235

Bellini, R., Medici, A., Puggioli, A., Balestrino, F., Carrieri, M., 2013. Pilot Field Trials With *Aedes albopictus* Irradiated Sterile Males in Italian Urban Areas. J. Med. Entomol. 50, 317–325. https://doi.org/10.1603/ME12048

Bellini, R., Puggioli, A., Balestrino, F., Carrieri, M., Urbanelli, S., 2018. Exploring protandry and pupal size selection for *Aedes albopictus* sex separation 7.

Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X., James, A.A., 2013. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. Trends Parasitol. 29, 460–468. https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.07.003

Bouyer, J., Culbert, N.J., Dicko, A.H., Pacheco, M.G., Virginio, J., Pedrosa, M.C., Garziera, L., Pinto, A.T.M., Klaptocz, A., Germann, J., Wallner, T., Salvador-Herranz, G., Herrero, R.A., Yamada, H., Balestrino, F., Vreysen, M.J.B., 2020. Field performance of sterile male mosquitoes released from an uncrewed aerial vehicle. Sci. Robot. 5, eaba6251. https://doi.org/10.1126/scirobotics.aba6251

Bouyer, J., Lefrançois, T., 2014. Boosting the sterile insect technique to control mosquitoes. Trends Parasitol. 30, 271–273. https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.002

Bouyer, J., Vreysen, M.J.B., 2020. Yes, Irradiated Sterile Male Mosquitoes Can Be Sexually Competitive! Trends Parasitol. 36, 877–880. https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.09.005

Bouyer, Jérémy, Yamada, H., Pereira, R., Bourtzis, K., Vreysen, M.J.B., 2020. Phased Conditional Approach for Mosquito Management Using Sterile Insect Technique. Trends Parasitol. 36, 325–336. https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.01.004

Brady, O.J., Gething, P.W., Bhatt, S., Messina, J.P., Brownstein, J.S., Hoen, A.G., Moyes, C.L., Farlow, A.W., Scott, T.W., Hay, S.I., 2012. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. PLoS Negl. Trop. Dis. 6, e1760. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001760

Buonaccorsi, J.P., Harrington, L.C., Edman, J.D., 2003. Estimation and Comparison of Mosquito Survival Rates with Release-Recapture-Removal Data 13.

Caputo, B., Ienco, A., Cianci, D., Pombi, M., Petrarca, V., Baseggio, A., Devine, G.J., della Torre, A., 2012. The "Auto-Dissemination" Approach: A Novel Concept to Fight *Aedes albopictus* in Urban Areas. PLoS Negl. Trop. Dis. 6, e1793. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001793

Carrieri, M., 2020. Developing content for an e-learning course on analysis of data collected in Mark Release Recapture studies for Aedes mosquitoes (Confidential Report).

Couteyen, S., 2008. Impact sur *Nephila inaurata inaurata* (Walckenaer, 1842) (Aranae, Tetragnathidae, Nephilinae) 8.

Culbert, N.J., Gilles, J.R.L., Bouyer, J., 2019. Investigating the impact of chilling temperature on male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival. PLOS ONE 14, e0221822. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221822 Agence Française pour la Biodiversité, 2021. Avis du conseil scientifique sur un projet de lâcher de moustiques mâles stériles à La Réunion à des fins de lutte antivectorielle (Délibération). Agence Française pour la Biodiversité.

Aldersley, A., Cator, L.J., 2019. Female resistance and harmonic convergence influence male mating success in Aedes aegypti. Sci. Rep. 9, 2145. https://doi.org/10.1038/s41598-019-38599-3

Andreasen, M.H., Curtis, C.F., 2005. Optimal life stage for radiation sterilization of Anopheles males and their fitness for release. Med. Vet. Entomol. 19, 238–244. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00565.x

Bagny Beilhe, L., Delatte, H., Juliano, S.A., Fontenille, D., Quilici, S., 2013. Ecological interactions in *Aedes* species on Reunion Island. Med. Vet. Entomol. 27, 387–397. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01062.x

Bagny, L., Delatte, H., Quilici, S., Fontenille, D., 2009. Progressive Decrease in *Aedes aegypti* Distribution in Reunion Island Since the 1900s. J. Med. Entomol. 46, 1541–1545. https://doi.org/10.1603/033.046.0644

Bellini, R., Carrieri, M., Balestrino, F., Puggioli, A., Malfacini, M., Bouyer, J., 2020. Field Competitiveness of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Irradiated Males in Pilot Sterile Insect Technique Trials in Northern Italy. J. Med. Entomol. tjaa235. https://doi.org/10.1093/jme/tjaa235

Bellini, R., Medici, A., Puggioli, A., Balestrino, F., Carrieri, M., 2013. Pilot Field Trials With *Aedes albopictus* Irradiated Sterile Males in Italian Urban Areas. J. Med. Entomol. 50, 317–325. https://doi.org/10.1603/ME12048

Bellini, R., Puggioli, A., Balestrino, F., Brunelli, P., Medici, A., Urbanelli, S., Carrieri, M., 2014. Sugar administration to newly emerged Aedes albopictus males increases their survival probability and mating performance. Acta Trop. 132, S116–S123. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.11.022

Bellini, R., Puggioli, A., Balestrino, F., Carrieri, M., Urbanelli, S., 2018. Exploring protandry and pupal size selection for *Aedes albopictus* sex separation 7.

Benedict, M.Q., Knols, B.G., Bossin, H.C., Howell, P.I., Mialhe, E., Caceres, C., Robinson, A.S., 2009. Colonisation and mass rearing: learning from others. Malar. J. 8, S4. https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-S2-S4

Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X., James, A.A., 2013. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. Trends Parasitol. 29, 460–468. https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.07.003

Boussès, P., Dehecq, J.S., Brengues, C., Fontenille, D., 2013. Updated inventory of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of the island of La Réunion, Indian Ocean. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1990 106, 113–125. https://doi.org/10.1007/s13149-013-0288-7

Bouyer, J., Culbert, N.J., Dicko, A.H., Pacheco, M.G., Virginio, J., Pedrosa, M.C., Garziera, L., Pinto, A.T.M., Klaptocz, A., Germann, J., Wallner, T., Salvador-Herranz, G., Herrero, R.A., Yamada, H., Balestrino, F., Vreysen, M.J.B., 2020. Field performance of sterile male mosquitoes released from an uncrewed aerial vehicle. Sci. Robot. 5, eaba6251. https://doi.org/10.1126/scirobotics.aba6251

Bouyer, J., Lefrançois, T., 2014. Boosting the sterile insect technique to control mosquitoes. Trends Parasitol. 30, 271–273. https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.002

Bouyer, J., Vreysen, M.J.B., 2020. Yes, Irradiated Sterile Male Mosquitoes Can Be Sexually Competitive! Trends Parasitol. 36, 877–880. https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.09.005

Boyer, S., 2012. [Sterile insect technique: targeted control without insecticide]. Med. Trop. Rev. Corps Sante Colon. 72 Spec No, 60–62.

Brady, O.J., Gething, P.W., Bhatt, S., Messina, J.P., Brownstein, J.S., Hoen, A.G., Moyes, C.L., Farlow, A.W., Scott, T.W., Hay, S.I., 2012. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. PLoS Negl. Trop. Dis. 6, e1760. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001760

Brelsfoard, C.L., Mains, J.W., Mulligan, S., Cornel, A., Holeman, J., Kluh, S., Leal, A., Hribar, L.J., Morales, H., Posey, T., Dobson, S.L., 2019. Aedes aegypti Males as Vehicles for Insecticide Delivery. Insects 10, 230. https://doi.org/10.3390/insects10080230

Burnham, K.P., Anderson, D.R., Burnham, K.P., 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach, 2nd ed. ed. Springer, New York.

Caputo, B., Ienco, A., Cianci, D., Pombi, M., Petrarca, V., Baseggio, A., Devine, G.J., della Torre, A., 2012. The "Auto-Dissemination" Approach: A Novel Concept to Fight *Aedes albopictus* in Urban Areas. PLoS Negl. Trop. Dis. 6, e1793. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001793

Carpenter, J.E., Blomefield, T., Vreysen, M.J.B., 2012. A flight cylinder bioassay as a simple, effective quality control test for *Cydia pomonella*: Flight bioassay for quality control of codling moth. J. Appl. Entomol. 136, 711–720. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2012.01711.x

Carrieri, M., 2020. Developing content for an e-learning course on analysis of data collected in Mark Release Recapture studies for Aedes mosquitoes (Confidential Report).

Couteyen, S., 2008. Impact sur *Nephila inaurata inaurata* (Walckenaer, 1842) (Aranae, Tetragnathidae, Nephilinae) 8.

Cui, F., Raymond, M., Qiao, C.-L., 2006. Insecticide resistance in vector mosquitoes in China. Pest Manag. Sci. 62, 1013–1022. https://doi.org/10.1002/ps.1288

Culbert, Nicole J., Balestrino, F., Dor, A., Herranz, G.S., Yamada, H., Wallner, T., Bouyer, J., 2018. A rapid quality control test to foster the development of genetic control in mosquitoes. Sci. Rep. 8, 16179. https://doi.org/10.1038/s41598-018-34469-6

Culbert, N.J., Gilles, J.R.L., Bouyer, J., 2019. Investigating the impact of chilling temperature on male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival. PLOS ONE 14, e0221822. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221822

Culbert, Nicole Jean, Maiga, H., Somda, N.S.B., Gilles, J.R.L., Bouyer, J., Mamai, W., 2018. Longevity of mass-reared, irradiated and packed male *Anopheles arabiensis* and *Aedes aegypti* under simulated environmental field conditions. Parasit. Vectors 11, 603. https://doi.org/10.1186/s13071-018-3191-z

Dehecq, J.-S., 2014. Clé de détermination des moustiques de l'île de La Réunion.

Dehecq, J.-S., Baville, M., Margueron, T., Mussard, R., Filleul, L., 2011. La réémergence du chikungunya à La Réunion en 2010: évolution des actions de lutte antivectorielle. Bull. Société Pathol. Exot. 104, 153–160. https://doi.org/10.1007/s13149-010-0121-5

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

Delatte, H., Toty, C., Boyer, S., Bouetard, A., Bastien, F., Fontenille, D., 2013. Evidence of Habitat Structuring *Aedes albopictus* Populations in Réunion Island. PLoS Negl. Trop. Dis. 7, e2111. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002111

Devine, G.J., Perea, E.Z., Killeen, G.F., Stancil, J.D., Clark, S.J., Morrison, A.C., 2009. Using adult mosquitoes to transfer insecticides to *Aedes aegypti* larval habitats. Proc. Natl. Acad. Sci. 106, 11530–11534. https://doi.org/10.1073/pnas.0901369106

Dhanoa, A., Hassan, S.S., Ngim, C.F., Lau, C.F., Chan, T.S., Adnan, N.A.A., Eng, W.W.H., Gan, H.M., Rajasekaram, G., 2016. Impact of dengue virus (DENV) co-infection on

clinical manifestations, disease severity and laboratory parameters. BMC Infect. Dis. 16, 406. https://doi.org/10.1186/s12879-016-1731-8

Du, W., Hu, C., Yu, C., Tong, J., Qiu, J., Zhang, S., Liu, Y., 2019. Comparison between pupal and adult X-ray radiation, designed for the sterile insect technique for Aedes albopictus control. Acta Trop. 199, 105110. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105110

Failloux, A.-B., Vazeille, M., Rodhain, F., 2002. Geographic Genetic Variation in Populations of the Dengue Virus Vector *Aedes aegypti*. J. Mol. Evol. 55, 653–663. https://doi.org/10.1007/s00239-002-2360-y

FAO/IAEA (Ed.), 2007. Guidance for packing, shipping, holding and release of sterile flies in area-wide fruit fly control programmes, FAO plant production and protection paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Fried, M., 1971. Determination of Sterile-Insect Competitiveness. J. Econ. Entomol. 64, 869–872. https://doi.org/10.1093/jee/64.4.869

Geier, M., Rose, A., Grunewald, J., Jones, O., 2006. New mosquito traps improve the monitoring of disease vectors. Int. Pest Control 48, 124–126.

Gouagna, L.C., Dehecq, J.-S., Fontenille, D., Dumont, Y., Boyer, S., 2015. Seasonal variation in size estimates of Aedes albopictus population based on standard mark–release–recapture experiments in an urban area on Reunion Island. Acta Trop. 143, 89–96. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.12.011

Haramboure, M., Labbé, P., Baldet, T., Damiens, D., Gouagna, L.C., Bouyer, J., Tran, A., 2020. Modelling the control of Aedes albopictus mosquitoes based on sterile males release techniques in a tropical environment. Ecol. Model. 424, 109002. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109002

Harris, A.F., Nimmo, D., McKemey, A.R., Kelly, N., Scaife, S., Donnelly, C.A., Beech, C., Petrie, W.D., Alphey, L., 2011. Field performance of engineered male mosquitoes. Nat. Biotechnol. 29, 1034–1037. https://doi.org/10.1038/nbt.2019

Hartberg, W.K., 1971. Observations on the mating behaviour of Aedes aegypti in nature. Bull. World Health Organ. 45, 847–850.

Haut Conseil de la santé publique, 2018. Élaboration de recommandations pour autoriser le lâcher de moustiques stériles à des fins de lutte anti-vectorielle.

Hendrichs, J., Robinson, A., 2009. Sterile Insect Technique, in: Encyclopedia of Insects. Elsevier, pp. 953–957. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00252-6

Howell, P.I., Knols, B.G., 2009. Male mating biology. Malar. J. 8, S8. https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-S2-S8

Hurvich, C.M., Tsai, C.-L., 1995. Model Selection for Extended Quasi-Likelihood Models in Small Samples. Biometrics 51, 1077. https://doi.org/10.2307/2533006

Hustedt, J.C., Boyce, R., Bradley, J., Hii, J., Alexander, N., 2020. Use of pyriproxyfen in control of Aedes mosquitoes: A systematic review. PLoS Negl. Trop. Dis. 14, e0008205. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008205

Lacroix, R., Delatte, H., Hue, T., Reiter, P., 2009. Dispersal and survival of male and female Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) on Réunion Island. J. Med. Entomol. 46, 1117–1124. https://doi.org/10.1603/033.046.0519

Le Goff, G., Damiens, D., Ruttee, A.-H., Payet, L., Lebon, C., Dehecq, J.-S., Geier, M., Gouagna, L.-C., 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, 95. https://doi.org/10.3390/insects8030095

Lounibos, L.P., 1981. Habitat segregation among African treehole mosquitoes. Ecol. Entomol. 6, 129–154. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1981.tb00601.x

Lutrat, C., Giesbrecht, D., Marois, E., Whyard, S., Baldet, T., Bouyer, J., 2019. Sex Sorting for Pest Control: It's Raining Men! Trends Parasitol. 35, 649–662. https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.06.001

Mains, J.W., Brelsfoard, C.L., Dobson, S.L., 2015. Male Mosquitoes as Vehicles for Insecticide. PLoS Negl. Trop. Dis. 9, e0003406. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003406

Mamai, W., Maiga, H., Somda, N.S.B., Wallner, T., Konczal, A., Yamada, H., Bouyer, J., 2020. *Aedes aegypti* larval development and pupal production in the FAO/IAEA mass-rearing rack and factors influencing sex sorting efficiency. Parasite 27, 43. https://doi.org/10.1051/parasite/2020041

McBride, C.S., Baier, F., Omondi, A.B., Spitzer, S.A., Lutomiah, J., Sang, R., Ignell, R., Vosshall, L.B., 2014. Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. Nature 515, 222–227. https://doi.org/10.1038/nature13964

Mubarqui, R.L., Perez, R.C., Kladt, R.A., Lopez, J.L.Z., Parker, A., Seck, M.T., Sall, B., Bouyer, J., 2014. The Smart Aerial Release Machine, a Universal System for Applying the Sterile Insect Technique. PLoS ONE 9, e103077. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103077

Muir, L.E., Kay, B.H., 1998. Aedes aegypti survival and dispersal estimated by mark-release-recapture in northern Australia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 58, 277–282. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.58.277

Oliva, C.F., Benedict, M.Q., Collins, C.M., Baldet, T., Bellini, R., Bossin, H., Bouyer, J., Corbel, V., Facchinelli, L., Fouque, F., Geier, M., Michaelakis, A., Roiz, D., Simard, F., Tur, C., Gouagna, L.-C., 2021. Sterile Insect Technique (SIT) against Aedes Species Mosquitoes: A Roadmap and Good Practice Framework for Designing, Implementing and Evaluating Pilot Field Trials. Insects 12, 191. https://doi.org/10.3390/insects12030191

Pleydell, D.R.J., Bouyer, J., 2019. Biopesticides improve efficiency of the sterile insect technique for controlling mosquito-driven dengue epidemics. Commun. Biol. 2, 201. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0451-1

Powell, J.R., Tabachnick, W.J., 2013. History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 108, 11–17. https://doi.org/10.1590/0074-0276130395

Puggioli, A., Balestrino, F., Damiens, D., Lees, R.S., Soliban, S.M., Madakacherry, O., Dindo, M.L., Bellini, R., Gilles, J.R.L., 2013. Efficiency of three diets for larval development in mass rearing Aedes albopictus (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 50, 819–825. https://doi.org/10.1603/me13011

Reinbold-Wasson, D.D., Reiskind, M.H., 2021. Comparative Skip-Oviposition Behavior Among Container Breeding *Aedes* spp. Mosquitoes (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. tjab084. https://doi.org/10.1093/jme/tjab084

Reiter, P., 2007. Oviposition, Dispersal, and Survival in *Aedes aegypti:* Implications for the Efficacy of Control Strategies. Vector-Borne Zoonotic Dis. 7, 261–273. https://doi.org/10.1089/vbz.2006.0630

Salvan, M., Mouchet, J., 1994. *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* at Ile de la Réunion]. Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 74, 323–326.

Scott, T.W., Ramsey, J.M., Facchinelli, L., Valerio, L., 2012. Dispersal of Male Aedes aegypti in a Coastal Village in Southern Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 86, 665–676. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0513

Soghigian, J., Gloria-Soria, A., Robert, V., Le Goff, G., Failloux, A., Powell, J.R., 2020. Genetic evidence for the origin of *Aedes aegypti* , the yellow fever mosquito, in the

southwestern Indian Ocean. Mol. Ecol. 29, 3593–3606. https://doi.org/10.1111/mec.15590

Tan, L.T., Tan, K.H., 2013. Alternative air vehicles for sterile insect technique aerial release. J Appl Entomol 16.

Tantely, M.L., Tortosa, P., Alout, H., Berticat, C., Berthomieu, A., Rutee, A., Dehecq, J.-S., Makoundou, P., Labbé, P., Pasteur, N., 2010. Insecticide resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes from La Réunion Island. Insect Biochem. Mol. Biol. 40, 317–324. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.02.005

Thistlewood, H.M.A., Judd, G.J.R., 2019. Twenty-five Years of Research Experience with the Sterile Insect Technique and Area-Wide Management of Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.), in Canada. Insects 10, 292. https://doi.org/10.3390/insects10090292

Vincent, M., Larrieu, S., Vilain, P., Etienne, A., Solet, J.-L., François, C., Roquebert, B., Jaffar Bandjee, M.-C., Filleul, L., Menudier, L., 2019. From the threat to the large outbreak: dengue on Reunion Island, 2015 to 2018. Eurosurveillance 24. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.47.1900346

Vontas, J., Kioulos, E., Pavlidi, N., Morou, E., della Torre, A., Ranson, H., 2012. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. Pestic. Biochem. Physiol. 104, 126–131. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.05.008

World Health Organization, 2017. Global vector control response 2017-2030.

Wyss, J.H., 2006. Screwworm Eradication in the Americas. Ann. N. Y. Acad. Sci. 916, 186–193. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05289.x

Zheng, X., Zhang, D., Li, Y., Yang, C., Wu, Y., Liang, X., Liang, Y., Pan, X., Hu, L., Sun, Q., Wang, X., Wei, Y., Zhu, J., Qian, W., Yan, Z., Parker, A.G., Gilles, J.R.L., Bourtzis, K., Bouyer, J., Tang, M., Zheng, B., Yu, J., Liu, J., Zhuang, J., Hu, Zhigang, Zhang, M., Gong, J.-T., Hong, X.-Y., Zhang, Z., Lin, L., Liu, Q., Hu, Zhiyong, Wu, Z., Baton, L.A., Hoffmann, A.A., Xi, Z., 2019. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. Nature 572, 56–61. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1407-9

Annexe 1 : Photo du dispositif de test de vol (© Hamidou Maiga, AIEA)

Résumé
Mots clés : TIS, pyriproxifène, compétitivité, survie, dispersion
Les maladies à transmission vectorielles sont responsables de 17% de la morbidité des maladies infectieuses de la population mondiale et sont en constante augmentation. Ces maladies sont majoritairement transmises par les moustiques du genre Aedes et plus précisément les espèces Aedes albopictus et Aedes aegypti. Pour la première fois, pour augmenter l'impact de la TIS, des mâles stériles d'Aedes aegypti ont été traités avec une formulation de pyriproxifène. L'objectif de ce stage était d'évaluer la dispersion, la compétitivité et la longévité des mâles stériles traités lors de sessions de marquage-lâcher-recapture en appui à la conception d'une stratégie TIS renforcée dans le cadre du projet REVOLINC. Ce stage avait également pour but de comparer les lâchers au sol et par drone. Pour ce marquage-lâcher-recapture, des tests de qualité ont été effectués sur les moustiques avant leur lâcher afin d'évaluer leur survie, leur capacité de vol, la contamination par les femelles dans les lots de mâles stériles ainsi que les dommages (pattes manquantes et ailes abîmées). Les mâles stériles envoyés depuis l'AIEA ont été traités avec une formulation de poudre fluorescente contenant du pyriproxifène puis ont été lâchés à Saint Joseph, Damour au sol et par drone. Les mâles ont ensuite été recapturés les jours suivants le lâcher grâce à des pièges à adultes. Les moustiques ont ensuite été recapturés et comptés pour chaque piège. Sur les trois lâchers, seule la compétitivité des Ae. aegypti du second lâcher a pu être calculée, en tenant compte de la stérilité induite dans les œufs capturés par ovitraps. Les moustiques du second lâcher ont eu une bonne compétitivité de 0,74 pour un ratio de mâles stériles sur les mâles sauvages de 0,88. Ils ont également eu un taux de survie moyen de 0.86. Suite à ce lâcher, le taux d'éclosion des œufs des Ae. aegypti et le taux de production d'adultes d'Aedes aegypti à partir des œufs a diminué par rapport à ceux dans la zone témoin. Le taux de production d'Aedes aegypti adultes à partir des œufs récoltés a diminué de 95,5%. Ces résultats sont encourageants pour la phase de suppression qui démarrera prochainement.

Abstract
Key-words : SIT, pyriproxifen, competitiveness, survival, dispersal
Vector-borne diseases are responsible for 17% of infectious disease morbidity in the world's population and are constantly increasing. These diseases are mainly transmitted by mosquitoes of the genus Aedes and more specifically the species Aedes albopictus and Aedes aegypti. For the first time, to increase the impact of SIT, sterile males of Aedes aegypti were treated with a pyriproxifen formulation. The objective of this internship was to evaluate the dispersal, competitiveness and longevity of treated sterile males during mark-release-recapture sessions in support of the design of an enhanced SIT strategy within the REVOLINC project. The aim of the course was also to compare ground and drone releases. For this mark-release-recapture, quality tests were carried out on the mosquitoes prior to release to assess their survival, flight ability, contamination by females in batches of sterile males and damage (missing legs and damaged wings). Sterile males sent from the IAEA were treated with a fluorescent powder formulation containing pyriproxifen and then released in Saint Joseph, Damour on the ground and by drone. The males were then recaptured on the days following release using adult traps. Mosquitoes were then recaptured and counted for each trap. Of the three releases, only the competitiveness of Ae. aegypti from the second release could be calculated, taking into account the sterility induced in eggs captured by ovitraps. The mosquitoes from the second release had a good competitiveness of 0.74 for a ratio of sterile to wild males of 0.88. They also had an average survival rate of 0.86. Following this release, the hatching rate of Ae. aegypti eggs and the production rate of Aedes aegypti adults from the eggs decreased compared to those in the control area. The production rate of Aedes aegypti adults from the collected eggs decreased by 95.5%. These results are encouraging for the suppression phase that will start soon.