

18 Mai 2020

## Restitution des résultats des lâchers tests de mâles stériles d'*Aedes albopictus* réalisés à Duparc en 2019 dans le cadre du projet d'étude sur la Technique de l'Insecte stérile (TIS) à la Réunion

En référence à l'Arrêté préfectoral No2019 – 2213/SG/DRECV autorisant l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) à procéder à des lâchers expérimentaux de moustiques mâles stériles en vue d'études entomologiques au sein du quartier Duparc – Sainte –Marie, ce document fait une synthèse des résultats scientifiques obtenus et les principaux renseignements relevés de l'étude réalisée en 2019, à la lumière des recommandations émanant du Conseil Départemental de l'Environnement et des risques Sanitaires et technologiques (CODERST).

### Contexte et enjeux de l'étude

Depuis 2009, l'UMR MIVEGEC de l'Institut de recherche pour le développement (IRD) et ses partenaires conduisent un projet de recherche sur la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) à la Réunion. Il s'agit d'une technique déjà utilisée dans le monde agricole et vétérinaire depuis une cinquantaine d'années contre les insectes ravageurs mais jamais utilisée en France dans le domaine de la santé. Elle consiste à stériliser par rayonnement (rayons X par exemple) des moustiques tigres mâles élevés en laboratoire et à les relâcher dans la nature. Les femelles, fécondées par ces mâles, pondent des œufs qui n'éclosent jamais. Utilisée en complément des actions 'classiques' de lutte antivectorielle, cette méthode, préventive et non polluante, de contrôle des populations de moustiques permet de diminuer le risque de transmission de maladies humaines comme la dengue et le chikungunya.

Nos études en laboratoire, réalisées de 2009 à 2014, ont démontré l'efficacité de cette technique en conditions contrôlées. Dans la continuité de ce programme, nos recherches en phase 2A (2015-2018) ont eu pour objectif, d'effectuer des études préparatoires, sur le plan technique et scientifique, afin d'optimiser les conditions de production à grande échelle de moustiques mâles stériles ainsi que les processus d'échantillonnage et de suivi des populations d'*Aedes albopictus* (moustique tigre) dans la nature, nécessaires à l'élaboration des méthodes de lâchers de mâles stériles lors des essais pilotes de la phase 2B.

Avant d'envisager des lâchers massifs de moustiques mâles stériles pour contrôler les populations d'*Ae. albopictus* dans la nature, il a fallu d'abord disposer de données sur la capacité de survie et le comportement de ces mâles stériles une fois relâchés *in situ*. Les moustiques mâles stériles doivent survivre et se comporter aussi bien que leurs semblables sauvages. Si en laboratoire, leur durée de vie est identique, nous ignorons combien de temps les moustiques stériles vivent en milieu naturel. Ces informations nous aideront à perfectionner la stratégie de lâcher de ces insectes et à être prêts pour une mise en œuvre des essais visant à diminuer les populations naturelles du moustique tigre.

Ainsi au cours de l'année 2019, nous avons entrepris de réaliser trois lâchers avec de petits effectifs de moustiques mâles stériles produits au laboratoire, dans un site-pilote à Duparc Sainte-Marie de La Réunion. L'objectif n'est pas encore de lutter contre les moustiques tigre mais bien d'effectuer un test d'aptitude sur le terrain. Plus particulièrement, cette expérience devait répondre précisément à la question suivante : **les moustiques mâles produits au laboratoire et stérilisés aux rayons X sont-ils capables de survivre et de se disperser dans un environnement naturel ?**

## Démarche préconisée

Notre travail a été organisé en trois activités : La première a consisté à informer les habitants de Duparc avant de réaliser une enquête d'opinion pour recueillir le consentement des résidents de la zone des lâchers tests, et alimenter les réflexions du CODERST dans le cadre de l'évaluation de notre demande d'autorisation soumise à la Préfecture. La deuxième activité a permis la publication de l'Arrêté préfectoral autorisant les lâchers tests qui a consisté à réaliser une série d'expériences de Marquage-Lâcher-Recapture (MLR) avec un nombre limité de mâles stériles en juin, septembre et novembre 2019. Enfin la troisième activité a consisté à mettre en place, après chaque lâcher de moustiques, un dispositif méthodologique d'évaluation reposant sur des pièges à moustiques afin d'observer et comparer la capacité de survie et le comportement dans la nature de moustiques mâles stériles et ceux des moustiques mâles sauvages.

Ce rapport met en avant les principaux résultats obtenus au cours de ces activités.

### 1/ Enquête d'opinion et consentement éclairé des habitants.

Pour répondre aux recommandations de la Mairie de Sainte Marie, l'équipe technique de l'IRD a entrepris une campagne d'information auprès des résidents du secteur du quartier de Duparc, ciblée sur les lâchers expérimentaux de mâles stériles. Une note d'information spécifique concernant l'objectif des lâchers test, les procédures à mettre en œuvre pour permettre ces lâchés et la collaboration attendue entre scientifiques et résidents pour la pose des pièges à moustiques dans leur jardin, a été élaborée puis validée par les autorités de santé. Cette note d'information et le formulaire de consentement éclairé, à dater et à signer, ont été distribués lors des visites en porte à porte auprès de 84 foyers disséminés dans la zone d'étude. Les résultats ont montré une forte adhésion des habitants en faveur des tests de lâchers de mâles stériles à échelle réduite, avec 87 % d'avis favorable exprimés par les résidents interviewés.

A l'issue de cette enquête, une réunion publique a été organisée le lundi 3 juin 2019 à la salle polyvalente de Duparc. Les représentants de la Mairie et les riverains du quartier de Duparc ont été conviés (plus de 400 lettres d'invitation distribuées par boitage). Cette réunion publique a permis d'une part, d'éclairer les personnes présentes sur le projet TIS et les enjeux liés à son expérimentation à La Réunion et d'autre part, d'expliquer les objectifs de l'étude, la démarche et les résultats attendus, mais également de répondre aux éventuelles questions sur le projet TIS et les lâchers expérimentaux.

### 2/ Expériences de Marquage-Lâcher-Recapture pour l'étude du comportement des moustiques mâles stériles

Le succès d'un programme de lutte par la TIS dépend principalement de la capacité à produire et relâcher continuellement une grande quantité de mâles stériles compétitifs au cours d'une longue période. **La survie des mâles stériles, leur dispersion et leur capacité à s'accoupler efficacement avec les femelles, lorsqu'ils sont en compétition avec les mâles sauvages, sont des paramètres essentiels à connaître avant la mise en place efficace d'un programme TIS.** Il est de ce fait important d'évaluer l'effet du traitement sur le comportement des mâles stériles *in situ* en comparaison avec les mâles sauvages. La méthode classique, dite comparative qui a été utilisée ici, a consisté à évaluer la capacité de survie et le comportement des moustiques mâles stériles par la technique de Marquages-Lâchers-Recaptures, en comparaison avec des mâles sauvages non-stériles.

Suite à l'avis favorable du Conseil de l'Environnement et des Risques Sanitaires et Technologiques (CODERST) et l'accord de la Préfecture de la Réunion à travers l'arrêté préfectoral du 14/06/2019 autorisant des lâchers de moustiques mâles et stérilisés afin d'étudier leur comportement en milieu naturel, trois essais de Marquages-Lâchers-Recaptures, particulièrement encadrés par l'ARS et portés à la connaissance du grand public *via* les médias, ont été effectués sur le quartier de Duparc au cours

de l'année 2019 : en **juin** (début de l'hiver austral au moment où la densité des populations commence à baisser fortement), **septembre** (en hiver, période où les conditions sont défavorables aux moustiques) et **novembre** (début de l'été austral, moment où la densité des populations de moustiques remonte). **Sur cette base, les lâchers ont eu lieu les samedis 15 juin, 7 septembre et 9 novembre 2019.**

Afin de constituer des lots de moustiques sauvages à relâcher dans la nature, des œufs ont été récoltés préalablement pendant 5 à 6 semaines à Duparc à l'aide de pondoirs pièges. Ces œufs ont été mis à éclore et les larves mises en élevage au laboratoire jusqu'à la mue de la larve en nymphe. A ce stade, mâles et femelles de taille différente ont été séparés grâce à des tamis afin de ne garder que des nymphes mâles. A l'émergence, environ 3000 de ces moustiques tigre mâles adultes ont été marqués à l'aide d'une poudre fluorescente de couleur rouge. Ce groupe de moustiques mâles sauvages issus de la zone de Duparc a servi de témoin. Parallèlement, des nymphes issues de la colonie maintenue en routine en laboratoire ont été séparées par sexe et environ 3000 nymphes mâles ont été stérilisées par traitement aux rayons X à l'Établissement Français de Sang - hôpital Bellepierre. Après le traitement, les nymphes mâles ont été ramenées au laboratoire et placées dans des cages d'élevage jusqu'à l'émergence des adultes. Ces mâles stériles ont été enfin marqués avec une poudre fluorescente jaune pour les différencier des mâles témoin sauvage.

Une fois marqués, les jeunes mâles sauvages (témoin) et mâles stériles (test) ont été conservés pendant 24h en insectarium et nourris au jus sucré en guise de source d'énergie avant d'être relâchés dans la nature. Tous les lâchers ont généralement eu lieu un samedi en fin de journée. Les deux lots de moustiques ont été transportés en voiture jusqu'au site d'étude et relâchés. Dès le lendemain de chaque lâcher, un dispositif d'une vingtaine de pièges BG-sentinel a été déployé pour capturer à fois les moustiques mâles et femelles sauvages (non marqués) et les moustiques mâles préalablement marqués. Ainsi les pièges, séparés de 50 m environ les uns des autres, ont été placés chez des résidents volontaires, à différentes distances de 50 m, 75 m, 100 m et 150 m autour du point de relâcher des mâles stériles et non-stériles marqués (jusqu'à 180 m de distance dès le mois de juin 2019).

Au cours de chaque séance d'évaluation, les recaptures ont eu lieu durant 2 semaines consécutives. Chaque matin, entre 9 h et 11 h, les pièges préalablement identifiés par un numéro sont relevés et les sacs de capture changés. Chaque sac de capture a été identifié à l'aide de codes (numéro du piège, sa position par rapport au point de lâcher et jour de capture) avant d'être placé individuellement dans des boîtes en plastique hermétiques pour le transport. Au laboratoire, les lots de moustiques collectés sur le terrain ont été immobilisés en les plaçant dans un congélateur à -20°C pendant 30 min. Les moustiques présents dans chaque sac ont été identifiés individuellement par espèce sous loupe binoculaire. Le sexe des moustiques tigre déterminé, chaque moustique mâle a été examiné sous une lumière UV dans l'obscurité afin de vérifier la présence/absence de poudre fluorescente indiquant son « statut » : poudre jaune pour les mâles stériles ou rouge pour les mâles sauvages non stériles, absence de poudre fluorescente pour les mâles sauvages.

### 3/ Principaux résultats observés

En juin, septembre et novembre 2019, entre 2700 à 3500 mâles stériles et mâles non stériles ont été relâchés en même temps. Au cours du suivi de ces moustiques dans la nature, le pourcentage de mâles récupérés dans les pièges était environ de 8 et 10% de stériles contre 4 - 6% de non stériles sauvages. Plus précisément, le nombre de moustiques mâles stériles recapturés était de 222 en juin, 304 en septembre et 352 en novembre. Le nombre de mâles sauvages récupérés dans ces mêmes pièges était de 110 en juin, 116 en septembre et 209 en novembre. Les moustiques mâles marqués, stériles ou sauvages, ont été observés dans la nature jusqu'au dernier jour d'enquête, soit 14 jours après le lâcher sur le terrain.

En tenant compte de la durée de suivi (14 jours), les analyses des résultats de recapture ont montré que la probabilité quotidienne de survie était équivalente entre mâles stériles et mâles sauvages, quelle que soit la saison de lâchers (0,82 contre 0,86 en juin, 0,85 contre 0,90 en septembre, 0,92 contre 0,97 en novembre). Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre mâles sauvages et stériles dans leur distance moyenne de dispersion, indiquant ainsi que les moustiques stériles et les moustiques sauvages se dispersent de façon identique (42 m vs 36 en juin ; 65 m vs 59 en septembre ; 79 m vs 64 en novembre). Les faibles variations entre les saisons s'expliquent par le fait que le comportement des moustiques dans la nature peut être modulé par des facteurs extrinsèques, telles que la température ou l'humidité.

## Conclusions

Les résultats des trois lâchers (juin, septembre, novembre 2019) démontrent que les mâles stériles produits au laboratoire et relâchés dans la nature se comportent comme leurs congénères sauvages et sont capables de disperser sur une distance moyenne de 62 m (vs. 54 m pour les mâles sauvages) du point de lâcher. Aux termes du suivi de 14 jours, en moyenne 86% des mâles stériles initialement relâchés parviennent à survivre dans la nature, contre 91% pour les mâles sauvages.

Considérant que ces lâchers tests n'avaient pas vocation à réduire la fertilité des moustiques sauvages, nous avons néanmoins mis en place un autre suivi, essentiellement basé sur l'estimation du nombre d'œufs collectés hebdomadairement à Duparc et l'évaluation de leurs taux d'éclosion. Ces paramètres ont été évalués 1 semaine avant les lâchers, et après chaque lâcher pendant 4 semaines consécutives. Les résultats n'ont effectivement pas permis de montrer une baisse de la fertilité des femelles sauvages de moustique tigre à Duparc, probablement due au faible nombre de mâles stériles relâchés lors des tests (environ 3000). En effet, selon les résultats d'expériences déjà effectuées en laboratoire, il faudra lâcher de l'ordre de 5 à 10 fois plus de mâles stériles que de population sauvage existante dans la nature pour diminuer la fertilité des femelles.

Les données produites en 2019 au cours de ces lâchers tests sont désormais des éléments essentiels pour élaborer une stratégie de lâchers au cours de la phase d'essai pilote TIS2 B financés sur des fonds FEDER (EU, État, Région Réunion) et la Direction Générale de la Santé, et visant à évaluer l'efficacité et l'impact de la TIS pour contrôler les populations de moustique tigre à Duparc. Moyennant l'obtention d'une autorisation préfectorale, la mise en œuvre de cet essai pilote prendra en compte les paramètres de survie et de dispersion des mâles stériles dans la nature. Ces lâchers, effectués durant la période de faible densité de moustiques, permettra d'accentuer un déséquilibre entre les moustiques mâles stériles et les moustiques sauvages. Une mise en œuvre optimale de cette stratégie de lâchers de mâles stériles permettra d'induire une réduction significative de la fertilité dans les populations naturelles, avec une diminution à terme des densités de moustique tigre dans la zone d'essai.

Ces résultats prometteurs et ceux à venir ne sont possible que grâce à l'appui de nos partenaires. Nous tenons à remercier la Région Réunion et la Direction Générale de la Santé pour leur soutien financier ainsi que l'ARS, la Préfecture et la Mairie de Sainte Marie dont l'appui et l'accompagnement ont été précieux pour la phase test du projet en conditions réelles. En cette période où la Réunion subit des vagues successives d'épidémie de dengue véhiculée par le moustique tigre, nous comptons sur ces soutiens essentiels à la continuité de cet important projet collectif.

**Dr Pascale CHABANET**  
Représentante de l'IRD Réunion

