

Institut Sénégalais de Recherches Agricoles



Fiche Technique

Méthodes de marquage des moustiques : évaluation de deux techniques chez *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vecteur d'arbovirus au Sénégal.

Assane Gueye Fall, Gorgui Diouf, Mamadou Ciss, Momar Talla Seck

Vol. 39, N°2 - Série FICHES TECHNIQUES ISRA - ISSN 0850-9980

Document présenté par:

Assane Gueye Fall¹, Gorgui Diouf^{1,2}, Mamadou Ciss¹, Momar Talla Seck¹



Institut Sénégalais de Recherches Agricoles/Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires BP 2057 Dakar-Hann, Sénégal.



²Université Cheikh Anta Diop, Faculté des Sciences et Techniques,
Département de Biologie Animale, Laboratoire d'Écologie Vectorielle et Parasitaire,
Dakar, Sénégal.

Bibliographie:

Durant ces dernières décennies, d'importantes flambées épidémiques de dengue, de paludisme, de fièvre jaune, et de chikungunya ont touchées la population de bien des pays provoquant de nombreux décès et alertant les systèmes de santé. En 2011, le ministère sénégalais de la Santé a notifié à l'OMS que trois cas de fièvre jaune ont été signalés dans les districts sanitaires de Kédougou et Saraya [1]. Le Sénégal a enregistré en moins de dix ans plusieurs épidémies de Dengue. En 2009, une épidémie urbaine de la Dengue a été déclarée dans la région de Dakar (DEN-3 pour la première fois) [2]. Entre Septembre 2017-janvier 2018, le pays enregistre une nouvelle épidémie touchant quatre régions : Louga, Fatick et Dakar et Thiès [3] et dernièrement la région de Fatick a été encore touchée (DEN1-2-3) [3].

Aedes aegypti a été identifié comme le vecteur de la Dengue au Sénégal car plusieurs souches DEN-3 ont été isolées de cette espèce [2]. Malgré l'existence de vaccins pour certaines de ces arboviroses, le seul moyen de prévention reste la lutte anti-vectorielle ciblant principalement les adultes et basée l'utilisation d'insecticides. Cependant la résistance des moustiques aux insecticides est devenue un problème majeur dans les programmes de lutte anti vectorielle et justifie l'intensification de la recherche sur les méthodes alternatives et respectueuses de l'environnement comme la lutte biologique [4-5] notamment la technique de l'insecte stérile (SIT) utilisant des mâles irradiés aux rayons gamma [6-8], la technique des insectes incompatibles infectés par *Wolbachia* ou l'utilisation de souches de moustiques génétiquement modifiées [9-11]. Le succès des programmes de lutte qui s'appuient sur ces méthodes dépend de la maîtrise de toutes les étapes allant de la production jusqu'aux lâchers de moustiques de qualité et compétitifs. Parmi les méthodes d'évaluation de la dispersion et de la survie des moustiques en milieu naturel figurent le marquage – lâcher – recapture. Nous comparons dans cette étude l'impact de deux méthodes de marquages sur la survie des adultes d'*Aedes aegypti*.

Méthodologie:

1. Entretien de la colonie

Ces études ont été réalisées au niveau de l'insectarium du Service de Bio-Écologie et de Pathologies Parasitaires (BEPP), du Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires (LNERV), de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA). Les conditions de température et d'humidité relative des salles d'élevage ont été de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ et $75 \pm 5\%$ avec une alternance lumière/obscurité de 12 :12. Un enregistreur de température et

d'humidité (thermo-hygrometer HOBO; Onset, Pocasset, MA) est accroché dans les salles pour contrôler en continue ces paramètres.

L'élevage des larves est fait dans des plateaux émaillés de dimension 39,2×29×9,1 cm. L'eau utilisée est vieillie d'au moins une semaine, c'est-à-dire laissée à l'air libre dans la salle pour éliminer le chlore. Les larves ont été nourris avec la poudre de MikrovitR 35 g e/75ml, aliment d'alvine, multivitaminé et multi-minéraux. Les nymphes sont récoltées chaque matin, triées en fonction de leur sexe grâce à un appareil de sexage (figure1) et mises dans des pots contenant de l'eau puis sont transférées dans les cages d'adultes constituées d'une charpente métallique de dimension 30×30×30 cm, recouverte par un tulle moustiquaire muni d'une ouverture (manchon) permettant leur manipulation.

Les mâles adultes sont nourris exclusivement avec une solution d'eau sucrée à 10% préparée avec de l'eau distillée et du sucre en poudre blanche. Une alimentation mixte, sang/solution sucrée, est donnée aux femelles une fois par semaine pour le sang à l'aide d'un «hemotek» et de manière continue pour la solution sucrée.



Figure 1 : Appareil de tri des nymphes de moustiques avec la matérialisation des différents stades aquatiques

2. Marquage des moustiques

Dans cette étude nous avons utilisé une poudre fluorescente (DayGlo Color Corp, Cleveland, OH, USA) pour marquer les moustiques. L'impact de deux techniques de marquages de moustiques (pulvérisation et épandage) a été évalué sur la survie des mâles en fonction de la dose (0.05g, 0.1g et 0.15g) et de la couleur (bleu, verte, jaune et orange) de la poudre

fluorescente. La persistance de la coloration sur les moustiques dans le temps et le taux de moustiques colorés ont été aussi évalués. La caméra « DinoCapture » version 2.0 (photo 1), a



été utilisé pour mieux visualiser, photographier et noter les moustiques (Figure 2).

Photo 1 : caméra de visualisation des couleurs

Méthode 1 : Pulvérisation

Des adultes mâles *Aedes aegypti* de trois jours ont été aspirés au hasard et placés dans des gobelets en plastique de 90 mm (REF 02114 (24AC)) dont l'ouverture est recouverte de moustiquaire. Les moustiques sont ensuite endormis à 4°C grâce une table froide avant d'être marqué par pulvérisation à l'aide d'un souffleur.

Méthode 2 : Epannage

Cette méthode consiste à répandre une quantité connue de poudre fluorescente sur la surface de l'eau du gobelet contenant les nymphes créant ainsi un film de poudre superficiel de surface connue (photo 2). 1000 nymphes mâles ont été réparti dans des gobelets en plastiques contenant 200 ml d'eau. Pour cette technique le taux d'émergence est calculé pour chaque dose et couleur.

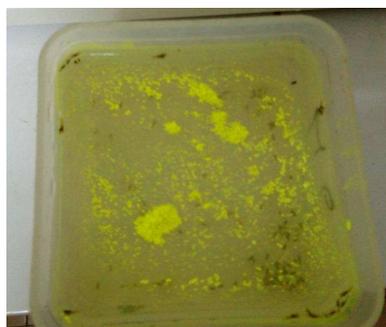


Photo 2 : Epannage de la poudre à la surface de l'eau

Expérience 1 : évaluation de l'efficacité des méthodes

Afin de déterminer l'efficacité du marquage, pour chaque traitement un lot 100 individus est sacrifié par le froid (-20 pendant 5 mn) trois jours après le marquage, puis observé grâce au logiciel DinoCapture 2.0. Des scores d'efficacité de marquage ont été attribués à chaque couleur et méthode utilisée. Les scores renseignent sur la présence de poudre sur la tête, le thorax, l'abdomen, les pattes ou les ailes. Un score de "1" a été donné si la poudre est présente, ou "0" si elle est absente, pour chaque catégorie. La somme de ces catégories donne le score global d'efficacité du marquage.

Expérience 2 : l'évaluation de l'effet des méthodes de marquage sur la survie des mâles adultes

L'effet des techniques sur la survie des mâles a été suivi sur des lots de 50 moustiques mâles. Après l'application des techniques de marquage, tous les gobelets contenant les moustiques marqués sont recouverts d'une moustiquaire sur laquelle est déposée un morceau de coton imbibé d'une solution de sucrée à 10%. Les moustiques morts sont enregistrés puis récupérés tous les matins. Trois réplicas ont été réalisés pour chaque expérience.

3. Analyses statistiques

La saisie et l'enregistrement des données ont été réalisés à l'aide du tableur Excel 2013. Le logiciel R [12] via l'interface R studio a permis d'analyser les données. Des tests non paramétriques comme Kruskal-wallis [13] et Mann-withney-Wilcoxon [14] ont été utilisés pour évaluer la significativité des différences observées entre deux observations. Les probabilités de survie calculées à l'aide de la formule de Kaplan-meier ont permis de tracer les courbes de survie.

Résultats

Les tests ont permis de voir que du point de vue de l'efficacité des deux méthodes de marquages, il n'y a pas de différence significative : 100% des individus sont marqués quelle que soit la méthode. Cependant le marquage des moustiques avec la méthode nommée « épandage » est plus discret avec quelques tâches sur tous les organes comparés à la méthode 1 (saupoudrage) avec laquelle le moustique est très fortement marqué (figure2). Toutefois, il faut noter que pour la méthode 2 l'abdomen et les pattes sont parfois faiblement marqués.

Epandage

Saupoudrage



Figure 2 : Images de moustiques marqués en fonction des deux méthodes

La figure 3 présente les courbes de survie des mâles marqués en fonction de la méthode de marquage et des doses de poudres utilisées. L'analyse montre que la méthode 2 n'a pas d'effet significatif sur la survie des mâles contrairement à la méthode 1 avec laquelle nous avons une très forte mortalité durant les 2 premiers jours. Ces différences sont statistiquement significatives (Kruskal-Wallis chi-squared = 35.737, df = 1, p-value = $2.259e^{-09}$).

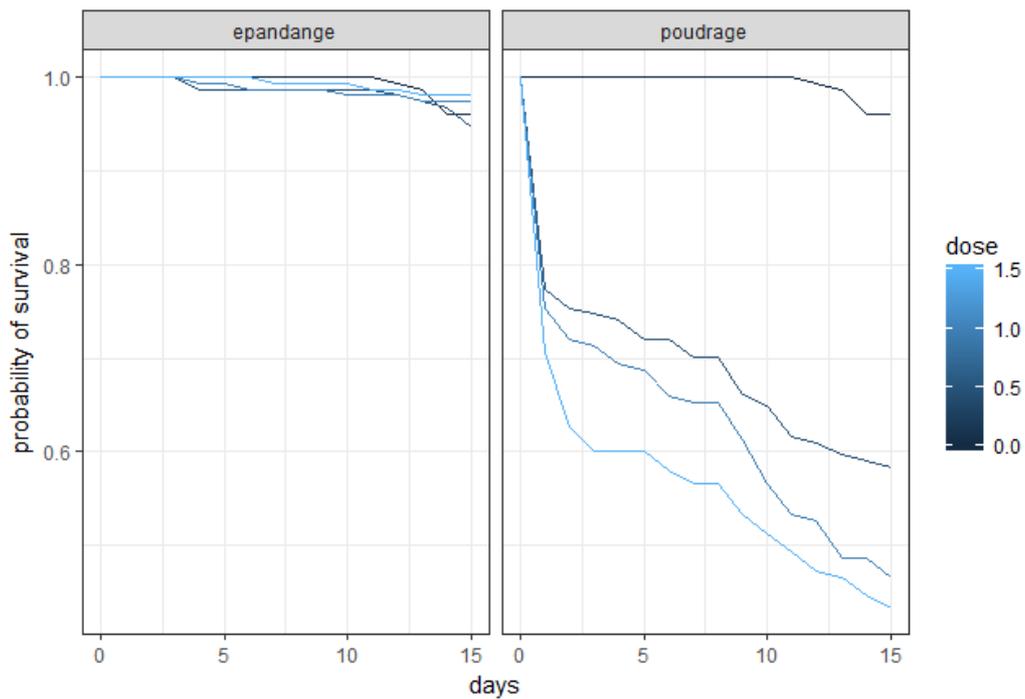


Figure 3 : Courbe de survie des moustiques mâles en fonction de la méthode de marquage

Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer l'efficacité de deux méthodes de marquage et leur effet sur la survie des moustiques. Ainsi au regard des résultats, la méthode 2 dite « épandage » semble être la plus appropriée car elle est moins contraignante, le marquage est plus discret et n'affecte pas la survie des adultes.

Mots-clés

Lutte anti-vectorielle ; *Aedes aegypti* ; méthodes ; marquage ; moustiques

Remerciements :

Les auteurs remercient l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) d'avoir partiellement financé cette étude à travers le "Coordinated Research Contract Mosquito Handling, Transport, Release and Male Trapping Methods".

References

1. Organisation Mondiale de la Santé-Fièvre jaune au Sénégal. "https://www.who.int/csr/don/2011_12_01/fr/ (consulté le 20/01/2019 à 13h30).
2. Dia I, Diagne CT, Ba Y, Diallo D, Konate L, Diallo M: **Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* populations from Senegal and Cape Verde Archipelago.** *Parasites & vectors* 2012, **5**(1):238.
3. Ministère de la Santé et de l'action sociale. Epidémie de Dengue au Sénégal. Rapport de situation n°10 du 05 novembre 2018 Données du 18 juin au 03 novembre 2018. http://www.sante.gouv.sn/sites/default/files/strepdengue_rapport%20de%20situation_n10.pdf
4. Dia I, Diagne CT, Ba Y, Diallo D, Konate L, Diallo M: Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* populations from Senegal and Cape Verde Archipelago. *Parasites & vectors* 2012, **5**(1):238.
5. Boyer S: La technique de l'insecte stérile: une lutte ciblée sans insecticide. *Med Trop (Mars)* 2012, **72**:60-62
6. Bakri A, Heather N, Hendrichs J, Ferris I: Fifty years of radiation biology in entomology: lessons learned from IDIDAS. *Annals of the Entomological Society of America* 2005, **98**(1):1-12.
7. Oliva CF, Jacquet M, Gilles J, Lemperiere G, Maquart P-O, Quilici S, Schooneman F, Vreysen MJ, Boyer S: The sterile insect technique for controlling populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: mating vigour of sterilized males. *PloS one* 2012, **7**(11):e49414.
8. Lees RS, Gilles JR, Hendrichs J, Vreysen MJ, Bourtzis K: Back to the future: the sterile insect technique against mosquito disease vectors. *Current Opinion in Insect Science* 2015, **10**:156-162.
9. Calvitti M, Moretti R, Porretta D, Bellini R, Urbanelli S: Effects on male fitness of removing *Wolbachia* infections from the mosquito *Aedes albopictus*. *Medical and veterinary entomology* 2009, **23**(2):132-140.
10. Fu Y, Gavotte L, Mercer DR, Dobson SL: Artificial triple *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus* yields a new pattern of unidirectional cytoplasmic incompatibility. *Applied and environmental microbiology* 2010, **76**(17):5887-5891.

11. Zhang D, Zheng X, Xi Z, Bourtzis K, Gilles JR: Combining the sterile insect technique with the incompatible insect technique: I-impact of Wolbachia infection on the fitness of triple-and double-infected strains of *Aedes albopictus*. PLoS One 2015, 10(4):e0121126.
12. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [<http://www.R-project.org>]
13. Myles Hollander and Douglas A. Wolfe (1973): Nonparametric Statistical Methods. New York: John Wiley & Sons 1973:115–120.
14. Bauer DF: Constructing confidence sets using rank statistics. Journal of the American Statistical Association 1972, 67: 687–690.