



Évaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques

Rapport d'expertise collective

Juillet 2025

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 18 juillet 2025

AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à « l'évaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle
utilisant des lâchers de moustiques : TIS, TII et technique de remplacement »**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 16 juin 2023 par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) pour la réalisation de l'expertise suivante : évaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques (TIS, TII et technique de remplacement).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les maladies à transmission vectorielle représentent un enjeu majeur de santé publique. Les agents pathogènes, que ce soient des virus (responsables d'arboviroses telles que la dengue, le Zika ou le chikungunya) ou des parasites (filariose lymphatique), sont transmis par des moustiques vecteurs, tels que les *Aedes*. Les virus de la dengue (DENV) menacent environ quatre milliards de personnes, soit la moitié de la population mondiale. En 2023, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recensait plus de 6,5 millions de cas de dengue notifiés (et environ 7 300 décès). De plus, le nombre de cas notifiés sous-estime le nombre réel d'infections, estimé à 390 millions en raison du nombre important de cas asymptomatiques (50 à 90 % des cas) et de cas non notifiés.

Dans les territoires ultramarins français, notamment dans les Antilles, en Guyane et dans l'Océan Indien, les épidémies de dengue sont récurrentes et saisonnières. Ces épidémies participent aux cas importés en France hexagonale¹. Par exemple, en 2024, 4 683 cas importés de dengue ont été notifiés, 2 028 pendant la période d'activité d'*Aedes albopictus* en France hexagonale (dont près de 60 % en provenance des territoires ultramarins français). De 2022 à 2024, entre neuf et onze foyers de transmission de dengue ont été recensés dans l'Hexagone chaque année, contre un à quatre foyers maximum par an entre 2010 et 2021. Ainsi, les arbovirus transmis par les moustiques du genre *Aedes* pourraient également devenir un enjeu de santé publique en France hexagonale, où l'on constate une extension rapide de la zone colonisée par *Aedes albopictus* présent, au 1^{er} janvier 2025, dans 81 départements sur 96.

Dans ce contexte de menace croissante liée aux agents pathogènes transmis par les *Aedes* et en l'absence de solution vaccinale adaptée² ainsi que de traitements spécifiques contre ces maladies, la lutte contre les moustiques vecteurs reste le principal moyen d'action. Les stratégies de lutte reposent généralement sur une combinaison d'actions telles que la lutte mécanique (e.g. piégeage, élimination des eaux stagnantes, etc.), les traitements larvicides à base de *Bti* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*) et, uniquement en cas de circulation virale, des traitements adulticides à base de deltaméthrine³.

La lutte chimique contre les moustiques présente cependant plusieurs limites. En premier lieu, l'utilisation répétée de ces traitements favorise la sélection de moustiques résistants (notamment aux pyréthrinoïdes, dont la deltaméthrine). Leur usage massif a notamment conduit à l'apparition de résistances multiples (i.e. résistances à plusieurs molécules) ou de plusieurs mécanismes de résistance contre la même molécule, comme observé dans les départements français d'Outre-Mer. Par ailleurs, plusieurs substances actives ont été jugées dangereuses pour la santé humaine et/ou l'environnement et ont aujourd'hui été retirées du marché français. C'est par exemple le cas d'un grand nombre de composés organochlorés classés comme polluants organiques persistants (POP), interdits dans l'Union européenne (UE), conformément au règlement (UE) 2019/1021 et de certains composés organophosphorés (i.e. Malathion, Téméphos).

En lien avec ces différents constats, des techniques alternatives à la lutte chimique contre les moustiques vecteurs ont été développées ou sont en cours de développement à travers le

¹ Dans l'ensemble du document, la France hexagonale ou Hexagone désigne le territoire européen de la France (Corse et îles bretonnes comprises).

² Un vaccin contre le DENV est aujourd'hui disponible (Dengvaxia®) et deux sont en cours de développement (TAK-003 ou Qdenga®, et Butantan-DV). Néanmoins des études ont montré que des jeunes enfants de moins de neuf ans jamais exposés au DENV et vaccinés avaient plus de risque de présenter une dengue grave que des enfants non vaccinés. C'est pourquoi le vaccin Dengvaxia® a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne le 12 décembre 2018 pour une indication restreinte à la prévention de la dengue chez les sujets âgés de 6 à 45 ans ayant un antécédent d'infection par le virus confirmé par un test. Cependant en France, la Haute Autorité de Santé (HAS) a émis un avis favorable pour une indication restreinte aux personnes âgées de 9 à 45 ans vivant dans des zones d'endémie (ie les territoires français d'Amérique (Antilles et Guyane)) et uniquement dans les populations recommandées par la stratégie vaccinale en vigueur. La HAS, dans son avis du 3 novembre 2021, souligne que les conditions d'utilisation de ce vaccin ne sont pas optimales en raison de l'absence actuelle de test performant et validé de diagnostic d'antécédents d'infection au virus de la dengue.

Deux vaccins existent contre le CHIKV et la HAS recommande depuis le 27 février 2025 l'usage du vaccin IXCHIQ à La Réunion et à Mayotte. Il est recommandé en priorité aux personnes de 65 ans et plus (notamment celles avec comorbidités), puis aux adultes de 18 à 64 ans avec des comorbidités, ainsi qu'aux professionnels exposés, notamment les agents de la lutte antivectorielle. Le vaccin est contre-indiqué pour les immunodéprimés et non recommandé aux femmes enceintes.

³ La deltaméthrine est un insecticide de la classe des pyréthrinoïdes de synthèse, la seule classe à avoir une AMM dans l'UE pour cette indication.

monde. Il s'agit notamment de techniques reposant sur des lâchers de moustiques stériles, stérilisants ou transinfectés telles que : la technique de l'insecte stérile (TIS), la technique de l'insecte incompatible (TII) et la technique de remplacement⁴. Ces techniques sont spécifiques (ciblées sur une espèce) et proposent une alternative aux biocides (à l'exception de la TIS et de la TII renforcées).

Dans le cadre du plan national santé environnement 4 (PNSE4)⁵ dont l'un des objectifs est de prévenir les impacts sanitaires nuisibles (dont ceux liés aux moustiques) par des méthodes compatibles avec la préservation de l'environnement, la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Anses le 16 juin 2023. L'objet de cette saisine est de dresser un bilan des expérimentations relatives aux techniques alternatives aux insecticides pour la lutte anti-vectorielle⁶ (LAV) au niveau international, en termes d'efficacité, entomologique et épidémiologique et de risques pour la santé des écosystèmes.

Plus précisément, il s'agit de compléter les précédents travaux du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB 2017) et de réaliser un bilan des essais en cours ou terminés dans le monde (avec une attention particulière sur les projets réalisés dans les régions ultramarines françaises) utilisant les techniques suivantes :

- la technique de l'insecte stérile (TIS) et la TIS renforcée par l'imprégnation des moustiques lâchés avec un biocide, le pyriproxyfène⁷ (PPF) ;
- la technique de l'insecte incompatible (TII), éventuellement utilisée combinée avec la TIS (TIS-TII) ou avec du PPF (TII renforcée) ;
- la technique de remplacement.

Ce bilan rendra compte de l'efficacité de ces différentes techniques utilisées pour le contrôle des moustiques du genre *Aedes* (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis*) en termes de réduction des populations de moustiques et de réduction des maladies transmises par ces moustiques au regard des situations épidémiologiques locales. Il précisera, également, les techniques de sexage, ainsi que les systèmes de lâchers de moustiques utilisés.

Enfin, il est demandé de préciser les risques que ces techniques présentent pour la santé des écosystèmes. Des recommandations relatives aux mesures de gestion à mettre en place pour les suivre et les limiter pourront résulter de cette analyse de risques.

⁴ Dans cet avis, seule la technique de remplacement utilisant la capacité d'interférence avec le pathogène de *Wolbachia* est prise en compte.

⁵ L'action 11 de l'axe 2 porte sur la réduction des expositions environnementales affectant la santé humaine et celle des écosystèmes.

⁶ Lutte antivectorielle (LAV) : ensemble des stratégies et méthodes visant à limiter les populations d'arthropodes hématophages vecteurs de pathogènes et à réduire le contact entre l'être humain et les vecteurs. Elle comprend des méthodes chimiques (insecticides), biologiques (prédateurs, parasites, agents pathogènes), environnementales (gestion des gîtes larvaires) et mécaniques (moustiquaires, pièges). Elle inclut également les mesures de surveillance. Ces différentes approches peuvent être combinées dans une stratégie de lutte intégrée.

⁷ Pyriproxyfène (PPF) : analogue de synthèse de l'hormone juvénile des insectes qui interfère avec leur développement. Cette molécule est utilisée en LAV pour empêcher la métamorphose des larves de moustiques en adultes et peut également réduire la fertilité des femelles adultes exposées. Elle peut être ainsi utilisée dans la lutte contre les larves de moustique (i.e. traitement des gîtes larvaires).

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

2.1. Expertise collective

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « TIS-TII-remplacement » l'instruction de cette saisine. Ce GT a été créé après appel à candidature publique. Il était rattaché au comité d'experts spécialisés (CES) « Biotechnologies » qui a endossé le rapport et les conclusions du GT. Le CES « Biocides » était également associé aux travaux pour les questions relatives à l'efficacité des techniques de LAV. Ce dernier a adopté la partie du rapport d'expertise portant sur ces questions.

Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires (épidémiologie, entomologie médicale, écologie, biologie des populations, lutte antivectorielle, biotechnologies, etc.). La mise en commun des contributions et les échanges se sont tenus en réunion de GT, à raison d'une à deux réunions par mois, d'octobre 2023 à juin 2025.

La saisine a été présentée une première fois au CES « Biotechnologies » le 11 mars 2024, et a fait l'objet de présentations relatives à la méthodologie de l'expertise, aux techniques abordées dans le cadre de la saisine et à l'avancement du rapport les 19 juin, 14 novembre 2024, 19 février et 16 avril 2025. Les travaux d'expertise du GT ont aussi été soumis régulièrement aux CES « Biocides », tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Enfin, le GT « Vecteurs » et le GT « Macroorganismes utiles aux végétaux » (GT Macro) ont également été associés aux travaux du GT, dans leur champ d'expertise. Des présentations ont été organisées auprès de ces collectifs, pour information et discussion.

Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres de ces collectifs.

Les travaux du GT « TIS, TII et remplacement » ont été adoptés en CES « Biocides » le 12 juin 2025 (questions relatives à l'efficacité uniquement), et en CES « Biotechnologies » le 22 mai puis le 18 juin 2025 (validation finale).

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2.1. Méthodologie et moyens mis en œuvre

- Revue systématique de la littérature sur l'efficacité des techniques objets de la saisine

Une revue systématique de la littérature a été réalisée pour :

- faire un état des lieux (identification et description) des essais terminés et ayant faits l'objet d'une publication scientifique utilisant les différentes techniques de lâchers de moustiques mises en œuvre pour contrôler les populations de moustiques du genre *Aedes* ;
- évaluer l'efficacité entomologique et épidémiologique des différentes techniques étudiées.

Un corpus de 986 publications scientifiques a ainsi été constitué, dont 63 références ont été retenues par les experts pour analyse des données, après analyse de la pertinence et de la qualité de ces publications (voir diagramme Prisma Figure 1, p 27 du rapport).

- Auditions et données complémentaires

Des auditions ont été réalisées afin d'obtenir des données et des informations complémentaires à celles issues de la littérature scientifique notamment pour identifier et lister les essais en cours dans les territoires ultramarins français. La liste des treize personnes auditionnées par les experts du GT figure pp 7-8 du rapport d'expertise.

- Évaluation du poids des preuves

Le GT a qualifié l'efficacité des techniques qui font l'objet de la saisine à partir d'une méthode d'évaluation du poids des preuves. Cette méthode est issue de la réflexion d'un groupe de travail de l'Anses autour des méthodes d'évaluation des risques⁸ (GT MER) et est utilisée à la suite d'une revue systématique de la littérature pour en formaliser une synthèse.

Cette méthode est présentée au § 5.1.2 du rapport.

- Travail prospectif sur les effets non-intentionnels

Une liste d'effets non-intentionnels (ENI) potentiellement associés aux techniques de LAV a été établie dans le cadre de la présente expertise. Cette liste n'a pas été établie suite à une revue systématique de la littérature. Elle a été réalisée à partir des articles identifiés par les experts, sans évaluer leur probabilité d'apparition ni leur ampleur pour l'une ou l'autre des techniques.

- Prise en compte des incertitudes

Les principales sources d'incertitudes liées à l'expertise ont été identifiées, en se fondant sur la typologie et les recommandations du GT MER de l'Anses. Elles sont répertoriées et analysées dans le Chapitre 7 du rapport d'expertise (Tableau 14).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIOTECHNOLOGIES, DU CES BIOCIDES ET DU GT « TIS, TII, REMPLACEMENT »

Les CES Biotechnologies et Biocides, ainsi que le GT « TIS, TII, remplacement » rappellent que le présent avis est associé à un rapport d'expertise collective qui développe l'ensemble de l'argumentaire des réponses aux questions posées dans la saisine.

3.1. La bio-écologie des moustiques *Aedes*

Les espèces de moustiques objet de la présente expertise sont *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis*, trois vecteurs majeurs d'agents pathogènes et présentes dans les territoires français.

Aedes aegypti est originaire d'Afrique et s'est répandue mondialement dans les zones tropicales et subtropicales. Cette espèce, très anthropophile⁹, est fortement associée aux

⁸ Avis n° 2015-SA-0089 relatif au rapport d'étape sur l'évaluation du poids des preuves à l'Anses : revue critique de la littérature et recommandations à l'étape d'identification des dangers.

⁹ Les femelles se nourrissent presque exclusivement de sang humain, avec une préférence encore plus marquée que chez *Ae. albopictus*.

milieux urbains. Elle pique les humains principalement à l'intérieur. Son cycle larvaire dépend de petites réserves d'eau, naturelles ou artificielles, et ses œufs résistent à la dessiccation, mais pas au froid, ce qui limite sa dispersion en zones tempérées. *Ae. aegypti* est particulièrement efficace dans la transmission inter-humaine de virus en milieu urbain tropical. Elle est le principal vecteur de DENV, CHIKV et du virus Zika. Cette espèce peut l'héberger naturellement *Wolbachia*¹⁰, avec des prévalences variables.

Aedes albopictus, originaire d'Asie du Sud-Est, est une espèce invasive extrêmement adaptable, capable de résister à des hivers froids grâce à la diapause de ses œufs. Elle colonise efficacement les zones urbaines et périurbaines en régions tempérées. Tout comme *Ae. aegypti*, elle est extrêmement anthropophile. Elle est également un très bon vecteur d'arboviroses. L'espèce est naturellement infectée par deux souches de *Wolbachia* (wAlbA et wAlbB), ce qui a des implications sur la transmission virale et la lutte antivectorielle.

Aedes polynesiensis, localisée dans le Pacifique Sud, est le principal vecteur de la filariose lymphatique de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*) dans les zones côtières et vecteur secondaire de la dengue. Elle se développe surtout dans des gîtes naturels comme les terriers de crabes, permettant une activité larvaire continue et une répartition stable. Elle est également diurne, avec des préférences trophiques opportunistes (êtres humains et autres vertébrés : porcs, chiens, oiseaux, rongeurs, etc.). Cette espèce est naturellement infectée par une souche particulière de *Wolbachia* du clade A, induisant une forte incompatibilité cytoplasmique¹¹.

Ces trois espèces d'*Aedes* ont une activité diurne, avec des pics à l'aube et au crépuscule. Leurs différences biologiques et écologiques influencent leurs capacités vectorielles¹² respectives et conditionnent les stratégies de lutte, notamment celles impliquant la bactérie *Wolbachia* (TII et remplacement).

3.2. Présentation des techniques objets de la saisine

Le présent avis porte sur les techniques de lutte appliquées aux moustiques du genre *Aedes* visant le contrôle des populations et/ou des agents pathogènes qu'ils transmettent : la TIS, la TII et leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement (voir les principes et étapes de ces techniques dans le Tableau 1).

¹⁰ *Wolbachia* : bactérie naturellement présente chez de nombreux arthropodes, qui se transmet verticalement des femelles porteuses à leur descendance. Cette bactérie manipule la reproduction de son hôte à son avantage.

¹¹ Incompatibilité cytoplasmique : mécanisme de stérilité induit par la bactérie *Wolbachia*, qui empêche la production d'une descendance viable lors de certains croisements. Elle peut être unidirectionnelle (croisement entre mâles transinfectés et femelles non transinfectées) ou bidirectionnelle (croisement entre moustiques porteurs de souches différentes de *Wolbachia*).

¹² Capacité vectorielle : représente l'aptitude d'une population d'arthropodes vecteurs à assurer la transmission d'un agent infectieux à un moment donné, en un endroit donné (elle est une composante du taux de reproduction R0 en épidémiologie). Elle intègre des paramètres écologiques, comportementaux et génétiques de la population de vecteurs comme leur abondance et longévité, leurs préférences trophiques, ou encore, leur compétence vectorielle.

Tableau 1 : Principes et étapes de la TIS, la TII, de leurs variantes et de la technique de remplacement

Critère		TIS	TIS renforcée	TII	TIS + TII	TIS renforcée	Technique de Remplacement
Principe		Lâcher de mâles irradiés stériles	Lâcher de mâles stériles imprégnés de PPF	Lâcher de mâles porteurs de <i>Wolbachia</i> incompatible	Lâcher de mâles porteurs de <i>Wolbachia</i> + irradiation	Lâcher de mâles porteurs de <i>Wolbachia</i> imprégnés de PPF	Lâcher de moustiques porteurs de <i>Wolbachia</i> pour remplacer la population sauvage
But		Réduire la population par accouplements non fertiles	Renforcer la réduction par l'action directe du PPF sur les larves	Réduire la population via l'incompatibilité cytoplasmique	Irradiation après infection par <i>Wolbachia</i> pour prévenir l'introduction de <i>Wolbachia</i> par des femelles résiduelles	Renforcer la réduction par l'action directe du PPF sur les larves	Remplacer la population vectrice par une population moins compétente pour transmettre la maladie ciblée
Etapes	Élevage en masse de moustiques	Élevage de moustiques rendus stériles par irradiation (par rayons gamma, X)	Élevage de moustiques rendus stériles par irradiation (par rayons gamma, X) + imprégnés au PPF	Production de moustiques porteurs d'une souche de <i>Wolbachia</i> incompatible par transfection ou rétrocroisement et élevage	Production de moustiques porteurs d'une souche de <i>Wolbachia</i> incompatible + irradiation	Production de moustiques porteurs d'une souche de <i>Wolbachia</i> incompatible + imprégnation PPF	Élevage de moustiques porteurs de <i>Wolbachia</i> (mâles et femelles sont fertiles)
	Sexage	Étape critique pour éliminer les femelles résiduelles (<1% recommandé)					Étape moins critique, les femelles lâchées sont porteuses de <i>Wolbachia</i> bénéfiques
	Transport	Les conditions de transport (conditionnement des moustiques, durée, moyen de transport) sont des déterminants importants de la survie et de la compétitivité des moustiques					
	Lâchers	Méthodes itératives. Les lâchers de moustiques doivent être maintenus dans le temps (à une fréquence hebdomadaire, voire bi-hebdomadaire)					Les lâchers sont nécessaires jusqu'à l'établissement de <i>Wolbachia</i> dans la population
	Surveillance	Qualité, efficacité entomologique et épidémiologique					Surveillance de la prévalence de <i>Wolbachia</i> et efficacité épidémiologique
Effets attendus		Réduction population de moustiques, de la nuisances, et de l'incidence de la maladie ciblée	Idem + impact sur les larves via PPF	Réduction population de moustiques, de la nuisances, et de l'incidence de la maladie ciblée	Idem	Idem + impact sur les larves via PPF	Diminution de la transmission de la maladie ciblée par remplacement de la population

Légende : TIS = technique de l'insecte stérile, TII = technique de l'insecte incompatible et PPF = pyriproxifène.

L'objectif de la TIS et de la TII est de réduire la densité de population de l'insecte ciblé afin de réduire les nuisances (e.g. piqûres) et les risques sanitaires (e.g. transmission d'agents pathogènes) (voir Figure 1). La TIS repose sur le potentiel stérilisant de l'insecte ciblé par des rayons ionisants. La TII repose sur l'utilisation de la bactérie *Wolbachia* et ses propriétés d'incompatibilité cytoplasmique. Elles peuvent être utilisées seules, combinées ou renforcées par l'imprégnation des moustiques lâchés avec un biocide, le pyriproxifène (PPF), une molécule mimétique de l'hormone juvénile qui inhibe l'embryogenèse et empêche le passage du stade larvaire au stade adulte.

Enfin, la technique de remplacement consiste à établir dans la population sauvage une population de moustique porteuse d'une souche de *Wolbachia* interférant avec un pathogène cible (voir Figure 1), afin de réduire la transmission de celui-ci et l'incidence¹³ de la maladie associée.

¹³ Incidence : l'incidence est estimée comme le nombre de nouveaux cas suspects (i.e. notifiés suite à une évaluation clinique des symptômes) et/ou confirmés (i.e. confirmés par diagnostic biologique) liés à un agent pathogène dans une population sur une période définie. Elle est utilisée pour mesurer l'impact épidémiologique d'un agent pathogène.

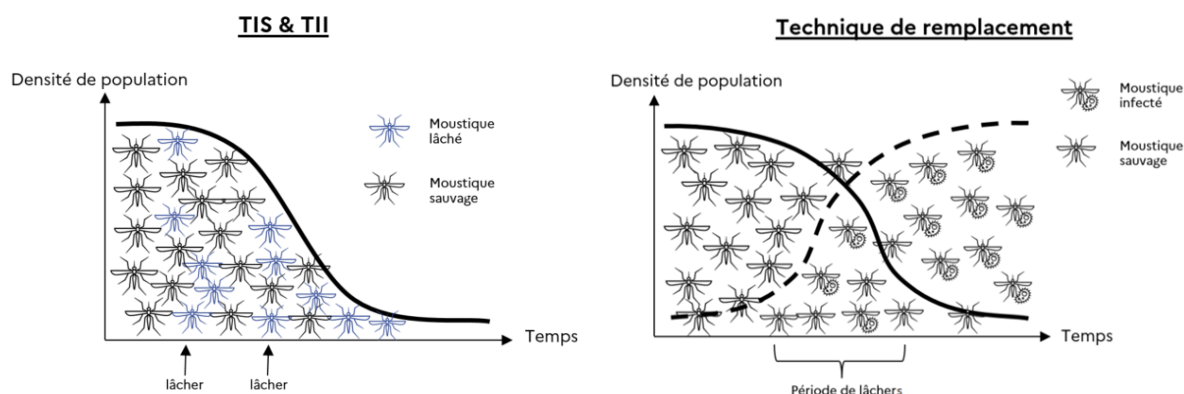


Figure 1 : Dynamiques de population attendues suite au déploiement de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement

La réglementation internationale encadrant ces techniques de lutte antivectorielle est fragmentaire et peu harmonisée. La Convention Internationale pour la Protection des Végétaux (CIPV) considère les insectes stériles comme des "organismes bénéfiques". Cependant, elle ne couvre pas les moustiques. En l'absence de cadre spécifique les procédures d'importation des moustiques mâles stériles varient d'un pays à l'autre, y compris entre les États membres de l'UE. Toutefois, l'OMS et l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) ont publié des documents guides concernant le déploiement des techniques utilisant la TIS et la technique de remplacement. Ces documents donnent des recommandations à destination des opérateurs développant ces techniques et fournissent des lignes directrices aux gouvernements nationaux en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques associés à ces techniques.

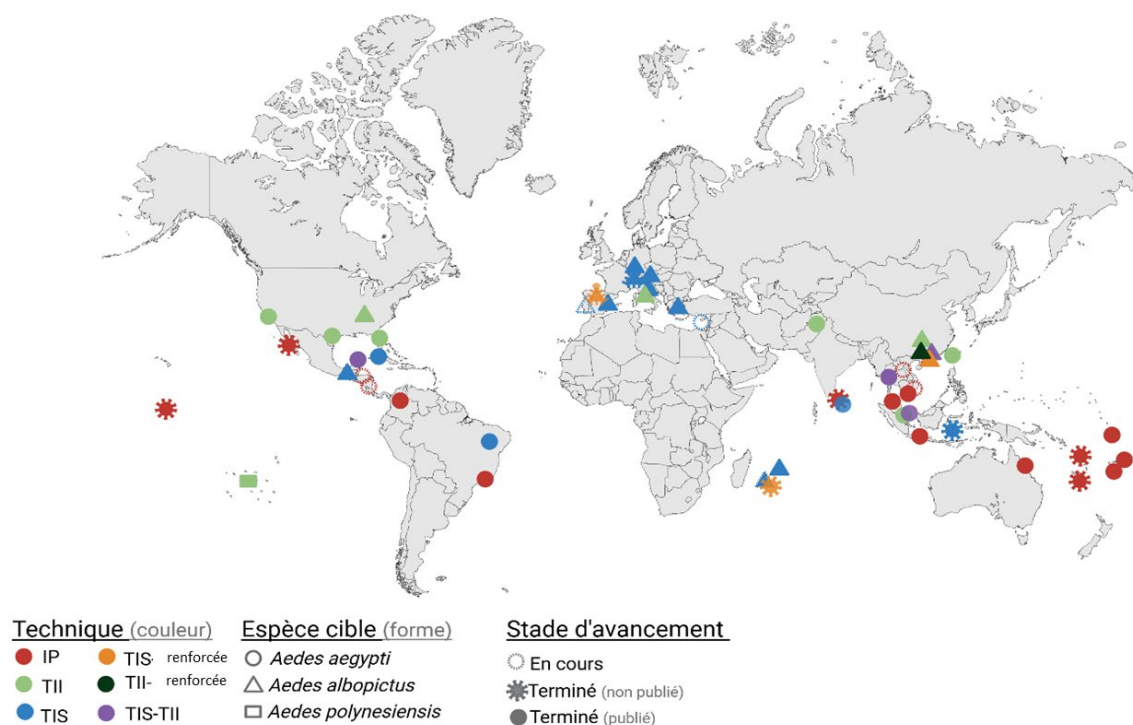
En Europe, la transinfection par *Wolbachia* n'est pas soumise aux règles sur les organismes génétiquement modifiés (OGM) ou des biocides, mais les bactéries elles-mêmes sont considérées comme un produit biocide¹⁴. En France, l'encadrement des lâchers de moustiques repose sur des réglementations générales de santé publique et de démoustication, sans cadre spécifique pour ces techniques. Quant à la Nouvelle-Calédonie, elle dispose d'une autonomie en matière de gestion de la santé publique et a autorisé son propre programme de lutte par la technique de remplacement.

3.3. Bilan des essais opérationnels et résultats de l'analyse de l'efficacité des techniques

Les techniques objets de la saisine présentent des niveaux d'aboutissement et de couverture géographiques variables (Figure 2). La TIS, approche la plus ancienne, a été testée dans 15 pays et territoires, principalement en Europe. La technique de remplacement, bien que plus récente, a connu un passage rapide à l'échelle opérationnelle et est aujourd'hui déployée dans plusieurs pays où DENV, CHIKV et le virus Zika sont responsables d'épidémies de grandes ampleurs plus ou moins fréquentes. Depuis 2020, il s'agit de la seule technique de LAV dont la pertinence dans la lutte contre la dengue a été reconnue par le groupe consultatif de l'OMS sur la LAV. La TII a été expérimentée dans sept pays, tandis que le TIS-TII (TII combinée à la

¹⁴ L'Union européenne a précisé sa position sur les techniques utilisant *Wolbachia* au regard de la réglementation biocide à travers la décision (UE) 2018/1623 (voir § 3.2.2 du rapport).

TIS) reste moins répandue avec quatre pays l'ayant expérimentée, dont Singapour où des résultats épidémiologiques prometteurs ont été rapportés. Les approches TIS et TII renforcées sont les plus récentes et les moins documentées, avec un seul essai de TII renforcée publié en 2024 et un seul sur la TIS renforcée en 2025.



Légende : TIS = technique de l'insecte stérile, TII = technique de l'insecte incompatible

Figure 2 : Répartition des essais terminés et en cours utilisant la TIS, la TII ou la technique de remplacement pour le contrôle des *Aedes* (carte réalisée avec BioRender.com)

3.3.1. Technique de l'insecte stérile

- Bilan des essais TIS et déploiements sur le terrain

La TIS utilisée pour le contrôle des moustiques *Aedes* a fait l'objet d'essais dans divers contextes depuis le premier déploiement sur le terrain en 2004 en Italie, dont un seul essai avec la TIS renforcée.

Les expérimentations, menées dans dix pays différents (Figure 2), révèlent une prédominance d'essais en Europe, où *Ae. albopictus* représente une nuisance croissante et potentiellement un risque sanitaire émergent. Les essais dans les zones où les arboviroses sont endémiques (comme le Mexique ou le Sri Lanka) se sont presque uniquement limités à des conditions semi-naturelles¹⁵, à l'exception d'un essai conduit à Cuba. Aucun résultat d'essai mené dans les territoires ultramarins français n'a fait l'objet d'un article scientifique publié. Les déploiements sur le terrain sont restés à petite échelle, ne dépassant jamais 50 ha.

¹⁵ Conditions semi-naturelles : essais entomologiques réalisés dans des cages placées dans un environnement réaliste, soit à l'extérieur, soit dans une serre avec une humidité, une température et une lumière contrôlées imitant les conditions climatiques extérieures.

En termes de protocole, les doses d'irradiation utilisées pour la stérilisation des moustiques varient généralement entre 40 et 60 Gy¹⁶, avec quelques cas dépassant 80 Gy, traduisant la recherche d'un équilibre optimal entre stérilisation effective et préservation de l'aptitude phénotypique¹⁷ des mâles. L'AIEA a produit des lignes directrices indiquant les doses d'irradiation à utiliser pour stériliser les pupes de moustiques selon les espèces. Dans son document d'orientation, l'Agence préconise de réaliser des études dosimétriques en amont de chaque programme de TIS afin d'adapter les protocoles à l'irradiateur utilisé et à l'espèce cible. À noter que les doses utilisées ne permettent pas de stériliser les mâles à 100% et la stérilité est réversible dans certains cas.

Dans les publications analysées par le GT, les lâchers, réalisés principalement avec des moustiques au stade adulte, suivent majoritairement un rythme hebdomadaire sur une durée moyenne d'environ 16 semaines, privilégiant les périodes de pic d'activité des populations cibles. Cette temporalité est importante afin de respecter la saisonnalité de l'accouplement des *Aedes* et de limiter autant que possible les phénomènes de compensation densité-dépendante¹⁸ dans les gîtes larvaires. Les lâchers d'adultes présentent l'avantage d'une meilleure maîtrise du nombre et du sexe des moustiques lâchés. Par ailleurs ils facilitent la surveillance de la bonne dispersion des moustiques par rapport aux lâchers d'œufs. Les dispositifs de lâchers d'adultes, quand ils sont fixes, présentent l'avantage d'assurer un maillage plus précis et d'être moins coûteux que les lâchers par drone ou par voiture. Cependant, ils permettent de couvrir une surface moins importante et nécessitent une main d'œuvre plus conséquente.

Si les dispositifs fixes restent les plus fréquemment utilisés dans les essais, des expérimentations de lâchers par drone ont également été conduites, offrant de nouvelles perspectives logistiques. Les systèmes de lâcher par drone permettraient théoriquement de couvrir des surfaces plus importantes que les systèmes de lâcher fixes disposés au sol (i.e. containers). Toutefois, une attention particulière doit être accordée à la bonne dispersion et à la limitation des dommages sur les moustiques lâchés par drone.

- Analyse de l'efficacité de la TIS

L'évaluation de l'efficacité de la TIS par les experts s'est fondée sur quatorze articles et trois indicateurs (comparés entre zones traitées et non traitées ou avant-après intervention) : la densité des œufs, le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles *Aedes*.

Le seul indicateur pour lequel les preuves scientifiques amènent les experts à conclure à un effet avéré est la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus* (voir Tableau 2). Cet indicateur reflète le succès de la stérilisation par irradiation des mâles lâchés, ainsi que de l'accouplement entre ces mâles stériles et les femelles sauvages. Il représente le premier effet observable sur le terrain suite à l'utilisation de la TIS. Cependant, il ne rend pas compte d'une réduction des populations d'*Aedes*. Ainsi, selon les experts, cet indicateur n'est pas suffisant pour évaluer l'efficacité de la TIS et il doit être complété par des indicateurs

¹⁶ Gy : gray, unité de mesure de la dose physiquement « absorbée » par la matière. Elle représente l'énergie absorbée par un kilogramme exposé à un rayonnement ionisant apportant une énergie d'1 joule : 1 Gy = 1 J/kg (site IRSN).

¹⁷ L'aptitude phénotypique des moustiques fait référence à leur capacité à survivre et à se reproduire dans leur environnement.

¹⁸ Phénomènes selon lesquels plus la densité larvaire est importante, plus le nombre d'adultes émergents (i.e. de larves survivantes) pour un nombre d'œufs donné est limité par la mortalité densité-dépendante (voir § 2.1.5 du rapport).

révélateurs d'effets finaux attendus tels que la réduction du nombre de femelles et la réduction de l'incidence des maladies à transmission vectorielle dues aux *Aedes*.

Concernant la densité des œufs, les experts relèvent que la pertinence de cet indicateur comme estimation de la densité des femelles est discutable. En effet, bien qu'une relation entre ces deux indicateurs ait déjà été suggérée par certains auteurs, d'autres n'ont pas montré de corrélation.

En outre, la survenue d'une réduction du nombre de femelles suite à une réduction du taux d'éclosion des œufs n'est pas garantie. En effet, d'une part, les preuves relatives à ces indicateurs sont limitées, voire inexistantes chez certaines espèces d'*Aedes*. D'autre part, une réduction du taux d'éclosion des œufs et par conséquent du nombre de larves issues de ces œufs pourrait, dans certaines configurations de densité de population, aboutir à un nombre d'adultes émergents plus important que le nombre d'adultes qui auraient émergé naturellement, sans intervention sur le taux d'éclosion des œufs. Ce phénomène s'explique par les phénomènes de compensation densité-dépendante.

Tableau 2 : Niveaux de preuves sur l'efficacité de la TIS

Indicateur	Espèce	Niveau de preuve pour la TIS
Réduction de la densité des œufs	<i>Ae. aegypti</i>	Possible
	<i>Ae. albopictus</i>	Possible
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable
Réduction du taux d'éclosion des œufs	<i>Ae. aegypti</i>	Probable
	<i>Ae. albopictus</i>	Avéré
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable
Réduction de la densité des femelles adultes	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Possible
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable
Réduction du nombre de piqûres	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	
	<i>Ae. polynesiensis</i>	
Réduction de l'incidence des arbovirus	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	
	<i>Ae. polynesiensis</i>	

La plupart des études retenues pour évaluer l'efficacité de la TIS ne s'appuient pas sur des protocoles répliqués indépendamment dans des sites expérimentaux randomisés. Ce constat n'a toutefois pas été considéré par les experts comme une limite méthodologique majeure lors de l'évaluation globale de la qualité des études pour une ligne de preuve dès lors que cette dernière est constituée d'au moins deux publications, ou qu'elle est constituée d'une étude présentant plusieurs indicateurs complémentaires. Toutefois, les experts soulignent que ces

aspects méthodologiques sont primordiaux pour permettre l'inférence des résultats obtenus dans le cadre d'une étude et d'exclure autant que possible les facteurs de confusion.

Enfin, les experts rappellent que la capacité vectorielle d'une population de vecteurs dépend d'une multitude de facteurs et qu'il n'est en aucun cas garanti qu'une réduction de la densité des populations d'*Aedes* aboutisse à une réduction de l'incidence des arboviroses. L'absence d'étude rendant compte de la capacité de la TIS à réduire l'incidence des arboviroses est donc une limite critique à l'objectivation de l'efficacité épidémiologique de la technique.

En conclusion, la TIS a démontré un impact significatif uniquement sur le taux d'éclosion des œufs parmi les paramètres entomologiques analysés. Pour une évaluation plus complète et précise de son efficacité dans la lutte antivectorielle, il serait pertinent de compléter cette analyse avec des résultats pour d'autres indicateurs entomologiques (ex : le nombre de femelles) et épidémiologiques.

3.3.2. Technique de l'insecte incompatible

- Bilan des essais TII et déploiements sur le terrain

La TII utilisée pour le contrôle des moustiques *Aedes* a connu son premier déploiement sur le terrain en 2009 en Polynésie française. Depuis, les expérimentations se sont étendues à sept pays, couvrant aussi bien des régions où *Aedes* représente un risque sanitaire émergent (e.g. Italie, Chine, Australie, États-Unis) que des zones où les arboviroses sont endémiques (e.g. Taïwan, Pakistan). À noter que la Polynésie française reste le seul territoire ultramarin français à avoir publié des résultats de tels essais. Les expérimentations dans les zones endémiques se sont principalement limitées à des conditions semi-naturelles.

Si la majorité des déploiements s'est effectuée à petite échelle (quelques hectares), certains pays comme l'Australie et les États-Unis ont réalisé des essais plus ambitieux, atteignant plus de 200 ha. La technique a été appliquée sur les principales espèces d'*Aedes*, avec des essais ciblant aussi bien *Ae. albopictus* qu'*Ae. aegypti*, et même *Ae. polynesiensis* dans le contexte spécifique de la Polynésie française. La diversité se reflète également dans les souches de *Wolbachia* utilisées, avec une prédominance des souches wAlbB et wPip (issue de *Culex pipiens*), chacune étant spécifiquement adaptée à certaines espèces de moustiques. En effet, *Ae. albopictus* étant naturellement porteur des souches wAlbA et wAlbB, il est courant d'observer des essais avec des moustiques mâles de cette espèce transinfectés par wPip et débarrassés ou non de leur symbiote naturel. Les essais ciblant *Ae. aegypti* ont tous utilisé la souche wAlbB de *Wolbachia*, issue d'*Ae. albopictus*.

En termes de protocole de lâcher, une grande diversité est à noter. En effet, si les lâchers sont toujours effectués avec des *Aedes* adultes, les dispositifs de lâchers peuvent aussi bien être disposés au sol par des agents chargés de libérer les moustiques à l'aide de contenants spécialisés et selon un maillage précis, que depuis des immeubles. Aux États-Unis, des lâchers par voitures équipées de dispositifs de libération automatisés par GPS (*Global Positioning System*) et minuterie ont été expérimentés. La fréquence des lâchers varie d'une à sept fois par semaine, sur une durée moyenne de 17 semaines, en privilégiant les périodes de pic d'activité des populations cibles. Les fréquences les plus élevées sont observées dans le cas de dispositifs de lâcher mobiles et automatisés.

Le ratio mâles lâchés/transinfectés/incompatibles¹⁹ est considéré comme un paramètre majeur de la compétitivité des mâles incompatibles et donc du succès des interventions de TII. Une grande hétérogénéité est observée dans les publications retenues : les ratios annoncés par les auteurs sont tantôt des objectifs visés, tantôt des moyennes observées à différentes périodes, rendant difficile l'exploitation de cette information.

La combinaison TIS-TII est une approche récente, avec un premier essai sur le terrain documenté en 2015 en Chine. Cette stratégie est souvent adoptée comme une évolution d'essais initiaux de TII, l'irradiation étant ajoutée comme moyen de prévention contre les éventuels risques liés aux femelles résiduelles²⁰. À ce jour, seuls quatre pays ont expérimenté cette approche combinée : la Chine, le Mexique, Singapour et la Thaïlande, tous caractérisés par l'endémicité des arboviroses transmises par *Aedes*.

Les déploiements ont majoritairement été réalisés à petite échelle (quelques hectares), à l'exception de l'essai à Singapour qui a couvert plusieurs kilomètres carrés. Les interventions ont principalement ciblé *Ae. aegypti*, avec un seul essai sur *Ae. albopictus* en Chine. Comme pour la TII classique, les profils d'infection par *Wolbachia* sont divers et dépendent de l'espèce ciblée. La diversité des protocoles employés est accentuée par l'hétérogénéité des doses de rayonnement utilisées pour stériliser les éventuelles femelles résiduelles, celles-ci allant de 30 Gy à 70 Gy. Pour l'ensemble des études, cette étape de stérilisation intervient dans le protocole après une phase de séparation des pupes mâles et femelles.

Les interventions se caractérisent par des lâchers exclusivement réalisés au stade adulte, le plus souvent au sol, avec une fréquence d'une à trois fois par semaine sur une durée moyenne d'environ 17 semaines, couvrant la période d'activité des moustiques. Une seule étude rapporte des lâchers depuis des immeubles. Cette publication est également la seule à rapporter des résultats relatifs à l'efficacité épidémiologique de la TIS-TII.

Le premier essai de TII renforcée sur le terrain a été réalisé en 2021 en Chine. Il fait suite aux essais de TIS-TII réalisés dans la même zone.

- Analyse de l'efficacité de la TII, de la TIS-TII et de la TII renforcée

L'évaluation de l'efficacité de la TII et de ses variantes (TIS-TII et TII renforcée) s'est fondée sur 18 publications et quatre indicateurs : le taux d'éclosion des œufs, le nombre de femelles, le nombre de piqûres et l'incidence des arboviroses.

Les études ont concerné *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Ae. polynesiensis*. Pour cette dernière, largement moins répandue que les deux autres, le nombre de données disponibles est plus faible.

La quasi-totalité des données disponibles portent sur des indicateurs entomologiques. Elles montrent la capacité de la TII et de ses variantes à réduire à la fois le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles, de manière plus ou moins robuste selon les couples indicateurs/espèces (Tableau 3). Les experts rappellent que ces indicateurs sont complémentaires et indispensables pour évaluer l'efficacité entomologique de la TII sur le terrain. La réduction du taux d'éclosion des œufs reflète la survenue d'une incompatibilité cytoplasmique lors d'accouplements entre des mâles lâchés transinfectés par une souche de

¹⁹ Par souci de simplification, le « ratio mâles lâchés/transinfectés/incompatibles : mâles sauvages » sera appelé « ratio » dans toute la suite du document.

²⁰ Femelles résiduelles : femelles non souhaitées présentes dans les lots de mâles stériles (TIS) ou incompatibles (TII) lors des lâchers. Leur présence peut réduire l'efficacité des techniques concernées, induire des nuisances liées aux piqûres ou présenter un risque de transmissions de pathogènes.

Wolbachia et les femelles sauvages de la population cible. Le nombre de femelles reflète directement la densité de population de moustiques et constitue, avec l'incidence des maladies à transmission vectorielle dues aux *Aedes*, un indicateur final de l'efficacité de la TII et de ses variantes.

Tableau 3 : Niveaux de preuves sur l'efficacité de la TII et de ses variantes

		TII	TIS-TII	TII renforcée
Réduction de la densité des œufs	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
Réduction du taux d'éclosion des œufs	<i>Ae. aegypti</i>	Avéré	Avéré	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Avéré	Possible	Possible
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Probable	Non qualifiable	Non qualifiable
Réduction du nombre de femelles	<i>Ae. aegypti</i>	Avéré	Avéré	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Avéré	Possible	Possible
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Possible	Non qualifiable	Non qualifiable
Réduction du nombre de piqûres	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Possible	Possible	Non qualifiable
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
Réduction de l'incidence des arboviroses	<i>Ae. aegypti</i>	Non qualifiable	Possible (uniquement pour la dengue)	Non qualifiable
	<i>Ae. albopictus</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable
	<i>Ae. polynesiensis</i>	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable

Les experts notent que, sauf rares exceptions, les dispositifs expérimentaux ne sont ni répliqués, ni randomisés. Ainsi, il est impossible d'exclure l'impact de certains facteurs de confusion liés aux conditions environnementales des essais (e.g. hétérogénéité du milieu, conditions météorologiques), aux possibles migrations d'individus entre zones traitées et non traitées ou encore aux mécanismes de compensation densité-dépendante dans les gîtes larvaires, ce qui constitue des sources d'incertitudes (cf. décrites chapitre 7 du rapport).

Enfin, comme pour l'évaluation de l'efficacité de la TIS, les experts soulignent le manque d'études épidémiologiques. En effet, il n'existe qu'une seule étude rendant compte de la capacité de la TIS-TII, appliquée à *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue. Bien que certaines études se soient intéressées à la réduction du nombre de piqûres causées par certaines espèces d'*Aedes*, il est impossible d'établir un lien direct entre cet estimateur des contacts hôte-vecteur et la survenue d'un effet épidémiologique. Il s'agit d'une limite critique à l'objectivation de l'efficacité épidémiologique de la TII.

Globalement, les experts soulignent que le nombre d'études disponibles concernant les variantes de la TII (TIS-TII et TII renforcée), expérimentées plus récemment, est plus limité

par rapport à la TII. Par ailleurs, peu d'études permettent de comparer, dans des conditions similaires, les performances de ces techniques par rapport à la TII classique.

Concernant la TII renforcée, les experts rappellent que cette technique repose sur l'utilisation d'un biocide (PPF) et qu'il est nécessaire de s'intéresser au devenir de celui-ci dans l'environnement et de considérer les conséquences de son éventuelle utilisation sur, par exemple, les espèces non cibles, la santé humaine et l'acceptabilité de la technique.

Pour conclure, la TII et ses variantes ont montré des effets significatifs sur les paramètres entomologiques étudiés. Toutefois, des études épidémiologiques supplémentaires sont nécessaires pour réaliser une évaluation plus complète et pertinente de l'efficacité de la TII.

3.3.3. Technique de remplacement

- Bilan des essais avec la technique de remplacement et déploiements sur le terrain

La technique de remplacement a connu son premier déploiement sur le terrain en 2011 en Australie, pays où elle a été initialement développée. Depuis, cette approche s'est étendue à plusieurs autres pays (e.g. Brésil, Colombie, Indonésie, Malaisie, Vietnam), tous caractérisés par leur endémicité pour la dengue. La grande majorité des déploiements de cette technique se font dans le cadre du *World Mosquito Program*²¹. La technique de remplacement se distingue par son passage rapide de la phase expérimentale à son déploiement dans la majorité des pays l'ayant testée. Seules les études réalisées en Indonésie ont mis en œuvre un design expérimental robuste à grande échelle.

L'ampleur des déploiements constitue une caractéristique notable de cette approche, avec des surfaces d'intervention atteignant jusqu'à 13 500 ha comme en Colombie. Le déploiement de cette technique s'est concentré exclusivement sur *Ae. aegypti*, reflétant une stratégie ciblée sur le vecteur principal de la dengue dans les zones d'intervention. Il est toutefois à noter qu'*Ae. albopictus* peut également s'avérer être un vecteur efficace d'arbovirus dans ces zones.

La souche *wMel* de *Wolbachia*, issue de *Drosophila melanogaster*, domine largement dans les protocoles sur le terrain, bien que la souche *wAlbB*, issue d'*Ae. albopictus*, ait également été utilisée, notamment en Malaisie, pour sa plus grande résistance aux fortes températures par rapport à *wMel*. Cela démontre l'importance d'adapter le choix de la souche aux objectifs visés et aux conditions locales. La souche *wMelPop* (issue aussi de *D. melanogaster*) semble quant à elle moins utilisée en raison de son coût métabolique²² important pour *Ae. aegypti*.

Contrairement aux autres techniques, la technique de remplacement implique le lâcher de moustiques mâles et femelles mélangés (cf. § 3.1.2 du rapport) et ne nécessite donc pas de sexage. Une autre particularité significative de cette approche réside dans la diversité des stades de développement auxquels les moustiques sont lâchés : si le stade adulte reste prédominant, des interventions ont également exploité les lâchers d'œufs, voire une combinaison œufs/adultes. Cette diversité se reflète également dans les dispositifs de lâcher

²¹ <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/work/about-us>

²² Coût métabolique (souvent appelé coût physiologique) : réduction de compétitivité (ou *fitness* en anglais) due à une modification du bagage génétique. Les mesures les plus classiques du coût métabolique sont la fécondité et la longévité, parfois la durée de développement ou d'autres traits de l'aptitude phénotypique comme la compétitivité de l'insecte hôte (chez *Aedes* par exemple).

Le coût physiologique conséquent à la présence de *Wolbachia* dépend des souches et des espèces d'hôtes. Il est souvent assez faible, mais très rarement nul s'il est bien estimé. C'est pourquoi *Wolbachia* n'est pas considérée comme un parasite mais ne peut pas non plus être considérée comme un mutualiste.

utilisés, allant de containers fixes au sol aux lâchers depuis des véhicules ou des étages d'immeubles, chaque méthode présentant ses propres avantages logistiques et opérationnels. Les lâchers d'œufs présentent l'avantage de la facilité de stockage et de transport. Par ailleurs, ce système de lâcher peut paraître moins invasif et être mieux accepté par les populations humaines locales. Toutefois, il est plus difficile de maîtriser le nombre d'adultes qui émergeront, leur dispersion et le sex-ratio²³. Dans la plupart des cas, les lâchers sont réalisés une fois par semaine. Certains articles rapportent toutefois des lâchers quotidiens ou bimensuels. De plus, plusieurs études ont montré que cette technique ne nécessiterait pas la continuation des lâchers et serait auto-entretenu lorsque *wMel* ou *wAlbB* s'est établi dans la population cible. Enfin, il est à noter que la majorité des publications portant sur la technique de remplacement rapportent à la fois des indicateurs d'efficacité entomologiques et épidémiologiques.

- Analyse de l'efficacité de la technique de remplacement

L'évaluation de l'efficacité de la technique de remplacement s'est fondée sur les résultats observés dans le cadre d'études dans différents contextes de lâchers de moustiques transinfectés par différentes souches²⁴ de *Wolbachia* : *wMel*, *wAlbB* et *wMelPop* (seulement l'efficacité entomologique pour cette dernière) dans une population cible d'*Ae. aegypti* (Tableau 4) sur :

- l'introduction²⁵ de la souche de *Wolbachia* (au cours des lâchers) ;
- l'établissement²⁶ de la souche de *Wolbachia* (après l'arrêt des lâchers) ;
- l'incidence d'une arbovirose (i.e. dengue, chikungunya ou Zika).

Tableau 4 : Niveaux de preuves sur l'efficacité de la technique de remplacement

Indicateur	Niveau de preuve avec <i>wMel</i>	Niveau de preuve avec <i>wAlbB</i>	Niveau de preuve avec <i>wMelPop</i>
Introduction d'une souche de <i>Wolbachia</i> dans une population cible d' <i>Ae. aegypti</i>	Avéré	Avéré	Avéré
Établissement d'une souche de <i>Wolbachia</i> dans une population cible d' <i>Ae. aegypti</i>	Avéré	Possible	Absence avérée d'effet
Réduction de l'incidence de la dengue	Avéré	Avéré	Non qualifiable
Réduction de l'incidence du chikungunya	Possible	Non qualifiable	Non qualifiable
Réduction de l'incidence du Zika	Non qualifiable	Non qualifiable	Non qualifiable

Remarque : les conclusions ne concernent que des cas de transinfection de *Wolbachia* chez *Ae. aegypti*.

²³ Le sex-ratio correspond au rapport entre le nombre de mâles et le nombre de femelles.

²⁴ Concernant la souche *wAlbB*, celle-ci est parfois mise en avant pour sa résistance aux températures élevées (températures maximales quotidiennes dépassant 36°C), contrairement à *wMel*. Toutefois, peu d'études publiées rendent compte de l'utilisation de cette souche dans le cadre de la technique de remplacement.

²⁵ L'introduction d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt est définie comme l'augmentation de la prévalence d'une souche d'intérêt de *Wolbachia* transinfectée, portée par les moustiques lâchés dans une population cible pendant la phase de lâchers. Une introduction effective est caractérisée dans la plupart des études, et de manière empirique, par une prévalence passant de 0 % à environ 50 % en quelques semaines.

²⁶ L'établissement d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt est définie comme la persistance (i.e. le maintien ou l'augmentation) dans le temps de la prévalence d'une souche d'intérêt de *Wolbachia* dans une population cible après l'arrêt des lâchers. Celle-ci rend compte de la stabilité de l'invasion de *Wolbachia* dans la population cible et donc du remplacement de la population visée.

D'un point de vue entomologique, la capacité à introduire wMel, wAlbB et wMelPop et à établir wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti* a été considérée avérée par les experts. La capacité à établir wAlbB a été considérée possible. Ces résultats sont consolidés par la réalisation d'études dans plusieurs contextes pour la souche wMel. Quelques études montrent que des designs expérimentaux robustes sont possibles et valorisables.

D'un point de vue épidémiologique, l'efficacité de la technique à réduire l'incidence de la dengue est avérée avec wMel et wAlbB. De plus, la réduction de l'incidence du chikungunya est considérée par les experts comme possible avec wMel. Des trois techniques étudiées, la technique de remplacement est la seule qui dispose de preuves d'efficacité épidémiologique, avérées vis-à-vis de la dengue et possibles vis-à-vis du chikungunya.

À noter cependant que les experts soulignent la difficulté d'évaluer l'établissement d'une souche de *Wolbachia* dans une population cible d'*Ae. aegypti* compte tenu :

- de l'absence de consensus concernant la prévalence de *Wolbachia* à atteindre dans la population cible pour l'établissement de la souche. Certains auteurs ont réalisé des lâchers jusqu'à atteindre une prévalence de 50 %, d'autres considèrent que le seuil à atteindre pour considérer une zone comme traitée est de 60 %. Sur un plan théorique, une prévalence d'au moins 60 à 80 % est recommandée pour garantir que la bactérie puisse s'établir durablement et se propager spatialement dans la population de moustiques ;
- de la diversité dans la manière de présenter les résultats des études (résultats agrégés vs résultats détaillés par site de lâcher). Dans les cas où les résultats détaillés sont présentés, une grande hétérogénéité est observée en termes de dynamique temporelle et d'ampleur d'effet ;
- de l'absence d'investigation des facteurs de succès et d'échec de l'établissement de *Wolbachia*, à l'exception des phénotypes de résistances aux insecticides et du coût métabolique de *Wolbachia* pour les moustiques transinfectés.

Par ailleurs, les experts soulignent que l'ampleur des effets observés dépend de la prévalence de *Wolbachia* dans la population cible. En effet, une corrélation positive entre le taux de prévalence de wMel et wAlbB dans la population et la réduction de l'incidence des cas de dengue a été mise en évidence dans la plupart des études.

Les experts relèvent que la plupart des analyses statistiques réalisées dans les études épidémiologiques sont fondées sur les cas de dengues notifiés (i.e. cas suspects et confirmés) aux systèmes de surveillance nationaux. Étant donné que les symptômes des trois arboviroses (dengue, chikungunya, Zika) sont très similaires, voire également très proches d'autres maladies virales (*West Nile Virus*, grippe, etc.), l'ampleur de l'effet des interventions avec la technique de remplacement peut être sur ou sous-estimée. Il est donc important d'utiliser davantage, et quand c'est possible, l'indicateur des cas d'arbovirose confirmés. En outre, le caractère cyclique et saisonnier particulier des épidémies devrait encourager des études épidémiologiques plus longues permettant de mieux maîtriser les facteurs de confusion liés à cette saisonnalité.

D'autre part, les experts soulignent l'absence de données relatives à l'application de la technique de remplacement à d'autres espèces qu'*Ae. aegypti*. Or, cette espèce cohabite parfois avec d'autres, dont *Ae. albopictus*, vecteur très efficace de nombreux arbovirus. La

présence de ces deux vecteurs pourrait donc impacter négativement l'efficacité de la technique de remplacement lorsqu'elle est appliquée à une seule espèce.

3.4. Effets non-intentionnels potentiels

Comme toutes les techniques de LAV, la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement, peuvent entraîner des effets non intentionnels (ENI). Ces effets peuvent être décrits à différentes échelles et sont sous-tendus par différents mécanismes. À l'échelle des populations de moustiques, il s'agit de processus génétiques et démographiques. À l'échelle des écosystèmes, il s'agit de changements dans les réseaux trophiques, les interactions entre espèces ou les niches écologiques. Enfin, il peut également y avoir des ENI sur la santé humaine.

Les ENI décrits ci-dessous ne tiennent pas compte des différents scénarios de gestion des maladies à transmission vectorielle bien qu'ils puissent varier considérablement selon les stratégies mises en œuvre, les espèces ciblées, et les dynamiques écologiques locales.

3.4.1. Effets non-intentionnels à l'échelle des populations de moustiques

Plusieurs catégories d'ENI décrits ci-après sont des conséquences de mutations ponctuelles dans le génome des moustiques utilisés. Ces mutations aléatoires, lorsqu'elles améliorent l'aptitude phénotypique des individus qui les portent (meilleure survie ou reproduction), peuvent se maintenir dans les populations. Le recours aux pesticides (utilisés dans le cadre de la TIS ou de la TII renforcées), aux rayonnements ionisants (dans le cadre de la TIS) ou encore à des souches de *Wolbachia* transinfectées (dans le cadre de la TII ou de la technique de remplacement) peut accélérer les phénomènes évolutifs sous pression de sélection.

- Résistances
 - Modifications comportementales

Des modifications comportementales (dus à une baisse de compétitivité des *Aedes* mâles irradiés ou à un éventuel évitement de partenaires porteurs d'une souche de *Wolbachia* incompatible) peuvent apparaître, ce qui pourrait réduire l'efficacité de la TIS, de la TII ou de la technique de remplacement.

- Résistance à *Wolbachia* ou incompatibilité cytoplasmique

Chez le moustique

Une diminution de l'efficacité de l'incompatibilité cytoplasmique, due à des mutations génétiques, a été observée chez des moustiques, par exemple chez *Culex pipiens* ou *Ae. albopictus*. Ceci pourrait affecter l'efficacité des techniques mises en œuvre.

Chez le virus

Il a été observé que la répllication de quelques virus (ex : Jamestown Canyon virus) serait moins affectée par *Wolbachia* que celle des agents pathogènes ciblés par la technique de remplacement, ce qui pourrait modifier la dynamique de transmission d'agents pathogènes non ciblés.

- Résistance génétique au pyriproxyfène

La TIS et la TII renforcées peuvent induire la sélection d'une résistance au PPF. L'utilisation du PPF pourrait également être à l'origine de résistances croisées avec d'autres insecticides (ex : pyréthrinoides).

- Transfert de mutations génétiques

La très grande majorité des mutations est délétère ou neutre. La probabilité d'apparition de traits nouveaux bénéfiques pour les moustiques, allant à l'encontre des objectifs de contrôle, malgré le fort taux de reproduction des moustiques, est très faible selon les experts du GT. Ceci est d'autant plus vrai pour les traits complexes polygéniques tels que les comportements, qui nécessitent la sélection conjointe de mutations dans différents gènes.

Ces événements génétiques font partie des événements rares, mais leurs conséquences imprévisibles peuvent impacter la capacité vectorielle ou d'autres traits d'histoire de vie²⁷ du moustique.

- Hybridation

De nouveaux génotypes de moustiques peuvent apparaître lors de l'hybridation entre moustiques sauvages et moustiques lâchés. C'est l'une des raisons pour lesquelles les souches locales d'*Aedes* doivent être privilégiées lors de lâchers de moustiques.

- Transfert du microbiote d'une espèce de moustique à une autre, voire à d'autres insectes

- Transfert de *Wolbachia*

Une fois transinfectées dans les populations cibles, les souches de *Wolbachia* pourraient à leur tour être transmises à d'autres espèces d'insectes. Cependant, le changement d'hôte reste un événement complexe et naturel qui n'est pas suffisamment documenté et nécessite des recherches plus approfondies.

- Transfert d'autres micro-organismes

Les moustiques lâchés peuvent transmettre une partie de leur microbiote aux moustiques sauvages, ce qui pourrait avoir des conséquences sur le risque vectoriel :

- soit en modifiant l'aptitude phénotypique et la compétitivité (*fitness*) des moustiques sauvages ;
- soit par une éventuelle interaction négative avec *Wolbachia*.

- (Sur)compensation démographique

Le phénomène de compensation ou de surcompensation démographique se produit à de fortes densités larvaires. Il peut avoir pour conséquence un nombre d'adultes *Aedes* émergent aussi grand, voire plus grand que celui qui aurait été observé en l'absence de LAV. C'est une des raisons pour lesquelles il est indispensable de réduire les populations d'*Aedes* sauvages avant de déployer la TIS ou la TII.

La technique de remplacement n'est, quant à elle, pas directement concernée par cet effet (cette technique ne visant pas la réduction de taille des populations de moustiques).

²⁷ Exemples : mortalité, durée de développement, fécondité, etc.

3.4.2. Effets non-intentionnels à l'échelle des communautés²⁸ et des écosystèmes

- Déséquilibre des chaînes trophiques

Les experts considèrent que les lâchers abondants de mâles stériles ou au contraire, la réduction de populations de moustiques pourraient entraîner des perturbations non intentionnelles des chaînes trophiques préexistantes. Ces effets sont variables selon le contexte local et dépendent notamment :

- de la diversité en espèces de moustiques à un endroit donné (dynamique d'espèces différentes selon les lieux) ;
- de l'espèce de moustique ciblée par la technique ;
- de l'absence de prédateurs dépendants, a fortiori si l'espèce est invasive ;
- de la position des moustiques au sein du réseau trophique ;
- des possibilités de recolonisations d'habitats.

- Modifications des niches écologiques

Les potentialités de recolonisation des niches écologiques laissées vacantes par la forte diminution des populations d'*Aedes* sont à considérer.

- Toxicité du pyriproxyfène pour les écosystèmes

La toxicité du PPF (utilisé uniquement dans les techniques renforcées) est avérée sur de nombreux organismes. Les experts estiment qu'il est essentiel de considérer son impact écologique en prenant en compte les risques sur les écosystèmes et les structures des communautés aux concentrations utilisées en TIS ou TII renforcées.

3.4.3. Effets non-intentionnels pour la santé humaine

- Modification de la dynamique de transmission d'arbovirus

Les changements de compétence vectorielle induits par *Wolbachia* pourraient modifier le virome du moustique. Les conséquences de ces évolutions sur une possible transmission vectorielle sur le terrain ne sont pas encore bien comprises. Néanmoins, elles pourraient modifier les dynamiques écologiques de transmission virale, laissant une possibilité d'élargissement de niche écologique à d'autres agents pathogènes pour l'être humain, ainsi que les animaux.

- Nuisance et risque de transmission d'agents pathogènes par des femelles résiduelles

Des travaux de modélisation montrent que la présence de femelles résiduelles lors des lâchers est à prendre en considération, notamment en période de circulation virale.

Aussi, pour la TIS, et encore plus pour la TII, la qualité du sexage est cruciale pour éviter les échecs et les risques liés aux femelles résiduelles relâchées accidentellement. Malgré le développement de méthodes automatisées ayant permis d'atteindre des taux théoriques de contamination d'une femelle pour 900 millions de mâles, la plupart des méthodes de sexage restent imparfaites.

²⁸ Communautés : ensemble des populations d'espèces différentes qui interagissent dans un même environnement.

- Baisse d'immunité

La relation entre baisse d'immunité et réapparition d'épidémie est complexe et dépend des agents pathogènes concernés. Elle doit néanmoins être envisagée comme un effet de la diminution de la circulation des agents pathogènes ciblés par les techniques étudiées.

Cette perte d'immunité pourrait, par ailleurs, être compensée d'une part par des campagnes de vaccination (lorsqu'un vaccin est disponible) et d'autre part par le maintien d'une stratégie de lutte antivectorielle intégrée.

- Toxicité du pyriproxyfène pour la santé humaine

Le PPF utilisé dans les techniques renforcées pourrait contaminer l'environnement et perturber la signalisation des hormones thyroïdiennes. Cependant, dans son rapport de 2019, l'Efsa n'émet pas d'inquiétude sur la potentielle toxicité du PPF mais précise en même temps qu'il subsiste des lacunes dans la littérature concernant sa toxicité ainsi que celle de ses métabolites.

3.5. Conclusions et recommandations des CES Biotechnologies et Biocides ainsi que du GT « TIS-TII-remplacement »

3.5.1. Conclusion

La technique de l'insecte stérile (la TIS, ainsi que la TIS renforcée), la technique de l'insecte incompatible (la TII, ainsi que la TIS-TII, et la TII renforcée) et la technique de remplacement sont des outils innovants de lutte antivectorielle déployés sur le terrain pour réduire les risques de transmission vectorielle et/ou les nuisances dues aux *Aedes*. Les résultats de la revue de la littérature scientifique concernant ces techniques montrent des niveaux de preuve de leur efficacité très contrastés.

Concernant la TIS, le seul indicateur pour lequel l'effet est considéré avéré est la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus*. Cet indicateur reflète le succès de la stérilisation par irradiation des mâles lâchés et de l'accouplement entre les mâles stériles et les femelles sauvages. Cependant, il ne rend pas directement compte d'une réduction du nombre de femelles (effet qualifié de possible par les experts). En outre, l'absence d'études mesurant l'impact de la TIS sur l'incidence des arboviroses ne permet pas, au moment de la rédaction du rapport, d'évaluer l'efficacité épidémiologique de la technique.

Concernant la TII, la quasi-totalité des données disponibles porte sur des indicateurs entomologiques. Elles montrent la capacité de la TII et de la TIS-TII à réduire à la fois le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles, de manière plus ou moins robuste selon les combinaisons espèce (*Aedes*) - souche (*Wolbachia*). La réduction du nombre de femelles rend directement compte de l'efficacité entomologique de la technique (niveau de preuve avéré pour *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, niveau de preuve possible pour *Ae. polynesiensis*). La seule étude épidémiologique réalisée rend compte, chez *Ae. aegypti*, de la capacité de la TIS-TII à réduire l'incidence de la dengue (effet qualifié de possible par les experts).

Enfin, concernant la technique de remplacement, toutes les études ont été réalisées sur *Ae. aegypti*. La capacité de cette technique à introduire *wMel*, *wAlbB* et *wMelPop* et à établir *wMel* dans une population sauvage d'*Ae. Aegypti* est avérée, alors que l'établissement de *wAlbB* est possible chez *Ae. aegypti*. Sa capacité à réduire l'incidence de la dengue est également avérée avec *wMel* et *wAlbB*. De plus, son efficacité sur la réduction de l'incidence

du chikungunya est considérée comme possible avec *wMel*. Les experts soulignent que l'ampleur des effets observés dépend de la prévalence de *Wolbachia* dans la population cible et qu'en dessous d'une prévalence de 60 % l'efficacité épidémiologique n'a pas été démontrée.

Des trois techniques étudiées, la technique de remplacement est la seule qui présente des preuves de son efficacité épidémiologique qualifiées d'avérées vis-à-vis de la dengue et de possibles vis-à-vis du chikungunya. Des résultats probants en termes d'efficacité ont été obtenus dans plusieurs contextes (épidémique ou pas) par différentes équipes et sur plusieurs continents (Asie, Amérique latine, Australie, etc.).

Les conclusions relatives à l'efficacité de ces techniques ne sont valables que pour les espèces étudiées et, du fait des caractéristiques biologiques intrinsèques à chacune, elles ne peuvent être extrapolées à une autre espèce de moustique, même au sein du genre *Aedes*. À noter que pour la TII, le choix de la souche de *Wolbachia* dépendant de l'espèce et des profils symbiotiques de la population cible, il n'est pas possible d'extrapoler les conclusions d'une espèce de moustique à une autre. Pour la technique de remplacement, les mécanismes de l'interférence avec l'agent pathogène viral étant encore mal connus, il n'est pas non plus possible d'étendre les conclusions d'une espèce à une autre ou à d'autres agents pathogènes que ceux ayant été étudiés dans les publications retenues par le GT. De plus, les indicateurs d'efficacité ne sont pas standardisés d'une publication à une autre, rendant hasardeuses toutes comparaisons, notamment en termes quantitatifs. En résumé, sans connaître précisément les déterminants de l'efficacité des techniques, il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus d'un contexte à un autre. Afin de consolider les preuves scientifiques de l'efficacité des techniques, des travaux de recherche supplémentaires à plus grande échelle et avec un réel effort d'harmonisation des indicateurs et des protocoles apparaissent donc indispensables.

À noter néanmoins que d'un point de vue méthodologique, certaines expérimentations basées sur des designs robustes avec traitements randomisés dans une matrice de répétitions spatiales sont considérées comme de très bonne qualité. De plus, la variabilité des approches réalisées, tout comme les recommandations possibles pour celles à venir, ne doivent pour autant pas ternir plusieurs facettes importantes des recherches menées sur les techniques de LAV utilisant des lâchers de moustiques, notamment (1) l'articulation entre recherche fondamentale, recherche appliquée et déploiement sur le terrain, avec des allers-retours fructueux entre théorie et expérimentation ; (2) l'interdisciplinarité, avec des dialogues réels entre microbiologie, biologie des populations d'insectes, écologie, épidémiologie, et sciences humaines et sociales ; (3) le nombre de publications dans des revues scientifiques d'excellente qualité. Certaines avancées scientifiques sont particulièrement ingénieuses et innovantes, comme l'utilisation de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* pour sa capacité à induire des croisements incompatibles ou à se propager dans les populations de moustiques tout en bloquant leur transmission de virus. Dans l'ensemble, les recherches évaluées dans ce rapport pourraient aussi servir de modèle à d'autres domaines, comme celui de la lutte contre les ravageurs en agriculture.

Pour être efficaces, ces techniques doivent être mises en œuvre sur le long terme. En effet, afin de réduire le risque vectoriel, les lâchers doivent être réalisés de manière préventive. Concrètement, ces techniques nécessitent des lâchers hebdomadaires d'un très grand nombre de moustiques sur de grandes superficies en amont et pendant toute la durée d'activité

de l'insecte ciblé. Pour la technique de remplacement, les lâchers ne sont plus nécessaires après établissement de la souche de *Wolbachia* dans la population de moustique ciblée.

Ces techniques devront être déployées dans le cadre d'une stratégie de LAV intégrée, en complément d'autres méthodes de prévention et de lutte (physique, chimique ou biologique), notamment celles visant la réduction des populations de moustiques en amont des lâchers, ainsi que d'une stratégie vaccinale adaptée le cas échéant.

Au-delà d'une évaluation à court ou moyen terme de l'efficacité de ces techniques, leur efficacité à long terme et leurs effets non-intentionnels devront également être évalués. À ce jour, ces effets ont rarement été évalués lors des essais et doivent faire l'objet de travaux de recherche spécifiques et de recommandations en termes de maîtrise des risques.

3.5.2.Recommandations

- **Recommandations à destination des acteurs²⁹ en charge du déploiement de la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement**

Encadrement du déploiement de ces techniques

Considérant :

- le niveau de preuves actuellement disponibles pour évaluer l'efficacité de la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement pour contrôler les populations d'*Aedes* et réduire le nombre de cas d'arboviroses ;
- que ces techniques sont destinées à être préventives et/ou à être utilisées sur du long terme ;
- les potentiels effets non-intentionnels de ces techniques et le manque de données sur le sujet ;
- que l'évaluation des risques doit être un processus continu et itératif, faisant l'objet d'une surveillance attentive afin de minimiser les conséquences négatives et inattendues du déploiement de ces techniques ;
- l'absence de statut réglementé pour les insectes transinfectés par *Wolbachia* ;
- la nécessité de respecter les normes et réglementations nationales et de se conformer aux directives de l'OMS pour déployer ces techniques ;
- l'existence d'une réglementation concernant l'entrée sur le territoire et l'introduction dans l'environnement des macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux (décret 2012-140³⁰ et arrêté du 28 juin 2012³¹) ;

les experts du GT recommandent :

1. la mise en place d'une réglementation claire et constituant une base commune pour les porteurs de projets et autorités locales, afin d'encadrer les lâchers de moustiques.

²⁹ Par exemple Ministères en charge de l'environnement et de la santé, Préfet, DREAL, ARS, collectivités, etc.

³⁰ Décret 2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux.

³¹ Arrêté du 28 juin 2012 relatif aux demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique.

Cette réglementation pourrait s'inspirer de la réglementation existante pour les macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux et devrait notamment inclure :

- la mise en place d'une démarche administrative comprenant (voir propositions détaillées en annexe 1 du rapport) :
 - o une déclaration obligatoire préalable à la mise en place des différentes étapes de la technique (élevage en masse, marquage-recapture, essais en conditions semi-naturelles...) auprès d'une autorité compétente centralisée ;
 - o une autorisation préalable aux lâchers opérationnels auprès d'une autorité compétente locale (par exemple le Préfet, la DREAL ou l'ARS), ainsi qu'un bilan (de l'efficacité et des ENI) en cours et en fin d'essais ;
 - la création d'un statut réglementaire pour les insectes transinfectés par *Wolbachia* et/ou irradiés pour un usage en santé publique (ainsi qu'en agriculture) ;
2. de mettre en œuvre ces techniques dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée ;
 3. de définir des indicateurs permettant de surveiller de manière standardisée les ENI (voir ceux listés au chapitre 6 du rapport) ;
 4. de prendre en compte les ENI potentiels et les résultats des études coût-bénéfices pour choisir la stratégie de LAV intégrée la mieux adaptée au contexte local.

Participation citoyenne et gouvernance lors du déploiement des techniques

Considérant :

- que ces techniques doivent être déployées en combinaison avec d'autres techniques de LAV ;
- que l'utilisation de ces techniques peut avoir des conséquences socio-économiques (e.g. acceptabilité des opérations de LAV, gouvernance et organisation de la LAV) ;
- que ces techniques peuvent susciter des questions, voire des inquiétudes dans la population ;

les experts du GT recommandent :

1. la mise en place d'une instance de coordination et de pilotage des essais et du déploiement de ces techniques sur le territoire national ;
2. de mettre en place une stratégie de communication, de concertation et de mobilisation sociale précoce et adaptée au contexte local (ex : instances de concertation, etc.), afin de faciliter l'accès à l'information du public en toute transparence ;
3. d'impliquer les acteurs locaux de la LAV (autorités sanitaires, opérateurs de démoustication, collectivités, associations) dans la mise en œuvre et le suivi des interventions ;
4. d'évaluer l'acceptabilité sociale à chaque étape du processus ;
5. d'anticiper les risques et les opportunités en termes socio-économiques et d'envisager des politiques publiques d'accompagnement économique à l'échelle des territoires.

- **Recommandations en matière de la recherche**

Priorités de recherche

Considérant :

- les déficits de connaissances subsistant en matière d'efficacité (entomologique et épidémiologique) et d'ENI de ces techniques ;
- le nombre très limité de publications pour certaines techniques (ex : TIS renforcée, TIS-TII et TII renforcée) et/ou certaines espèces (ex : *Ae. polynesiensis*) ;

les experts du GT recommandent de promouvoir les travaux de recherche par des institutions indépendantes (non impliquées dans le déploiement de ces techniques) et leur financement, notamment :

1. d'approfondir les travaux interdisciplinaires de recherche (associant épidémiologie, entomologie, modélisation...) en priorité pour :
 - évaluer l'efficacité épidémiologique des techniques (notamment de la TIS pour laquelle il n'y a pas de données) ;
 - explorer la stabilité de la fréquence de *Wolbachia* dans les populations d'*Aedes* cibles pour la technique de remplacement ;
 - évaluer le poids des différents facteurs (période, sites et durée des lâchers, nombre de mâles stériles lâchés par semaine, ratio, autres méthodes de LAV mises en œuvre dans les zones des essais, etc.) pouvant influencer les résultats en termes d'efficacité de ces techniques ;
2. d'encourager les travaux de recherche sur les effets non-intentionnels potentiels de ces techniques, après avoir défini des indicateurs pour les surveiller ;
3. d'encourager la recherche d'alternatives au PPF pour la TIS et la TII renforcée ;
4. de réaliser des travaux de recherche de type coût-efficacité³² et/ou coût-bénéfice³³ de ces techniques ainsi que sur leurs impacts socio-économiques (e.g. acceptabilité des opérations de LAV, gouvernance et organisation de la LAV).

Conception expérimentale rigoureuse et optimisation des protocoles techniques

Considérant l'existence de lignes directrices (AIEA, OMS), le GT recommande en premier lieu de les appliquer, ainsi que :

1. de standardiser les indicateurs d'évaluation d'efficacité entomologiques (inclure systématiquement la densité de femelles) et épidémiologiques (se fondant préférentiellement sur les cas confirmés) et la manière de les calculer pour faciliter les comparaisons entre études et l'analyse de leurs résultats ;
2. de privilégier des designs expérimentaux robustes permettant des conclusions claires sur l'efficacité :

³² L'analyse coût-efficacité est une méthode quantitative consistant à comparer le « retour sur investissement » d'une action (ici une méthode de LAV) (c'est-à-dire les résultats souhaités qu'elle produit, rapportés à son coût), par comparaison avec d'autres actions possibles. Cette approche permet de comparer différentes stratégies de gestion.

³³ L'analyse coûts-bénéfices (ACB) est un outil d'aide à la décision mettant en avant les bénéfices escomptés d'un projet, d'une stratégie ou d'une politique en les comparant aux coûts liés à sa mise en œuvre.

- avec réplicats et randomisations (avec des zones témoins de surface équivalente à celles des lâchers),
 - ainsi que des séries temporelles suffisamment longues : prévoir un suivi pré-intervention (pour avoir un témoin temporel et évaluer l'effet de l'intervention) et post-intervention (pour couvrir plusieurs saisons et les fluctuations des arboviroses dans les TUM, en particulier pour la technique de remplacement dont les effets sont supposés durables).
3. de documenter les facteurs (période, sites et durée des lâchers, nombre de mâles stériles lâchés par semaine, ratio lâchés/sauvages, autres méthodes de LAV mises en œuvre dans les zones des essais, etc.) pouvant influencer les résultats en termes d'efficacité de ces techniques et rendre les données brutes disponibles.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Les maladies à transmission vectorielle représentent un enjeu majeur de santé publique. Cet enjeu est d'ores et déjà patent dans les territoires ultramarins français des Antilles, Guyane et de l'Océan Indien, où les épidémies de dengue sont saisonnières. Plus récemment, l'évaluation par l'Anses (Anses 2024) du risque et des impacts d'une arbovirose associée à la présence du moustique tigre a conclu à la probabilité assez élevée d'avoir, au cours d'une saison en France hexagonale, au moins un épisode de transmission autochtone sous forme de foyer(s) localisé(s) à cinq ans dans le contexte hexagonal. Cette expertise avait également caractérisé les différents impacts sur le système de soins, ainsi que sur d'autres activités socio-économiques qu'une épidémie d'arbovirose serait susceptible de générer.

Dans ce contexte de menace croissante liée aux agents pathogènes transmis par les *Aedes* et en l'absence de solution vaccinale adaptée, ainsi que de traitements spécifiques contre ces maladies, la lutte contre les moustiques vecteurs (dite lutte anti-vectorielle ou LAV) reste le principal moyen d'action. Comme illustré par l'avis de l'Anses relatif aux stratégies de LAV (Anses 2022), celles-ci doivent adopter une approche dite de lutte intégrée, reposant sur une combinaison d'actions de surveillance, de prévention et de contrôle, en associant étroitement la population.

S'agissant des moyens de lutte sur les populations de moustiques figurent notamment la lutte « mécanique », les pièges (Anses 2021) ou encore les traitements biocides. Chacun d'entre eux présente des limites : manque de preuve d'efficacité, résistances aux biocides ou risques d'effets pour l'environnement voire la santé humaine. Ainsi, malgré les travaux sur l'identification d'un panel de substances actives d'intérêt pour la LAV (Anses 2016), force est de constater que les solutions homologuées sont en nombre très restreintes (la deltaméthrine est la seule substance biocide adulticide actuellement autorisée) et qu'il peut être nécessaire de s'appuyer sur des recommandations spécifiques ou dérogatoires pour les stratégies d'utilisation de produits biocides dans un contexte inter-épidémique et épidémique contre les moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Anses 2023).

C'est dans ce contexte que des techniques, pour la plupart alternatives à la lutte chimique contre les moustiques vecteurs, ont été développées ou sont en cours de développement à travers le monde. Aussi, il existe une certaine urgence à en qualifier l'efficacité et en documenter les effets non-intentionnels (ENI).

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions des experts, ainsi que leurs recommandations relatives à l'évaluation et la mise en œuvre de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques : TIS, TII et leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement. S'agissant de l'encadrement, elle apporte cependant les nuances et précisions ci-après.

La revue de la littérature scientifique menée montre qu'il ressort d'ores et déjà des éléments de preuve de l'efficacité (établis sur différents critères), même s'ils sont contrastés selon les techniques. Ainsi, la technique de remplacement est la seule à présenter des preuves de son efficacité épidémiologique avérées vis-à-vis de la dengue et possibles vis-à-vis du chikungunya (cf. tableau 4). Les niveaux de preuves pour les autres paramètres et techniques sont indiqués dans ce même avis (Tableaux 2 et 3). L'Anses encourage à poursuivre, notamment dans le cadre des mises en œuvre sur le terrain, la collecte des données permettant de préciser ou consolider les niveaux de preuves disponibles, par des travaux de recherche complémentaires. Pour cela, des programmes de recherche coordonnés et des financements dédiés apparaissent indispensables.

Par ailleurs, l'Agence partage le constat du GT que la mise en place et le déploiement des techniques utilisant les lâchers de moustiques stériles, stérilisants ou transinfectés ne font l'objet d'aucun encadrement réglementaire dédié. L'Anses considère que cet encadrement devrait avoir pour objectifs premiers la transparence – principe important dans l'adhésion aux stratégies de LAV –, et la traçabilité pour un suivi des déploiements opérationnels de ces techniques, qu'il convient de déployer avec la rigueur recommandée. Un dispositif basé sur la déclaration de la mise en place et du déploiement répondrait à ces objectifs. Elle souligne également le besoin de création d'un statut réglementaire pour les insectes irradiés et/ou transinfectés par *Wolbachia*. À noter que des premiers lâchers de moustiques stériles (TIS) en France hexagonale ont eu lieu à Brive-la-Gaillarde en mai 2025.

Au sujet de paramètres à surveiller dans le cadre des déploiements, l'agence indique qu'une partie de l'expertise a recensé, de manière prospective, les effets non-intentionnels potentiels de ces techniques. Une grande part de ces effets est peu documentée. Aussi, l'Agence est prête à mettre en œuvre une expertise pour analyser plus avant les potentiels effets non-intentionnels, afin de recommander ceux qu'il conviendrait de surveiller lors du déploiement opérationnel de ces techniques.

Pr Benoît Vallet

MOTS-CLÉS

Moustique, *Aedes*, lutte anti-vectorielle, technique de l'insecte stérile (TIS), technique de l'insecte incompatible (TII), technique de remplacement.

Mosquito, Aedes, vector control, sterile insect technique (SIT), incompatible insect technique (IIT), replacement technique.

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. 2016. "Avis de l'Anses relatif à l'actualisation des substances actives et produits biocides potentiellement intéressants pour une utilisation en lutte anti-vectorielle (LAV). (Saisine 2015-SA-0169). Maisons-Alfort : Anses, 54 p."
- Anses. 2021. *Évaluation de l'efficacité des pièges utilisés dans le cadre de la lutte anti-vectorielle contre les moustiques Aedes vecteurs d'arboviroses.* (Saisine 2020-SA-0150). Maisons-Alfort : Anses, 64 p. Anses.
- Anses. 2022. *Avis relatif à l'évaluation des stratégies de lutte anti-vectorielle (LAV).* (Saisine n°2019-SA-0039). Maisons-Alfort : Anses, 19 p. Anses, 19 p.
- Anses. 2023-07-18 2023. *Avis de l'Anses : Recommandations de stratégies d'utilisation de produits biocides dans un contexte inter-épidémique et épidémique contre les moustiques vecteurs de type Aedes, Anopheles et Culex aux insecticides.* (Saisine 2020-SA-0029). Maisons-Alfort : Anses, 59 p. Anses, 58 p.
- Anses. 2024. "Avis de l'Anses sur la probabilité d'apparition et ampleur d'épidémies dues à un arbovirus transmis par *Aedes albopictus* en France hexagonale et leurs impacts sur la santé et l'économie. (saisine 2022-SA-0146). Maisons-Alfort : Anses, 26 p. ."
- HCB. 2017. "Avis en réponse à la saisine HCB du 12 octobre 2015 concernant l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés dans le cadre de la lutte antivectorielle. Paris, le 31 mai 2017." Haut conseil des biotechnologies.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Avis « Evaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques : TIS, TII et technique de remplacement » (saisine 2023-SA-0126). Maisons-Alfort : Anses, 28 p.

Évaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques : TIS, TII et technique de remplacement

Saisine « n°2023-SA-0126 TIS-TII »

RAPPORT d'expertise collective

**CES Biotechnologies
CES Biocides
GT Vecteurs**

GT TIS-TII

Juin 2025

Citation suggérée

Anses. (2025). Évaluation de l'efficacité des techniques de lutte antivectorielle utilisant des lâchers de moustiques : TIS, TII et technique de remplacement (saisine 2023-SA-0126). Maisons-Alfort : Anses, 201 p.

Mots clés

Moustique, *Aedes*, lutte anti-vectorielle, technique de l'insecte stérile (TIS), technique de l'insecte incompatible (TII), technique de remplacement.

Mosquito, Aedes, vector control, sterile insect technique (SIT), incompatible insect technique (IIT), replacement technique.

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Présidente

Sylvie MANGUIN – Directrice de recherche, IRD – entomologie médicale et moléculaire, identification, biologie des vecteurs et lutte antivectorielle

Vice-président

Xavier FAUVERGUE – Directeur de recherche, INRAE – dynamique des populations, génétique des populations, populations introduites, *Wolbachia*

Membres

Christophe BOËTE – Chargé de recherche, IRD – moustiques, lutte antivectorielle, modification génétique, écologie, épidémiologie, innovation technologique

Simon FELLOUS – Directeur de recherche, INRAE – technique de l'insecte stérile, effets non intentionnels (dont sciences humaines et sociales), écologie (Démission le 25 octobre 2024)

Guy LEMPERIERE – Retraité - technique de l'insecte stérile, écologie, biostatistiques

Mme Marie-Marie OLIVE – Chargée de recherche, Cirad – épidémiologie, lutte antivectorielle, évaluation de la lutte antivectorielle

Anubis VEGA RUA – Chargée de recherche, Institut Pasteur de Guadeloupe - biologie des moustiques, entomologie médicale, lutte antivectorielle, surveillance entomologique

COMITÉS D'EXPERTS SPÉCIALISÉS

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES Biotechnologies – Dates : 11 mars 2024, 19 juin 2024, 14 novembre 2024, 19 février, 16 avril, 22 mai et 18 juin 2025.

Présidente

Laurence VERNIS – Chargée de recherche – INSERM - Microbiologie, biologie moléculaire, génétique, physiologie des microorganismes, champignons, levures, modifications génétiques

Vice-Présidents

Florian GUILLOU – Chercheur – INRAE - UMR physiologie de la reproduction et des comportements - Biochimie, reproduction, physiologie de la reproduction animale, composition des aliments, Agronomie, production animale, biotechnologies de la reproduction, génomique fonctionnelle, thérapie, génique

Marie-Bérengère TROADEC – Chercheur – CNRS - Nouvelles techniques génomiques, réglementation applicable aux OGM, biologie moléculaire, thérapie génique, maladies génétiques, oncologie

Membres

Elisabeth BAEZA – Ingénieur de recherche – INRAE - UMR 83 Biologie des Oiseaux et Aviculture - Agronomie, Valeur nutritionnelle des aliments, Biochimie, Nutrition animale, Zootechnie des volailles, Qualité de la viande

Luc BELZUNCES - Directeur de Recherche – INRAE - Laboratoire de Toxicologie Environnementale - Toxicologie, Neurotoxicologie, ERS, Chimie analytique, Santé environnement, Perturbateurs endocriniens, Analyses

Christophe BOËTE – Chargé de recherche – IRD - Moustique, Lutte Anti-Vectorielle, Modification génétique, Écologie, Épidémiologie, innovation technologique

Rémy CACHON – Professeur – Agrosup Dijon - Fermentation, Génie Microbiologique, Génie Enzymatique, Procédés alimentaires, Physiologie microbienne.

Marie-Christine CHAGNON – Professeur – Agrosup Dijon - toxicologie alimentaire, évaluation du risque sanitaire, identification et caractérisation du danger, génotoxicité, perturbateurs endocriniens, biotests *in vitro*

Nicolas DESNEUX – Directeur de recherche – INRAE - Écologie des communautés, espèces invasives, Spécialisation des parasitoïdes, Écotoxicologie, Lutte intégrée, Services Écosystémiques

Olivier FIRMESSE – Chargé de projet - Anses - Évaluation des risques sanitaires, Biologie moléculaire, Écologie microbienne, *Bacillus cereus*, Interactions hôte/pathogène, NGS

Michel GAUTIER – Enseignant chercheur – Institut agro Rennes – Angers - Microbiologie alimentaire, biologie moléculaire, OGM microbiens, bactériophages, aliments fermentés, bactéries pathogènes

Philippe GUERCHE – Directeur de recherche – INRAE - Transgénèse, génétique, biologie moléculaire végétale, amélioration des plantes, biologie végétale, génétique moléculaire

Claire HELLIO – Professeur – Université de Bretagne occidentale – Microbiologie, Écologie Chimique, Biocides, Biotechnologie, Biocontrôle, Écotoxicologie

Nolwenn HYMERY – Maître de conférence – Université de Bretagne occidentale - Toxicologie, mycotoxines, *in vivo/in vitro*, contaminants, aliments, microorganismes

Bernard KLONJKOWSKI – Chercheur – École nationale vétérinaire d'Alfort - Virologie, biologie moléculaire, vaccinologie, Expertise CS HCB 7 ans, Vectorologie, oncovirothérapie, transfert de gènes thérapeutique, médicaments de thérapie, innovante, virologie, évaluation des risques environnementaux

Valérie LE CORRE – Chargée de recherche – INRAE - Génétique des populations, agronomie, écologie évolutive, plantes, herbicides

Matteo LENER – Chargé de recherche – institut italien pour la protection de l'environnement et la recherche - Évaluation des risques environnementaux, Réglementation applicable aux OGM et aux enzymes alimentaires, Revues de littérature, Génie génétique, Nouvelles techniques génomiques (NTG), Biologie moléculaire, génétique et génomique.

David MAKOWSKI – Directeur de recherche – INRAE - Modélisation statistique, Méta-analyse, Analyse des risques environnementaux liés aux activités agricoles

Julie MALLET – Chargée de projets – Anses -

Marianne MAZIER – Ingénieur de recherches – INRAE - Génie génétique, Transgénèse végétale, NGT, Biologie moléculaire, génétique, amélioration des plantes

François MEURENS – Professeur – Université de Montréal - Immunologie, vaccins, virus, porc, immunité innée, modèles biomédicaux

Sergio OCHATT – Retraité – INRAE - Biologie cellulaire et moléculaire, physiologie végétale, génétique, transgénèse, stress abiotiques, métabolites secondaires

Pierre ROUGE – Retraité - Allergie, Structure des protéines et des toxines, Bioinformatique, Enzymes, Facteurs antinutritionnels (lectines, inhibiteurs trypsiques)

Patricia TAILLANDIER – Professeur – INP ENSIACET - Procédés technologiques de fermentation, Enzymologie, Microbiologie, Biochimie

Corinne TEYSSIER – Enseignant chercheur – Université de Montpellier - Microbiologie alimentaire, écologie microbienne, sûreté alimentaire, biologie moléculaire, bactériologie médicale

■ CES Biocides – Dates : 14 décembre 2023, 30 mai 2024, 6 mars et 12 juin 2025

Président

Georges DE SOUSA – Ingénieur de Recherche, INRAE – Toxicologie, méthodologie in vitro, perturbateurs endocriniens, cinétique

Vice-président

Olivier ADAM - Dirigeant chez Hydrobio Conseil – Écotoxicologie, produits biocides TP8

Membres

Alain AYMARD – Ingénieur et enquêteur retraité de la DGCCRF – Réglementation, classification et étiquetage

Jean-Christophe CAHUZAC, Ingénieur des Laboratoires du Ministère des Finances, Responsable de la section de produits chimiques, biocides et substances dangereuses – Physico-chimie, méthodes d'analyse, formulation, réglementation

Émilie BARRANGER – Manager des risques, Ministère des Armées – Risques chimiques et biologiques, hygiène Industrielle, réglementation

Jean-Marc BERJEAUD - Professeur, Université de Poitiers – Microbiologie, antimicrobiens, perturbateurs endocriniens

Sylvie CHEVALIER – Professeur, Université de Rouen – Microbiologie, biofilm, antibio-résistance

Gwenaël CORBEL – Chargé de recherche au CNRS - Le Mans Université – Chimie, physico-Chimie des matériaux

Pierre GREVE – Professeur, Université de Poitiers – Perturbateurs endocriniens, différenciation sexuelle, reprotoxicité (faune), microbiologie, écotoxicologie des sols, tests comportementaux

Philippe HARTEMANN – Professeur de Santé Publique retraité – Microbiologie, désinfectants, hygiène

Claire HELLIO – Professeur, Université de Bretagne Occidentale – Écologie, biotechnologie marine, biochimie marine

Dominique PESSEL – Chef d'unité, Fougères, Anses – Physico-chimie analytique, résidus médicaments vétérinaires, résidus de biocides désinfectants

Christophe SOUMET – Ingénieur de recherche, Chef d'unité AB2R, Fougères, Anses – Microbiologie, désinfectants, résistance

■ GT Vecteurs – Dates : 18 septembre 2023, 23 mai 2024, 12 novembre 2024, 10 décembre 2024, 12 février 2025

Président

Frédéric SIMARD – Directeur de recherche, IRD, MIVEGEC, CNRS, Université de Montpellier – Entomologie médicale, moustiques, arboviroses, paludisme, lutte antivectorielle.

Membres

Thierry BALDET– Chercheur, CIRAD, UMR ASTRE, INRAE – Surveillance entomologique, lutte antivectorielle, moustiques, *Aedes*, vecteurs invasifs, expertise entomologique.

Daniel BLEY – Directeur de recherches émérite, CNRS – Anthropologie, interfaces environnement/santé, perceptions des risques, pratiques de prévention, professionnels de santé, interdisciplinarité.

Sarah BONNET – Directrice de recherche, Institut Pasteur-CRNS-INRAE – Entomologie médicale et vétérinaire, parasitologie, lutte antivectorielle, maladies infectieuses, santé animale, tiques.

Pierre BOYER – Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier, Université de Strasbourg, Hôpitaux universitaires de Strasbourg –Borréliose de Lyme, maladies transmises par les tiques, entomologie médicale, microbiologie clinique.

Anna COHUET – Directrice de recherche, – IRD-CNRS-Université de Montpellier – Ecologie de la transmission vectorielle, interactions Homme-Plasmodium-Anopheles, résistance comportementale aux insecticides et répulsifs.

Laurent DALMAS – Maître de conférence, Université de Versailles Saint-Quentin en Yvelines-Paris Saclay –Sciences sociales, économie de l'environnement, économie de la santé - santé publique et globale (*One Health*), évaluation monétaire et non-monétaire, évaluation de politiques publiques.

Albin FONTAINE – Chercheur, Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) – Séquençage (Illumina), biologie moléculaire, culture de cellules d'insecte, production d'arbovirus, élevage de moustiques, mesure des déterminants de la compétence vectorielle, codage en R et BASH.

Thierry HOCH – Ingénieur de Recherche, ONIRIS-INRAE – Epidémiologie, analyse de risque en santé animale.

Karine HUBER – Directrice de recherche, INRAE - Entomologie médicale et vétérinaire, maladies vectorielles.

Marc LEANDRI – Maître de conférences, Université Versailles-Saint Quentin – Évaluation sanitaire et environnementale, modélisation de protection en santé (*Health Belief Model*), économie de l'Information, économie des maladies vectorielles, perception des risques, économie des services écosystémiques, *One Health Economics*.

Tinne LERNOUT – Épidémiologiste, Sciensano, service Epidémiologie des maladies infectieuses, Bruxelles – Épidémiologie, surveillance, participation citoyenne, évaluations de risque.

Sylvie MANGUIN – Directrice de recherche, IRD Montpellier, Laboratoire d'Immuno-Physiopathologie Moléculaire Comparée (LIPMC) –Entomologie, moustiques, vecteurs d'agents pathogènes - étude de la biologie et des biotopes des vecteurs - recherche de répulsifs naturels à base de plantes.

Sara MOUTAILLER – Cheffe de projet recherche, Anses – Tiques, moustiques, compétence vectorielle, épidémiologie moléculaire, outil de détection, virologie.

Marie-Claire PATY – Médecin infectiologue, Santé Publique France – Épidémiologie, santé publique, maladies infectieuses, vecteurs, prévention.

Christophe PAUPY – Directeur de recherche, IRD-CNRS-Université de Montpellier IRD – *Aedes*, biologie, génétique, compétence vectorielle, contrôle, arbovirus.

Philippe QUENEL – Professeur émérite EHESP – Épidémiologie, biostatistique, santé publique – Épidémiologie des maladies vectorielles.

Alice RAFFETIN – Praticien hospitalier, Coordinatrice Centre de Référence Régional des Maladies Vectorielles à Tiques, Paris et région Nord, Centre Hospitalier Intercommunal de Villeneuve-Saint-Georges (CHIV) – Borréliose de Lyme, maladies vectorielles à tiques, infectiologie, gestion des risques infectieux et prévention, épidémiologie.

Marion RIPOCHE – Chargée de mission sanitaire caprin / Animatrice de l'Observatoire des maladies caprines (OMACAP), FRGDS Nouvelle-Aquitaine – Stratégie de surveillance entomologique et acarologique, système de surveillance, épidémiologie, outil de détection et de surveillance spatiale.

Denis SERENO – Directeur de recherche, IRD-CIRAD – Entomologie médicale, entomologie, infectiologie, parasitologie, surveillance.

Stéphanie WATIER-GRILLOT – Vétérinaire des armées, Ministère des armées – Vétérinaire, maladies animales, zoonoses, épidémiologie animale, veille sanitaire, *One Health*.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Johana REINHARDT - Coordinatrice d'expertise – Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité d'évaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux et aux vecteurs (UBSA2V)

Johanna FITE - Chargée de mission vecteurs – Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité d'évaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux et aux vecteurs (UBSA2V)

Contribution scientifique

Florence ÉTORÉ – Cheffe d'unité – Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité d'évaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux et aux vecteurs (UBSA2V)

Erwan KUBES – Coordinateur d'expertise - Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité biotechnologies (UBIOT)

Rémy ROSSIN – Évaluateur scientifique et technique – Direction de l'évaluation des produits réglementés (DEPR), Unité d'Évaluation de l'Efficacité des Intrants du Végétal

Secrétariat administratif

Régis MOLINET – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Les experts du groupe de travail (GT) ont auditionné les personnes mentionnées ci-après. Le groupe remercie les personnes consultées pour la qualité des échanges et les nombreuses informations communiquées, lesquelles ont contribué à l'élaboration du présent rapport. Toutefois, la mention des personnes ci-après ne signifie pas qu'elles endossent les conclusions du présent rapport.

Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

M. Frédéric SIMARD – Directeur de recherche, IRD, MIVEGEC, CNRS, Université de Montpellier

Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad)

M. Jérémy BOUYER – Chercheur entomologiste, CIRAD

M. Thierry BALDET – Chercheur entomologiste, CIRAD, UMR ASTRE, INRAE

World Mosquito Project (WMP) – Nouvelle Calédonie

Mme. Nadège ROSSI - Cheffe de projet *World Mosquito Program* Nouvelle- Calédonie

Institut Louis Maladré – Polynésie Française

M. Hervé BOSSIN - Directeur du laboratoire d'entomologie médicale de l'Institut Louis-Malardé

Symbiotic (société privée)

M. Julien CATTEL - Scientifique en charge de la recherche et du développement technique au sein de la société SymbioTIC

Université de La Réunion

M. Pablo TORTOSA - Professeur de microbiologie à l'université de La Réunion

Agence nationale de recherche et d'innovation d'Indonésie (BRIN)

M. Ernawan BENI - *Pilot SIT study at the research Centre for Public Health and Nutrition*

Agence nationale de l'énergie nucléaire d'Indonésie

M. Hadian Iman Sasmita - *Pilot SIT study at the Nuclear Agency in Indonesia*

Université Gadjah Mada – Indonésie

Mme. Eggi ARGUNI - *Head of Arbovirus Research Group, Gadjah Mada University*

M. Citra INDRIANI - *Research Scientist, Gadjah Mada University*

M. Warsito TANTOWIJOYO - *Entomology Lead Scientist for Aedes aegypti infected Wolbachia Efficacy Study 2017 - 2020*

Centre de médecine tropicale d'Indonésie

M. Riris Andono AHMAD - *Director of the Centre of Tropical Medicine of Indonesia*

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations.....	13
Liste des tableaux	14
Liste des figures.....	15
Glossaire.....	16
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	21
1.1 Contexte	21
1.2 Objet de la saisine	22
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	23
1.3.1 <i>Organisation de l'expertise</i>	23
1.3.2 <i>Limite du champ de l'expertise</i>	24
1.3.3 <i>Moyens et outils mis en oeuvre</i>	25
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts	29
2 Moustiques du genre <i>Aedes</i> : bioécologie, répartition, transmission d'agents pathogènes et données épidémiologiques	30
2.1 Bioécologie des différentes espèces d' <i>Aedes</i>	30
2.1.1 <i>Aedes aegypti</i>	30
2.1.2 <i>Aedes albopictus</i>	31
2.1.3 <i>Aedes polynesiensis</i>	32
2.1.4 Différences à prendre en compte pour le développement de techniques de LAV ...	33
2.1.5 Dynamique des populations : focus sur la notion de densité-dépendance et l'effet de compensation.....	34
2.2 Répartition des différentes espèces	35
2.2.1 Répartition mondiale.....	35
2.2.2 Répartition en France	37
2.3 Transmission des agents pathogènes par <i>Aedes</i>	39
2.3.1 Généralités : cycle de transmission des arbovirus et compétence vectorielle	39
2.3.2 Principaux agents pathogènes transmis par les moustiques du genre <i>Aedes</i>	40
2.3.3 Données épidémiologiques récentes en France et dans les territoires français	43
3 Présentation des techniques objets de la saisine : principes, fonctionnement et cadre réglementaire	45
3.1 Principes et fonctionnement de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement	45
3.1.1 Techniques visant une réduction des populations (TIS et TII).....	45
3.1.2 Technique de remplacement	53
3.2 Cadre réglementaire	54

3.2.1	International.....	54
3.2.2	Européen.....	55
3.2.3	Français.....	56
3.2.4	Cas particulier de la Nouvelle-Calédonie	57
4	Bilan des expérimentations utilisant la TIS, la TII et la technique de remplacement pour le contrôle des <i>Aedes</i>.....	59
4.1	Méthodologie	59
4.2	Répartition géographique des essais terminés, en cours et à venir visant l'évaluation de l'efficacité des techniques qui font l'objet de la saisine	60
4.2.1	Essais terminés et en cours.....	60
4.2.2	Focus sur les territoires ultramarins français.....	62
4.3	Mise en œuvre de la TIS pour le contrôle des moustiques <i>Aedes</i>	64
4.3.1	Essais visant la réduction des populations d' <i>Ae. albopictus</i>	64
4.3.2	Essais visant à la fois la réduction des populations d' <i>Ae. albopictus</i> et <i>Ae. aegypti</i>	68
4.3.3	Essais visant la réduction des populations d' <i>Ae. aegypti</i>	68
4.4	Mise en œuvre de la TII, de la TIS-TII ou de la TII renforcée pour le contrôle des moustiques <i>Aedes</i>	76
4.4.1	Essais visant la réduction des populations d' <i>Ae. aegypti</i>	76
4.4.2	Essais visant la réduction des populations d' <i>Ae. albopictus</i>	81
4.4.3	Essais visant la réduction des populations d' <i>Ae. polynesiensis</i>	84
4.5	Mise en œuvre de la technique de remplacement pour le contrôle des pathogènes transmis par les moustiques <i>Aedes</i>	91
4.5.1	Programmes utilisant la souche wMel.....	91
4.5.2	Programmes utilisant la souche wAlbB	103
4.5.3	Programmes utilisant wMelPop.....	104
5	Qualification de l'efficacité des techniques objets de la saisine.....	112
5.1	Méthodologie	112
5.1.1	Indicateurs d'efficacité retenus par les experts	112
5.1.2	Méthode d'évaluation du poids des preuves	115
5.2	Qualification de l'efficacité de la TIS et de la TIS renforcée	118
5.2.1	Capacité de la TIS à réduire la densité des œufs.....	118
5.2.2	Capacité de la TIS à réduire le taux d'éclosion des œufs.....	119
5.2.3	Capacité de la TIS à réduire la densité des femelles	121
5.2.4	Efficacité de la TIS renforcée (dite <i>boostée</i>)	121
5.3	Qualification de l'efficacité de la TII et de ses variantes	126
5.3.1	Capacité de la TII à réduire le taux d'éclosion des œufs.....	126
5.3.2	Capacité de la TII à réduire la densité des femelles.....	128

5.3.3	Capacité de la TII à réduire le nombre de piqûres.....	129
5.3.4	Capacité de la TIS-TII à réduire le taux d'éclosion des œufs	130
5.3.5	Capacité de la TIS-TII à réduire la densité des femelles	130
5.3.6	Capacité de la TIS-TII à réduire le nombre de piqûres	131
5.3.7	Capacité de la TIS-TII à réduire l'incidence des arboviroses.....	131
5.3.8	Capacité de la TII renforcée à réduire le taux d'éclosion des œufs	132
5.3.9	Capacité de la TII renforcée à réduire la densité des femelles	133
5.4	Qualification de l'efficacité de la technique de remplacement	138
5.4.1	Technique de remplacement utilisant wMel	138
5.4.2	Technique de remplacement utilisant wAlbB.....	144
5.4.3	Technique de remplacement utilisant wMelPop	145
6	Effets non-intentionnels potentiels	152
6.1	Effets non-intentionnels à l'échelle des populations de moustiques	153
6.1.1	Résistances	153
6.1.2	Transfert de mutations génétiques.....	155
6.1.3	Hybridation	156
6.1.4	Transfert du microbiote d'une espèce de moustique à une autre, voire à d'autres insectes	156
6.1.5	(Sur)compensation démographique.....	157
6.2	Effets non-intentionnels à l'échelle des communautés et des écosystèmes.....	158
6.2.1	Déséquilibre des chaînes trophiques	158
6.2.2	Modifications des niches écologiques	159
6.2.3	Toxicité du pyriproxifène pour les écosystèmes.....	160
6.3	Effets non-intentionnels pour la santé humaine	160
6.3.1	Modification de la dynamique de transmission d'arbovirus.....	160
6.3.2	Nuisance et risque de transmission d'agents pathogènes par des femelles résiduelles	161
6.3.3	Baisse d'immunité.....	162
6.3.4	Toxicité du pyriproxifène pour la santé humaine	162
6.4	Effets socio-économiques non-intentionnels	163
7	Analyse des incertitudes.....	164
8	Conclusions du GT	167
9	Recommandations.....	169
9.1	Recommandations à destination des acteurs en charge du déploiement de la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement	169
9.1.1	Encadrement du déploiement de ces techniques.....	169
9.1.2	Participation citoyenne et gouvernance lors du déploiement des techniques	170

9.2	Recommandations à destination de la recherche.....	170
9.2.1	Priorités de recherche.....	170
9.2.2	Conception expérimentale rigoureuse et optimisation des protocoles techniques .	171
10	Références bibliographiques.....	172
10.1.	Publications	172
10.1.	Législation et réglementation	197

Sigles et abréviations

AIEA	Agence Internationale de l'énergie atomique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARS	Agence régionale de santé
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
CES	Comité d'experts spécialisé
CHIKV	Virus du chikungunya
CIPV	Convention Internationale pour la Protection des Végétaux
CSP	Code de la santé publique
DASS	Direction des affaires sanitaires et sociales
DENV	Virus de la dengue
DGPR	Direction générale de la prévention des risques
DGS	Direction générale de la santé
EID	Entente interdépartementale pour la démoustication
EIP	<i>Extrinsic incubation period</i> (période de développement extrinsèque)
ENI	Effets non intentionnels
GPS	<i>Global Positioning System</i>
GT	Groupe de travail
HAS	Haute autorité de santé
HCB	Haut Conseil des Biotechnologies
IC	Incompatibilité cytoplasmique
IP	Interférence avec le pathogène
LAV	Lutte antivectorielle
CL50	Concentration létale 50 % (<i>Lethal concentration 50 %</i>)
MAYV	Virus Mayaro
MLR	Marquage-Lâcher-Recapture
MRC	<i>Mosquito release container</i> (dispositif de libération d'œufs de moustiques)
NTG	Nouvelles technologies génomiques
OGM	Organisme génétiquement modifié
OMS (WHO)	Organisation mondiale de la santé (<i>World Health Organization</i>)
POP	Polluants organiques persistants
ppb	<i>Parts per billion</i> – partie par milliards
PPF	Pyriproxyfène
PPP	Produit de protection des plantes
RCT	<i>Randomized controled trial</i> – Essai randomisé contrôlé
SpF	Santé publique France
TII	Technique de l'Insecte Incompatible
TIS	Technique de l'Insecte Stérile
UE	Union Européenne
VCAG	<i>Vector Control Advisory Group</i>
WNV	<i>West Nile Virus</i>

Liste des tableaux

Tableau 1. Étapes méthodologiques et outils associés.....	25
Tableau 2. Définition des termes PICO	26
Tableau 3. Équations de recherche	26
Tableau 4 : Critères d'inclusion et d'exclusion utilisés pour la sélection des références	27
Tableau 5 : Paramètres identifiés par les experts pour rendre compte de l'efficacité de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement	60
Tableau 6 : Synthèse des conditions de réalisation des essais de TIS dont les résultats sont publiés dans des revues avec comité de lecture.....	73
Tableau 7 : Synthèse des conditions de réalisation des essais de TII, de TIS-TII ou de TII renforcée dont les résultats sont publiés dans des revues avec comité de lecture	88
Tableau 8 : Synthèse des conditions de réalisation des essais avec la technique de remplacement utilisée pour le contrôle d' <i>Aedes aegypti</i>	107
Tableau 9 : Indicateurs de l'efficacité entomologique des techniques de LAV utilisés dans les articles revus par les experts.....	113
Tableau 10 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la TIS.....	124
Tableau 11 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la TII, de la TIS-TII et de la TII renforcée	135
Tableau 12 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la technique de remplacement	149
Tableau 13 : Synthèse des ENI potentiels de la TIS, la TII, la technique de remplacement et leurs variantes.....	152
Tableau 14 : Typologie des sources d'incertitude	164

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme de flux PRISMA.....	28
Figure 2 : Relations possibles entre la densité larvaire et le nombre d'adultes émergents ; expliquées par la compétition intraspécifique ; et conséquences potentielles d'interventions de réduction de la densité larvaire (d'après Evans <i>et al.</i> 2022).....	35
Figure 3 : Répartition mondiale d' <i>Ae. aegypti</i> (A, en jaune) et <i>Ae. albopictus</i> (B, en bleu) (Laporta <i>et al.</i> 2023).....	36
Figure 4 : Carte de répartition globale d' <i>Ae. polynesiensis</i> . Les données ont été obtenues à partir de documents conservés par l'École de biologie intégrative de l'université du Queensland (Australie) et accessibles via le portail de données VectorMap (http://www.vectormap.si.edu) le 30 octobre 2024.	37
Figure 5 : Répartition des principales espèces d' <i>Aedes</i> vectrices d'arbovirus en France et dans ses régions d'Outre-Mer. Créée dans https://BioRender.com	38
Figure 6. Cartes de présence d' <i>Ae. albopictus</i> en France hexagonale (données SI-LAV Direction Générale de la Santé).	39
Figure 7 : Cycle parasitaire de <i>Wuchereria bancrofti</i>	42
Figure 8 : Dynamiques de population attendues suite au déploiement de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement.....	45
Figure 9 : Légende pour interpréter les figures 10 à 19	47
Figure 10 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TIS.....	48
Figure 11 : Effets attendus de la TIS. À noter que des lâchers répétés sont nécessaires pour assurer des effets dans le temps.....	48
Figure 12 : Principe général de l'incompatibilité cytoplasmique	49
Figure 13 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TII	50
Figure 14 : Effets attendus de la TII. À noter que des lâchers répétés sont nécessaires pour assurer des effets dans le temps.....	50
Figure 15 : Étapes de mise en œuvre de la TIS - TII	51
Figure 16 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TIS renforcée	52
Figure 17 : Effets attendus de la TIS renforcée	52
Figure 18 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la technique de remplacement.....	54
Figure 19 : Effets attendus de la technique de remplacement	54
Figure 20 : Répartition des essais terminés et en cours utilisant la TIS, la TII ou la technique de remplacement pour le contrôle des <i>Aedes</i> (carte réalisée avec BioRender.com)	61
Figure 21 : Répartition des espèces d' <i>Aedes</i> ciblées par la TIS, la TII et la technique de remplacement	61
Figure 22 : Logigramme de définition du niveau de preuve associé à une ligne de preuve.....	116
Figure 23 : Matrice de combinaison des lignes de preuves de l'efficacité entomologique ...	117

Glossaire

Analyse de série temporelle : en épidémiologie, méthode d'analyse statistique qui examine des données de santé collectées à intervalles réguliers pour évaluer l'impact d'une intervention sur l'incidence ou la prévalence d'une maladie. Elle permet de quantifier les changements dans les tendances épidémiologiques avant et après l'intervention, tout en tenant compte des variations saisonnières et des tendances préexistantes, offrant ainsi un aperçu de l'efficacité de mesures de santé publique.

Aptitude phénotypique (ou valeur sélective) : l'aptitude phénotypique des moustiques fait référence à leur capacité à survivre (et à se reproduire) dans leur environnement. Quand elle est assimilée à la valeur sélective, elle peut servir à mesurer le succès reproductif et la contribution génétique aux des moustiques aux générations futures.

Arbovirus : virus transmis par un arthropode vecteur (*arthropod-borne virus*).

Arthropode : groupe taxonomique regroupant l'ensemble des animaux caractérisés par un corps segmenté dont chaque segment est muni d'une ou plusieurs paires d'appendices articulés (ailes, pattes, antennes, etc.) et recouverts d'une cuticule ou d'une carapace rigide qui constitue l'exosquelette. C'est l'embranchement qui compte le plus d'espèces dans le règne animal, regroupant l'ensemble des insectes (six pattes), acariens (huit pattes), crustacés et autres myriapodes.

Arthropode vecteur : arthropode hématophage (se nourrissant de sang) assurant la transmission d'un agent infectieux (virus, bactérie, parasite) d'un vertébré à un autre vertébré. La plupart du temps l'agent pathogène se réplique à la fois dans le corps du vecteur et chez l'hôte vertébré. Le mode de transmission au vertébré est le plus souvent par piqûre ou morsure, parfois par déjection (punaises triatomiques, *Trypanosoma cruzi* et maladie de Chagas, tiques et certaines rickettsioses) ou régurgitation (puces, *Yersinia pestis* et peste), parfois par combinaison des modes pré-cités. Ces vecteurs peuvent être des puces, des poux, des tiques, des simules ou mouches noires, des taons, des glossines ou mouches tsé-tsé, des punaises, des moucherons, des phlébotomes, des moustiques.

***Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti)** : bactérie naturellement présente dans les sols qui appartient à la famille des *Bacillaceae*. Elle a la particularité de produire des endotoxines qui ont une action insecticide très spécifique sur les larves de certains diptères et notamment les moustiques. Le Bti est largement utilisé comme larvicide dans la lutte anti vectorielle et la démoustication.

Capacité vectorielle : représente l'aptitude d'une population d'arthropodes vecteurs à assurer la transmission d'un agent infectieux à un moment donné, en un endroit donné (elle est une composante du taux de reproduction R_0 en épidémiologie). Elle intègre des paramètres écologiques, comportementaux et génétiques de la population de vecteurs comme leur abondance et longévité, leurs préférences trophiques, ou encore, leur compétence vectorielle.

Compétence vectorielle : la compétence vectorielle est une composante de la capacité vectorielle, qui définit la capacité intrinsèque d'un arthropode vecteur à s'infecter, permettre la multiplication et/ou le développement d'un agent pathogène, puis à le transmettre à un hôte vertébré. Cette aptitude biologique dépend de facteurs génétiques du vecteur, des caractéristiques du pathogène et des conditions environnementales.

Compétitivité (*fitness* en anglais) : espérance de la contribution relative aux générations ultérieures d'une classe (allèle, génotype, classe phénotypique d'individus). Elle est estimée, suivant les situations, par une ou plusieurs composantes (survie, fertilité, nombre de descendants à la génération suivante, etc.).

Concentration létale 50 % (CL50) : concentration d'une substance qui provoque la mort de 50 % d'une population d'organismes tests dans des conditions expérimentales définies et sur une période donnée (généralement 24, 48 ou 96 heures). Cet indicateur est utilisé pour évaluer la toxicité aiguë d'une substance et permet de comparer la toxicité relative de différents

composés. Quand utilisée au sujet du pyriproxyfène, elle peut désigner, par abus de langage, la dose pour laquelle seuls 50 % des adultes émergent suite à une exposition.

Conditions semi-naturelles : essais entomologiques réalisés dans des cages placées dans un environnement réaliste, soit à l'extérieur, soit dans une serre avec une humidité, une température et une lumière contrôlées imitant les conditions climatiques extérieures.

Coût métabolique (souvent appelé coût physiologique) : réduction de compétitivité (ou *fitness*) due à une modification du bagage génétique. Les mesures les plus classiques du coût métabolique sont la fécondité et la longévité, parfois la durée de développement ou d'autres traits de l'aptitude phénotypique comme la compétitivité de l'insecte hôte (chez *Aedes* par exemple).

Le coût physiologique conséquent à la présence de *Wolbachia* dépend des souches et des espèces d'hôtes, il est souvent assez faible, mais très rarement nul s'il est bien estimé. C'est pourquoi *Wolbachia* n'est pas considérée comme un parasite, mais ne peut pas non plus être considérée comme un mutualiste.

Deltaméthrine : insecticide de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse largement utilisé en lutte antivectorielle. Cette molécule appartient aux pyréthrinoïdes de type II et agit sur le système nerveux des insectes en perturbant le fonctionnement des canaux sodium. Elle se caractérise par une action rapide (effet *knock-down*), une toxicité sélective pour les insectes et une photostabilité plus élevée que celle des pyréthrinoïdes de type I.

Effet hétérosis : également appelé vigueur hybride, c'est un phénomène biologique qui se produit lorsque deux lignées différentes d'une même espèce sont croisées, donnant naissance à des descendants (hybrides F1) qui présentent une valeur sélective supérieure à celles de leurs parents (e.g. croissance plus rapide, capacité de survie plus importante).

Effets non intentionnels (ENI) : dans le cadre de ce rapport, ensemble des impacts directs et indirects, immédiats ou différés, qui n'étaient pas initialement visés par le déploiement des techniques (TIS, TII et technique de remplacement dans le cas de la présente saisine). Ces effets peuvent concerner les écosystèmes (e.g. modification des réseaux trophiques, impact sur des espèces non cibles), la biologie des vecteurs (e.g. modification de comportement, de compétence vectorielle), les aspects sanitaires et génétiques (transferts de gènes, transferts de *Wolbachia*, fixation de mutations indésirables, augmentation de l'incidence de certaines maladies vectorielles) ou les aspects socio-économiques (organisation de la LAV, perception par les communautés locales) des territoires concernés.

Efficacité entomologique : dans le cadre de ce rapport, capacité d'une technique de lutte antivectorielle à réduire la densité d'une population cible de moustiques ou à remplacer une population sauvage par une population aux caractéristiques souhaitées (e.g. non compétente pour certains pathogènes).

Efficacité épidémiologique : dans le cadre de ce rapport, capacité d'une technique de lutte antivectorielle à réduire la transmission de certains agents pathogènes et l'incidence des maladies vectorielles dans la population humaine. Ce rapport ne s'intéressant qu'aux moustiques du genre *Aedes*, l'efficacité épidémiologique est définie comme la réduction de l'incidence des principales arboviroses transmises par ces moustiques : dengue, chikungunya et Zika.

Essai en conditions semi-naturelles : expérimentation conduite dans un environnement contrôlé (grandes cages extérieures ou sous serre) qui reproduit les conditions naturelles (e.g. végétation, climat) tout en permettant le contrôle de certains paramètres comme la densité des populations de moustiques. Ces essais constituent une étape intermédiaire entre les expérimentations de laboratoire et les lâchers sur le terrain.

Essai randomisé contrôlé (*Randomized Controlled Trial – RCT*) : étude expérimentale où les individus (ici les populations de moustiques) sont aléatoirement répartis entre un groupe d'intervention et un groupe témoin. Cette randomisation équilibre les facteurs de confusion

(facteurs qui perturbent l'association entre le traitement et l'indicateur étudié) connus et inconnus entre les groupes.

Étude cas-témoin : méthode d'étude épidémiologique observationnelle où sont comparés des sujets atteints d'une maladie (cas) à des sujets indemnes (témoins). L'analyse rétrospective examine l'exposition antérieure à divers facteurs de risque pour identifier des associations avec la maladie. Les témoins sont sélectionnés pour être similaires aux cas sur des caractéristiques telles que leur âge ou leur sexe afin de limiter les facteurs de confusion. Les informations sur l'exposition antérieure sont recueillies de manière standardisée pour les deux groupes. Cette approche est particulièrement vulnérable aux biais de sélection, qui surviennent lorsque les cas ou les témoins ne sont pas représentatifs de leurs populations respectives (par exemple, quand seuls les cas les plus graves sont inclus ou quand les témoins proviennent d'une population différente de celle des cas). Malgré ces limites, cette méthode reste utile pour les maladies rares ou à longue période de latence, permettant d'évaluer plusieurs facteurs de risque simultanément.

Pour limiter ces biais de sélection, certaines études utilisent un plan expérimental randomisé en grappes (RCT).

Femelles résiduelles : femelles non souhaitées présentes dans les lots de mâles stériles (TIS) ou incompatibles (TII) lors des lâchers. Leur présence peut réduire l'efficacité des techniques concernées, induire des nuisances liées aux piqûres ou présenter un risque de transmissions de pathogènes.

France hexagonale : dans ce rapport, fait référence au territoire continental de la France et à la Corse. Cette définition est adoptée dans ce rapport en lien avec la proposition de loi n° 4155 du 12 mai 2021¹ et à l'amendement N° CD60 du 26 mai 2023² adopté par l'assemblée nationale dans le cadre d'un projet de loi visant à "renforcer le principe de la continuité territoriale en outre-mer".

Gestion intégrée des vecteurs : « processus rationnel de prise de décisions visant l'utilisation optimale des ressources pour la lutte antivectorielle ayant pour objectif d'améliorer l'efficacité, la rentabilité, le bien-fondé écologique et la pérennité des opérations dans ce domaine » (OMS 2017a).

Incidence : l'incidence est estimée comme le nombre de nouveaux cas suspects (i.e. notifiés suite à une évaluation clinique des symptômes) et/ou confirmés (i.e. confirmés par diagnostic biologique) liés à un agent pathogène dans une population sur une période définie. Elle est utilisée pour mesurer l'impact épidémiologique d'un agent pathogène.

Incompatibilité cytoplasmique (IC) : mécanisme de stérilité induit par la bactérie endosymbionte (présente à l'intérieur des cellules de son hôte) *Wolbachia*, qui empêche la production d'une descendance viable lors de certains croisements. Elle peut être unidirectionnelle (croisement entre mâles transinfectés et femelles non transinfectées) ou bidirectionnelle (croisement entre moustiques porteurs de souches différentes de *Wolbachia*).

Interférence avec le pathogène (IP) : réduction partielle ou totale de la transmission d'agents pathogènes induite par certaines souches de *Wolbachia* chez les moustiques qu'elles infectent. Ce phénomène diminue la compétence vectorielle des moustiques porteurs de *Wolbachia*.

Lutte antivectorielle (LAV) : ensemble des stratégies et méthodes visant à limiter les populations d'arthropodes hématophages vecteurs de pathogènes et à réduire le contact entre l'être humain et les vecteurs. Elle comprend des méthodes chimiques (insecticides), biologiques (prédateurs, parasites, agents pathogènes), environnementales (gestion des gîtes larvaires) et mécaniques (moustiquaires, pièges). Elle inclut également les mesures de

¹ Proposition de loi, n° 4155 - 15e législature - Assemblée nationale

² CD60.pdf

surveillance. Ces différentes approches peuvent être combinées dans une stratégie de lutte intégrée.

Nouvelles techniques génomiques (NTG) : Ensemble des méthodes de modification ciblée du génome permettant d'introduire, de supprimer ou de modifier des séquences d'ADN de façon précise. Ces techniques incluent par exemple l'édition génomique par CRISPR-Cas9.

Parties par milliards (ppb) : unité de mesure de concentration exprimant un rapport d'une partie par milliard (10^{-9}). Elle est utilisée pour quantifier des substances présentes en très faibles concentrations, comme les résidus de pesticides ou d'autres composés chimiques. Dans les solutions aqueuses, 1 ppb équivaut à 1 microgramme par litre ($\mu\text{g/L}$).

Prévalence : nombre total de cas identifiés dans une population identifiée. La prévalence peut être évaluée à un instant donné (prévalence instantanée) ou pendant une période donnée (prévalence mensuelle, annuelle, etc.).

Pyriproxifène (PPF) : analogue de synthèse de l'hormone juvénile des insectes qui interfère avec leur développement. Cette molécule est utilisée en LAV pour empêcher la métamorphose des larves de moustiques en adultes et peut également réduire la fertilité des femelles adultes exposées. Elle peut être ainsi utilisée dans la lutte contre les larves de moustique (i.e. traitement des gîtes larvaires).

Susceptibilité : capacité d'un vecteur à être infecté par un agent pathogène et à permettre son développement et sa multiplication.

Sympatrie : en écologie, des espèces sont dites sympatriques (ou syntopiques) lorsqu'elles sont phylogénétiquement proches et que leurs répartitions géographiques se chevauchent et peuvent occuper la même niche écologique et le même habitat.

Technique de l'insecte incompatible (TII) : méthode de lutte reposant sur l'utilisation de la bactérie *Wolbachia* pour créer une incompatibilité cytoplasmique (IC). Des mâles transinfectés par une souche spécifique de *Wolbachia* sont élevés et relâchés dans l'environnement. L'accouplement de ces mâles avec des femelles sauvages non transinfectées ou porteuses d'une souche différente de la bactérie entraîne la production d'œufs non viables. L'objectif de la TII est de réduire la taille de la population ciblée. Le fonctionnement général de cette technique est présenté au chapitre 3.

Technique de l'insecte stérile (TIS) : méthode de lutte consistant à élever en masse des insectes mâles, à les stériliser par exemple par irradiation, puis à les lâcher dans l'environnement. Le but est que les mâles stériles s'accouplent avec les femelles sauvages pour que celles-ci produisent des œufs non viables. L'objectif de la TIS est de réduire la taille de la population ciblée. Le fonctionnement général de cette technique est présenté au chapitre 3.

TIS (ou TII) renforcée (dite « boostée ») : variante de la TIS (ou TII) où les mâles stériles (ou incompatibles) sont imprégnés avec un biocide de synthèse, le pyriproxifène, avant d'être lâchés. Les mâles transfèrent ensuite le biocide lors de l'accouplement, contaminant à la fois directement les femelles et indirectement les gîtes larvaires que ces dernières visitent. Cette contamination empêche le développement des larves issues de tout accouplement ultérieur, même avec des mâles sauvages. L'objectif de la TIS renforcée est donc double : stériliser les mâles et créer des gîtes larvaires inhospitaliers pour réduire les densités de population. Le fonctionnement général de cette technique est présenté au chapitre 3.

Technique de remplacement : méthode de lutte consistant à lâcher dans l'environnement des insectes vecteurs dont la compétence vectorielle vis-à-vis des agents pathogènes a été réduite en raison de l'infection par un agent doté de propriété d'interférence avec le pathogène. Dans ce rapport, seule la technique utilisant les bactéries du genre *Wolbachia* pour ses propriétés d'interférence avec le pathogène (notamment les arbovirus) fait l'objet d'une expertise. Les insectes transinfectés se reproduisent au sein de la population sauvage permettant l'invasion de la souche de *Wolbachia* et, aboutissant à une nouvelle population

ayant perdu sa compétence vectorielle pour des pathogènes ciblés. Le fonctionnement général de cette technique est présenté au chapitre 3.

Transinfection : processus de transfert de gènes (c'est-à-dire introduction de matériel génétique exogène). Dans ce rapport, il est question de transinfection de bactéries du genre *Wolbachia* chez des moustiques.

Wolbachia : bactérie endosymbiotique naturellement présente chez de nombreux arthropodes, qui se transmet verticalement des femelles porteuses à leur descendance. Cette bactérie manipule la reproduction de son hôte à son avantage. L'incompatibilité cytoplasmique est la plus courante de ces manipulations. L'infection par *Wolbachia* peut aussi interférer avec la transmission de virus pathogènes par les moustiques.

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

Les maladies à transmission vectorielle représentent un enjeu majeur de santé publique. Les agents pathogènes, que ce soient des virus (arboviroses telles que comme la dengue, le Zika ou le chikungunya) ou des parasites (filariose lymphatique), sont transmis par des moustiques vecteurs, tels que les *Aedes*. Les virus de la dengue (DENV) menacent environ quatre milliards de personnes dans le monde, soit la moitié de la population mondiale (Santé publique 2024a). En 2023, l'OMS recensait plus de 6,5 millions de cas de dengue notifiés dans le monde (et environ 7 300 décès) (OMS, 2024). Cependant, le nombre de cas notifiés sous-estime le nombre réel d'infections, estimé à 390 millions (OMS, 2024) en raison du nombre important de cas asymptomatiques (50 à 90 % des cas) et de cas non notifiés.

Dans les territoires ultramarins français, notamment dans les Antilles, en Guyane et dans l'Océan Indien, les épidémies de dengue sont récurrentes et saisonnières (Covars 2023). Ces épidémies participent aux cas importés en France hexagonale³. Par exemple, en 2024, 4 683 cas importés de dengue ont été notifiés, 2 028 pendant la période d'activité d'*Aedes albopictus* en France hexagonale (dont près de 60 % en provenance des territoires outre-mer français Données de Santé publique France⁴). De 2022 à 2024, entre neuf et onze foyers de transmission de dengue ont été recensés dans l'Hexagone chaque année, contre un à quatre foyers maximum par an depuis 2010. Ainsi, les arbovirus transmis par les moustiques du genre *Aedes* pourraient également devenir un enjeu de santé publique en France hexagonale, où l'on constate une extension rapide de la zone colonisée par *Aedes albopictus* présent, au 1^{er} janvier 2025, dans 81 départements sur 96⁵.

Dans ce contexte de menace croissante liée aux agents pathogènes transmis par les *Aedes* et en l'absence de solution vaccinale adaptée⁶ (selon les critères du Groupe consultatif stratégique d'experts de l'OMS), ainsi que de traitements spécifiques contre ces maladies, la lutte contre les moustiques vecteurs reste le principal moyen d'action. Les stratégies de lutte

³ Dans l'ensemble du rapport, la France hexagonale désigne le territoire européen de la France (Corse et îles bretonnes comprises).

⁴ Chikungunya, dengue et zika - Données de la surveillance renforcée en France hexagonale 2024 : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-a-transmission-vectorielle/chikungunya/articles/donnees-en-france-metropolitaine/chikungunya-dengue-et-zika-donnees-de-la-surveillance-renforcee-en-france-hexagonale-2024>

⁵ Cartes de présence du moustique tigre (*Aedes albopictus*) en France métropolitaine - Ministère du Travail, de la Santé, des Solidarités et des Familles : <https://www.cns.solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/risques-microbiologiques-physiques-et-chimiques/especes-nuisibles-et-parasites/article/cartes-de-presence-du-moustique-tigre-aedes-albopictus-en-france-metropolitaine>

⁶ Trois vaccins sont aujourd'hui disponibles (Dengvaxia®) ou en cours de développement (TAK-003 ou Qdenga® et Butantan-DV) contre le virus de la dengue. Néanmoins des études ont montré que des jeunes enfants de moins de neuf ans jamais exposés au virus de la dengue et vaccinés avaient plus de risque de présenter une dengue grave que des enfants non vaccinés. C'est pourquoi le vaccin Dengvaxia® a obtenu une AMM européenne le 12 décembre 2018 sous certaines restrictions. Ainsi, en France il n'est indiqué que chez les personnes âgées de 9 à 45 ans vivant dans les territoires français d'Amérique (Antilles et Guyane) et apportant la preuve documentée d'une infection antérieure par le virus de la dengue confirmée virologiquement (HAS, 2021). La Haute Autorité de Santé (HAS) dans son avis du 3 novembre 2021 souligne que les conditions d'utilisation de ce vaccin ne sont pas optimales en raison de l'absence actuelle de test performant et validé de diagnostic d'antécédents d'infection au virus de la dengue.

Deux vaccins existent contre le CHIKV et la HAS recommande depuis le 27 février 2025 l'usage du vaccin IXCHIQ à La Réunion et à Mayotte (HAS, 2025). Il est recommandé en priorité aux personnes de 65 ans et plus (notamment celles avec comorbidités), puis aux adultes de 18 à 64 ans avec des comorbidités, ainsi qu'aux professionnels exposés, notamment les agents de la lutte antivectorielle. Le vaccin est contre-indiqué pour les immunodéprimés et non recommandé aux femmes enceintes.

reposent généralement sur une combinaison d'actions telles que la lutte mécanique (e.g. piégeage, élimination des eaux stagnantes, etc.), les traitements larvicides à base de *Bti* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*) et, uniquement en cas de circulation virale, des traitements adulticides à base de deltaméthrine⁷.

La lutte chimique contre les moustiques présente cependant plusieurs limites. En premier lieu, l'utilisation répétée de ces traitements favorise la sélection de moustiques résistants (OMS 2011b) (notamment aux pyréthrinoïdes, dont la deltaméthrine (Dusfour *et al.* 2015). Leur usage massif a notamment conduit à l'apparition de résistances multiples (i.e. résistances à plusieurs molécules) ou de plusieurs mécanismes de résistance contre la même molécule, comme observé dans les départements français d'Outre-Mer (Dusfour *et al.* 2015; Anses 2021a) . Par ailleurs, plusieurs substances actives ont été jugées dangereuses pour la santé humaine et/ou l'environnement et ont aujourd'hui été retirées du marché français. C'est par exemple le cas d'un grand nombre de composés organochlorés définis comme polluants organiques persistants (POPs), interdits dans l'Union Européenne (UE), conformément au règlement (UE) 2019/1021 et de certains composés organophosphorés (i.e. Malathion, Téméphos) (Décision 2007/389/CE).

En lien avec ces différents constats, des techniques alternatives à la lutte chimique contre les moustiques vecteurs ont été développées ou sont en cours de développement à travers le monde. Il s'agit notamment de techniques reposant sur des lâchers de moustiques stériles, stérilisants ou transinfectés telles que : la technique de l'insecte stérile (TIS), la technique de l'insecte incompatible (TII) et la technique de remplacement⁸. Ces techniques sont plus spécifiques (ciblées sur une espèce) et proposent une alternative aux biocides (à l'exception de la TIS et de la TII renforcées).

1.2 Objet de la saisine

L'action 11 de l'axe 2⁹ du plan national « santé, environnement » 4 (PNSE4) a pour objectif de prévenir les impacts sanitaires nuisibles (dont les moustiques) par des méthodes compatibles avec la préservation de l'environnement (DICOM-DGPR, 2021). Dans ce cadre, la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Anses le 16 juin 2023 pour dresser un bilan des expérimentations relatives aux techniques alternatives aux insecticides pour la lutte antivectorielle (LAV) au niveau international, en termes d'efficacité entomologique et épidémiologique, et de risques pour la santé des écosystèmes.

Plus précisément, il s'agit de compléter les précédents travaux du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB 2017) et de « réaliser un bilan des essais en cours ou terminés dans le monde (avec une attention particulière sur les projets réalisés dans les régions ultramarines françaises) utilisant les techniques suivantes :

- lâchers de moustiques mâles stériles (TIS) ;
- lâchers de moustiques mâles stériles imprégnés d'insecticides (TIS renforcée) ;
- lâchers de moustiques mâles transinfectés par la bactérie *Wolbachia* dans un but de contrôle de la population (Incompatibilité Cytoplasmique –TII);
- lâchers de moustiques transinfectés par la bactérie *Wolbachia* dans un but de réduction de la capacité des moustiques à transmettre certains agents pathogènes (Interférence avec le Pathogène);
- technique de l'insecte stérile couplée avec la technique de l'insecte incompatible (TIS-TII).

⁷ La deltaméthrine est un insecticide de la classe des pyréthrinoïdes de synthèse, la seule classe à avoir une autorisation de mise sur le marché dans l'Union Européenne.

⁸ Dans ce rapport, seule la technique de remplacement utilisant la capacité d'interférence avec le pathogène de *Wolbachia* est prise en compte.

⁹ Action qui porte sur la réduction des expositions environnementales affectant la santé humaine et celle des écosystèmes.

Ce bilan rendra compte de l'efficacité de ces différentes techniques utilisées pour le contrôle des moustiques du genre Aedes en termes de réduction des populations de moustiques et de réduction des maladies transmises par ces moustiques au regard des situations épidémiologiques locales. Il précisera, également, les techniques de sexage, ainsi que les systèmes de lâchers de moustiques utilisés. »

Enfin, il est demandé de préciser « les risques que ces techniques présentent pour la santé des écosystèmes. Des recommandations relatives aux mesures de gestion à mettre en place pour les suivre et les limiter pourront résulter de cette analyse de risques. »

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

1.3.1 Organisation de l'expertise

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « TIS-TII » l'instruction de cette saisine. Ce GT a été créé après appel à candidature publique. Il était rattaché au comité d'experts spécialisés (CES) « Biotechnologies » qui a adopté l'ensemble du rapport et les conclusions du GT. Le CES « Biocides » était également associé aux travaux pour les questions relatives à l'efficacité des techniques de LAV. Ce dernier a adopté la partie du rapport d'expertise portant sur ces questions.

Ces travaux sont ainsi issus d'un GT aux compétences complémentaires (épidémiologie, entomologie médicale, écologie, biologie des populations, lutte antivectorielle, biotechnologies, etc.). La mise en commun des contributions et les échanges se sont tenus en réunion de GT, à raison d'une à deux réunions par mois, d'octobre 2023 à juin 2025.

La saisine a été présentée une première fois au CES « Biotechnologies » le 11 mars 2024, et a fait l'objet de présentations relatives à la méthodologie de l'expertise, aux techniques abordées dans le cadre de la saisine et à l'avancement du rapport les 19 juin, 14 novembre 2024, 19 février et 16 avril 2025. Les travaux d'expertise du GT ont aussi été soumis régulièrement aux CES « Biocides », tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Enfin, le GT « Vecteurs » et le GT « Macroorganismes utiles aux végétaux » (GT Macro) ont également été associés aux travaux du GT, dans leur champ d'expertise. Des présentations ont été organisées auprès de ces collectifs, pour information et discussion.

Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres de ces collectifs.

Les travaux du GT « TIS-TII » ont été adoptés en CES « Biocides » le 12 juin 2025 (questions relatives à l'efficacité uniquement), et en CES « Biotechnologies » le 22 mai puis le 18 juin 2025 (validation finale).

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

1.3.2 *Limite du champ de l'expertise*

Concernant les moustiques ciblés dans la saisine :

Les épidémies récurrentes de dengue et la lutte contre les moustiques du genre *Aedes* constituent un enjeu prioritaire pour les territoires ultramarins. Considérant le contexte épidémiologique décrit au chapitre 1.1, ces enjeux sont également importants en France hexagonale où le risque d'émergence des arboviroses transmises par *Aedes albopictus* est sous surveillance.

Ainsi, le présent rapport d'expertise se concentre sur les techniques de lutte utilisant des lâchers de moustiques pour contrôler les populations d'*Aedes* vecteurs (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *Ae. polynensis*), ainsi que les nuisances et risques sanitaires associés.

Concernant le périmètre géographique :

La saisine porte sur les essais terminés et en cours dans le monde. Considérant les attentes des demandeurs et les enjeux décrits dans les paragraphes précédents, la collecte d'informations relatives aux essais en cours s'est limitée aux territoires ultramarins français. Toutefois, toutes les études conduites au niveau mondial, terminées et disponibles, ont été utilisées pour évaluer les techniques considérées.

Concernant les techniques faisant l'objet de la saisine :

La saisine porte sur les techniques suivantes :

- technique de l'insecte stérile (TIS) ;
- approches renforcées (TIS ou TII renforcée) ;
- technique de l'insecte incompatible (TII), y compris utilisée combinée avec la TIS (TIS-TII) ;
- technique de remplacement reposant sur la capacité de *Wolbachia* à induire une interférence avec le pathogène.

Les techniques reposant sur des modifications génétiques telles que la technique Friendly™ (anciennement RIDL, technique du lâcher de moustiques portant un gène létal dominant ou *Release of insects carrying a dominant lethal*) ou le forçage génétique (*gene drive*) n'ont pas été abordées par le GT. Il est important de souligner que ces techniques, du fait de leurs caractéristiques (modifications génétiques utilisant des nouvelles techniques génomiques - NTG), ne présentent pas les mêmes enjeux en termes éthiques (e.g. légitimité de l'être humain à effectuer des modifications génétiques chez les insectes, enjeux liés à la propriété intellectuelle), réglementaires (ces techniques relèveraient de la réglementation OGM, contrairement aux techniques faisant l'objet de la saisine) et d'évaluation des risques (les risques liés à ces techniques sont peu connus) et nécessiteraient une évaluation dédiée.

Concernant les approches renforcées, les experts soulignent que ces techniques reposent sur l'utilisation d'un biocide et qu'il n'est pas exact de les considérer comme des alternatives à la LAV chimique.

Concernant les effets non-intentionnels de ces techniques :

Outre les effets non-intentionnels (ENI) des techniques de LAV faisant l'objet de la saisine sur les écosystèmes et la santé humaine, les experts soulignent que l'utilisation de ces techniques peut aussi avoir des conséquences socio-économiques (e.g. acceptabilité des opérations de LAV, gouvernance et organisation de la LAV) et qu'il s'agit de considérations essentielles. Cette question n'a pas pu être traitée spécifiquement dans le cadre de cette saisine mais mériterait d'être traitée de manière approfondie dans le cadre d'une expertise dédiée.

Concernant l'évaluation de l'efficacité des techniques faisant l'objet de la saisine :

Le GT a souhaité adopter une approche pragmatique et opérationnelle pour son expertise, en se concentrant autant que possible sur l'efficacité en conditions de terrain.

Ainsi, seuls des indicateurs directs de la réduction de la densité des populations d'*Aedes* ou du remplacement d'une population sauvage par une population aux caractéristiques souhaitées (e.g. non compétente pour certains agents pathogènes) ont été utilisés pour rendre compte de l'efficacité entomologique (cf. chapitre 5).

Concernant l'efficacité épidémiologique, elle est définie dans ce rapport comme la capacité d'une technique de LAV à réduire l'incidence des maladies vectorielles pour lesquelles les agents pathogènes responsables sont transmis à l'humain par les moustiques. Ce rapport ne s'intéressant qu'aux moustiques du genre *Aedes*, l'efficacité épidémiologique est évaluée ici par la réduction de l'incidence des principales arboviroses transmises par ces moustiques : dengue, chikungunya et Zika.

1.3.3 Moyens et outils mis en oeuvre

La démarche générale du GT peut être découpée en plusieurs étapes, auxquelles ont été associés différents outils méthodologiques (Tableau 1).

Tableau 1. Étapes méthodologiques et outils associés

Étapes méthodologiques	Outils méthodologiques
Identification des essais terminés et en cours utilisant les techniques objets de la saisine	Revue systématique de la littérature (§ 1.3.3.1) Auditions (§ 1.3.3.2)
Description des conditions de réalisation des essais et des déterminants potentiels de l'efficacité	Revue systématique de la littérature (§ 1.3.3.1) Auditions (§ 1.3.3.2)
Qualification de l'efficacité entomologique et épidémiologique des techniques	Revue systématique de la littérature (§ 1.3.3.1)
Identification des principaux effets non-intentionnels (ENI) démontrés ou potentiels	Auditions (§ 1.3.3.2) Avis des experts du GT

Les paragraphes ci-dessous détaillent la mise en œuvre des différents outils méthodologiques.

1.3.3.1 Revue systématique de la littérature sur l'efficacité des techniques objets de la saisine

Objectifs

Une revue systématique de la littérature a été réalisée pour :

- faire un état des lieux (identification et description) des essais terminés et ayant faits l'objet d'une publication scientifique utilisant les différentes techniques de lâchers de moustiques mises en œuvre pour contrôler les populations de moustiques du genre *Aedes* ;
- évaluer l'efficacité entomologique et épidémiologique des différentes techniques étudiées.

Ce travail de revue a été mené en utilisant la méthode PICO « *Population, Intervention, Comparators, Outcomes* » (population, intervention, comparateurs, résultats en français)

(Tableau 2) pour répondre aux questions suivantes : « Quels sont les essais réalisés en conditions de terrain ou semi-naturelles avec les techniques qui font l'objet de la saisine pour réduire les populations d'*Aedes* et réduire l'incidence des arboviroses induites par les pathogènes qu'ils transmettent ? Quelles sont leurs caractéristiques et conditions de réalisation ? Quels sont les indicateurs d'efficacité entomologique et épidémiologique mesurés dans ces essais ? Quels sont les résultats d'efficacité rapportés ? »

Tableau 2. Définition des termes PICO

PICO	Définition
Population	<i>Aedes</i> spp.
Intervention	TIS, TIS renforcée, TII, TIS-TII, TII renforcée, technique de remplacement
Comparateurs	Comparateur disponible : comparaison dans le temps et/ou l'espace
Résultats	Indicateurs d'efficacité entomologique et épidémiologique Établissement de <i>Wolbachia</i> dans la population

Choix des mots-clés et sélection des articles

Les recherches bibliographiques ont été menées sur *PubMed®*, *Scopus®* et *Web of science* sans limitation sur l'année de publication ni sur la zone géographique.

Les combinaisons de mots-clés suivantes (Tableau 3) ont été établies par le GT pour identifier les références pertinentes par rapport aux questions posées et constituer le corpus d'articles à analyser.

Tableau 3. Équations de recherche

Équation	Base de données	Dernière date de recherche
((Aedes[Title/Abstract] AND (release*[Title/Abstract] OR field*[Title/Abstract] OR pilot[Title/Abstract] OR trial[Title/Abstract])) AND (sterile insect technique[Title/Abstract] OR Wolbachia[Title/Abstract] OR incompatible insect technique[Title/Abstract] OR pathogen blocking[Title/Abstract]))	PubMed®	17/12/2024
(TITLE-ABS-KEY (aedes)) AND (TITLE-ABS-KEY (wolbachia) OR TITLE-ABS-KEY (pathogen AND blocking) OR TITLE-ABS-KEY (sterile AND insect AND technique) OR TITLE-ABS-KEY (incompatible AND insect AND technique)) AND (TITLE-ABS-KEY (release*) OR TITLE-ABS-KEY (field*) OR TITLE-ABS-KEY (pilot) OR TITLE-ABS-KEY (trial))	Scopus®	17/12/2024
TS = (Aedes) AND (sterile insect technique OR Wolbachia OR incompatible insect technique OR pathogen blocking) AND (release* OR field* OR pilot OR trial)	Web of science	17/12/2024

La sélection des références à inclure dans la revue bibliographique a été réalisée sur le site CADIMA (<https://www.cadima.info/index.php>) avec une première étape fondée sur la lecture des titres et résumés (prenant en compte les critères de sélection présentés dans le Tableau 4), puis une seconde étape fondée sur la lecture du texte intégral des articles sélectionnés précédemment (prenant en compte les mêmes critères). À la première étape de sélection, chacune des références a été analysée indépendamment par deux lecteurs et les divergences éventuelles dans la sélection ont été résolues sur l'interface disponible sur CADIMA. Pour la seconde étape, chaque référence sélectionnée a été analysée par un seul lecteur.

Les critères d'inclusion et d'exclusion utilisés pour la sélection des références sont présentés dans le Tableau 3. À chaque étape, les références ne répondant pas aux critères d'inclusion/exclusion ont été écartées (voir diagramme PRISMA Figure 1).

Tableau 4 : Critères d'inclusion et d'exclusion utilisés pour la sélection des références

Item	Critères d'inclusion	Critères d'exclusion
Population	<i>Aedes</i> toutes espèces	Autres genres de moustiques Autres insectes que moustiques
Intervention	TIS TIS renforcée TII Technique de remplacement Combinaison TIS - TII	Toute autre technique de LAV
Comparator	Comparaison possible par rapport à une situation de référence dans le temps et/ou l'espace	Aucun
Outcome	Indicateurs quantitatifs d'efficacité entomologiques Indicateurs quantitatifs d'efficacité épidémiologique Établissement de <i>Wolbachia</i> dans la population	Données uniquement qualitatives
Autre : study design	Études de terrain Essais en conditions semi-naturelles	Étude de laboratoire Articles de revue Articles de discussion
Autre : Langues	Articles en français et anglais	Autres langues

Le nombre d'études triées et examinées en vue de leur éligibilité est présenté sous forme d'un diagramme de flux PRISMA (Figure 1).

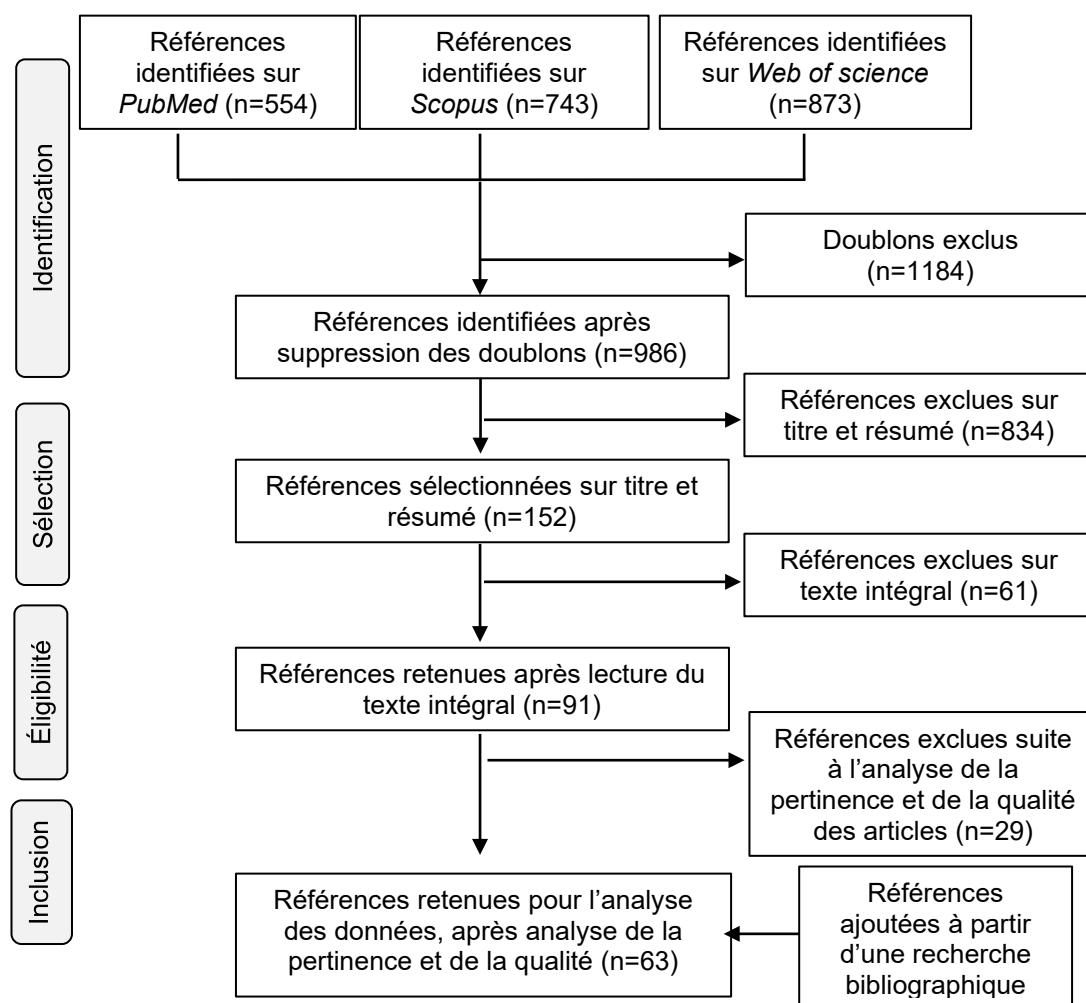


Figure 1 : Diagramme de flux PRISMA

Extraction des données et analyse de la qualité et de la pertinence

Un tableau d'extraction a été créé sous Excel® pour collecter les données contenues dans les articles retenus à l'issue des étapes de sélection décrites dans le paragraphe précédent et analyser la qualité de ces publications. Ce tableau inclut des éléments qualitatifs et quantitatifs que les experts ont jugé pertinents pour répondre aux questions posées, ainsi que des critères d'évaluation de la qualité des études (appréciation des risques de biais, de la qualité du plan expérimental et de la qualité des analyses statistiques). Les publications considérées de qualité satisfaisante et pertinentes au regard de l'objectif de la revue par les experts ont été intégrées à l'analyse et à la synthèse (les autres ont été exclues). L'analyse de la qualité des études a été discutée dans un premier temps en binôme ou en trinôme, puis par l'ensemble des experts du GT.

Pour chaque article retenu dans l'analyse, l'extraction des informations pertinentes a été réalisée par un seul expert.

Des versions synthétiques de ces tableaux sont présentées au chapitre 5 pour chaque technique étudiée.

1.3.3.2 Auditions

Objectifs

Les objectifs des auditions étaient les suivants :

- recueillir des informations complémentaires à celles qui ont été identifiées dans la littérature scientifique auprès de personnes qui participent (ou ont participé) à des essais TIS ou utilisant *Wolbachia* ;
- identifier et lister les essais en cours dans les territoires ultramarins français ;
- obtenir d'autres contacts de personnes impliquées dans la réalisation d'essais et le déploiement dans les territoires ultramarins français.

Préparation et déroulement

Le GT a construit un questionnaire pour mener les entretiens, qui a été traduit en anglais pour les auditions de personnes anglophones. Ce guide d'entretien a été transmis à chaque personne auditionnée en amont des auditions et a servi de support lors des échanges avec le GT.

Les auditions se sont toutes déroulées en visioconférence et ont duré environ une heure chacune.

Par souci de transparence et de traçabilité chaque audition a fait l'objet d'un enregistrement audio et d'une retranscription intégrale.

Personnes auditionnées

Les personnes auditionnées ont été identifiées et sélectionnées par les experts du GT, sur la base des connaissances de ces derniers et des contacts identifiés en cours d'expertise. La liste des personnes auditionnées, incluant leur organisme d'appartenance, est disponible en début du rapport (Présentation des intervenants).

Traitement et analyse des informations recueillies

Les informations obtenues lors des auditions ont été discutées au sein du GT. Celles-ci ont été utilisées pour alimenter les parties du rapport concernées.

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2 Moustiques du genre *Aedes* : bioécologie, répartition, transmission d'agents pathogènes et données épidémiologiques

Les espèces de moustiques objet de ce rapport sont *Aedes aegypti*, *Ae. Albopictus* et *Ae. polynesiensis*, trois vecteurs majeurs de maladies virales telles que la dengue, le chikungunya et le virus Zika. *Aedes aegypti* est surtout urbain, très adapté à l'habitat humain. *Aedes albopictus*, plus résistant au froid, s'est largement répandu mondialement. *Aedes polynesiensis*, quant à lui, est endémique dans le Pacifique et joue un rôle clé dans la transmission de la filariose et de la dengue.

Dans ce chapitre seront abordés leur bioécologie, leur répartition, les principaux agents pathogènes qu'ils sont susceptibles de transmettre et quelques données d'épidémiologie sur les maladies associées à ces vecteurs dans les territoires français.

2.1 Bioécologie des différentes espèces d'*Aedes*

2.1.1 *Aedes aegypti*

Aedes aegypti est largement répandue dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier. Les plus anciennes populations d'*Ae. aegypti* ont été identifiées dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien. Celles-ci sont considérées comme l'origine des populations qui ont colonisé l'Afrique, avant de se différencier en deux sous-espèces¹⁰. C'est la forme domestique (*Ae. aegypti aegypti*) qui s'est dispersée depuis l'Afrique de l'Ouest vers les régions tropicales et subtropicales du monde entier grâce aux routes commerciales (Mashlawi *et al.* 2024). Contrairement à *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* est moins adaptable aux climats tempérés et préfère des températures plus chaudes (Powell, Gloria-Soria et Kotsakiozi 2018). Toutefois, cette espèce était présente dans le bassin méditerranéen jusque dans les années 1950 (Wint *et al.* 2022) sans établissement au-dessus d'une latitude de 44°30'N (Schaffner et Mathis 2014b). Elle a d'ailleurs été responsable d'une épidémie de dengue (en 1927-1928) en Grèce (Chastel 2009). Depuis, cette espèce semble avoir disparu en Europe jusqu'à son établissement à (Almeida *et al.* 2007) et à Chypre en 2022 (Vasquez *et al.* 2023).

- Accouplement, cycle de développement, ponte et gîtes larvaires

Le plus souvent, les moustiques femelles ne s'accouplent qu'une seule fois dans leur vie (4-6 semaines environ) et stockent ensuite le sperme dans leur spermathèque pour féconder leurs œufs (Degner et Harrington 2016; Cramer, Gabel et Duvall 2023). Les femelles pondent généralement les œufs (environ 100 à 200) d'un même lot (cycle gonotrophique) dans deux ou trois sites de ponte (ponte fractionnée) (Reiter *et al.* 1995). La femelle fécondée peut pondre tous les quatre à dix jours. Les œufs sont déposés à la limite air-eau. Les larves se développent dans de petites collections d'eau temporaires d'origine naturelle (phytotelmes¹¹, dendrotelmes¹² ou milieux saxicoles¹³, etc.) ou artificielles (seaux, vases, pneus usagés, coupelles, récupérateurs d'eau, avaloirs, gouttières, etc.) (Day 2016). Après éclosion des œufs au contact de l'eau, une première phase aquatique a lieu avec succession de quatre stades larvaires (de L1 à L4) et un stade nymphal. Cette première phase dure d'une semaine à 28 jours (entre 12°C et 32°C), une température plus chaude accélérant le développement des

¹⁰ une forme forestière (*Ae. aegypti formosus*) et une forme domestique (*Ae. aegypti aegypti*).

¹¹ Microhabitat aquatique constitué d'une petite quantité d'eau douce contenue dans une plante terrestre.

¹² Le dendrotelme est un type de phytotelme comme les urnes de certaines plantes carnivores et les réservoirs des Broméliacées.

¹³ qui vit naturellement et préférentiellement ou uniquement sur les rochers et murets.

larves (Briegel et Timmermann 2001). Les œufs sont résistants à la dessiccation durant plusieurs mois. Cependant, contrairement à *Ae. albopictus*, les œufs d'*Ae. aegypti* n'entrent pas en diapause hivernale, ce qui limite sa distribution géographique dans les régions tempérées (Diniz *et al.* 2017).

Après émergence, l'adulte prend un repas sucré à base de nectar, et l'accouplement a lieu.

Tout comme *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* est étroitement associé aux environnements urbains et domestiques.

- Préférences trophiques des femelles

Tout comme *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* est extrêmement anthropophile. Les femelles se nourrissent presque exclusivement de sang humain, avec une préférence encore plus marquée qu'*Ae. albopictus* (Helene Delatte *et al.* 2010). La prise d'un repas sanguin avant chaque ponte leur permet d'obtenir les protéines nécessaires au bon développement et à la maturation des œufs. Seules les femelles sont hématophages, les mâles se nourrissant exclusivement de jus sucrés et de nectar de fleurs. Si les femelles *Ae. albopictus* piquent principalement en journée et à l'extérieur, les femelles *Ae. aegypti* ont tendance à piquer à l'intérieur des habitations avec des pics d'activité observés en début de matinée et en fin d'après-midi (Dzul-Manzanilla *et al.* 2016).

Ces caractéristiques font d'*Ae. aegypti* le vecteur principal de nombreux arbovirus responsables entre autres de la dengue, le chikungunya et le Zika dans les zones urbaines des régions tropicales et subtropicales.

- Profils d'infection naturelle par la bactérie *Wolbachia*

Alors que des infections par *Wolbachia* à des prévalences élevées sont rapportées chez *Ae. albopictus*, la présence naturelle de la bactérie chez *Ae. aegypti* a longtemps été considérée, à tort, comme rare (Ross et Hoffmann, 2024). En effet, des infections naturelles ont récemment été rapportées dans plusieurs régions du monde, avec des taux de prévalence allant de 0,2 % au Panama, à 73,33 % en Inde (Gnankine et Dabiré 2024). Les études recensées dans la revue de littérature réalisée par Gnankine et Dabiré (2024) ont montré que les séquences de *Wolbachia* trouvées chez *Ae. aegypti* étaient étroitement apparentées à celles de la souche *wAlbB* naturellement présente chez *Ae. albopictus*. Cela suggère une possible transmission bactérienne entre ces deux espèces qui partagent souvent les mêmes niches écologiques (Juliano et Philip Lounibos 2005; Burford Reiskind *et al.* 2018). Toutefois, la densité bactérienne observée à l'échelle de l'individu chez *Ae. aegypti* reste généralement faible, même lorsque la prévalence d'infection est élevée dans la population (Kulkarni *et al.* 2019).

2.1.2 *Aedes albopictus*

Aedes albopictus est originaire d'Asie du Sud-est, également implantée dans des régions asiatiques tempérées (Corée, Japon). Depuis quelques dizaines d'années, cette espèce envahissante a colonisé tous les continents et les régions tropicales comme tempérées par transport de pneus usagés ou commerce de lucky-bambous principalement. *Aedes albopictus* est une espèce particulièrement adaptable, capable de résister à des hivers froids, et dotée d'une forte fécondité. En Europe, cette espèce se rencontre principalement dans des habitats urbains ou périurbains (Lwande *et al.* 2020).

- Accouplement, cycle de développement, ponte et gîtes larvaires :

La durée du cycle et les conditions de développement d'*Ae. albopictus* sont similaires à celles d'*Ae. aegypti*.

Contrairement aux œufs d'*Ae. aegypti*, ceux d'*Ae. albopictus* sont capables de résister à la dessiccation pendant plusieurs semaines, mois, voire près d'un an (résistance aux périodes de sécheresse), d'entrer en diapause hivernale et de résister à des températures de -10°C pendant quelques heures (Thomas *et al.* 2012).

Bien qu'il ait été longtemps considéré comme un moustique ayant une faible dispersion active (< 300 m/jour), des travaux indiquent qu'*Ae. albopictus* peut atteindre des distances de déplacement de 1 km (Maciel-de-freitas *et al.* 2006; Medeiros *et al.* 2017; Vavassori, Saddler et Müller 2019). Par ailleurs, leur comportement diurne, qui coïncide avec les périodes d'activité humaine, permet leur dispersion passive efficace sur de longues distances en empruntant les transports humains (voitures, bateaux, avions, etc.). *Ae. albopictus* présente ainsi une remarquable capacité à coloniser de nouveaux territoires (Renault *et al.* 2024).

- Préférences trophiques des femelles

Aedes albopictus est un moustique hématophage anthropophile qui pique préférentiellement les humains, mais peut également prendre son repas de sang sur d'autres mammifères (chiens, chats, rongeurs, lagomorphes, etc.) et plus rarement sur les oiseaux (Helene Delatte *et al.* 2010; Pereira-dos-Santos *et al.* 2020; Fikrig et Harrington 2021). Par exemple, 95 % des repas sanguins d'*Ae. albopictus* capturés à l'état sauvage dans des sites périurbains au Cameroun contenaient du sang humain et très peu avaient eu des repas de sang mixtes humain-animal (Kamgang *et al.* 2012). Cette préférence pour prendre des repas de sang sur les humains favorise le fait qu'*Ae. albopictus* joue un rôle important dans la transmission des arbovirus aux humains.

Il est aussi important de remarquer la fragmentation possible des repas sanguins au cours du même cycle gonotrophique sur plusieurs hôtes (Delatte *et al.* 2010), avec de multiples sujets humains piqués en un jour par une femelle moustique, ce qui augmente ainsi la probabilité d'infection et de transmission des arbovirus par ces femelles.

Aedes albopictus est surtout actif pendant la journée, avec un pic d'agressivité à l'aube et au crépuscule. L'amplitude de ces plages horaires varie en fonction de la latitude et de l'altitude (Romiti *et al.* 2022; Anses 2024).

Ae. albopictus est désormais considéré comme un très bon vecteur en régions tempérées où il n'est pas en compétition avec *Ae. aegypti* (M.U.G. Kraemer *et al.* 2019).

- Profils d'infections naturelles par la bactérie *Wolbachia*

Aedes albopictus présente naturellement une infection avec deux souches de *Wolbachia* : wAlbA et wAlbB (Dutton et Sinkins 2004). La densité des infections naturelles est relativement faible. La souche wAlbB est systématiquement présente à des densités plus élevées que wAlbA. Cette différence de densité expliquerait un taux de transmission maternelle légèrement plus faible pour wAlbA comparé à wAlbB (Pattamaporn *et al.* 2002). Contrairement à la souche wMel, issue de *Drosophila melanogaster*, qui montre une sensibilité particulière aux températures extrêmes (températures maximales quotidiennes dépassant 36 °C) (Hague, Wheeler et Cooper 2024), la souche wAlbB semble plus stable face aux variations thermiques. Chez leur hôte natif, les infections naturelles par wAlbA et wAlbB montrent une capacité modérée à bloquer la transmission des virus comme ceux responsables de la dengue et du chikungunya, avec un niveau d'inhibition virale plus faible que lorsque wAlbB est transinfectée chez *Ae. aegypti* (Hoffmann, Ross et Rašić 2015).

2.1.3 *Aedes polynesiensis*

Aedes polynesiensis est une espèce présente dans la région Indo-pacifique. Il s'agit du principal vecteur de la filariose lymphatique à *Wuchereria bancrofti* dans le Pacifique Sud (Manguin *et al.* 2010) et un vecteur secondaire de la dengue, alors qu'*Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* en sont les vecteurs principaux (Samarawickrema *et al.* 1993).

- Accouplement, cycle de développement, ponte et gîtes larvaires

Les larves se développent dans divers types de gîtes naturels et artificiels : les terriers du crabe terrestre (*Cardisoma carnifex*), les noix de coco rongées par les rats, les pneus, les trous d'arbres, les boîtes de conserve et autres contenants artificiels (Rivière *et al.* 1998; Mercer et Castillo-Pizango 2005). Les terriers de crabes constituent un gîte "mère" particulièrement productif du fait de leur abondance, du volume d'eau important qu'ils contiennent et des

conditions physico-chimiques optimales pour le développement larvaire, un type de gîte peu exploité par *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* (Rivière *et al.* 1998). Ainsi, contrairement à *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* qui colonisent préférentiellement les zones urbaines, péri-urbaines et rurales, *Ae. polynesiensis* a une préférence pour les zones côtières où abondent les terriers de crabes (Samarawickrema *et al.* 1993). L'espèce est principalement diurne avec, comme pour les deux autres espèces citées d'*Aedes*, des pics d'agressivité à l'aube et au crépuscule. La femelle peut pondre une centaine d'œufs tous les 4-5 jours. Les œufs sont pondus à la limite air-eau et sont capables de résister à la dessiccation pendant plusieurs semaines, une caractéristique partagée avec *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* (Rivière *et al.* 1998). Le développement larvaire dure de 7 à 28 jours selon la température (entre 12 et 32°C). L'adulte peut vivre jusqu'à un mois. Contrairement à *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* qui présentent une saisonnalité marquée liée aux précipitations, l'activité d'*Ae. polynesiensis* est relativement constante tout au long de l'année dans les zones côtières grâce aux terriers de crabes qui maintiennent des gîtes larvaires permanents. Cette activité continue est liée aux variations du niveau de l'eau qui permet l'éclosion des œufs toute l'année, indépendamment des précipitations (Rivière *et al.* 1998; Mercer *et al.* 2012).

- Préférences trophiques des femelles

Les femelles ont des comportements alimentaires opportunistes, piquant à l'extérieur principalement l'humain mais, comme *Ae. albopictus* (Samarawickrema, Sone et Cummings 1987), elles peuvent également se nourrir sur d'autres mammifères. Les adultes se dispersent peu et restent généralement dans un rayon de 150 mètres autour de leur lieu d'éclosion (Mercer *et al.* 2012).

- Profils d'infection naturelle par la bactérie *Wolbachia*

Aedes polynesiensis est naturellement porteur de la souche de *Wolbachia* appartenant au clade A et plus précisément au sous-groupe Mel. Cela en fait le premier moustique identifié avec ce type d'infection endosymbiotique (Dean et Dobson, 2004). Bien qu'apparentée à la souche wMel décrite chez *D. melanogaster*, la souche présente chez *Ae. polynesiensis*, parfois désignée comme « wScu », présente une divergence génétique d'environ 2,5 % par rapport à celle de *D. melanogaster* (Behbahani *et al.* 2005). Des analyses phylogénétiques ont montré qu'elle partage une plus grande similarité avec la *Wolbachia* isolée de la guêpe à galle (*Callyrhytis glandium*) et qu'elle reste distincte des *Wolbachia* du clade A présentes chez *Ae. albopictus*. Comme d'autres infections à *Wolbachia*, celle d'*Ae. polynesiensis* induit une incompatibilité cytoplasmique forte et unidirectionnelle, entraînant une stérilité presque complète lorsque des mâles infectés s'accouplent avec des femelles non infectées (Dean et Dobson 2004). Cette infection présente un taux de transmission verticale élevé, assurant sa persistance dans les populations naturelles (Corey L. Brelsfoard et Dobson 2012). Ces caractéristiques ont conduit les chercheurs à explorer l'utilisation de *Wolbachia* comme outil potentiel de lutte contre *Ae. polynesiensis*, notamment au travers de l'incompatibilité bi-directionnelle obtenue par croisements interspécifiques avec *Aedes riversi* et introgressions (Corey L. Brelsfoard et Dobson 2012).

2.1.4 Différences à prendre en compte pour le développement de techniques de LAV

Aedes aegypti, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis* présentent des caractéristiques biologiques et écologiques qui influencent leur capacité vectorielle et les stratégies de lutte à mettre en place. *Aedes aegypti*, très anthropophile et inféodé au milieu urbain, est particulièrement efficace dans la transmission inter-humaine de virus en milieu urbain tropical. *Aedes albopictus*, plus opportuniste et adaptable, est capable de coloniser les zones tempérées grâce à la diapause hivernale. Il peut donc contribuer à la transmission inter-humaine des arbovirus à différentes latitudes et contextes écologiques. Quant à *Ae. polynesiensis*, sa capacité à exploiter les terriers de crabes comme gîtes larvaires permanents lui permet de maintenir une activité continue, avec des implications fortes pour la transmission de nématodes responsables de la filariose lymphatique de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*) dans

les zones côtières du Pacifique Sud. Les endosymbiotes naturels de ces moustiques sont également à prendre en compte pour le développement de techniques de LAV fondées sur l'utilisation de *Wolbachia*.

2.1.5 Dynamique des populations : focus sur la notion de densité-dépendance et l'effet de compensation

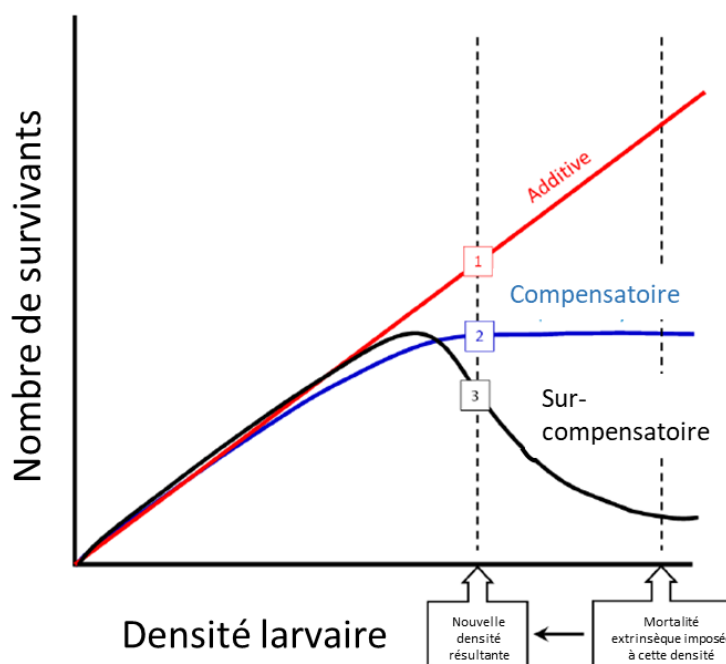
Quelle que soit l'espèce considérée, la densité-dépendance (i.e. l'effet de la densité sur la survie et la reproduction des individus) est l'un des déterminants principaux de la dynamique des populations. Chez les moustiques du genre *Aedes*, ce phénomène intervient particulièrement au stade larvaire, où les individus se développent en compétition pour des ressources limitées dans de petits volumes d'eau stagnante (Bouyer 2023). En effet, la survie des larves de moustique dépend de leur nombre dans les gîtes larvaires, et conditionne le nombre d'adultes émergents. En d'autres termes, plus la densité larvaire est importante, plus le nombre d'adultes émergents (i.e. de larves survivantes) pour un nombre d'œufs donné est limité par la mortalité densité-dépendante (i.e. induite par la compétition intraspécifique) (Evans *et al.* 2022). Ainsi, la relation entre nombre de larves en compétition et nombre d'adultes survivants peut prendre plusieurs formes¹⁴ (Figure 2) :

- additive, lorsque la relation est linéaire. Une réduction de la densité larvaire réduit le nombre d'adultes émergents de manière proportionnelle ;
- compensatoire, lorsque le nombre de survivants atteint un plateau. Une réduction de la densité larvaire est compensée par une meilleure survie des larves restantes ;
- surcompensatoire, lorsque le nombre de survivants chute en raison d'une compétition trop importante pour les ressources. Une réduction de la densité larvaire entraîne une telle amélioration des conditions de développement que le nombre d'adultes émergents est supérieur à celui attendu dans une situation où la densité larvaire serait plus importante.

La première situation s'observe généralement quand les densités larvaires initiales sont faibles et que la compétition intraspécifique est négligeable (voir point 1 de la Figure 2). En cas de densité initiale élevée, une absence d'effet sur la densité d'adultes émergents (compensation) (voir point 2 de la Figure 2), voire une augmentation de cette densité (surcompensation) peut être observée (voir point 3 de la Figure 2).

Ce mécanisme de densité-dépendance constitue donc un élément clé pour comprendre la potentielle résilience des populations de moustiques face aux perturbations naturelles ou induites, par exemple par des actions et traitements de LAV visant une réduction des densités de vecteurs, comme la TIS ou de la TII.

¹⁴ À la meilleure survie, peut aussi s'ajouter une taille plus grande à l'émergence ce qui peut augmenter la *fitness* des femelles (plus d'œufs pondus), le volume de sang prélevé (ainsi que la quantité de virus prélevée qui peut avoir un impact sur l'infection des moustiques).



Explications : Lorsque la densité larvaire est élevée (ligne verticale en pointillés à droite), la mortalité extrinsèque imposée à cette densité conduit à une nouvelle densité résultante (ligne verticale en pointillés à gauche). À cette nouvelle densité, le nombre de survivants résultant de la compétition larvaire peut être (1) proportionnel à la mortalité larvaire (relation linéaire), (2) équivalent à ce qu'il aurait été en l'absence de mortalité larvaire (phénomène de compensation) ou (3) supérieur au nombre attendu (phénomène de surcompensation).

Figure 2 : Relations possibles entre la densité larvaire et le nombre d'adultes émergents ; expliquées par la compétition intraspécifique ; et conséquences potentielles d'interventions de réduction de la densité larvaire (d'après Evans *et al.* 2022)

2.2 Répartition des différentes espèces

2.2.1 Répartition mondiale

La répartition mondiale des moustiques *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* (Figure 3) révèle des répartitions distinctes et des zones de chevauchement. Ces deux espèces, vectrices importantes d'arbovirus comme les virus de la dengue, du chikungunya et Zika présentent des caractéristiques bioécologiques légèrement différentes pouvant expliquer leur répartition.

Aedes aegypti, est présent dans toutes les régions tropicales et subtropicales urbaines du monde, avec des fortes densités notamment en Amérique Latine, les Caraïbes et l'Asie du Sud-est, où il trouve des conditions optimales pour sa reproduction, en particulier dans les conteneurs artificiels d'eau domestique. Avec l'augmentation des échanges commerciaux et touristiques, la répartition géographique d'*Ae. aegypti*, originaire de zones tropicales et intertropicales, s'étend à d'autres latitudes et régions comme Madère (Margarita *et al.* 2006) et Chypre en Europe (Ecdc 2023), ou encore en Amérique du Nord (Nevada, Arizona, Californie) (M.U. Kraemer *et al.* 2015). En Afrique, l'espèce est largement répandue avec des signalements dans plus de 30 pays. En Australie, l'espèce occupe une distribution relativement large dans sa partie nord-orientale (M.U. Kraemer *et al.* 2015).

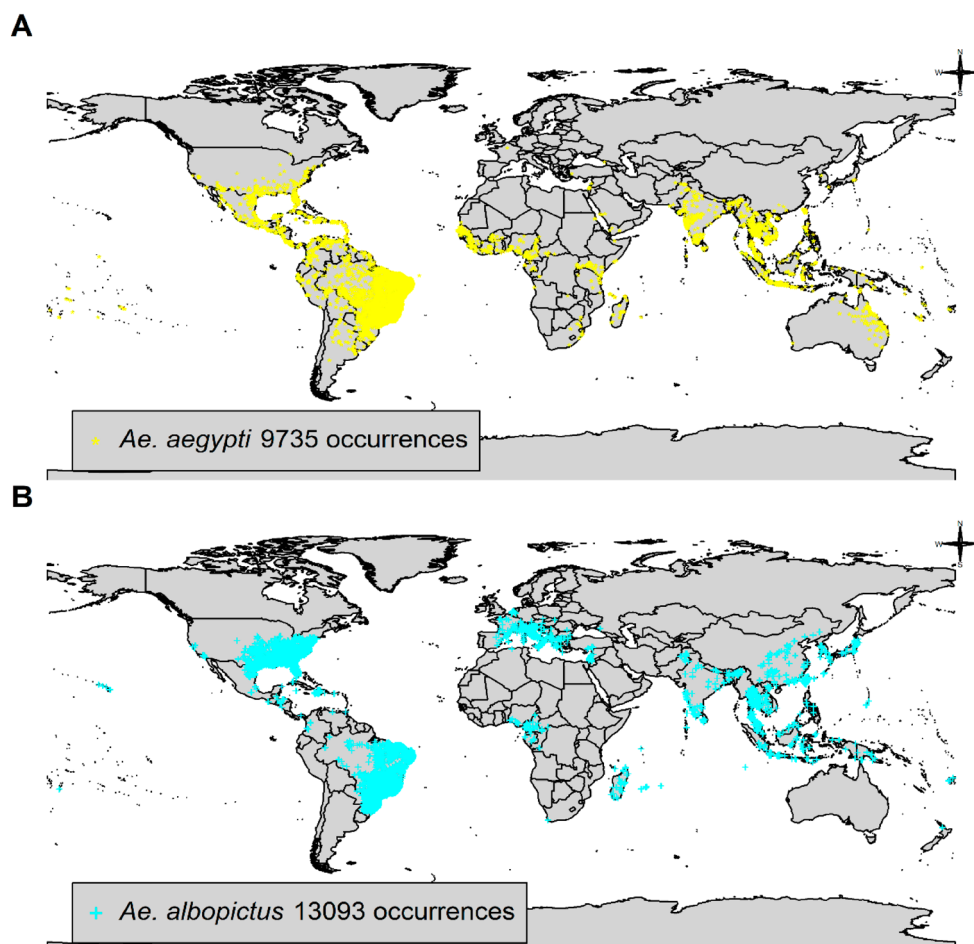


Figure 3 : Répartition mondiale d'*Ae. aegypti* (A, en jaune) et *Ae. albopictus* (B, en bleu) (Laporta et al. 2023)

Aedes albopictus présente une distribution géographique plus étendue vers les zones tempérées. Originaires d'Asie, cette espèce a démontré une remarquable capacité d'expansion mondiale depuis les années 1980 (Paupy et al. 2009). Elle s'est établie avec succès dans le sud de l'Europe, où elle continue sa progression vers le nord, ainsi que dans le nord de la Chine et au Japon. Dans les Amériques, elle est présente jusque dans le nord des États-Unis, témoignant de sa tolérance aux températures plus basses. En Afrique, mis à part Madagascar, les premières observations datent des années 1990 en Afrique du Sud et au Nigeria. Son établissement s'est poursuivi à travers le continent (Longbottom et al. 2023), même si sa distribution reste plus limitée que celle d'*Ae. aegypti*.

Les facteurs environnementaux (e.g. température, hygrométrie, densité de végétation, niveau d'urbanisation), jouent un rôle déterminant dans la distribution de ces deux espèces (Brady et al. 2013). Le commerce international et les transports contribuent significativement à leur dispersion mondiale (Tatem, Hay et Rogers 2006), tandis que les changements climatiques pourraient modifier leurs aires de répartition futures (Campbell et al. 2015). La compréhension de cette répartition est cruciale pour la surveillance et le contrôle des maladies vectorielles associées, notamment dans le contexte d'émergence de nouvelles épidémies. Cette surveillance est d'autant plus importante que les aires de distribution de ces vecteurs continuent de s'étendre, augmentant le risque d'introduction et de transmission autochtone de maladies dans de nouvelles régions (Messina et al. 2015).

Aedes polynesiensis est un moustique endémique du Pacifique Sud (Figure 4), principalement présent dans les archipels de la Polynésie française, telles que les îles de la Société, les Marquises et les Tuamotu. Son aire de répartition s'étend également aux îles Samoa, Fidji,

Cook, ainsi qu'à Wallis et Futuna (Roth *et al.* 2014). Cette espèce est particulièrement adaptée aux environnements tropicaux insulaires, privilégiant les zones côtières et les vallées humides des îles. Sa présence est rarement documentée en dehors de cette région géographique spécifique du Pacifique Sud.

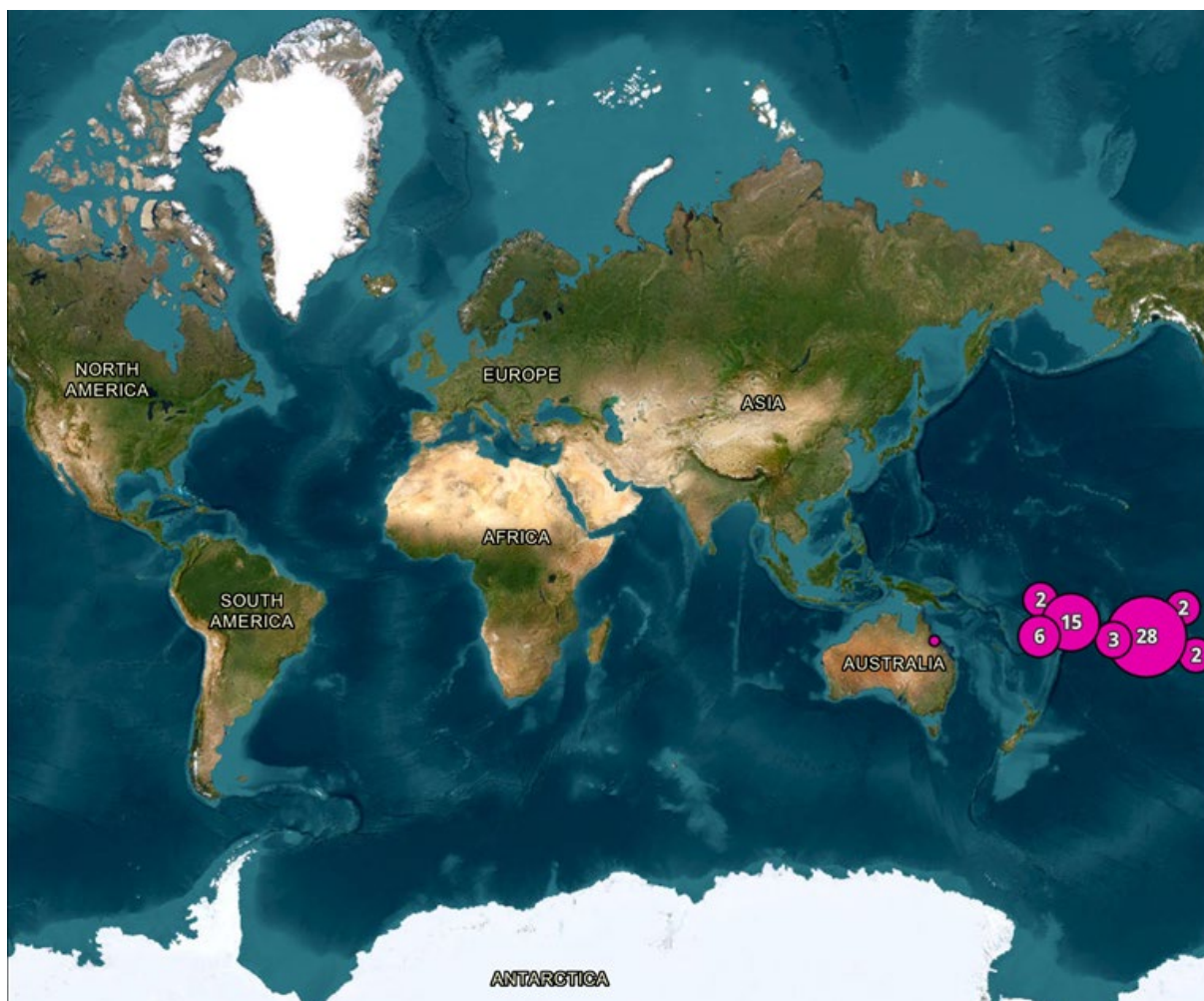


Figure 4 : Carte de répartition globale d'*Ae. polynesiensis*. Les données ont été obtenues à partir de documents conservés par l'École de biologie intégrative de l'université du Queensland (Australie) et accessibles via le portail de données VectorMap (<http://www.vectormap.si.edu>) le 30 octobre 2024.

2.2.2 Répartition en France

2.2.2.1 Répartition dans les territoires ultramarins français

Les moustiques du genre *Aedes* présentent une distribution géographique distincte en France hexagonale et ses territoires ultramarins (Figure 5).

Aedes aegypti prédomine en milieu urbain et périurbain en Guadeloupe et en Martinique dans la région des Caraïbes. Cette espèce, qui est le principal vecteur des virus responsables de la dengue, le chikungunya et le Zika, est bien adaptée aux environnements urbains avec une préférence pour les contenants artificiels d'eau douce (M.U. Kraemer *et al.* 2015; Cnev 2016a). En Guyane française, *Ae. aegypti* est également très abondant, notamment dans les zones habitées côtières, telles que Cayenne et Kourou (Failloux et Hervé 2003). En octobre 2024, la

présence d'*Ae. albopictus* a été confirmée dans une commune de l'île de Saint Barthélémy (Quérin 2023).

Dans l'océan Indien, *Ae. albopictus* est omniprésent à La Réunion et s'adapte facilement aux environnements naturels et anthropiques, tandis que *Ae. aegypti* est limité à des foyers spécifiques comme les ravines¹⁵. À La Réunion, comme à Mayotte, la sympatrie des deux espèces a été observée, mais *Ae. albopictus* reste dominant grâce à sa capacité de dispersion dans les milieux périurbains et végétalisés (Paupy *et al.* 2009; Cnev 2016a).

En Polynésie française, *Ae. aegypti* est bien implanté en zone urbaine, tandis que l'espèce endémique *Ae. polynesiensis* se retrouve dans les zones côtières et présente également une compétence vectorielle pour les arbovirus (Richard et Cao-Lormeau 2019). En Nouvelle-Calédonie, *Ae. aegypti* est solidement implanté en milieu urbain (Pocquet *et al.* 2021). L'archipel de Wallis-et-Futuna héberge les espèces *Ae. polynesiensis* et *Ae. aegypti* (Calvez *et al.* 2020).

Cette répartition est sujette à des évolutions en fonction des changements climatiques et des échanges commerciaux entre territoires, influençant la dynamique des populations d'*Aedes* et les risques de transmission d'arbovirus, tels que ceux responsables de la dengue, du chikungunya, et de Zika (M.U. Kraemer *et al.* 2015; Brady *et al.* 2014).



* À noter une détection d'*Aedes albopictus* à Saint Barthélémy.

Figure 5 : Répartition des principales espèces d'*Aedes* vectrices d'arbovirus en France et dans ses régions d'Outre-Mer. Créée dans <https://BioRender.com>.

¹⁵ Une ravine est un lit (ou incision linéaire) creusé par le ruissellement concentré des eaux sur un versant. Les ravines réunionnaises sont des sites naturels qui comportent de nombreuses spécificités bio-écologique.

2.2.2.2 Répartition sur le territoire hexagonal

Aedes albopictus est arrivé en France à Menton, depuis l'Italie, en 2004 (Delaunay *et al.* 2007). Depuis, *Ae. albopictus* progresse vers le nord et l'ouest de la France, en suivant les principaux axes de communication. La période d'activité des adultes sur le territoire s'étendait traditionnellement de début mai à fin novembre, mais les détections précoces (dès mi-mars) et tardives (jusqu'en décembre) favorisées par les changements climatiques sont de plus en plus fréquentes notamment dans les régions méridionales de l'hexagone (Petric *et al.* 2021). Au 1^{er} janvier 2025, 81 départements (sur les 96 départements hexagonaux) présentent au moins une commune officiellement colonisée (Figure 6A).

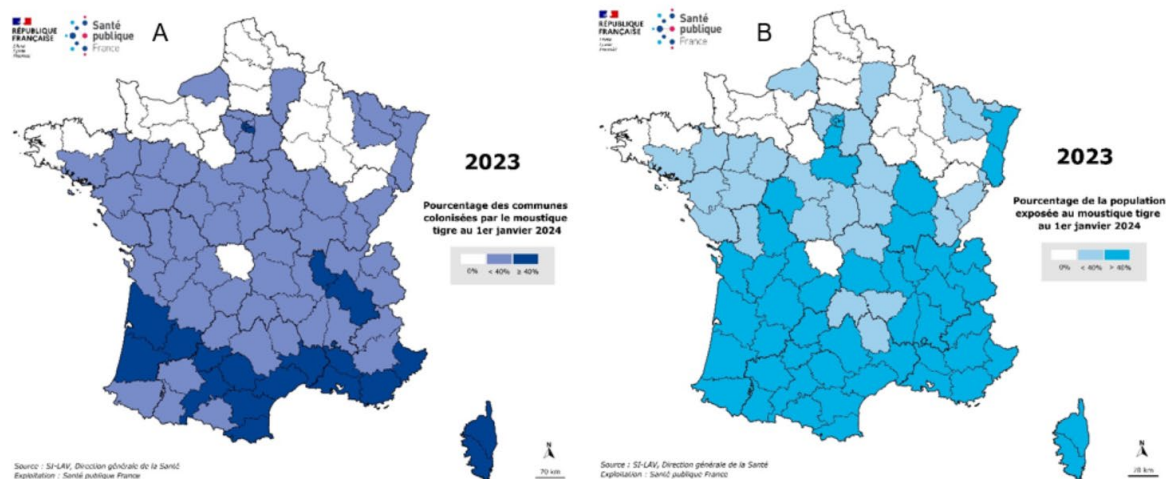


Figure 6. Cartes de présence d'*Ae. albopictus* en France hexagonale (données SI-LAV Direction Générale de la Santé).

A-Pourcentage des communes colonisées par le moustique tigre au 1^{er} janvier 2024.

B-Pourcentage de la population exposée au moustique tigre au 1^{er} janvier 2024.

La part de la population exposée augmente d'année en année et atteint aujourd'hui plus de 40 % dans un grand nombre de départements (Figure 6).

Aedes aegypti et *Ae. polynesiensis* sont absents du territoire hexagonal au moment de la rédaction de ce rapport (juin 2025).

2.3 Transmission des agents pathogènes par *Aedes*

2.3.1 Généralités : cycle de transmission des arbovirus et compétence vectorielle

Une femelle *Aedes* s'infecte en piquant un hôte vertébré infecté. Après avoir franchi plusieurs compartiments de l'insecte au sein desquels il se multiplie activement, le virus gagne la paire de glandes salivaires de la femelle, qui devient infectante. Elle transmettra alors le virus à tout nouvel hôte qu'elle piquera, jusqu'à la fin de sa vie. La transmission verticale de virus d'une femelle à sa descendance, appelée transmission transovarienne, est un phénomène rare, mais qui a été démontré à plusieurs reprises en laboratoire et sur le terrain. Sa contribution dans la dynamique de transmission des arbovirus est toujours mal comprise (Ferreira-de-Lima et Lima-Camara 2018; Lequime et Lambrechts 2014).

L'aptitude d'une espèce de moustique à assurer le développement d'un virus définit sa compétence vectorielle pour ce virus. La durée de développement du virus dans son vecteur est appelée période de développement extrinsèque (*extrinsic incubation period* - EIP, en

anglais). Ces deux paramètres sont modulés par des interactions « Génotype_virus x Génotype_vecteur x Environnement » qui reflètent la coévolution des virus et de leurs vecteurs.

Le système vectoriel implique ainsi de réunir des populations d'*Aedes* compétents, des arbovirus circulants (tels que les virus de la dengue, du chikungunya, du Zika) et des hôtes humains réceptifs à l'infection dans un environnement (paysage et climat) adéquat (Fontenille *et al.* 2009). La probabilité de transmission d'un agent pathogène dans une zone donnée (ou capacité vectorielle de la population) dépend de plusieurs paramètres clés comme la densité de la population de moustiques, la fréquence des piqûres par les femelles infectantes, la durée de vie des moustiques, la compétence vectorielle et l'EIP (Black et Moore 1996).

Ces paramètres peuvent varier en fonction de facteurs intrinsèques et extrinsèques aux moustiques. Parmi les facteurs extrinsèques, la température, la biodisponibilité en hôtes ou encore la souche virale impliquée peuvent être cités (Zouache *et al.* 2014).

2.3.2 Principaux agents pathogènes transmis par les moustiques du genre *Aedes*

Les moustiques du genre *Aedes* sont capables de transmettre de nombreux agents pathogènes (notamment les virus de la dengue, du chikungunya et Zika), qui représentent une menace croissante pour la France hexagonale et ses territoires ultramarins. En Polynésie française, *Ae. polynesiensis* est également capable de transmettre le parasite responsable de la filariose lymphatique de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*). Ce paragraphe a pour objectif de présenter succinctement ces agents pathogènes.

2.3.2.1 Virus de la dengue

Le virus de la dengue appartient à la famille des *Flaviviridae* (genre *Orthoflavivirus*) et comprend quatre sérotypes distincts (DENV1 à DENV4) entre lesquels il n'existe pas d'immunité croisée durable (Wilder-Smith *et al.* 2019). Bien qu'*Ae. aegypti* en soit le vecteur principal, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis* peuvent également assurer sa transmission et jouer localement le rôle de vecteur principal.

Pour la dengue, dans des conditions optimales (25-28°C), la période de développement extrinsèque (voir § 2.3.1) dure entre huit et dix jours (H. Delatte *et al.* 2008). Cette durée peut varier selon plusieurs facteurs : les fluctuations de température, le génotype viral et la concentration virale initiale. Une fois infectieux, le moustique peut transmettre le virus jusqu'à sa mort.

L'incubation dure environ 5 à 6 jours après la piqûre du moustique et la période de virémie est de quatre à dix jours (Duyen *et al.* 2011). La transmission de l'humain au moustique peut survenir à partir de deux jours avant l'apparition des symptômes et jusqu'à deux jours après la disparition de la fièvre. La concentration minimale de virus dans le sang nécessaire pour permettre l'infection du vecteur est estimée à environ 10^5 TCID₅₀/mL¹⁶ (Hall-Mendelin *et al.* 2021). Les personnes asymptomatiques, bien qu'ayant une virémie plus faible que les personnes symptomatiques, peuvent infecter les moustiques pendant environ une à deux semaines (Duong *et al.* 2015; Matangkasombut *et al.* 2020). Ces cas asymptomatiques pourraient contribuer jusqu'à 84 % des transmissions selon certaines études (Halstead 2019).

En plus de cette voie de transmission vectorielle, le virus peut également se transmettre par les différents tissus et le sang (Cedano *et al.* 2019; Rosso *et al.* 2018; Lecadie *et al.* 2021), lors d'accidents d'exposition au sang, notamment chez les soignants manipulant des aiguilles souillées (Morgan *et al.* 2015). La transmission materno-fœtale est également possible pendant la grossesse ou autour de l'accouchement (Basurko *et al.* 2018; Hcini *et al.* 2024), pouvant entraîner des complications comme une naissance prématurée ou une insuffisance

¹⁶ Le TCID₅₀/mL (*Tissue Culture Infectious Dose 50* par millilitre) correspond à la dose de virus nécessaire pour infecter 50 % des cellules en culture, mesurée par millilitre d'échantillon.

pondérale. Des cas rares de transmission sexuelle ont également été documentés (Grobusch *et al.* 2020).

À noter également que chez le moustique, une rare transmission transovarienne existe.

2.3.2.2 Virus du chikungunya

Le virus du chikungunya, membre de la famille des *Togaviridae* (genre *Alphavirus*), existe sous trois lignages génétiques : Asie, Afrique de l'Ouest et Afrique Est-Centre-Sud (ECSA). Une particularité notable est l'existence de mutations, notamment E1-226V, dans certaines souches du lignage ECSA, leur conférant une meilleure adaptation à *Ae. albopictus* (Tsetsarkin *et al.* 2007; Anubis Vega-Rúa *et al.* 2020). *Aedes aegypti* est toutefois un excellent vecteur du virus.

Le cycle de transmission débute lorsqu'un moustique non infecté pique une personne virémique. Le virus se réplique alors dans le moustique avant d'être transmis à un autre hôte humain lors d'une piqûre ultérieure. La période de virémie chez l'humain est de deux à dix jours.

Au-delà de la transmission vectorielle, chez l'humain, le virus présente un risque particulier de transmission verticale en période périnatale, notamment si la mère est virémique lors de l'accouchement, pouvant entraîner une infection néonatale sévère (Gérardin *et al.* 2014; Basurko *et al.* 2018; Hcini *et al.* 2024). Bien qu'aucun cas de transmission par transfusion n'ait été documenté, des cas de transmission par transplantation d'organe ont été rapportés, sans complications majeures (Rosso *et al.* 2018; Pozzetto *et al.* 2023).

À noter que, après une infection chez l'humain, l'immunité apparaît robuste et durable (Chandley *et al.* 2023).

2.3.2.3 Virus Zika

Le virus Zika, membre des *Flaviridae* (genre *Orthoflavivirus*), se présente sous deux lignages : africain et asiatique. Le cycle de transmission débute lorsqu'un moustique s'infecte en piquant une personne porteuse du virus. Le virus se multiplie ensuite dans le moustique *Aedes* avant d'être transmis à un nouvel hôte lors d'une piqûre ultérieure.

La virémie chez l'humain est courte, entre trois et cinq jours (Ng *et al.* 2018). Les symptômes, lorsqu'ils apparaissent, se manifestent trois à 12 jours après la piqûre infectante. À noter que 80 % des personnes infectées sont asymptomatiques (Haby *et al.* 2018).

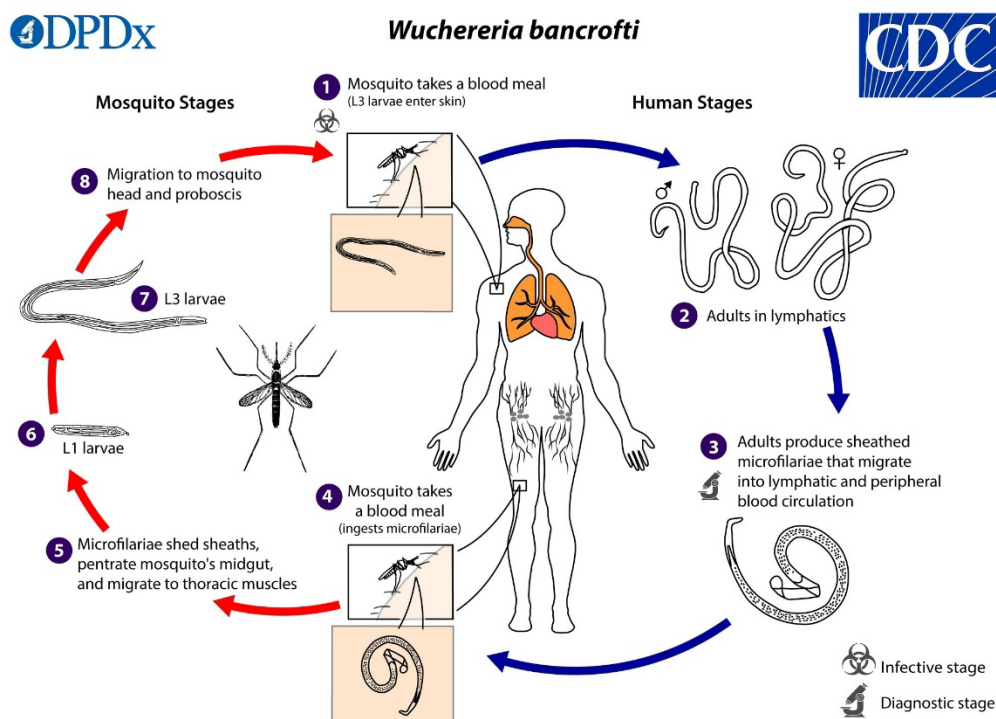
Pour le virus Zika, la transmission sexuelle est bien documentée, principalement de l'homme à la femme, avec une excrétion virale dans le sperme pouvant persister jusqu'à 69 jours après l'infection et des cas de transmission documentés jusqu'à 41 jours après le début des symptômes (Major *et al.* 2021). La transmission sexuelle femme-homme et homme-homme est également possible, cette dernière présentant potentiellement un risque accru. Les hommes seraient dix fois plus infectieux que les femmes du fait d'une durée d'excrétion plus longue dans le sperme que dans les sécrétions vaginales (Allard *et al.* 2017). La transmission verticale de la mère au fœtus est possible et constitue un enjeu majeur de santé publique du fait des risques d'anomalies congénitales graves comme la microcéphalie (Marbán-Castro *et al.* 2021).

2.3.2.4 Filariose lymphatique de Bancroft

La filariose lymphatique de Bancroft est causée par un nématode (helminthe) parasite, *Wuchereria bancrofti* variété *pacifica* en Polynésie française. La transmission y est assurée principalement par *Ae. polynesiensis* (Manguin *et al.* 2010).

Le cycle de transmission (Figure 7) est complexe et nécessite obligatoirement le passage par le moustique pour l'accomplissement complet du développement du parasite. Il débute lorsqu'une femelle moustique s'infecte en ingérant des microfaires lors d'un repas sanguin sur une personne infectée. Ces microfaires se développent dans le moustique pour devenir

des larves infestantes. Lors d'une nouvelle piqûre, les larves pénètrent chez l'humain par l'orifice de la piqûre, puis migrent vers le système lymphatique où elles se transforment en vers adultes (macrofilaires). Les femelles macrofilaires, qui peuvent vivre jusqu'à 10 ans, produisent à leur tour des microfilaires qui circulent dans le sang et peuvent infecter de nouveaux moustiques, perpétuant ainsi le cycle de transmission.



Source : <https://www.cdc.gov/dpdx/lymphaticfilariasis/index.html>

Figure 7 : Cycle parasitaire de *Wuchereria bancrofti*

La transmission est principalement vectorielle ; il n'existe pas de transmission interhumaine directe documentée, que ce soit par voie sexuelle, materno-fœtale ou par les produits sanguins. L'interruption de la transmission dans une communauté survient lorsque les moustiques ne peuvent plus prélever de microfilaires dans le sang et les transmettre d'une personne à l'autre.

D'une manière générale, la prévention des maladies vectorielles citées ci-dessus repose sur une stratégie de LAV à deux niveaux. Au niveau individuel, la protection contre les piqûres de moustiques combine des mesures physiques (e.g. port de vêtements longs et couvrants, utilisation de moustiquaires) et chimiques (e.g. répulsifs cutanés et vestimentaires approuvés par les autorités de santé). Au niveau collectif, la lutte s'appuie sur la mobilisation sociale, l'élimination des gîtes larvaires potentiels (eaux stagnantes dans les pots de fleurs, gouttières, pneus usagés), ainsi que la gestion de l'eau et des déchets et des traitements insecticides ciblés autour des cas détectés.

Pour la filariose, la prévention repose essentiellement sur l'administration massive de médicaments antiparasitaires (diéthylcarbamazine, albendazole) à l'ensemble de la population et sur la lutte antivectorielle à travers l'élimination des gîtes larvaires. Cette dernière reste difficile à mettre en œuvre de façon efficace en raison du biotope rural d'*Ae. polynesiensis* et des moyens nécessaires pour une couverture satisfaisante, d'où l'intérêt de mettre en place de nouvelles approches de lutte antivectorielle (Marie 2013).

2.3.3 Données épidémiologiques récentes en France et dans les territoires français

2.3.3.1 Dengue

Le début de l'année 2024 a été marqué par une forte augmentation de la circulation du virus de la dengue à La Réunion et en Guyane, et la poursuite des épidémies liées à ce virus dans les Antilles (Santé publique 2024a, 2024b).

En France hexagonale, l'année 2022 a été marquée par un nombre de cas autochtones de dengue (n=65), très supérieur à celui observé depuis le début de la surveillance (n=47) de 2010 à 2021 (Santé publique France, 2022). L'année 2023 a quant à elle été caractérisée par un nombre exceptionnel de cas importés de dengue (n=2 019), pouvant être expliqué, entre autres, par les épidémies qui ont sévi dans les Antilles et en Guyane cette même année et la fréquence des vols commerciaux quotidiens entre ces territoires ultramarins et la France hexagonale (Santé publique France, 2023). Cette même année, 45 cas autochtones ont été notifiés, suivi d'un record en 2024 avec 83 cas autochtones de dengue en France hexagonale.

2.3.3.2 Chikungunya

Depuis août 2024, La Réunion subit une forte épidémie de chikungunya. En juin 2025, plus de 54 000 cas confirmés sur les six premiers mois de 2025 avaient été recensés (Santé Publique France 2025), dont des cas sévères, en particulier 16 cas chez des nouveau-nés.

En France hexagonale, 30 cas importés ont été recensés en France hexagonale en 2023, 34 cas importés de chikungunya en 2024 et un total de 30 cas autochtones ont été confirmés depuis 2010 (dont 2 en juin 2025) (Données de Santé publique France¹⁷).

2.3.3.3 Zika

En France hexagonale, neuf cas de Zika importés ont été rapportés en 2023, huit en 2024 et trois cas autochtones confirmés en 2019 (Santé publique 2024c).

2.3.3.4 Filariose lymphatique de Bancroft

La maladie est en voie d'élimination grâce au programme mondial pour l'élimination de la filariose lymphatique soutenu par l'OMS (OMS 2024b).

¹⁷ Chikungunya, dengue et zika - Données de la surveillance renforcée en France hexagonale 2024 : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-a-transmission-vectorielle/chikungunya/articles/donnees-en-france-metropolitaine/chikungunya-dengue-et-zika-donnees-de-la-surveillance-renforcee-en-france-hexagonale-2024>

Généralités sur la bio-écologie des moustiques du genre *Aedes*

Les espèces de moustiques objet de la présente expertise sont *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis*, trois vecteurs majeurs d'agents pathogènes tels que les virus de la dengue, du chikungunya et du Zika.

Aedes aegypti est originaire d'Afrique et s'est répandue mondialement dans les zones tropicales et subtropicales. Cette espèce, très anthropophile, est fortement associée aux milieux urbains. Elle pique les humains principalement à l'intérieur. Son cycle larvaire dépend de petites réserves d'eau, naturelles ou artificielles, et ses œufs résistent à la dessiccation, mais pas au froid, ce qui limite sa dispersion en zones tempérées. *Ae. aegypti* est particulièrement efficace dans la transmission inter-humaine de virus en milieu urbain tropical. Elle est le principal vecteur des virus de la dengue, du chikungunya et du Zika. Bien que longtemps considérée non infectée par la bactérie endosymbiotique *Wolbachia*, cette espèce peut l'héberger naturellement, avec des prévalences variables.

Aedes albopictus, originaire d'Asie du Sud-Est, est une espèce invasive extrêmement adaptable, capable de résister à des hivers froids grâce à la diapause de ses œufs. Elle colonise efficacement les zones urbaines et périurbaines en régions tempérées. Tout comme *Ae. aegypti*, elle est extrêmement anthropophile. Elle est également un très bon vecteur d'arboviroses. L'espèce est naturellement infectée par deux souches de *Wolbachia* (wAlbA et wAlbB), ce qui a des implications sur la transmission virale et la lutte antivectorielle.

Aedes polynesiensis, localisée dans le Pacifique Sud, est le principal vecteur de la filariose lymphatique de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*) dans les zones côtières et vecteur secondaire de la dengue. Elle se développe surtout dans des gîtes naturels comme les terriers de crabes, permettant une activité larvaire continue et une répartition stable. Elle est également diurne, avec des préférences trophiques opportunistes (êtres humains et autres vertébrés : porcs, chiens, oiseaux, rongeurs, etc.). Cette espèce est naturellement infectée par une souche particulière de *Wolbachia* du clade A, induisant une forte incompatibilité cytoplasmique.

Ces trois espèces d'*Aedes* ont une activité diurne, avec des pics à l'aube et au crépuscule. Leurs différences biologiques et écologiques influencent leurs capacités vectorielles respectives et conditionnent les stratégies de lutte, notamment celles impliquant la bactérie *Wolbachia* (TII et remplacement).

3 Présentation des techniques objets de la saisine : principes, fonctionnement et cadre réglementaire

Le présent rapport porte sur la TIS, la TII, la technique de remplacement et leurs variantes. Ces techniques, appliquées à la lutte contre les moustiques du genre *Aedes* visent le contrôle des populations et des agents pathogènes qu'ils transmettent. Elles constituent des solutions alternatives ou complémentaires aux méthodes de LAV déjà existantes et utilisées en routine.

Bien que reposant sur des mécanismes distincts, ces techniques partagent l'objectif commun de réduire les nuisances et/ou les risques sanitaires induits par les insectes en intervenant soit sur leur capacité de reproduction, soit sur leur compétence vectorielle.

3.1 Principes et fonctionnement de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement

3.1.1 Techniques visant une réduction des populations (TIS et TII)

Ce paragraphe présente les principes généraux et les étapes de mise en œuvre opérationnelle des techniques faisant l'objet de la saisine. Il distingue les techniques visant une réduction des populations en intervenant sur la capacité de reproduction des vecteurs (TIS et TII) et celles visant un remplacement de population en intervenant sur la compétence vectorielle (technique de remplacement) (Figure 8).

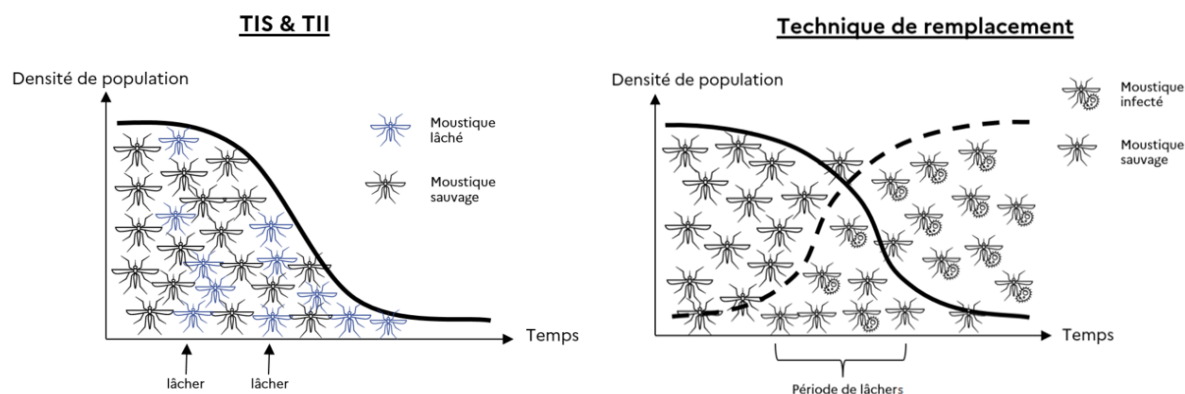


Figure 8 : Dynamiques de population attendues suite au déploiement de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement

3.1.1.1 Généralités

L'objectif de la TIS et de la TII est de réduire la densité de population de l'insecte ciblé afin de réduire les nuisances (e.g. piqûres, dégâts sur les cultures) et les risques sanitaires associés (e.g. transmission d'agents pathogènes).

La TIS repose sur le potentiel stérilisant de l'insecte ciblé par des rayons ionisants (§ 3.1.1.2). La TII repose sur l'utilisation de la bactérie *Wolbachia* et ses propriétés d'incompatibilité cytoplasmique (§ 3.1.1.3).

Elles peuvent être utilisées seules, combinées ou renforcées par l'imprégnation des moustiques lâchés avec un biocide, le pyriproxifène (PPF) (§ 3.1.1.5), une molécule

mimétique de l'hormone juvénile qui inhibe l'embryogenèse et empêche le passage du stade larvaire au stade adulte.

Quelle que soit la version choisie, la mise en œuvre de ces techniques repose sur les étapes clés suivantes :

- Élevage de masse des moustiques

La première étape pour l'élevage des moustiques est la collecte d'œufs ou de larves sur le terrain pour créer des colonies à élever en masse. Ces colonies sont ensuite élevées en conditions contrôlées de laboratoire afin de maîtriser les paramètres clés pour la croissance et le développement des moustiques (température, humidité, photopériode, nourriture, etc.) (FAO/AIEA 2020b).

L'origine géographique et génétique des souches de moustiques collectées est un paramètre important qui peut affecter : i) la réussite de l'élevage ; ii) le succès de la technique ; iii) les risques d'hybridation non désirée entre moustiques lâchés et moustiques sauvages et donc, de possibles effets hétérosis en cas de croisement réussi.

Les conditions d'élevage et d'alimentation des larves sont également des éléments cruciaux pour assurer la survie et la compétitivité des moustiques qui seront lâchés (FAO/AIEA 2020b).

- Sexage

La TIS et la TII reposent sur des lâchers de moustiques mâles. Ainsi, le sexage est une étape critique faite au niveau du stade nymphal reposant sur un tri entre les deux sexes, fondé sur une différence de taille (la taille des nymphes des femelles est supérieure à celle des mâles). La bonne réalisation du sexage va affecter le nombre potentiel de femelles dites résiduelles (i.e. ayant échappé à l'étape de sexage et qui seront lâchées en même temps que les mâles). Le nombre de femelles résiduelles doit être quasi nul afin d'éviter les nuisances liées aux piqûres et les risques de transmission d'agents pathogènes (Morán-Aceves *et al.* 2021). Des systèmes d'automatisation du sexage, allant jusqu'à 150 000 nymphes/heure (Oliva *et al.* 2021), voire bien au-delà (Gong *et al.* 2024), permettent d'obtenir des niveaux de contamination des femelles inférieurs à 0,3 %. C'est également un enjeu majeur pour assurer le ratio coût-efficacité et/ou le succès de la méthode.

Les enjeux liés aux femelles résiduelles à l'issue de cette étape diffèrent selon les techniques. Bien que l'AIEA recommande de ne pas dépasser un pourcentage de femelles résiduelles de 1 %, il n'existe pas de valeur fixe critique pour ce paramètre, celui-ci dépendant des caractéristiques biologiques des moustiques, du ratio¹⁸ et du contexte épidémiologique de la zone de lâcher (OMS-AIEA 2020).

- Transport

Les moustiques transinfectés ou irradiés sont transportés jusqu'au lieu de lâcher.

Les conditions de transport (conditionnement des moustiques, durée, moyen de transport) sont des déterminants importants de la survie et de la compétitivité des moustiques (Chung *et al.* 2018; Bouyer et Vreysen 2020a).

- Lâchers

Les moustiques sont lâchés sur les zones sélectionnées pour le traitement. Les contextes environnemental, entomologique et épidémiologique, ainsi que la surface des zones traitées sont des paramètres qui peuvent affecter l'efficacité des lâchers sur les densités des populations ciblées et sur l'incidence des arboviroses. Plusieurs dispositifs de lâcher existent (e.g. containers au sol, voitures, drones), pouvant également affecter la compétitivité des moustiques (e.g. survie, capacité de dispersion) et donc la réussite du traitement.

En amont des lâchers, des opérations de suppression des gîtes larvaires ou de réduction des densités d'adultes sauvages doivent être réalisées. Ces opérations ont pour but notamment

¹⁸ Par souci de simplification, le « ratio mâles lâchés/transinfectés/incompatibles : mâles sauvages » sera appelé « ratio » dans toute la suite du document.

d'optimiser le ratio mâles lâchés : mâles sauvages et donc de maximiser la compétitivité des mâles stériles. Ces deux paramètres sont des facteurs critiques pour le succès de la TIS et de la TII (Lees, Carvalho et Bouyer 2021; Koskinioti *et al.* 2021). Le choix de la fréquence et de la durée des lâchers dépend non seulement du ratio visé, ainsi que de la surface de la zone à traiter et des moyens logistiques (production, transport, main d'œuvre) disponibles.

À noter que la TIS et la TII sont des méthodes itératives et que les lâchers de moustiques doivent être maintenus dans le temps (à une fréquence hebdomadaire, voire bi-hebdomadaire) pour assurer l'efficacité de la méthode sur un territoire donné. Cela implique des contraintes logistiques et économiques liées à l'élevage de masse, au transport et à la mise en œuvre des lâchers.

- Surveillance

Les principes généraux de cette étape ne diffèrent pas selon la technique.

La surveillance post-lâchers va consister à suivre des indicateurs permettant d'évaluer : i) la qualité de la mise en œuvre des techniques (Olive *et al.* 2024) ; ii) l'efficacité entomologique des techniques ; iii) l'efficacité épidémiologique des techniques ; les éventuels ENI résultant des lâchers.

Toutefois, la durée de la surveillance pourra varier selon ses objectifs. Par exemple, le suivi des indicateurs d'efficacité entomologique sera préférentiellement réalisé pendant la période de lâcher. Les effets épidémiologiques et les éventuels effets non intentionnels (ENI) étant observables après plusieurs cycles de traitement, leur durée de surveillance sera plus longue.

Ces différentes étapes pratiques sont susceptibles d'affecter le succès de la TIS ou de la TII et s'inscrivent dans le cadre plus général de la mise en œuvre de la TIS pour le contrôle des moustiques du genre *Aedes* décrit par l'AIEA et l'OMS dans leur document guide (OMS-AIEA 2020).

Ces étapes sont représentées sous forme de schéma dans les paragraphes ci-dessous. Ceux-ci sont à interpréter avec l'appui de la légende présentée en Figure 9.

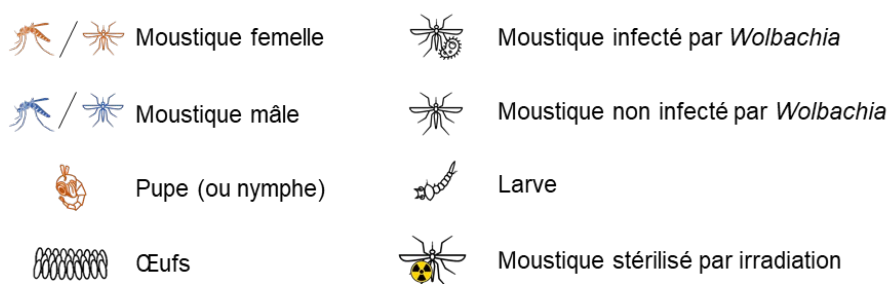


Figure 9 : Légende pour interpréter les figures 10 à 19

3.1.1.2 TIS

La TIS est une méthode de biocontrôle utilisée pour lutter contre les populations d'insectes nuisibles. Son origine remonte aux années 1950, avec les travaux de E.F. Knipling et son équipe qui ont exploité la découverte du prix Nobel de physiologie ou médecine de 1946 H.J Muller sur le potentiel des rayons ionisants à induire des mutations génétiques dominantes létales chez la mouche *Drosophila*. Le premier programme de TIS ayant montré des résultats positifs a été utilisé pour l'élimination de la lucilie bouchère (*Cochlyomyia hominivorax*) aux États-Unis (Knipling 1957). Depuis, la TIS a été utilisée pour le contrôle de nombreux insectes en agriculture, tels que la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitidis capitata*) (Hendrichs

et al. 2002), l'eudémis de la vigne (*Lobesia botrana*) (G.S. Simmons *et al.* 2021), le carpocapse du pommier (*Cydia pomonella*) (Thistlewood et Judd 2019), ainsi qu'en santé publique pour le contrôle des moustiques vecteurs d'agents pathogènes tels que la dengue, le chikungunya ou le Zika (Bellini *et al.* 2007).

En pratique, la TIS repose sur des lâchers en masse d'insectes mâles stériles dans une population sauvage suivant les étapes représentées sur la Figure 10 (et présentées au § 3.1.1.1).

L'objectif est de réduire la densité de la population sauvage ciblée en induisant des accouplements entre les mâles lâchés stériles et les femelles sauvages qui produiront une descendance non viable. Dans le cas de la TIS appliquée aux moustiques, une réduction des nuisances liées aux piqûres de moustiques et de l'incidence des arboviroses transmises par ceux-ci sont attendues (Figure 11).

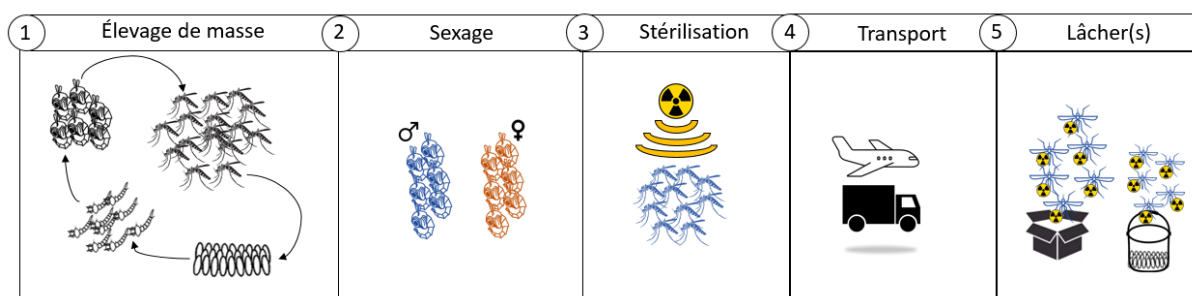


Figure 10 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TIS

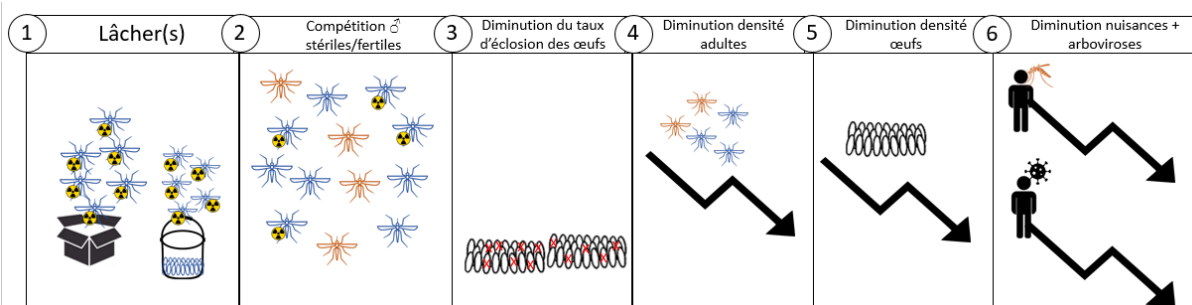


Figure 11 : Effets attendus de la TIS. À noter que des lâchers répétés sont nécessaires pour assurer des effets dans le temps.

L'étape de stérilisation est propre à la TIS. Les moustiques mâles sont exposés à des rayonnements ionisants qui induisent des mutations aléatoires, l'objectif étant de les rendre incapables de produire une progéniture viable lorsqu'ils s'accouplent avec des femelles sauvages. Les rayonnements ionisants les plus couramment utilisés pour la stérilisation des moustiques mâles sont les rayons gamma émis par des sources radioactives, telles que celles obtenues avec le cobalt-60 (Parker et Mehta 2007) ou le césium-137 (F. Balestrino *et al.* 2010), ainsi que les rayons X (Yamada *et al.* 2014). La dose et la durée d'irradiation sont des paramètres cruciaux qui doivent faire l'objet d'études spécifiques lors de la conception de tout programme de TIS (OMS-AIEA, 2020). Leur détermination dépend de la densité de moustiques à traiter, de leur âge, de leur origine, du niveau de stérilité souhaité, tout en veillant à ne pas dégrader la survie et la compétitivité des mâles. En effet, le taux de stérilité augmente avec la dose en rayons ionisants tandis que la survie et la compétitivité des individus décroît (Bond *et al.* 2019).

Un contrôle de la qualité de la stérilisation et des performances des mâles irradiés en terme de survie et de compétitivité doit être réalisé à ce stade (OMS-AIEA, 2020).

3.1.1.3 TII

La technique de l'insecte incompatible (TII) est une technique reposant sur la capacité d'un genre de bactéries endosymbiotiques pléiomorphes de Gram négatif, *Wolbachia*, à induire une incompatibilité cytoplasmique (Figure 12). Ce phénomène affecte la viabilité des œufs issus d'un accouplement entre un mâle porteur de la bactérie et une femelle non porteuse ou porteuse d'une souche différente de *Wolbachia*, dite incompatible. Ce genre bactérien a été identifié en 1924 (Hertig et Wolbach 1924). Pendant longtemps, *Wolbachia* a été considérée comme infectant environ 60 % des arthropodes et certaines espèces de nématodes, vivant en symbiose avec son hôte, en proportion importante dans le cytoplasme des cellules des organes reproducteurs (Zimmer 2001; Hilgenboecker *et al.* 2008). Plus récemment, ce pourcentage a été ré-estimé à 40 % (Zug et Hammerstein 2012).

Les souches de *Wolbachia* infectent autant les moustiques mâles que les femelles mais sont transmises exclusivement par voie maternelle. L'incompatibilité cytoplasmique induite par *Wolbachia* peut être unidirectionnelle ou bidirectionnelle. Dans le premier cas, lorsqu'un mâle infecté par *Wolbachia* s'accouple avec une femelle non infectée, les œufs ne sont pas viables (c'est le cas de figure recherché avec la TII, cas B de la Figure 12). Dans le second cas (incompatibilité bidirectionnelle), les accouplements entre mâles et femelles portant des souches différentes de *Wolbachia* conduisent également à une progéniture non viable (cas B de la Figure 12).

En revanche, les accouplements entre femelles infectées et mâles (infectés ou non) sont tous fertiles (cas C ou D de la Figure 12). Dans le cas d'une incompatibilité cytoplasmique unidirectionnelle, la reproduction des femelles infectées est donc favorisée, permettant potentiellement l'introduction et l'établissement de *Wolbachia* dans les populations (Eric P. Caragata, Dutra et Moreira 2016). La descendance issue des accouplements viables est porteuse de *Wolbachia*.

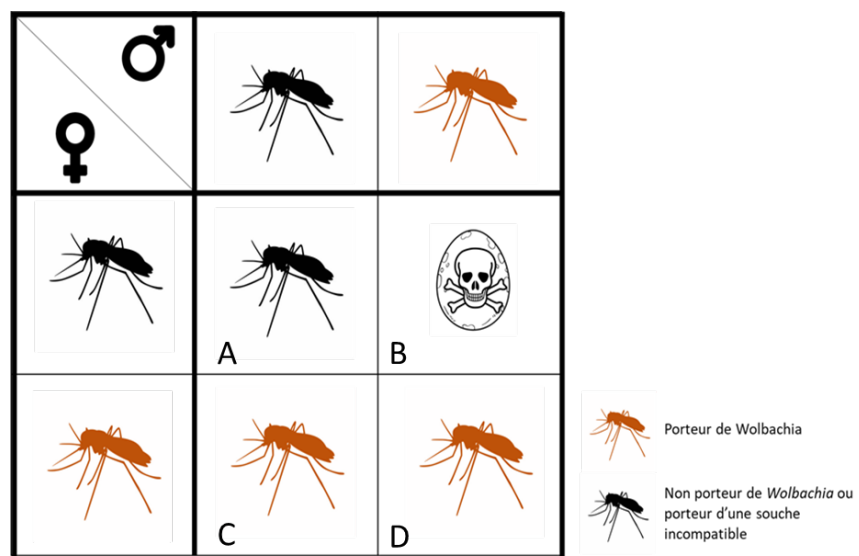


Figure 12 : Principe général de l'incompatibilité cytoplasmique

Ainsi, la TII utilisée comme outil de LAV consiste en des lâchers massifs de moustiques mâles porteurs d'une souche de *Wolbachia* incompatible avec celle des moustiques sauvages (Figure 13). Les effets attendus sont une réduction de la population cible, des nuisances et des risques sanitaires qu'elle peut induire (Figure 14).

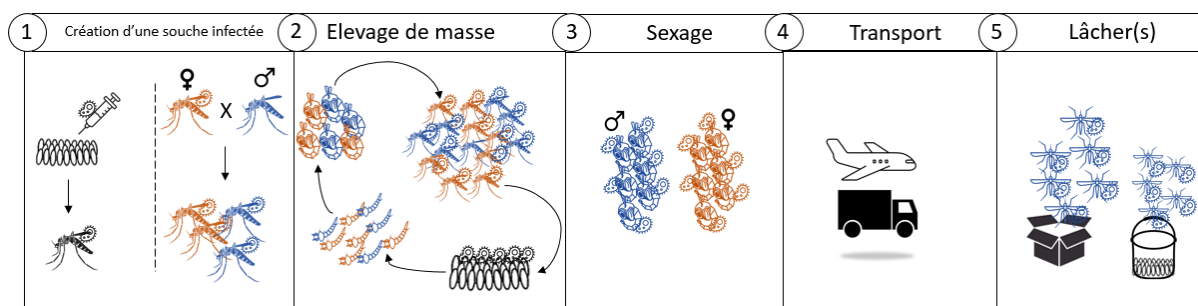


Figure 13 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TII

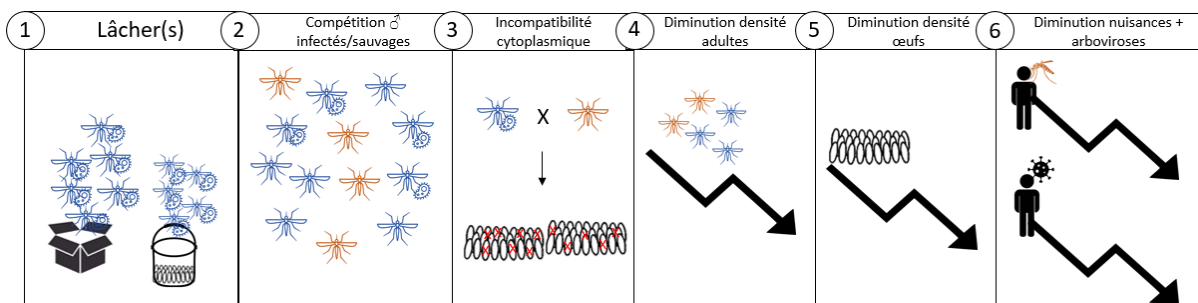


Figure 14 : Effets attendus de la TII. À noter que des lâchers répétés sont nécessaires pour assurer des effets dans le temps.

En pratique, la TII repose sur les mêmes étapes clés que la TIS (voir § 3.1.1.2), à l'exception de l'étape de création de la souche de moustique porteuse de la souche de *Wolbachia* à propager dans la population cible.

Deux méthodes sont possibles pour produire une souche de moustiques porteuse d'une souche de *Wolbachia* non naturellement présente dans la population sauvage ciblée : i) par transinfection en laboratoire ou ii) par rétrocroisement entre une souche infectée et une souche non infectée.

Dans le cas d'une transinfection en laboratoire, *Wolbachia* est d'abord isolée et purifiée à partir de tissus d'insectes naturellement infectés. La bactérie est ensuite inoculée par micro-injection dans des œufs issus de la population cible dépourvus de leur chorion (i.e. couche externe des œufs). Les œufs transinfectés sont placés dans un environnement contrôlé pour permettre leur développement. Après éclosion, les larves sont élevées jusqu'au stade adulte pour former la génération F0. Les femelles adultes de la génération F0 sont testées pour la présence de *Wolbachia*, généralement par PCR. Les femelles positives sont ensuite croisées avec des mâles préférentiellement non infectés pour produire une progéniture elle-même infectée par *Wolbachia* (génération F1). Cette progéniture est à nouveau testée et le processus est répété sur plusieurs générations pour établir une lignée stable infectée par *Wolbachia*. Cette méthode est généralement utilisée lorsque la souche de *Wolbachia* à inoculer provient d'une autre espèce que celle de la population ciblée.

L'approche par rétrocroisement consiste à croiser des femelles infectées par *Wolbachia* avec des mâles non infectés de la souche cible pour produire une progéniture dite F1, qui hérite de *Wolbachia* par transmission maternelle. Les femelles F1 sont sélectionnées et leur infection par *Wolbachia* est vérifiée par PCR. Elles sont ensuite croisées avec des mâles non infectés de la souche cible. Ce processus est répété sur plusieurs générations. À chaque génération, le fond génétique des individus infectés par *Wolbachia* devient de plus en plus proche de celui de la souche cible.

Le choix de la souche de *Wolbachia* est crucial pour garantir l'incompatibilité cytoplasmique entre les moustiques qui seront lâchés et les moustiques sauvages cibles. Par ailleurs, si le

coût métabolique de la souche de *Wolbachia* choisie est trop important, la compétitivité des mâles lâchés pourrait être dégradée, affectant le succès de la technique.

L'étape de sexage, commune à la TIS et la TII (voir § 3.1.1.1) présente des enjeux importants liés aux femelles résiduelles et différents selon les techniques (voir § 6.3.2 au chapitre sur les effets non-intentionnels).

3.1.1.4 Combinaison des techniques de l'insecte incompatible et de l'insecte stérile

Dans certains cas, la TII est combinée à la TIS. Après l'étape de sexage des moustiques porteurs de *Wolbachia*, ceux-ci sont stérilisés par irradiation avant d'être lâchés (Figure 15). Cette étape a pour objectif de prévenir l'introduction non désirée de *Wolbachia* dans la population cible par des femelles résiduelles. En effet, même si quelques femelles sont accidentellement relâchées, l'irradiation les aura rendues stériles, les empêchant ainsi de produire une descendance porteuse de *Wolbachia*. Toutefois, les risques de nuisance et de transmission d'agents pathogènes par ces femelles stériles ne sont pas réduits (Fabrizio Balestrino *et al.* 2022b).

Les objectifs sont les mêmes que pour la TII et la TIS utilisées séparément.

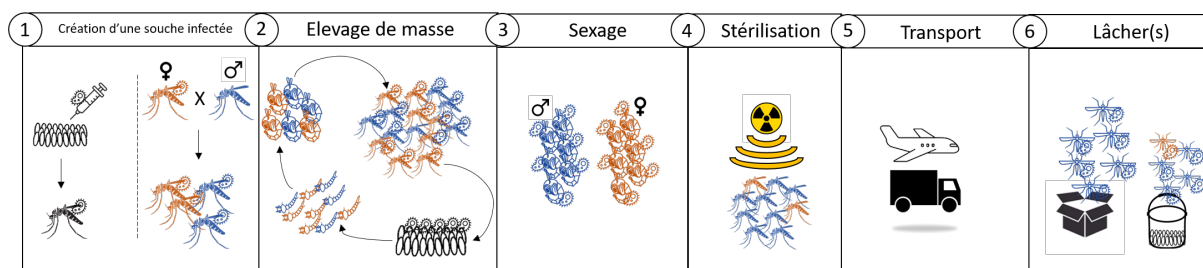


Figure 15 : Étapes de mise en œuvre de la TIS - TII

3.1.1.5 Approches renforcées (dites boostées)

Le principe de la TIS ou de la TII renforcée est le même que celui des techniques classiques (§ 3.1.1.2 et 3.1.1.3), auquel est ajoutée une étape d'imprégnation des moustiques lâchés avec un biocide, le PPF (Figure 16). Celle-ci intervient après l'étape de stérilisation des moustiques et avant le lâcher des mâles. Ces derniers sont imprégnés avec une faible dose de PPF, un régulateur de croissance des insectes utilisé comme insecticide (Devine *et al.* 2009). À titre d'exemples, un essai de TIS renforcée à La Réunion utilise 10 mg de formulation (soit 4 mg de PPF pour 1 000 moustiques), avec 1 000 moustiques mâles stériles lâchés par semaine et par hectare pendant 18 mois (86 semaines) [comm. pers. Jérémy Bouyer]. Cela représente une dose de 344 mg/ha. Un autre essai de TII renforcée en Chine (Y. Li *et al.* 2024) a utilisé une poudre contenant 10 % de PPF à raison d'1 g pour 45 000 moustiques mâles, soit 0,989 g de PPF actif pour la totalité de l'essai (445 000 moustiques lâchés pendant onze semaines).

Pour information, en agriculture, des produits concentrés à 100 g/L de PPF pouvaient être utilisés à raison de 0,25 L/ha et jusqu'à 2,25 L/ha (soit 25 à 225 g/ha) selon les usages, pour lutter contre les cochenilles et les aleurodes¹⁹. À noter que bien que la substance soit approuvée au niveau européen pour des usages phytosanitaires, et ce jusqu'en 2035, les produits de protection des plantes (PPP) à base de cette substance ne sont plus autorisés en agriculture en France depuis octobre 2024 suite à un abandon d'AMM de la part du metteur en marché (voir au chapitre 6 pour les ENI du PPF).

L'objectif est que les mâles ainsi traités contaminent les sites de ponte de deux façons : soit directement en visitant les sites de ponte, soit, et surtout, indirectement en transférant le PPF

¹⁹ <https://ephy.anses.fr/ppp/coccureida>

aux femelles lors de l'accouplement, ces dernières contaminant ensuite les sites de ponte (J. W. Mains, Brelsfoard et Dobson 2015; Unlu *et al.* 2017). L'objectif est donc de réduire la densité des populations de moustiques à la fois par la stérilité induite par l'irradiation et par l'effet du PPF sur les larves dans les sites de ponte (Figure 17). Selon les travaux de modélisation d'Haramboure *et al.* (2020), la TIS renforcée pourrait présenter une efficacité de réduction de la densité des femelles supplémentaire de 45 % par rapport à la TIS classique, avec une compétitivité moyenne²⁰ des mâles moyenne (i.e. $0,2 < c < 0,5$) (Haramboure *et al.* 2020). En revanche, la TIS renforcée ne présenterait pas d'avantage avec des mâles de compétitivité faible ($c < 0,2$) ou élevée ($c > 0,5$). Selon ces travaux, la TIS renforcée permettrait d'étendre la fenêtre optimale pour commencer les lâchers.

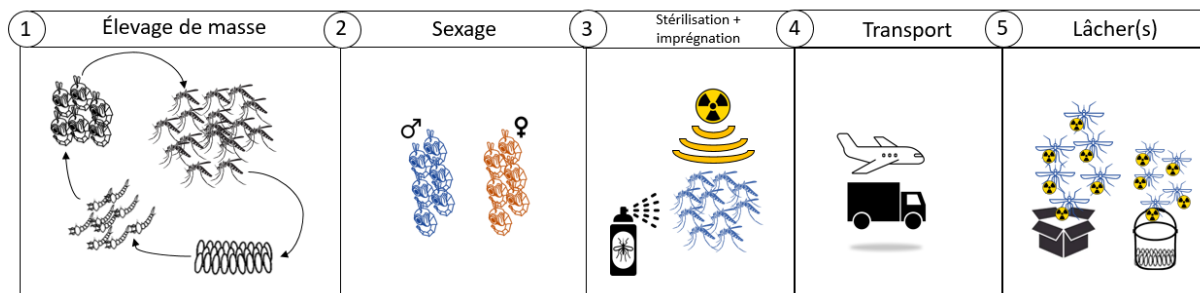


Figure 16 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la TIS renforcée

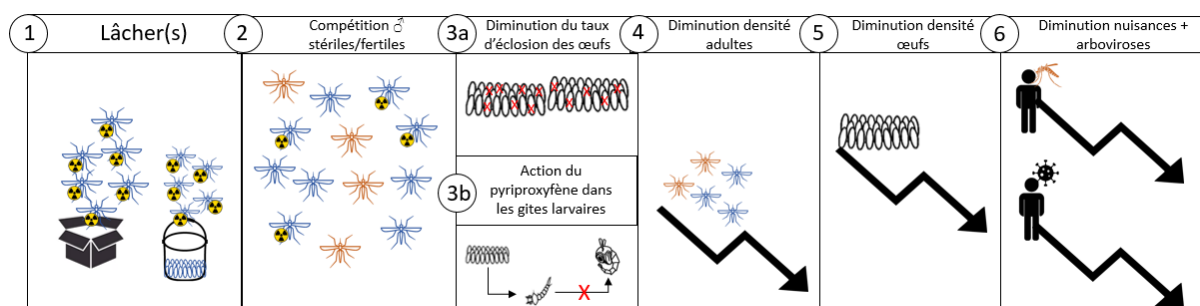


Figure 17 : Effets attendus de la TIS renforcée

Mécanisme d'action du pyriproxyfène :

Le PPF (de formule chimique $C_{20}H_{19}NO_3$) est un analogue de l'hormone juvénile des insectes qui agit comme un régulateur de croissance des insectes et interfère avec leur métamorphose du stade nymphal au stade adulte (Invest et Lucas 2008; Devine et Killeen 2010). La dose nécessaire pour empêcher l'émergence de 50 % des adultes (concentration létale 50 % ou CL50) au sein d'un gîte larvaire est de 0,012 ppb (Devine *et al.* 2009).

²⁰ Fig. 10C de la publication d'Haramboure *et al.* (2020).

3.1.2 Technique de remplacement

La technique de remplacement vise à introduire dans une population d'insectes une souche d'intérêt de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia*. Cette bactérie peut interférer avec certains agents pathogènes (e.g. virus de la dengue) chez le moustique, diminuant ainsi sa capacité à les transmettre. Les mécanismes de cette interférence avec l'agent pathogène restent à ce jour mal connus mais semblent résulter de plusieurs phénomènes, dont :

- la compétition pour les ressources : une fois établies dans les cellules du moustique, les bactéries *Wolbachia* peuvent entrer en compétition avec d'éventuels agents pathogènes pour les ressources essentielles (e.g. acides aminés, lipides membranaires) à leur développement et leur réplication (Chotiwan *et al.* 2018). Cette compétition peut limiter la capacité des virus et autres agents pathogènes à se répliquer efficacement à l'intérieur de l'hôte (Terradas *et al.* 2017) ;
- l'activation de la réponse immunitaire du moustique : l'infection par *Wolbachia* déclenche la réponse immunitaire du moustique, entraînant la production de peptides antimicrobiens, de facteurs antioxydants et d'ARN interférants (ARNi) (Q. Liu, Kausar, *et al.* 2022). La réponse immune du moustique cible non seulement *Wolbachia*, ainsi que d'autres agents pathogènes (e.g. virus de la dengue), limitant leur réplication et leur développement à l'intérieur du moustique (Pan *et al.* 2018) ;
- coût métabolique : l'infection par *Wolbachia* peut affecter indirectement la capacité du moustique à transmettre les agents pathogènes en modifiant sa physiologie. Le coût métabolique associé peut affecter la durée de vie du moustique, sa capacité de reproduction ou sa susceptibilité à l'infection par d'autres agents pathogènes (Ritchie *et al.* 2015). Ces changements peuvent avoir un impact sur la compétence vectorielle du moustique, réduisant ainsi sa capacité à transmettre des agents pathogènes aux humains (Hamada *et al.* 2018).

Les étapes pratiques de mise en œuvre de la technique de remplacement (Figure 18) sont sensiblement les mêmes que pour la TII (paragraphe 3.1.1.3), excepté l'étape de sexage qui est facultative. En effet, la technique repose sur des lâchers de moustiques mâles et femelles infectés par une souche de *Wolbachia* capables de perturber la réplication et la transmission d'agents pathogènes. Les femelles transinfectées introduites, en se reproduisant avec les mâles indépendamment de leur statut symbiotique, vont entraîner la propagation de la souche de *Wolbachia* d'intérêt. Les mâles lâchés vont permettre d'accélérer le processus de remplacement de la population, en affectant la viabilité des œufs issus des accouplements avec des femelles sauvages (incompatibilité cytoplasmique). Ainsi, le fait de lâcher à la fois des mâles et des femelles présente l'avantage d'être plus efficace en exploitant l'incompatibilité cytoplasmique induite par *Wolbachia* et l'avantage d'éviter l'étape de sexage, qui représente une contrainte technique et économique non négligeable.

L'objectif de la technique de remplacement étant de remplacer la population de moustiques cible par une population de moustiques transinfectés par *Wolbachia*, aucune diminution de la densité des populations de moustiques n'est attendue au terme des lâchers. Toutefois, une diminution temporaire de la densité de moustiques pourrait être observée pendant la phase de remplacement, en raison des croisements incompatibles induits (Cardona-Salgado *et al.* 2021). Ainsi, la diminution des nuisances liées aux piqûres de moustique n'est pas une finalité de la technique de remplacement. En effet, sa finalité est de réduire l'incidence des maladies à transmission vectorielle transmises par les moustiques du genre *Aedes* en augmentant la prévalence d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt dans la population cible (Figure 19).

À noter que la technique de remplacement est, en théorie, une méthode auto-entretenu, ne nécessitant pas de lâchers répétés, dès lors qu'une certaine prévalence suffisante de *Wolbachia* est atteinte dans la population cible. Pour atteindre cette prévalence seuil, Turelli

et Barton (2017) recommandent de viser une prévalence initiale d'infection de 60 à 80 %²¹ (Turelli et Barton 2017). Théoriquement, passé ce seuil, l'envahissement de *Wolbachia* dans la population cible devrait être irréversible et auto-entretenu.

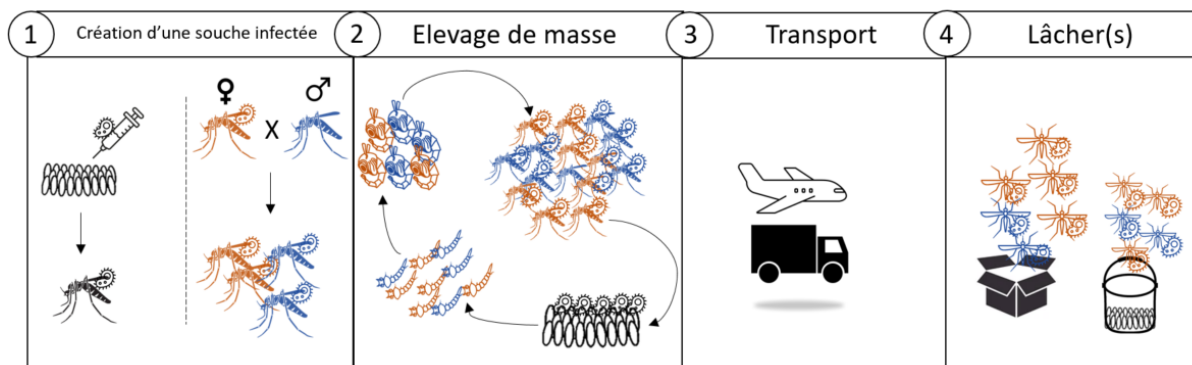


Figure 18 : Étapes pratiques de mise en œuvre de la technique de remplacement

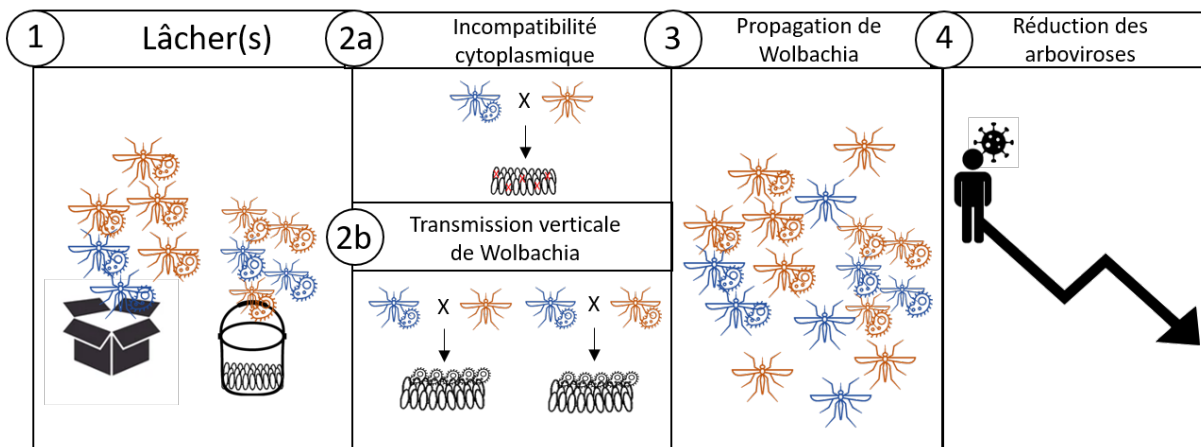


Figure 19 : Effets attendus de la technique de remplacement

3.2 Cadre réglementaire

3.2.1 International

Au niveau international, la classification et la réglementation des techniques de lutte antivectorielle présentent une complexité notable. La Convention Internationale pour la Protection des Végétaux (CIPV) considère les insectes stériles comme des "organismes bénéfiques". Cependant, la CIPV est un texte international concernant la santé des végétaux et la lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux et aux produits végétaux. Dans ce

²¹ Turelli et Barton définissent un point d'équilibre instable (\hat{p}), qui représente le seuil critique de prévalence d'infection par *Wolbachia* dans la population de moustiques cible. En dessous de ce seuil, la population de moustiques transinfectés aura tendance à décliner, jusqu'à disparaître ; au-dessus, la population de moustiques transinfectés aura tendance à augmenter jusqu'à envahir la population. Les auteurs estiment que \hat{p} pour *wMel* chez *Ae. aegypti* est compris entre 0,2 et 0,3. De plus, ils estiment que lorsque $\hat{p} > 0,5$, une propagation spatiale peut avoir lieu au-delà de la zone de lâcher. Pour atteindre cette valeur, sur la base des expérimentations menées dans la région de Cairns en Australie. Turelli et Barton (2017) recommandent de viser une prévalence initiale bien supérieure (60 à 80 %) pour garantir que le point d'équilibre instable soit dépassé, que les moustiques transinfectés puissent s'établir durablement et que l'infection par *Wolbachia* puisse se propager spatialement (Turelli et Barton 2017).

texte, il n'est fait aucune mention explicite aux moustiques ou à des techniques utilisant *Wolbachia*.

Cette absence de cadre spécifique se reflète notamment dans les procédures d'importation des moustiques mâles stériles, qui varient considérablement d'un pays à l'autre, y compris entre les États membres de l'UE (Ippc 2005).

Ainsi, il n'existe pas de réglementation internationale claire concernant la TIS ou les méthodes utilisant *Wolbachia* appliqués aux moustiques.

Toutefois, l'OMS et l'AIEA ont publié des documents guides concernant le déploiement des techniques utilisant la technique de remplacement (OMS 2022) et la TIS (OMS-AIEA 2020) respectivement. Ces documents donnent des recommandations à destination des opérateurs développant ces techniques et fournissent des lignes directrices aux gouvernements nationaux en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques associés à ces techniques.

3.2.2 Européen

L'Union Européenne a précisé sa position sur les techniques utilisant *Wolbachia* à travers la décision (UE) 2018/1623 du Parlement européen. Cette décision établit les considérations suivantes :

- « Les bactéries du genre *Wolbachia* ou toute préparation contenant ces bactéries destinées à être inoculées dans des moustiques dans le but de produire des moustiques transinfectés de manière non naturelle à des fins de lutte contre les vecteurs constituent un produit biocide au sens de l'article 3, paragraphe 1, point a), du règlement (UE) n° 528/2012 ».
- « Les moustiques transinfectés de manière non naturelle, quelle que soit la technique d'infection utilisée, ne sont considérés ni comme un produit biocide, ni comme un article traité, au sens de l'article 3, paragraphe 1, points a) et l), respectivement, du règlement (UE) n° 528/2012 ».

Par conséquent, les moustiques transinfectés non naturellement par *Wolbachia* (i.e. dans le cadre de la TII ou de la technique de remplacement) sont exclus des réglementations biocides (et OGM). Ainsi, ils ne nécessitent pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) et ne sont pas soumis à des exigences d'étiquetage. A la date de rédaction du présent rapport, les moustiques transinfectés n'ont pas de statut réglementaire particulier. Toutefois, les bactéries du genre *Wolbachia* étant considérées comme des biocides, toute opération de transinfection de moustiques avec une souche de *Wolbachia*, qui aurait lieu sur le territoire français, devra faire l'objet d'une notification d'expérimentation qui devra être déposée auprès de l'autorité compétente (conformément la décision (UE) 2018/1623 du Parlement européen).

Concernant le PPF, celui-ci est classé comme biocide selon le règlement européen (UE) n°528/2012. Son utilisation dans le cadre d'approches renforcées relève donc du cadre réglementaire associé.

Concernant la TIS, elle n'est pas encadrée par la réglementation européenne relative à la dissémination des OGM qui n'inclut pas les modifications induites par mutagenèse. En effet, l'exposition aux rayons ionisants est susceptible d'induire des phénomènes mutagènes aléatoires. En tant que technique de modification génétique traditionnellement utilisée pour diverses applications et dont la sécurité est avérée depuis longtemps, la mutagenèse induite aléatoire est actuellement exclue du champ d'application de la directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement (Considérant 17, Article 3, Annexe IB).

En somme, il existe peu de réglementation européenne claire concernant la TIS ou les méthodes utilisant *Wolbachia*. Leur encadrement spécifique relève donc de la compétence des États membres.

3.2.3 Français

Le cadre réglementaire français n'est pas plus défini que le cadre réglementaire européen. Concernant les modalités de production de moustiques transinfectés (qui n'impliquent pas de mise sur le marché ni d'utilisation de la bactérie *Wolbachia*), il n'y a pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) nécessaire. Les moustiques transinfectés ne sont considérés à ce jour ni comme des produits biocides, ni comme des articles traités.

Dans le cas où un porteur de projet souhaiterait mener des expérimentations avec des moustiques importés déjà infectés par *Wolbachia*, alors ces expérimentations ne relèvent pas du règlement biocide (sauf si un insecticide est utilisé pour séparer les mâles et les femelles).

Si aucun produit biocide n'entre dans le cadre de ces expérimentations, alors c'est le Code de la Santé Publique (CSP) et la réglementation relative à la LAV qui s'appliquent. Les porteurs du projet doivent s'adresser au préfet pour obtenir une autorisation pour procéder à ces expérimentations.

Concernant la TIS, elle ne dispose pas non plus de cadre réglementaire propre. Elle relève actuellement des réglementations relatives i) à la démoustication ; ii) à la prévention des maladies vectorielles et iii) aux modalités de mises en œuvre de la LAV.

Ainsi, les décisions de lâchers de mâles stériles, en tant qu'outil de lutte antivectorielle, sont prises par arrêtés préfectoraux au niveau des territoires, selon la loi de 1964 sur la démoustication²².

Depuis le décret n°2019-258 du 29 mars 2019 relatif à la prévention des maladies vectorielles²³, la mise en œuvre des missions de surveillance entomologique et d'intervention autour des nouvelles implantations de moustiques vecteurs et des cas suspects d'arboviroses est confiée aux Agences Régionales de Santé (ARS). La lutte contre les nuisances liées aux moustiques endémiques dépend, entre autres, des Conseils Départementaux, parfois fédérés au sein des Ententes Interdépartementales de Démoustication (EID).

Les modalités réglementaires sont décrites dans l'arrêté du 23 juillet 2019 relatif aux modalités de mise en œuvre des missions de surveillance entomologique, d'intervention autour des détections et de prospection, traitement et travaux autour des lieux fréquentés par les cas humains de maladies dont les pathogènes sont transmis par les moustiques vecteurs²⁴.

À noter qu'il existe également une réglementation nationale s'appliquant aux demandes d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux (décret 2012-140²⁵ et arrêté du 28 juin 2012²⁶). Cette réglementation s'applique aux organismes stérilisés dans le cadre de la TIS lorsqu'ils sont utilisés dans la lutte contre les ravageurs des cultures. Ce dispositif réglementaire définit clairement le processus réglementaire associé à l'introduction de tels organismes et indique les éléments administratifs et scientifiques à renseigner par le pétitionnaire dans le cadre de telles demandes.

En somme, les déploiements de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement ne disposent pas de cadre réglementaire national clair. Leur autorisation doit se faire en concertation avec l'État et relève de la compétence des préfets. Ce manque de clarté réglementaire est identifié comme un frein au déploiement de la TIS et de l'utilisation de *Wolbachia* dans les territoires français.

²² <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000509754>

²³ <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000038318199>

²⁴ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000038829411>

²⁵ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000025241913>

²⁶ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000026088692>

3.2.4 Cas particulier de la Nouvelle-Calédonie

Le statut de la Nouvelle-Calédonie est particulier, car basé sur l'accord de Nouméa de 1998. Cet accord, signé le 5 mai 1998 entre l'État français et les représentants politiques de Nouvelle-Calédonie, définit l'organisation institutionnelle du territoire et prévoit un transfert progressif des compétences de l'État vers la Nouvelle-Calédonie. Cet accord historique établit notamment le transfert de la compétence en matière de santé publique au gouvernement calédonien, lui permettant ainsi de définir sa propre politique sanitaire, y compris en matière de lutte antivectorielle.

La Nouvelle-Calédonie dispose ainsi d'une autonomie plus large que les autres territoires ultramarins français. Cela a permis au gouvernement néo-calédonien, par le biais de sa Direction des affaires sanitaires et sociales (Dass), d'autoriser et de soutenir un programme de technique de remplacement utilisant la bactérie *Wolbachia* dans le Grand Nouméa (N. Rossi – communication personnelle).

Présentation de la TIS, la TII et la technique de remplacement

Le présent rapport porte sur les techniques suivantes de lutte appliquées aux moustiques du genre *Aedes* visant le contrôle des populations et/ou des agents pathogènes qu'ils transmettent : la technique de l'insecte stérile (TIS), la technique de l'insecte incompatible (TII), ainsi que la technique de remplacement.

L'objectif de la TIS et de la TII est de réduire la densité de population de l'insecte ciblé afin de réduire les nuisances (e.g. piqûres) et les risques sanitaires (e.g. transmission d'agents pathogènes). La TIS repose sur le potentiel stérilisant de rayons ionisants. La TII repose sur l'utilisation de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* et ses propriétés d'incompatibilité cytoplasmique (mécanisme de stérilité empêchant la production d'une descendance viable lors de certains croisements). Ces deux techniques peuvent être utilisées seules, combinées ou renforcées par l'imprégnation des moustiques lâchés avec un biocide, le pyriproxifène (PPF), une molécule mimétique de l'hormone juvénile qui inhibe l'embryogenèse et empêche le passage du stade larvaire au stade adulte. Enfin, la technique de remplacement consiste à établir dans la population sauvage une population de moustique porteuse d'une souche de *Wolbachia* interférant avec un pathogène cible, afin de réduire la transmission de celui-ci et l'incidence de la maladie associée.

La réglementation internationale encadrant ces techniques de lutte antivectorielle est fragmentaire et peu harmonisée. La Convention Internationale pour la Protection des Végétaux (CIPV) considère les insectes stériles comme des "organismes bénéfiques". Cependant, elle ne couvre pas les moustiques. En l'absence de cadre spécifique les procédures d'importation des moustiques mâles stériles, varient d'un pays à l'autre, y compris entre les États membres de l'Union Européenne. Toutefois, l'OMS et l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) ont publié des documents guides concernant le déploiement des techniques utilisant la TIS et la technique de remplacement. Ces documents donnent des recommandations à destination des opérateurs développant ces techniques et fournissent des lignes directrices aux gouvernements nationaux en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques associés à ces techniques.

En Europe, la transinfection par *Wolbachia* n'est pas soumise aux règles sur les organismes génétiquement modifiés (OGM) ou des biocides, mais les bactéries elles-mêmes sont considérées comme un produit biocide. En France, l'encadrement des lâchers de moustiques repose sur des réglementations générales de santé publique et de démoustication, sans cadre spécifique pour les techniques reposant sur des lâchers de moustiques. Quant à la Nouvelle-Calédonie, elle dispose d'une autonomie en matière de gestion de la santé publique et a autorisé son propre programme de lutte par la technique de remplacement.

4 Bilan des expérimentations utilisant la TIS, la TII et la technique de remplacement pour le contrôle des *Aedes*

Ce chapitre a pour objectif de répondre à la première question de la saisine, dont l'objet est de dresser un « bilan des essais en cours ou terminés dans le monde ».

Ainsi, il présente un état des lieux des essais terminés et en cours dont l'objectif est d'évaluer l'efficacité de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement pour réduire les densités de populations d'*Aedes* ou réduire l'incidence des arboviroses causées par les agents pathogènes qu'ils transmettent.

Cet état des lieux rapporte des éléments relatifs à la répartition géographique et aux conditions de mise en œuvre des expérimentations identifiées par les experts du GT.

Pour répondre à cette question de la saisine, le GT a 1) recensé de manière la plus exhaustive possible les essais en cours dans le monde compte tenu et 2) analysé de manière qualitative les informations extraites des publications.

L'analyse n'a pas pu être quantitative compte tenu :

- i) du faible nombre de publications disponibles par technique ;
- ii) de l'hétérogénéité des protocoles mis en œuvre pour une même technique ;
- iii) du manque de standardisation des paramètres techniques présentés dans les publications.

4.1 Méthodologie

L'expertise relative au bilan des essais s'est déroulée selon les étapes suivantes :

- recensement des essais en cours et terminés, que les résultats soient publiés ou non ;
- cartographie des essais réalisés par technique ;
- description des conditions de mise en œuvre des essais.

Le recensement des essais répondant aux critères énoncés en introduction de ce chapitre s'est appuyé sur trois types de sources :

- la revue systématique de la littérature décrite au chapitre 1 (§ 1.3.3) ;
- les auditions de responsables d'essais décrites au chapitre 1 (§ 1.3.3) ;
- de la littérature grise (articles de presse, sites internet, Google scholar, etc.).

La cartographie des essais (Figure 20) s'est fondée sur 105 sources différentes, dont 91 publications scientifiques (retenues après l'étape de lecture du texte intégral et avant l'évaluation de la pertinence et de la qualité), sept auditions et sept sources de littérature grise.

La carte des essais distingue les types d'essais suivants :

- les essais terminés dont les résultats sont publiés dans des revues à comité de lecture. Ces essais ont été identifiés grâce à la revue systématique de la littérature ;
- les essais terminés dont les résultats ne sont pas encore publiés. Ces essais ont été identifiés grâce aux auditions et la littérature grise ;
- les essais en cours. Ces essais ont été identifiés grâce aux auditions et la littérature grise.

La description des conditions de mise en œuvre des essais s'est appuyée sur les 63 publications retenues à l'issue de la revue systématique de la littérature (après l'étape d'évaluation de la pertinence et de la qualité des publications) (voir Diagramme de flux Prisma en Figure 1, p28). Les experts ont réalisé, pour chacune des techniques et en distinguant les espèces d'*Aedes* ciblées, une synthèse des publications retenues. Cette synthèse intègre les paramètres identifiés par les experts comme pertinents pour rendre

compte de l'efficacité entomologique et épidémiologique de la TIS, de la TIS renforcée, de la TII, de la TII renforcée, de la combinaison TIS-TII et de la technique de remplacement (Tableau 5).

Tableau 5 : Paramètres identifiés par les experts pour rendre compte de l'efficacité de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement

TIS, TII et leurs variantes	Technique de remplacement
<ul style="list-style-type: none"> - Identification de l'article (1er auteur et date de publication) - Espèce cible - Pays/territoire où est réalisé l'essai - Surface des zones d'étude (zones de lâcher et zones témoin) - Date et durée de l'essai - Méthode de lâcher (stade des moustiques et dispositif) - Fréquence des lâchers - Résultats chiffrés relatifs à l'efficacité entomologique et épidémiologique 	
- Nature du traitement : souche <i>Wolbachia</i> et/ou dose de rayonnement utilisées	- Nature du traitement : souche de <i>Wolbachia</i> utilisée
<ul style="list-style-type: none"> - Nombre de réplifications - Ratio mâles lâchés/sauvages 	<ul style="list-style-type: none"> - Contexte épidémiologique dans lequel se déroule l'étude (endémicité ou non des arboviroses et nombre de cas si pertinent) - Durée de l'étude épidémiologique et méthode utilisée (série temporelle ou étude cas-témoin)

4.2 Répartition géographique des essais terminés, en cours et à venir visant l'évaluation de l'efficacité des techniques qui font l'objet de la saisine

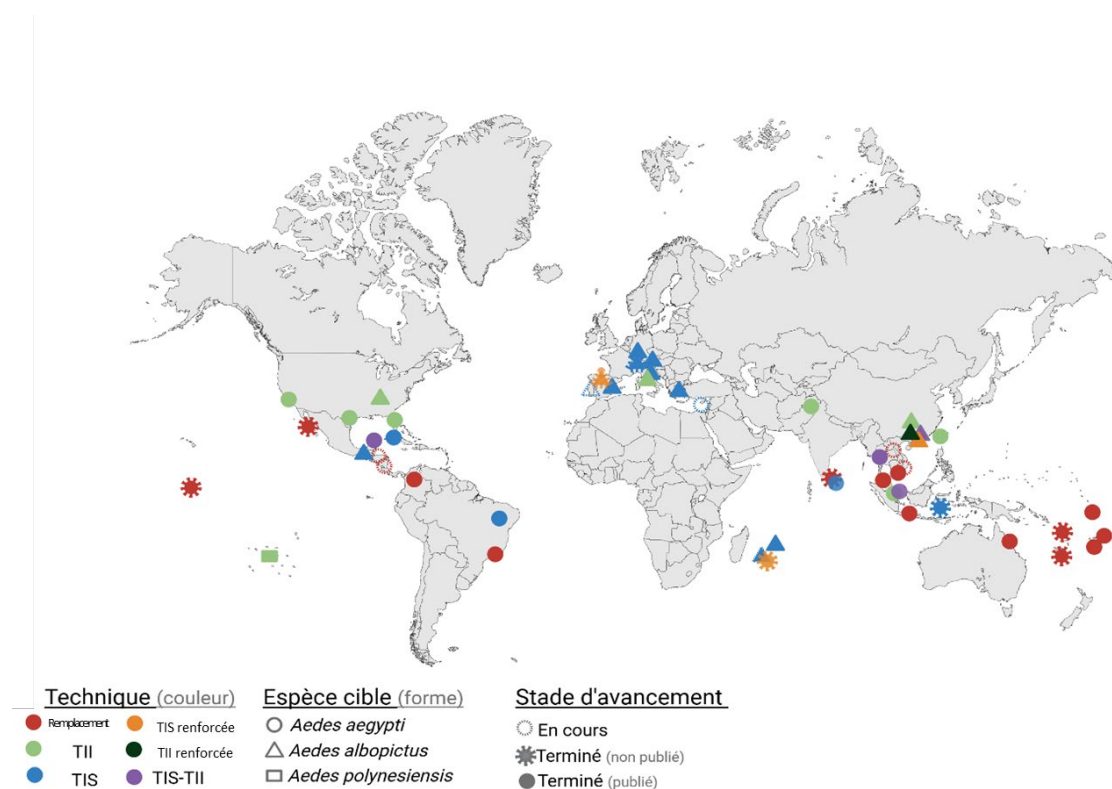
4.2.1 Essais terminés et en cours

Au total, l'expertise a identifié 34 pays et territoires qui ont expérimenté sur le terrain au moins une des techniques faisant l'objet de la saisine (Figure 20). La répartition par technique est la suivante :

- TIS : Quinze pays/territoires (résultats publiés pour dix d'entre eux seulement). À noter que des essais, terminés ou en cours, ont eu lieu en Indonésie, à Chypre, à La Réunion, au Portugal et en Suisse, sans qu'aucun résultat ne soit encore publié ;
- TII : sept pays ;
- Combinaison TIS-TII : quatre pays ;
- TIS renforcée : deux pays, l'Espagne et la France (La Réunion) ;
- TII renforcée : un pays, la Chine.

Ces techniques ont été testées sur trois espèces d'*Aedes* : *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *Ae. polynesiensis*, représentées inégalement (Figure 21).

Les motifs de non publication n'ont pas été explorés par le GT.



Légende : TIS = technique de l'insecte stérile, TII = technique de l'insecte incompatible

Figure 20 : Répartition des essais terminés et en cours utilisant la TIS, la TII ou la technique de remplacement pour le contrôle des *Aedes* (carte réalisée avec BioRender.com)



Figure 21 : Répartition des espèces d'*Aedes* ciblées par la TIS, la TII et la technique de remplacement

À noter que certains pays ont expérimenté plusieurs techniques, parfois pour cibler plusieurs espèces d'*Aedes*, ce qui explique que la somme des pays par technique soit supérieure au nombre total de pays impliqués.

4.2.2 Focus sur les territoires ultramarins français

Sur l'ensemble des territoires ultramarins français, seuls les résultats d'expérimentation de la TII conduits en Polynésie française ont été publiés (§ 4.4.3).

Toutefois, des essais de TIS et de TIS renforcée sont également terminés et/ou en cours à La Réunion (Bouyer *et al.* 2025).

En 2022, un essai de TIS conduit par l'Institut de recherche pour le développement (IRD) sur une zone de 32 ha à Sainte-Marie (La Réunion) a ciblé *Ae. albopictus*. Malgré un nombre important de moustiques lâchés (jusqu'à 15 000 mâles stériles/ha/semaine), les résultats ont montré une induction de stérilité de 60 %, sans impact significatif sur les densités de femelles adultes (F. Simard – communication personnelle). Cette efficacité limitée s'explique principalement par deux phénomènes : la réinvasion permanente depuis les bordures de la zone traitée et des mécanismes de compensation densité-dépendante dans les gîtes larvaires. Cette notion de compensation densité-dépendante est exposée dans un chapitre précédent de ce rapport (§ 2.1.4).

En 2021, un essai préliminaire de TIS renforcée contre *Ae. aegypti* a été mené à Saint-Joseph (La Réunion) sur une zone de dix hectares. Les lâchers, à raison de 353 mâles/ha/semaine, étaient relativement modestes comparés aux autres essais de TIS réalisés. Malgré cela, les résultats se sont révélés prometteurs avec 90 % de réduction de la densité de l'espèce cible. Un effet collatéral positif a également été observé sur *Ae. albopictus* avec une réduction de 60 % des populations. Cela peut s'expliquer par l'existence de sites de ponte communs (sympatrie) entre ces deux espèces d'*Aedes*. Le suivi entomologique a mis en évidence une réduction complète (100 %) du taux d'éclosion des œufs dans la zone traitée.

Pour l'année 2025, un essai de phase 3²⁷ de TIS renforcée, issu d'une collaboration IRD-CIRAD, est prévu à Saint-Joseph. Le projet Opérationnalisation de la Technique de l'Insecte Stérile contre les *Aedes* vecteurs de la dengue à La Réunion (OPTIS²⁸) prévoit un déploiement progressif sur 175 hectares (par paliers de 60, 115 puis 175 ha) avec des lâchers hebdomadaires de 300 000 mâles. Cette approche progressive et continue (dite en "*rolling carpet*" ou tapis roulant), partira d'une zone côtière pour limiter les risques de réinvasion. Le dispositif de suivi post lâchers sera particulièrement complet, incluant : i) un volet entomologique (i.e. suivi des densités et des taux d'éclosion) ; ii) un volet épidémiologique ; iii) un volet environnemental avec surveillance des concentrations de PPF dans l'eau et des impacts potentiels sur les abeilles dans des ruchers sentinelles et iv) une évaluation de l'acceptabilité sociale.

La TII fait également l'objet d'expérimentations, menées par la société SymbioTIC à la Réunion. En 2022, la société a mené son premier essai de preuve de concept sur le terrain (J. Cattel – communication personnelle). Celui-ci a été réalisé sur une zone de 400 m de diamètre et a utilisé une souche d'*Ae. albopictus* infectée par wPip. Les lâchers hebdomadaires de 15 000 mâles auraient permis d'obtenir une réduction moyenne de 30 % du taux d'éclosion, atteignant ponctuellement 100 % au centre de la zone traitée.

Des essais de TIS sont à venir en Polynésie française (H. Bossin – communication personnelle). Ces essais sont prévus dans le cadre du programme PAC-SIT²⁹, en partenariat

²⁹ Le programme PAC-SIT (*Pacific-Sterile Insect Technique*) est un projet régional lauréat d'un appel international lancé en 2018 par l'OMS et l'AIEA. Financé par le CDC américain à travers l'OMS et par le fonds Pacifique de l'État

avec l'IRD. À partir d'août 2024, ces expérimentations se déploieront sur trois sites aux caractéristiques et objectifs complémentaires. Sur l'atoll de Tetiaroa (100 hectares), site touristique isolé ayant déjà bénéficié d'expérimentations avec la TII, l'objectif sera l'élimination complète d'une population résiduelle d'*Ae. aegypti*. La commune de Paea, sur la côte ouest de Tahiti, constituera un site d'expérimentation plus complexe (100 à 200 hectares) en zone urbaine dense, où la configuration géographique particulière, une bande littorale de 700-1 000 m entre océan et montagne, pourrait limiter les risques de réinfestation. L'extension du programme à l'atoll d'Aitutaki aux îles Cook visera à évaluer la faisabilité d'un déploiement régional, notamment les aspects logistiques du transport des moustiques stériles. Ces expérimentations s'appuieront sur le nouveau centre Innoventomo³⁰, capable de produire cinq à sept millions de moustiques mâles stériles par semaine. La stérilisation par rayons X sera réalisée au stade adulte et non au stade nymphal comme cela est généralement fait dans le cadre de la TIS. Le programme, d'une durée d'un an, intégrera un suivi entomologique et épidémiologique, une évaluation des coûts et de la durabilité à l'échelle opérationnelle, ainsi qu'une surveillance des potentiels effets de remplacement d'espèces dans les zones traitées.

La technique de remplacement utilisant la bactérie *Wolbachia* a été déployée en Nouvelle-Calédonie à partir de mars 2018, constituant la première expérimentation française de cette approche (N. Rossi – communication personnelle). Aucun résultat n'est publié à ce jour. Une souche locale de moustiques *Ae. aegypti* porteuse de wMel a été développée par six générations de rétrocroisements, permettant de conserver le fond génétique local, notamment la résistance à la deltaméthrine, tout en garantissant une forte capacité d'interférence avec les virus de la dengue, du chikungunya et Zika. Celle-ci a été démontrée en laboratoire en amont des lâchers (Pocquet *et al.* 2021). Une phase préparatoire incluant une large campagne de communication a abouti à 94 % d'opinion plutôt favorable au déroulement des essais (N. Rossi – communication personnelle). La première phase à Nouméa (5 000 ha) a impliqué le lâcher de douze millions de moustiques sur 26 à 63 semaines, aboutissant à une prévalence de *Wolbachia* de 89 % après 30 mois. Le programme a ensuite été étendu aux communes de Dumbéa et Mont-Dore (3 200 et 6 400 ha) sur deux années successives, de juillet à décembre. Huit millions de moustiques supplémentaires ont été lâchés, permettant d'atteindre une prévalence de 75 % dans ces zones. Bien qu'initialement fixé à 80 %, le seuil d'arrêt des lâchers a été réévalué à 50 % de prévalence de *Wolbachia*, les observations de terrain montrant une progression naturelle de la transinfection jusqu'à des taux supérieurs à 70 - 80 %, même dans des zones où les lâchers avaient été arrêtés à seulement 20 % de prévalence. Le déploiement se poursuit actuellement sur la commune de Païta (3 100 ha). Les résultats épidémiologiques sont encourageants avec l'absence d'épidémie de dengue depuis 2019 et une réduction des transmissions secondaires autour des cas importés. Ils doivent néanmoins être consolidés sur une durée d'observation plus longue. Cette expérimentation, qui couvre désormais 65 % de la population de Nouvelle-Calédonie, suggère la faisabilité et l'efficacité de cette approche de lutte antivectorielle dans le contexte spécifique de la Nouvelle-Calédonie (les lâchers de nouveaux moustiques porteurs de *Wolbachia* dans le cadre de la TII ont d'ailleurs pris fin en 2025³¹ en raison de l'efficacité du programme).

français, ce programme vise à mesurer l'efficacité opérationnelle de la technique de l'insecte stérile dans le Pacifique. Il repose sur un consortium régional impliquant trois territoires : la Polynésie française, les îles Cook et l'île de Rapa Nui (Chili). Le programme, d'une durée de deux ans, inclut une phase préparatoire de développement des protocoles de production et de stérilisation, suivie d'une année de lâchers de moustiques stériles. Il comprend également une évaluation épidémiologique en population humaine ainsi qu'une analyse des coûts et de la durabilité de cette approche à des échelles opérationnelles.

³⁰ ILM Innoventomo | Grands Projets de Polynésie : l'établissement des études et constructions du Pays : <https://grandsprojets.pf/projet/ilm-innoventomo/>

4.3 Mise en œuvre de la TIS pour le contrôle des moustiques *Aedes*

Parmi les publications retenues, quinze rapportent des résultats relatifs à l'efficacité de la TIS dont onze sur le terrain et quatre en conditions semi-naturelles. La majorité des essais concernés ont ciblé *Ae. albopictus* et quelques uns ont ciblé *Ae. aegypti*.

4.3.1 Essais visant la réduction des populations d'*Ae. albopictus*

4.3.1.1 Essais en conditions semi-naturelles

Madakacherry et al. (2014) ont évalué l'efficacité de la TIS sur *Ae. albopictus* en conditions de laboratoire et en cages extérieures à l'AIEA de Siebersdorf, en Autriche, en 2012-2013 (Madakacherry, Lees et Gilles 2014). L'étude a utilisé une souche locale d'*Ae. albopictus*, avec séparation des sexes réalisée par tamisage des pupes puis tri manuel des adultes émergents. Les mâles ont été stérilisés par rayonnement gamma à une dose de 35 Gy³². Les essais, dont la durée n'est pas précisée dans la publication, ont comparé trois ratios (1:1, 3:1 et 5:1) dans des cages de trois tailles différentes (30, 60 et 175 cm³). L'efficacité a été évaluée par la comparaison des taux d'éclosion des œufs entre les différents traitements et le calcul de l'indice de compétitivité de Fried³³. Les résultats ont montré une réduction du taux d'éclosion des œufs proportionnelle au ratio employé : 57 % pour 1:1, 71 % pour 3:1, et 81 % pour 5:1. En conditions semi-naturelles, les taux d'éclosion moyens observés étaient de 85 %, 35 %, 25 %, 20 % et 4 % pour des ratios de 0:1 (témoin négatif), 1:1, 3:1, 5:1 et 1:0 (témoin positif) respectivement. La taille des cages n'a pas eu d'effet significatif sur les résultats.

Bien que l'étude suggère l'efficacité de la TIS pour réduire le taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus*, l'absence de description détaillée des analyses statistiques limite la robustesse des conclusions.

Bellini et al. (2013a) ont poursuivi leurs investigations en évaluant la compétitivité d'accouplement des mâles *Ae. albopictus* stériles en conditions semi-naturelles à Anzola dell'Emilia (Bologne, Italie) pendant les étés de 2006 à 2009 (Bellini et al. 2013a). Les essais ont été conduits dans de grandes cages de 112 m³ (8 x 5 x 2,8 m). Les mâles ont été irradiés au stade pupe à des doses variant de 50 à 60 Gy en 2006 et de 30 à 40 Gy de 2007 à 2009, avec séparation des sexes par tamisage. Les lâchers consistaient en un seul lâcher par essai, avec un ratio de 1:1 entre mâles stériles et mâles fertiles. La durée de surveillance variait de cinq à 18 jours après le lâcher, avec un nombre de répétitions variant d'un à huit selon les années et les traitements. L'efficacité a été évaluée par le taux d'éclosion des œufs, l'indice de compétitivité de Fried et le taux de survie des mâles. Les résultats ont montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs : 45 % pour les mâles irradiés à 30 Gy et 52 % pour ceux irradiés à 40 Gy, contre 87 % dans le groupe témoin. L'indice de Fried était de 1,00 pour 30 Gy et 0,72 pour 40 Gy, sans différence statistiquement significative, indiquant que la dose de rayonnement n'impacte pas la compétitivité sexuelle des mâles. Les taux de survie étaient similaires entre les mâles stériles et fertiles. Une fertilité résiduelle a été observée chez les mâles irradiés : à 30 Gy, environ 4 % à 3-4 jours post-irradiation, augmentant à 8,64 % après 11 jours ; à 40 Gy, 0,82 % et 4,93 % respectivement.

³² Gy : gray, unité de mesure de la dose physiquement « absorbée » par la matière. Elle représente l'énergie absorbée par un kilogramme exposé à un rayonnement ionisant apportant une énergie d'1 joule : 1 Gy = 1 J/kg (site IRSN).

³³ L'indice de compétitivité de Fried (1971) permet d'évaluer la capacité des mâles stériles à rivaliser avec les mâles sauvages pour l'accouplement des femelles. Il est calculé par la formule $C = \frac{(H_n - H_e)(S)}{(H_n - H_s)(N)}$ où H_n est le taux d'éclosion des œufs dans le témoin fertile, H_e est le taux d'éclosion des œufs en conditions traitées, H_s est le taux d'éclosion des œufs dans le témoin stérile, S le nombre de mâles stériles, N le nombre de mâles sauvages. Si $C = 1$, alors les mâles stériles sont aussi compétitifs que les mâles sauvages. Si $C < 1$, alors les mâles stériles sont moins compétitifs que les mâles sauvages.

Cette étude a permis d'affiner le protocole pour les lâchers sur le terrain, notamment concernant la dose d'irradiation, malgré une grande variabilité observée par les auteurs entre les réplicats.

Iyaloo et al. (2020a) ont réalisé, en conditions semi-naturelles, un essai préliminaire à un essai pilote de TIS sur le terrain à l'île Maurice (Diana P. Iyaloo et al. 2020b). Ils ont évalué la compétitivité de mâles *Ae. albopictus* stériles en fonction de leur âge au moment du lâcher à Curepipe (île Maurice) de janvier à mai 2015. Les mâles ont été stérilisés par rayonnement gamma à une dose de 40 Gy, avec séparation des pupes mâles et femelles réalisée manuellement sous stéréomicroscope. L'essai s'est déroulé sur une période totale de 18 jours, divisée en trois séries de six jours, dans neuf grandes cages de terrain de 2 x 2 x 2 mètres. Les lâchers d'adultes ont été effectués à des âges de 1, 3 ou 5 jours, avec trois ratios (1:1, 3:1 et 5:1) et cinq réplicats par traitement. L'efficacité a été évaluée à travers plusieurs indicateurs : la fertilité des femelles, l'indice de compétitivité des mâles et la stérilité induite dans la population. Les analyses ANOVA ont montré que les moustiques stériles âgés de trois jours étaient significativement plus compétitifs que ceux âgés d'un ou cinq jours. La stérilité induite était significative par rapport aux cages témoins : 40 %, 60 % et 77 % pour les ratios 1:1, 3:1 et 5:1 respectivement. L'indice de compétitivité de Fried moyen, uniquement estimé pour le ratio 1:1, était de 0,91, indiquant une bonne compétitivité des mâles stériles (D. P. Iyaloo et al. 2020a).

Cette étude de bonne qualité a permis d'optimiser le protocole de lâcher en vue d'un essai sur le terrain à l'île Maurice qui a fait l'objet d'un article déposé comme *preprint* (Diana P. Iyaloo et al. 2020b) (article définitif non retrouvé lors de la dernière recherche bibliographique).

4.3.1.2 Essais en conditions de terrain

Becker et al. (2022) ont conduit des essais de TIS ciblant *Ae. albopictus* de mai à octobre 2020 (cinq mois) dans deux villes allemandes : Ludwigshafen et Fribourg (Becker et al. 2022). Ces essais s'inscrivaient dans une stratégie de lutte intégrée comprenant l'engagement communautaire pour l'élimination des gîtes larvaires, le traitement régulier des gîtes larvaires au *Bti* par des équipes professionnelles et la TIS (dans les zones traitées et une des zones témoins).

À Ludwigshafen, la zone de lâchers couvrait 17 ha, avec deux zones témoins de 23 et 25 ha. À Fribourg, la zone de lâchers était de 4,5 ha avec une zone témoin de 4 ha. Les moustiques utilisés provenaient d'une souche locale collectée en 2017, élevée en masse et stérilisée en Italie. La séparation des sexes a été effectuée mécaniquement par la méthode de Fay-Morlan³⁴, et les mâles ont été stérilisés à la dose de 35 Gy. Les lâchers hebdomadaires d'adultes au sol ont totalisé 310 000 moustiques entre mai et octobre 2020 (18,5 semaines) à Ludwigshafen (1 013 moustiques/ha/semaine) et 136 000 entre juin et octobre 2020 (16 semaines) à Fribourg (2 320 moustiques/ha/semaine), avec environ 1,19 % de femelles résiduelles. Le ratio employé n'est pas précisé dans l'article.

Les auteurs ont évalué l'efficacité de la TIS en analysant le taux de stérilité des œufs et le suivi du nombre d'œufs d'*Ae. albopictus*. Les tests t de Student ont montré des différences significatives des taux de stérilité moyens entre les zones traitées et témoins. À Ludwigshafen, le taux de stérilité a atteint 85 %, contre 36 et 54 % dans les zones témoins. À Fribourg, ce taux s'élevait à 63 %, comparé à seulement 15 % dans la zone témoin. Le nombre moyen d'œufs d'*Aedes* par piège pondoir, relevés toutes les deux semaines, était de 4,4 à

³⁴ La méthode dite de Fay-Morlan repose sur le passage de l'échantillon entre deux plaques de verre disposées verticalement, avec un espacement progressivement réduit. Pour minimiser la présence de femelles dans la fraction collectée, seules les nymphes mâles de petite taille sont récupérées. En effet, les femelles les plus petites ont une taille équivalente à celle des plus gros mâles, ce qui empêche la collecte de ces derniers sans risque de contamination par des femelles.

Source : https://agritrop.cirad.fr/600226/1/2021_LUTRAT_archivage.pdf

Ludwigshafen, de 18,2 à Metzgergrün (Fribourg) et 22,4 dans la zone témoin de Gartenstadt (Fribourg), qui n'avait pas bénéficié de lutte intégrée. Aucune analyse statistique n'est présentée pour la densité des œufs, cet indicateur ayant principalement servi à ajuster les protocoles de lâcher au cours de l'étude.

Bellini et al. (2007) ont mené une étude pilote visant à évaluer la faisabilité de la TIS pour lutter contre *Ae. albopictus* dans le centre-ville de Rimini, en Italie (Bellini et al. 2007). L'étude a été réalisée sur une zone traitée de 10 ha et une zone témoin de surface similaire. Les mâles ont été stérilisés au stade pupes à une dose de 80 Gy, avec séparation des sexes par tamisages successifs à 1 250, 1 400 et 1 500 microns. Environ 65 000 pupes (soit environ 50 000 adultes étant donné le taux d'émergence) ont été lâchées sur les huit semaines de l'essai (16 juin - 4 août 2004), avec un nombre estimé entre 100 et 1 000 mâles stériles par hectare et par semaine. Le ratio n'est pas précisé. L'efficacité a été évaluée sur une période de douze semaines par la fertilité des œufs collectés et le nombre de larves émergentes. L'analyse de variance (ANOVA) a montré une réduction significative d'environ 36 % des descendants F1 dans la zone de lâcher par rapport à la zone témoin (36,21 contre 56,77).

Malgré quelques limites méthodologiques (absence de répliques, faible nombre de moustiques lâchés, petite taille de la zone de traitement), les résultats encourageants de cette étude pilote ont justifié la réalisation d'essais à plus grande échelle.

Bellini et al. (2013b) ont également mené des études de TIS ciblant *Ae. albopictus* sur le terrain entre 2005 et 2009 dans plusieurs villes d'Émilie-Romagne, en Italie : Boschi, Budrio et Caselline (Bellini et al. 2013b). Cinq essais ont été réalisés sur des zones de 16 à 18 ha, chacune associée à une zone témoin de surface équivalente. Les mâles ont été stérilisés par irradiation gamma à des doses variant de 85 Gy en 2005 à 30-40 Gy en 2008 et 2009, avec séparation des sexes par tamisage.

Les lâchers hebdomadaires de pupes mâles stériles ont été effectués pendant 13 à 25 semaines depuis des stations au sol, avec des ratios variant de 20:1 à 350:1, soit 900 à 1 600 mâles stériles/ha/semaine.

L'efficacité a été évaluée par la densité d'œufs dans les pièges pondoires et le pourcentage de stérilité des œufs. Les résultats ont montré une forte hétérogénéité : en 2005 (85 Gy), aucun effet significatif sur la densité des œufs et une stérilité induite, calculée par la formule d'Abbott de seulement 19 % ; en 2008 (30-40 Gy), des résultats variables selon les villes avec 51 % de réduction de la densité des œufs et 64 % de stérilité induite dans la ville de Boschi, mais aucune réduction significative à Budrio ; en 2009 (30 Gy), 72 % de réduction de la densité des œufs et 68 % de stérilité induite à Boschi, sans réduction significative à Caselline. Une analyse par corrélation de Pearson a révélé qu'une stérilité induite minimum de 81 % était nécessaire pour observer une réduction significative de la densité des œufs.

Bien que l'étude démontre la capacité de la TIS à induire une stérilité des œufs et une réduction de leur densité, la grande variabilité des protocoles et des résultats rend difficile la compréhension des conditions nécessaires au succès de l'intervention.

Bellini et al. (2021) ont évalué la compétitivité de mâles stériles *Ae. albopictus* en compilant les résultats de huit essais pilotes de TIS menés entre 2008 et 2018 dans le nord de l'Italie. Les premiers essais ont été réalisés à Boschi (2008-2010) sur une zone de 16 ha, puis à Budrio (2008) et Caselline (2009) sur respectivement 17 et 18 ha, avec des lâchers de pupes irradiées à 30-40 Gy (Bellini et al. 2021).

Les essais plus récents à Gherghenzano (2012), Caselle et Guisa Pepoli (2018) se sont distingués par le lâcher d'adultes en plus des pupes (2012) ou uniquement d'adultes (2018), sur des surfaces de 7 à 16 ha. Les élevages de masse ont suivi les protocoles standards avec séparation des sexes par tamisage avant stérilisation décrits par Bellini et al. (2013b).

Des lâchers hebdomadaires ont été réalisés pendant deux à six mois en été, avec 900 à 1 500 mâles stériles/ha/semaine et des ratios allant de 1:1 à 105:1 selon les sites. L'efficacité a été évaluée à travers la stérilité induite, la réduction de la densité des œufs et la compétitivité des mâles stériles. Les résultats ont montré une forte hétérogénéité : les stérilités induites variaient de 5,02 % (Caselle, 2018) à 65 % (Boschi, 2009). Concernant la densité des œufs,

des augmentations de 7 % et 20 % ont été observées à Boschi (2010) et Budrio (2008) respectivement, tandis que les autres essais ont montré des réductions variant entre 29 % et 73 %. Bien que les auteurs proposent plusieurs hypothèses pour expliquer cette hétérogénéité (conditions météorologiques, structure du paysage, méthodes de lâchers, ratios), aucune analyse n'a été présentée pour évaluer les effets de ces paramètres.

Par ailleurs, l'étude présente des limites telles que l'absence d'analyses statistiques comparant les zones traitées et témoins, et le manque d'analyse des facteurs explicatifs de l'hétérogénéité des résultats. Toutefois, l'étude a le mérite de compiler les résultats d'un grand nombre d'essais réalisés depuis de nombreuses années sur plusieurs sites.

Balastos et al. (2021) ont réalisé une étude pilote à Vavrona (Grèce) pour évaluer l'effet de la TIS sur le taux d'éclosion des œufs d'*Ae. albopictus* en utilisant des mâles stériles produits et importés d'Italie. Les pupes ont été stérilisées par irradiation à 35 Gy, mais la technique de sexage n'est pas précisée dans la publication (Balastos et al. 2021).

Les lâchers hebdomadaires de 2 280 à 2 995 mâles adultes/ha ont été effectués pendant huit semaines (14 septembre - 6 novembre 2018) depuis des containers au sol, sur une zone urbaine de cinq ha entourée de collines. Le ratio initial n'est pas précisé. Deux zones témoin de surfaces identiques ont été définies : une adjacente et une située à 1,5 km de la zone traitée, sans réplication.

L'efficacité a été évaluée par le suivi de la densité des œufs et leur taux d'éclosion, avec une surveillance débutant trois semaines avant les lâchers. Les analyses par modèles linéaires mixtes ont montré qu'après six semaines de lâchers, le taux d'éclosion des œufs a chuté de 54 % à 14 % dans la zone traitée, sans changement significatif dans les zones témoins. La stérilité des œufs induite a été observée dès la deuxième semaine et est restée élevée (40-84 %) jusqu'à la fin des lâchers. Aucun impact significatif sur la densité des œufs n'a été observé, ce que les auteurs attribuent à la courte durée de l'essai et à une augmentation de la population suite aux précipitations.

Les principales limites de cette étude sont l'absence de réplication et le manque de données de référence sur la population sauvage ciblée.

Tur et al. (2023) ont évalué la compétitivité de mâles *Ae. albopictus* stériles dans le cadre d'essais de TIS réalisés entre 2017 et 2020 dans la région de Valence, en Espagne. Les essais, approuvés par les autorités régionales, ont été précédés d'une campagne d'information auprès des populations locales (Tur et al. 2023). Deux zones ont été définies : Polinya de Xuquer (45 ha, zone traitée) et Albalat de Ribera (60 ha, zone témoin), toutes deux entourées de zones agricoles irriguées et bénéficiant de traitements réguliers au Bti. Les moustiques provenaient d'un élevage local initié en 2014, avec séparation des sexes par la méthode de Fay-Morlan et stérilisation des pupes à 48 Gy. Le pourcentage de femelles résiduelles était estimé à 0,17 %. Les lâchers manuels au sol ont été effectués de mars à novembre, deux fois par semaine en 2018 et trois fois par semaine en 2019-2020, totalisant deux à quatre millions de moustiques par an (1 400 à 2 450 mâles/ha/semaine), avec un ratio non précisé. L'efficacité a été évaluée par le taux d'éclosion des œufs, leur densité et la densité des femelles adultes. Les analyses par modèles linéaires généralisés ont montré qu'en 2018, malgré une stérilité induite de 30 %, la réduction de la densité des œufs n'était pas significative. En 2019-2020, les réductions sont devenues significatives : 74 % et 73 % pour la densité des œufs, associées à des stérilités induites de 32 % et 19 % respectivement. La densité des femelles adultes, mesurée uniquement en 2019 et 2020, a montré une réduction significative dans la zone TIS par rapport à la zone témoin, atteignant 81 % en 2019 et 71 % en 2020. L'étude met en évidence l'efficacité d'une lutte intégrée ciblant *Ae. albopictus* sur plusieurs années grâce au suivi de plusieurs indicateurs complémentaires mais en l'absence de réplication.

Balastos et al. (2024) ont étendu leur étude de 2018 en réalisant un essai de TIS pendant 22 semaines (5 mois), du 3 mai au 4 octobre 2019, à Vavrona, en Grèce (Balastos et al. 2024). Les zones d'étude comprenaient une zone de lâchers de 10 ha (dont 5 ha correspondant à la zone sur lesquels les lâchers avaient été réalisés en 2018) et deux zones témoins de 5 ha chacune. Les moustiques utilisés dans cet essai de suppression provenaient d'œufs collectés à Vavrona entre 2017 et 2019. Au stade pupal, les mâles ont été séparés des femelles à l'aide

de la méthode de Fay-Morlan, puis ont été irradiés à 35 Gy. Le taux de femelles résiduelles a été estimé à 0,8 %. Au cours des 22 semaines de l'essai, 662 000 mâles stériles d'*Ae. albopictus* ont été lâchés à raison de 2 547 mâles stériles par hectare et par semaine, avec une fréquence de lâchers hebdomadaire. Le ratio n'est pas précisé dans la publication. Aucun traitement chimique préalable n'a été effectué en amont des lâchers. Entre la mi-juin (i.e. 1,5 mois après le début des lâchers) et début septembre, le taux de réduction de la densité des *Aedes* a atteint 78 % (alors qu'il est resté stable pendant la même période dans la zone témoin). Ce taux de réduction s'est maintenu entre 70 et 78 % pendant quatre semaines après la fin des lâchers. De plus, dans la zone d'intervention TIS, le pourcentage de pièges contenant des œufs (indice d'oviposition), est resté inférieur tout au long de l'essai par rapport à la zone témoin. La moyenne saisonnière du taux de stérilité induite était de 49 %, sur les cinq mois de la période de lâchers, avec un minimum de 16 % au début juillet, et un maximum de 78 % début septembre. Malgré quelques limites (pas de précision du ratio, absence de réplication, absence de suivi de la densité des adultes, etc.), cette étude est de bonne qualité, avec un suivi des conditions environnementales, un nombre important de moustiques lâchés et une surveillance régulière des populations.

4.3.2 Essais visant à la fois la réduction des populations d'*Ae. albopictus* et *Ae. aegypti*

Bond et al. (2021) ont expérimenté la TIS au Mexique en 2020 sur *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* en conditions de laboratoire et en cages extérieures. Deux souches locales ont été élevées en laboratoire et stérilisées aux doses de 50 et 70 Gy pour *Ae. aegypti*, et 40 et 60 Gy pour *Ae. albopictus* (Bond et al. 2021). Pour les deux espèces, la séparation des sexes a été réalisée mécaniquement à l'aide de la méthode de Fay-Morlan. Les essais en conditions semi-naturelles ont été menés pendant deux périodes de 4 mois (juillet-novembre 2019 pour *Ae. aegypti* et avril-août 2020 pour *Ae. albopictus*) dans des cages de 6 m³. Les œufs issus des femelles fécondées ont été collectés et comptés sur deux cycles gonotrophiques. Cinq ratios ont été testés : 0:1 (témoin fertile), 1:1, 5:1, 10:1 et 1:0 (témoin stérile).

L'efficacité a été évaluée par le suivi du nombre d'œufs et de leur taux d'éclosion, permettant d'estimer la stérilité induite. Les analyses ANOVA à deux facteurs (ratio et dose d'irradiation) ont montré des résultats différents selon les espèces. Pour *Ae. aegypti*, aucun effet significatif n'a été observé sur le nombre d'œufs aux ratios 1:1, 5:1 et 10:1, quelle que soit la dose d'irradiation. En revanche, la stérilité induite était significative pour les ratios 5:1 (32-67 %) et 10:1 (64-88 %), avec une meilleure efficacité à 50 Gy. Pour *Ae. albopictus*, seul le ratio 1:1 a montré un effet significatif sur le nombre d'œufs, tandis que la stérilité induite était significative pour tous les ratios : 19-22 % (1:1), 37-60 % (5:1) et 52-88 % (10:1), avec une meilleure efficacité à 40 Gy.

4.3.3 Essais visant la réduction des populations d'*Ae. aegypti*

4.3.3.1 Essais en conditions semi-naturelles

Ranathunge et al. (2022) ont conduit des essais de TIS sur *Ae. aegypti* au Sri Lanka en 2018 en cages extérieures d'environ 3 m³. La date et la durée précises des essais ne sont pas indiquées dans la publication (Ranathunge et al. 2022). Les moustiques ont été stérilisés à la dose de 50 Gy, définie lors d'essais préalables en laboratoire, avec séparation des sexes au stade pupa à l'aide de la méthode de Fay-Morlan. Cinq ratios ont été testés : 0:1 (témoin fertile), 1:1, 3:1, 5:1 et 1:0 (témoin stérile).

L'efficacité a été évaluée par le suivi du taux d'éclosion des œufs, permettant de calculer l'indice de compétitivité de Fried, ainsi que par plusieurs indicateurs de la vigueur des

moustiques. Le test de Tukey³⁵ a montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs quel que soit le ratio avec des valeurs allant de : 90 % d'éclosion (témoin fertile), jusqu'à 60 % (1:1), 51 % (3:1), 39 % (5:1) et 1 % (témoin stérile). Les autres indicateurs entomologiques ont montré : un taux de survie des pupes et des adultes de 81 % à 80 Gy sans différence entre sexes, une aptitude au vol supérieure à 90 % bien qu'inférieure chez les individus irradiés, et pas d'impact sur la capacité de reproduction. L'indice de compétitivité de Fried de 0,51 indique que les mâles stériles étaient environ moitié moins compétitifs que les mâles sauvages.

Ces essais, de bonne qualité méthodologique, ont permis d'optimiser les paramètres de stérilisation d'*Ae. aegypti* au Sri Lanka, identifiant une dose de 50 Gy comme meilleur compromis entre stérilité et préservation de la compétitivité des mâles.

4.3.3.2 Essais sur le terrain

Bouyer et al. (2020b) ont réalisé une étude pilote à Carnaíba do Sertão (Juazeiro, Brésil) pour comparer l'efficacité des lâchers de mâles stériles *Ae. aegypti* par drone et au sol (Bouyer et al. 2020b). L'étude a été menée dans une zone rurale d'environ 51 ha, avec une zone de lâchers de 20 ha. La surface de la zone témoin n'est pas précisée. Les pupes mâles ont été triées à l'aide d'un séparateur Fay-Morlan puis manuellement sous microscope, et stérilisées à 35 Gy (Bouyer et al. 2020b).

Des mâles adultes ont été lâchés en mars 2018 (saison des pluies) à trois reprises pendant une semaine, avec un ratio maximum estimé à 0,8:1. L'efficacité a été évaluée par le taux de stérilité des œufs collectés dans des pièges pondoires pendant quatorze jours post-lâchers et par le calcul de l'indice de compétitivité de Fried. Les résultats ont montré que les lâchers par drone n'ont pas dégradé la capacité de dispersion et de survie des moustiques. Une augmentation significative de plus de 50 % de la proportion d'œufs non viables a été observée dans la zone de lâchers (avec une valeur- $p^{36} < 10^{-3}$) (données brutes non présentées dans l'article). L'indice de Fried de 0,26, estimé par bootstrap non paramétrique, indique que les mâles stériles étaient environ quatre fois moins compétitifs que les mâles sauvages. Les auteurs soulignent une possible surestimation de l'augmentation de stérilité, un pic naturel de près de 8 % ayant été observé en novembre 2017 en l'absence de mâles stériles.

Bien que l'étude fournisse des données robustes sur la faisabilité des lâchers par drone, l'absence de réplication et le manque de données sur le suivi à long terme de la population de permettent pas d'évaluer l'efficacité de la technique pour contrôler les populations d'*Ae. aegypti* (elle n'a pas été conçue pour cela). L'étude souligne par ailleurs l'importance d'une surveillance des dynamiques de population dans les zones témoins.

Gato et al. (2021) ont réalisé une étude pilote pour évaluer l'efficacité de la TIS sur *Ae. aegypti* dans une zone suburbaine de La Havane, à Cuba. Les pupes mâles ont été triées à l'aide de la méthode de Fay-Morlan et stérilisées par irradiation à 80 Gy (Gato et al. 2021).

Les lâchers ont été effectués pendant 21 semaines (5 avril - 29 août 2020) durant la saison humide, période de faible densité des populations sauvages. La zone de lâchers de 50,2 ha était située à 1,2 km d'une zone témoin de 48 ha, sans réplication. Les lâchers de mâles adultes ont été effectués deux fois par semaine depuis des voitures, totalisant environ 1,3 millions de moustiques, pour atteindre un ratio initial estimé à 6,4:1.

L'efficacité a été évaluée pendant une période incluant huit semaines avant et quatre semaines après les lâchers, à travers la densité des œufs et leur taux de stérilité. La compétitivité des mâles stériles a également été évaluée par l'indice de Fried. L'analyse des séries temporelles interrompues a montré une réduction significative de la densité des œufs après 5 semaines de lâchers, atteignant 100 % de réduction après 17 semaines. Le taux d'éclosion des œufs, suivi entre deux à cinq semaines après le début des lâchers, était de 80 % dans la zone traitée

³⁵ Test de Tukey : test statistique utilisé pour comparer toutes les paires de moyennes de groupes afin de déterminer lesquelles sont significativement différentes les unes des autres.

³⁶ La valeur-p est utilisée pour quantifier la significativité statistique d'un résultat.

contre 86 % dans la zone témoin. L'indice de Fried de 0,56 indique que les mâles stériles étaient 56 % aussi compétitifs que les mâles sauvages sur cette période.

Bien que l'étude utilise un protocole de bonne qualité (définition d'une zone témoin, données de référence pré-lâchers, analyse par séries temporelles), l'absence de réplication et la période d'analyse trop courte pour le taux d'éclosion des œufs constituent des limites.

Synthèse sur la mise en œuvre de la TIS pour le contrôle des moustiques *Aedes*

La TIS utilisée pour le contrôle des moustiques *Aedes* a fait l'objet d'essais dans divers contextes depuis le premier déploiement sur le terrain en 2004 en Italie (Tableau 6), dont un seul essai avec la TIS renforcée. Les expérimentations, menées dans dix pays différents, révèlent une prédominance d'essais en Europe, où *Ae. albopictus* représente une nuisance croissante et potentiellement un risque sanitaire émergent. Les essais dans les zones où les arboviroses sont endémiques (comme le Mexique ou le Sri Lanka) se sont presque uniquement limités à des conditions semi-naturelles, à l'exception d'un essai conduit à Cuba (Gato *et al.* 2021). Aucun essai n'a été publié dans les territoires ultramarins français. Les déploiements sur le terrain sont restés à petite échelle, ne dépassant jamais 50 ha.

En termes de protocole, les doses d'irradiation utilisées pour la stérilisation des moustiques varient généralement entre 40 et 60 Gy, avec quelques cas dépassant 80 Gy (Bellini *et al.* 2007; Gato *et al.* 2021), traduisant la recherche d'un équilibre optimal entre stérilisation effective et préservation de la fitness³⁷ des mâles. L'AIEA a produit des lignes directrices indiquant doses d'irradiation à utiliser pour stériliser les pupes de moustiques selon les espèces (FAO/IAEA *et al.* 2020a). Dans son document d'orientation (OMS-AIEA 2020), l'Agence préconise de réaliser des études dosimétriques en amont de chaque programme de TIS afin d'adapter les protocoles à l'irradiateur utilisé et à l'espèce cible. À noter que les doses utilisées ne permettent pas de stériliser les mâles à 100% et la stérilité est réversible dans certains cas. Bellini *et al.* (2013a) ont par exemple montré une fertilité résiduelle de mâles *Ae. albopictus* irradiés à 30 Gy (environ 4 % de taux de fertilité 3-4 jours post-irradiation, augmentant à 8,64 % après 11 jours) et à 40 Gy (environ 0,82 % de fertilité 3-4 jours post irradiation, augmentant à 4,93 % après 11 jours).

Malgré une diversité de techniques de sexage, la méthode de Fay-Morlan, exploitant le dimorphisme sexuel des pupes, semble s'imposer comme la technique de référence. Celle-ci a fait l'objet de travaux d'automatisation, notamment en Chine. Des techniques de sexage par tamisage des pupes sont également décrites (Bellini *et al.* 2021; D. P. Iyaloo *et al.* 2020a). À ce jour, aucune technique de sexage ne permet d'obtenir un nombre nul de femelles résiduelles (Kittayapong *et al.* 2018). Ainsi, en complément, certains essais de TIS mentionnent une phase de tri manuel des moustiques avant les lâchers (Diana P. Iyaloo *et al.* 2020b; Madakacherry, Lees et Gilles 2014).

Dans les publications analysées par le GT, les lâchers, réalisés principalement avec des moustiques au stade adulte, suivent majoritairement un rythme hebdomadaire sur une durée moyenne d'environ 16 semaines, privilégiant les périodes de pic d'activité des populations cibles. Cette temporalité est importante afin de respecter la saisonnalité de l'accouplement des *Aedes* et de limiter autant que possible les phénomènes de compensation densité-dépendante dans les gîtes larvaires (Bouyer 2023). Les lâchers d'adultes présentent l'avantage d'une meilleure maîtrise du nombre et du sexe des moustiques lâchés. Par ailleurs, ils facilitent la surveillance de la bonne dispersion des moustiques par rapport aux lâchers d'œufs. Les dispositifs de lâchers d'adultes, quand ils sont fixes, présentent l'avantage d'assurer un maillage plus précis et d'être moins coûteux que les lâchers par drone ou par voiture. Cependant, ils permettent de couvrir une surface moins importante et nécessitent une main d'œuvre plus conséquente.

Si les dispositifs fixes restent les plus souvent utilisés dans les essais, des expérimentations de lâchers par drone ont également été conduites (Bouyer *et al.* 2020b), offrant de nouvelles perspectives logistiques. Les systèmes de lâchers par drone permettraient théoriquement de couvrir des surfaces plus importantes que les systèmes de lâcher fixes disposés au sol

³⁷ L'aptitude phénotypique des moustiques fait référence à leur capacité à survivre et à se reproduire dans leur environnement. Plus précisément, c'est une mesure de leur succès reproductif et de leur contribution génétique aux générations futures.

(i.e. containers). Toutefois, une attention particulière doit être accordée à la bonne dispersion et à la limitation des dommages sur les moustiques lâchés par drone.

Une seule publication rapporte des essais avec la TIS renforcée³⁸ (Bouyer *et al.* 2025).

Les résultats sur l'efficacité de la TIS sont évalués au chapitre 5.

³⁸ Variante de la TIS où les mâles stériles sont imprégnés avec un biocide de synthèse, ici le pyriproxifène.

Tableau 6 : Synthèse des conditions de réalisation des essais de TIS dont les résultats sont publiés dans des revues avec comité de lecture

Référence	Espèce cible	Lieu	Dose de rayonnement	Sexage	Surface zone d'étude	Réplifications	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
Madakachery <i>et al.</i> (2014)	<i>Ae. albopictus</i>	Siebersdorf, Autriche	35 Gy	Tamisage des pupes + tri manuel des adultes	Cages de 30, 60 et 175 cm ³)	3	Non précisé	/	/	1:1, 3:1, 5:1
Becker <i>et al.</i> (2022)	<i>Ae. albopictus</i>	Ludwigshafen et Fribourg, Allemagne	35 Gy	Fay-Morlan (pupes)	Ludwigshafen: 17 ha traitée / 23-25 ha témoin; Fribourg: 4,5 ha / 4 ha	2	5 mois (mai à octobre 2020)	Adultes, sol	1 fois / semaine	Non précisé
Iyaloo <i>et al.</i> (2020a)	<i>Ae. albopictus</i>	Curepipe, Île Maurice	40 Gy	Manuel sous stéréomicroscope	Cages (2x2x2m)	5	18 jours (janvier à mai 2015)	/	/	1:1, 3:1, 5:1
Bellini <i>et al.</i> (2007)	<i>Ae. albopictus</i>	Rimini, Italie	80 Gy	Tamisage des pupes	Traitée : 10 ha Témoin : 10 ha	1	8 semaines (juin à août 2004)	Pupes, sol	1 fois / semaine	Non précisé
Bellini <i>et al.</i> (2013a)	<i>Ae. albopictus</i>	Émilie-Romagne, Italie	30-40 Gy	Tamisage des pupes	Cages (8 x 5 x 2,8 m)	1 à 8	Variable ; étés de 2006 à 2009	Pupes, sol	1 fois / semaine	1 :1
Bellini <i>et al.</i> (2013b)	<i>Ae. albopictus</i>	Émilie-Romagne, Italie	30-85 Gy Santamonica 2005 85 Gy Boschi 2008 30/40 Gy Budrio 2008 40 Gy	Tamisage des pupes	16-18 ha	5 essais indépendants non répliqués	3 à 25 semaines par an (2005-2009)	Pupes, sol	1 fois / semaine	20:1 à 350:1

Référence	Espèce cible	Lieu	Dose de rayonnement	Sexage	Surface zone d'étude	Répliques	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
			Boschi 2009 30 Gy Caselline 2009 30 Gy							
Bellini <i>et al.</i> (2021)	<i>Ae. albopictus</i>	Nord de l'Italie	30-40 Gy	Tamissage des pupes	7-18 ha	8 essais indépendants non répliqués	2 à 6 mois par an (2008-2018)	Pupes et/ou adultes, sol	1 fois / semaine	1:1 à 105:1
Balastos <i>et al.</i> (2021)	<i>Ae. albopictus</i>	Vavrovna, Grèce	35 Gy	Non précisé	Traitée : 5 ha Témoin : 5 ha	1	8 semaines (septembre à novembre 2018)	Adultes, sol	1 fois / semaine	Non précisé
Tur <i>et al.</i> (2023)	<i>Ae. albopictus</i>	Valence, Espagne	48 Gy	Fay-Morlan (pupes)	Traitée : 45 ha Témoin : 60 ha	1	8 mois par an (mars à novembre de 2018 à 2020)	Adultes, sol	2-3 fois / semaine	Non précisé
Bond <i>et al.</i> (2021)	<i>Ae. albopictus</i> et <i>Ae. aegypti</i>	Mexique	40-60 Gy (<i>Albo</i>) 50-70 Gy (<i>Aeg</i>)	Fay-Morlan (pupes)	Cages de 6 m³	Non précisé	4 mois par espèce (2019-2020)	/	/	1:1, 5:1, 10:1
Bouyer <i>et al.</i> (2020)	<i>Ae. aegypti</i>	Carnaíba do Sertão, Brésil	35 Gy	Fay-Morlan (pupes)	Traitée : 20 ha Témoin : Non précisé	1	1 semaine (mars 2018)	Adultes, drone et sol	3 fois / semaine	0,8:1
Gato <i>et al.</i> (2021)	<i>Ae. aegypti</i>	La Havane, Cuba	80 Gy	Fay-Morlan (pupes)	Traitée : 50 ha Témoin : 48 ha	1	21 semaines (avril à août 2020)	Adultes, voiture	2 fois / semaine	6,4:1

Référence	Espèce cible	Lieu	Dose de rayonnement	Sexage	Surface zone d'étude	Répliques	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
Ranathunge <i>et al.</i> (2022)	<i>Ae. aegypti</i>	Sri Lanka	50 Gy	Fay-Morlan (pupes)	Cages de 3 m ³	Non précisé	2018 (durée non précisée)	/	/	1:1, 3:1, 5:1
Balastos <i>et al.</i> (2024)	<i>Ae. aegypti</i>	Vavrovna, Grèce	35 Gy	Non précisé	Traitée : 10 ha Témoin : deux zones de 5 ha	1	22 semaines (mai à octobre)	Adultes, sol	1 fois/semaine	Non précisé

Légende : / = Non renseigné dans l'article.

4.4 Mise en œuvre de la TII, de la TIS-TII ou de la TII renforcée pour le contrôle des moustiques *Aedes*

Parmi les 18 publications retenues, douze rapportent des résultats relatifs à l'efficacité de la TII dont neuf sur le terrain et trois en conditions semi-naturelles. Parmi ces publications, six essais sur le terrain rapportent des résultats relatifs à l'efficacité de la TIS-TII. Une seule étude sur le terrain rapporte des résultats relatifs à l'efficacité de la TII renforcée.

Toutes ces études sont résumées dans les paragraphes ci-dessous et les principales caractéristiques des essais sont synthétisées dans le Tableau 7. Les essais ont ciblé *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Ae. polynesiensis*.

4.4.1 Essais visant la réduction des populations d'*Ae. aegypti*

4.4.1.1 Essais en conditions semi-naturelles

Liu W-L. et al. (2022) ont conduit une étude en conditions semi-naturelles (i.e. en environnement contrôlé sous cage) avec la TII pour la suppression des populations d'*Ae. aegypti*, dans la ville de Tainan, à Taïwan. Les auteurs ont transinfecté la souche *wAlbB* de *Wolbachia* chez des souches locales d'*Ae. aegypti*. Des essais préliminaires en laboratoire n'ont révélé aucun impact significatif sur la durée de vie, la fécondité et la fertilité des individus transinfectés par rapport aux individus sauvages (W.-L. Liu, Yu, et al. 2022).

L'étude, qui s'est déroulée sur environ 14 mois, a évalué l'efficacité entomologique de la TII sur deux sites: un site témoin où seuls des moustiques sauvages ont été lâchés et un site traité où des moustiques adultes infectés ont été lâchés à différents ratios et à différentes dates (3:1 du 12 avril au 2 juillet 2019, 5:1 du 16 août au 21 novembre 2019, 10:1 du 17 janvier au 10 juin 2020). Chaque condition a été répliquée quatre fois dans des cages de 80 m³.

Les résultats, analysés par test t de Student pour comparer les sites traité et témoin, ont montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs de 77 %, 66 % et 61 % pour des ratios de 3:1, 5:1 et 10:1 respectivement. L'homogénéité des conditions environnementales entre les sites a été confirmée par test de Mann-Whitney. La comparaison des taux d'éclosion dans le groupe témoin au cours des différentes périodes n'a pas montré de différences significatives, validant ainsi la robustesse des résultats. À partir de ces analyses, les auteurs ont déterminé qu'un ratio de 3:1 constituait le rapport optimal pour le déploiement de la TII à Taïwan.

Cette étude présente un plan expérimental robuste, incluant un suivi rigoureux des conditions environnementales et des analyses statistiques appropriées.

Sarwar et al. (2022) ont évalué la TII en conditions semi-naturelles dans la ville de Lahore, au Pendjab, au Pakistan. L'étude a consisté à transinfecter des moustiques *Ae. aegypti* sauvages collectés localement avec une souche *wAlbB* de *Wolbachia* prélevée sur des populations locales d'*Ae. albopictus*. Des essais préliminaires en laboratoire n'ont révélé aucun impact significatif sur la condition physique générale, la fécondité, la fertilité, la taille et la compétitivité d'accouplement des individus transinfectés par rapport aux individus sauvages (Sarwar et al. 2022).

Le protocole expérimental, conduit dans des cages de 2,8 m³ (2,25 x 1,25 x 1,00 m) pendant trois mois (d'août à octobre 2016), comprenait quatre modalités de ratio. Le ratio 0:1 constituait le témoin négatif, les ratios 1:1 et 3:1 représentaient les groupes traités, et le ratio 1:0 servait de témoin positif pour vérifier l'incompatibilité cytoplasmique induite par *wAlbB*. Chaque condition a été répliquée trois fois.

Les résultats ont montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs de 35 % et 73 % par rapport au groupe témoin pour les ratios 1:1 et 3:1 respectivement. Une analyse de

variance (ANOVA) a été réalisée pour comparer les différences entre les groupes, suivie d'un test LSD (*Least Significant Difference*) pour les comparaisons par paires. Les résultats montrent des différences significatives entre tous les groupes testés.

Cette étude de bonne qualité générale (triplicats biologiques, prise en compte des conditions environnementales) démontre le potentiel de la souche wAlbB à induire une incompatibilité cytoplasmique chez *Ae. aegypti* dans l'optique du déploiement de la TII au Pakistan.

4.4.1.2 Essais sur le terrain

Essais TII

Mains et al. (2019) ont déployé la TII à grande échelle dans la ville de South Miami, en Floride, dans le cadre de la réponse à la transmission autochtone du virus Zika aux États-Unis (J.W. Mains et al. 2019). Les moustiques incompatibles transinfectés par la souche wAlbB de *Wolbachia* ont été produits en masse à Lexington, dans le Kentucky, selon une méthode précédemment décrite (Xi et al. 2005). La séparation des sexes a combiné un tri mécanique des pupes de type Fay-Morlan, exploitant leur dimorphisme sexuel (Focks 1980), suivi d'une vérification manuelle des adultes.

Les lâchers ont été réalisés pendant six mois (26 semaines, de fin janvier à juillet 2018) sur une zone d'environ 68,8 ha. Durant les six premières semaines, en moyenne 75 000 mâles/semaine ont été lâchés trois fois par semaine. Une zone non traitée, aux paramètres équivalents et éloignée de 1 km, a servi de témoin. À partir de la semaine 10, les lâchers ont été intensifiés à cinq fois par semaine pour atteindre 375 000 moustiques lâchés/semaine. Au total, plus de 6,8 millions de mâles ont été lâchés, avec un ratio visé de 7:1, considéré comme permettant l'élimination de la population d'*Ae. aegypti*.

Le suivi entomologique a révélé une réduction significative du taux d'éclosion des œufs dans la zone traitée (32-62 %) comparativement à la zone témoin (69-93 %), mise en évidence par des tests non paramétriques de Wilcoxon pour comparaisons multiples. Cette différence était statistiquement significative à partir de mars (i.e environ 1 mois après le début des lâchers) et s'est maintenue jusqu'à la fin des lâchers. Une reprise du taux d'éclosion a été observée après l'arrêt des lâchers. Le nombre de femelles *Ae. aegypti* a également diminué significativement, avec une réduction de 78 % à l'issue des lâchers, calculée selon la formule d'Abbott³⁹. Cette réduction était statistiquement significative dans les deux derniers mois de l'essai.

Cette étude démontre l'efficacité de la TII pour le contrôle d'*Ae. aegypti*, avec une réduction significative du taux d'éclosion des œufs et de la population de femelles adultes. Si la robustesse des résultats est appuyée par des analyses statistiques appropriées et une durée d'étude suffisante, l'absence de réplication limite la portée des conclusions, nécessitant des études complémentaires pour confirmer ces résultats.

Crawford et al. (2020) ont évalué l'efficacité de la TII utilisant des mâles transinfectés avec la souche wAlbB pour le contrôle des populations d'*Ae. aegypti* en Californie, aux États-Unis. Le protocole de séparation des sexes, comportait trois étapes successives : un tri mécanique par tamis automatisé exploitant le dimorphisme sexuel des pupes, une analyse en temps réel des caractéristiques morphologiques des adultes émergents, et une validation par intelligence artificielle⁴⁰ couplée à une vérification humaine. Cette méthodologie est supposée permettre d'atteindre un taux théorique de femelles résiduelles quasi nul (1/900 millions de mâles) (Crawford et al. 2020).

Les lâchers quotidiens de moustiques mâles incompatibles adultes ont été effectués de manière automatisée depuis un véhicule pendant 26 semaines, d'avril à décembre 2018, période coïncidant avec le début du printemps et la faible abondance des moustiques. L'étude

³⁹ La formule d'Abbott, publiée par W.S. Abbott en 1925, est utilisée pour calculer l'efficacité d'un traitement en corrigeant par rapport au témoin non traité. Elle s'exprime ainsi :
Pourcentage de réduction (%) = $((X - Y) / X) \times 100$

Où : X = valeur dans la zone témoin non traitée ; Y = valeur dans la zone traitée.

⁴⁰ Processus automatisé par la société « Verily ».

a couvert trois zones traitées totalisant 293 ha, avec une moyenne de 1 885 mâles lâchés par hectare et par semaine (14,4 millions de mâles au total). Les résultats ont été comparés à trois zones témoin de surfaces similaires. Les ratios, calculés hebdomadairement, se sont maintenus autour de 10:1 pendant toute la période d'activité des moustiques.

Les analyses statistiques, basées sur des tests de permutation unilatéraux avec correction de Bonferroni, ont démontré une réduction globale significative du nombre de femelles adultes de 93,64 % en moyenne pendant toute la période de fortes densités de moustiques (mi-juillet à octobre), avec des niveaux maximums variant de 94,6 à 98,9 % selon les zones.

Cette étude montre une suppression significative des populations d'*Ae. aegypti* à grande échelle suite au déploiement de la TII. La méthode d'évaluation de l'efficacité entomologique a toutefois fait l'objet de débats scientifiques. Si la méthodologie employée est rigoureuse en termes de suivi des populations avec zones témoins et d'analyses statistiques, des critiques ont été émises concernant l'absence de mesure de la compétitivité des mâles relâchés (valeur C) et le taux de contamination par les femelles lors du sexage (2,5 %) plus élevé que celui initialement annoncé par les auteurs (Bouyer, Maiga et Vreysen 2022). Par ailleurs l'étude, par son caractère opérationnel, n'est pas répliquée. Les auteurs défendent leur choix de se concentrer sur l'impact direct sur les populations plutôt que sur des indicateurs indirects, comme le taux d'éclosion des œufs (Crawford *et al.* 2022). L'ampleur et la qualité de l'étude établissent ainsi des bases importantes pour de futures applications de la TII, tout en soulignant l'importance d'une discussion ouverte sur les indicateurs pertinents pour évaluer l'efficacité entomologique.

Beebe *et al.* (2020) ont évalué la TII pour lutter contre *Ae. aegypti* dans le nord de l'Australie. Les auteurs ont développé une lignée d'*Ae. aegypti* porteuse d'une souche *wAlbB* de *Wolbachia*, incompatible à la fois avec les *Ae. aegypti* sauvages non porteurs de *Wolbachia* et la lignée *wMel-Wolbachia*. *Ae. aegypti* présente dans le nord du Queensland suite au déploiement de la technique de remplacement dans cette zone (Beebe *et al.* 2021).

Trois millions de mâles incompatibles adultes ont été lâchés dans trois zones distinctes de 44, 65 et 85 ha, comparées à trois zones témoins de 52, 48 et 33 ha respectivement. Les lâchers d'adultes ont été effectués depuis un véhicule trois fois par semaine pendant 20 semaines (du 12 janvier au 25 mai 2018). Les ratios étaient initialement de 5:1 à 10:1, atteignant 30:1 à la fin de l'expérimentation. L'étude est donc répliquée trois fois.

Le suivi entomologique a révélé une diminution de la productivité larvaire⁴¹ jusqu'à des niveaux presque indétectables durant les 10 dernières semaines de lâchers. Les résultats relatifs à cet indicateur sont présentés de manière graphique et la publication ne détaille pas les analyses statistiques utilisées pour quantifier la réduction de cet indicateur. Une analyse des séries temporelles du ratio entre le nombre quotidien de femelles piégées dans les zones traitées par rapport aux zones témoin a ensuite montré une réduction du nombre de femelles adultes dépassant 70 % début avril 2018 (i.e. trois mois après le début des lâchers), atteignant plus de 80 % sur plusieurs semaines. À noter que le passage du cyclone tropical Nora fin mars 2018 a entraîné une fin prématurée de la saison des moustiques. La surveillance lors de la saison suivante a révélé une réduction persistante des populations dans deux zones traitées (63-97 %), tandis que la troisième présentait un rétablissement complet de la population d'*Ae. aegypti*. Les auteurs expliquent ces différences par un plus grand nombre de moustiques lâchés dans certaines zones que d'autres, les différences de structure du paysage entre les zones et la configuration initiale des populations sauvages.

Cette étude démontre le potentiel de la TII pour réduire le taux d'éclosion des œufs et la densité de femelles adultes, suggérant qu'une réduction durable des populations est possible tout en dépendant probablement de facteurs tels que l'intensité du traitement, les caractéristiques du site et la configuration de la population cible.

⁴¹ La productivité larvaire est définie par les auteurs comme le nombre de larves émergeant des collections d'œufs sur des pièges ovitraps. Cet indicateur, qui utilise comme dénominateur le nombre d'œufs total plutôt que le nombre d'œufs viables - difficiles à dénombrer, est un bon proxy du taux d'éclosion des œufs.

Lozano et al. (2022) ont implémenté un essai opérationnel de TII dans l'espace péri-urbain de Houston, au Texas. Des moustiques mâles *Ae. aegypti* adultes infectés par la souche wAlbB de *Wolbachia* ont été lâchés sur une zone d'environ 18 hectares, trois fois par semaine de mi-juin à fin août 2019 (2,5 mois), depuis un immeuble (Lozano et al. 2022).

Les lâchers hebdomadaires comprenaient entre 120 000 et 140 000 moustiques, excepté lors des première et dernière semaines (40 000 et 50 000 moustiques respectivement). Le ratio obtenu n'est pas précisé. La surveillance des populations a été effectuée dans 28 maisons de la zone traitée (18,6 ha) et 27 maisons d'une zone témoin (29,6 ha) située à plus de 20 km, de mi-juillet à mi-septembre 2019.

L'analyse des résultats, basée sur un modèle hiérarchique bayésien (*N-Mixture-model*), a montré une réduction significative du nombre de femelles adultes atteignant 94 % dès la troisième semaine d'observation (i.e. six semaines après le début des lâchers) et persistant jusqu'à la fin de l'étude. Le nombre de femelles *Ae. aegypti* piégées est resté stable dans la zone non traitée excepté lors des deux dernières semaines d'observation pour lesquelles une baisse des piégeages a été observée. Les auteurs ont également noté une tendance à l'augmentation des populations d'*Ae. albopictus* dans la zone traitée, suggérant une possible migration de cette espèce vers les niches écologiques libérées.

Cette étude montre l'efficacité de la TII utilisant des mâles *Ae. aegypti* infectés par *Wolbachia* dans le contrôle des populations. La force méthodologique de l'étude repose sur l'utilisation d'un modèle statistique sophistiqué (modèle hiérarchique bayésien) et la mise en place d'une zone témoin. Toutefois, certaines limites comme l'absence de données sur le ratio et la présence d'une seule zone traitée sont à noter. Les résultats suggèrent également un possible effet écologique avec l'augmentation des populations d'*Ae. albopictus* dans la zone traitée, soulignant l'importance de considérer les impacts écologiques plus larges de cette technique.

Essais TIS-TII

Kittayapong et al. (2019) ont expérimenté la combinaison TIS-TII dans un village écologiquement isolé de la province de Chachoengsao, dans l'est de la Thaïlande. Les auteurs ont utilisé des *Ae. aegypti* mâles doublement infectés par *Wolbachia* (wAlbA et wAlbB) et stérilisés par irradiation à 70 Gy (Kittayapong et al. 2019). La technique de sexage et la compétitivité des mâles irradiés avaient été préalablement étudiées dans un essai pilote (Kittayapong et al. 2018). La séparation des sexes a combiné un dispositif de tri mécanique Fay-Morlan et un tri manuel des adultes, permettant de réduire le taux de femelles résiduelles à 0,06 %.

Les lâchers ont été effectués depuis des containers au sol de juin à décembre 2016, couvrant la saison des pluies et la saison fraîche et sèche. Trois zones d'étude ont été définies : Nong Satit comme zone de traitement (65 ha), Pleang Mai Daeng comme zone adjacente (102 ha) et Nong Sarika comme zone témoin (50 ha). Chaque semaine, 100 à 200 mâles incompatibles ont été relâchés par foyer (10 000 à 25 000/semaine), maintenant un ratio de 10:1 à 20:1.

L'analyse des séries temporelles par régression logistique binaire a montré qu'après six mois de lâchers, le taux d'éclosion des œufs et le nombre moyen de femelles par ménage ont été réduits respectivement de 84 % et 97 % dans la zone de traitement par rapport à la zone témoin. Dans la zone adjacente, ces réductions atteignaient 61,2 % et 94,4 %. La sensibilisation de la communauté, réalisée par des visites de maison en maison et des reportages médiatiques, a permis d'obtenir une bonne acceptation de la technologie.

Cette étude montre le potentiel de la TIS-TII pour réduire les populations d'*Ae. aegypti*. Le protocole expérimental est globalement robuste avec une durée d'étude relativement longue (six mois), des analyses statistiques qui semblent adaptées et l'étude d'indicateurs entomologiques complémentaires. Les limites de l'étude résident dans l'absence de réplication du traitement.

Martín-Park et al. (2022) ont conduit une étude expérimentale contrôlée avant-après dans deux localités de la banlieue du Yucatán (Mexique) : San Pedro Chimay (50 ha), considérée comme zone traitée, et San Antonio Tahdzibichén (30 ha) utilisée comme témoin (Martín-Park et al. 2022). L'étude n'a pas été répliquée. Les lâchers ont duré six mois, de juillet

à décembre 2019, couvrant la période d'abondance d'*Ae. aegypti*. Lors d'une première phase (six semaines) les mâles *Ae. aegypti* adultes infectés par la souche *wAlbB* de *Wolbachia* et irradiés à la dose de 45 Gy ont été lâchés dans la zone traitée à raison de 2 000 mâles par hectare deux fois par semaine. Lors d'une seconde phase (5 semaines) le nombre de moustiques lâchés a été réduit à 1 000 mâles/ha deux fois par semaine. Pour les 14 dernières semaines de lâchers, le protocole de la phase 1 a été ré-adopté. Les lâchers ont été faits dans les jardins des habitations de la zone traitée. Les moustiques mâles et femelles ont été séparés en laboratoire à l'aide d'une méthode de tri mécanique à l'aide de la méthode de Fay-Morlan. Les femelles adultes résiduelles ont été éliminées lors d'une phase de tri manuel. Le ratio ciblé était de 10:1.

L'efficacité de l'intervention a été évaluée par le suivi du taux d'éclosion des œufs et du nombre de femelles adultes prélevées à l'extérieur et à l'intérieur des habitations de la zone traitée et de la zone témoin. Les auteurs ont comparé, à l'aide de régressions logistiques binaires, les taux d'éclosion des œufs au cours de chaque phase de lâcher. Des réductions significatives du taux d'éclosion des œufs ont été observées lors des phases 1 (réduction de 77 %) et 3 (réduction de 88 % à 92 %) uniquement.

Le modèle binomial négatif utilisé pour évaluer l'effet du traitement sur le nombre de femelles adultes montre des réductions significatives de 89 % et 75 % à l'issue des lâchers à l'intérieur et à l'extérieur des habitations respectivement.

Les auteurs ont noté au cours de leur étude, une invasion par *Ae. albopictus*, sans que celle-ci ne soit clairement associée à un remplacement de niche écologique.

Bansal et al. (2024), Lim et al. (2024a et b) ont conduit une étude à grande échelle évaluant l'efficacité de la TIS-TII pour réduire les populations d'*Ae. aegypti* et l'incidence de la dengue à Singapour (Bansal et al. 2024; Lim et al. 2024a; Lim et al. 2024b). L'étude a été réalisée selon deux stratégies : une stratégie d'expansion dans les villes de Yishun (350 ha en fin d'étude) et Tampines (500 ha en fin d'étude), et une stratégie ciblée dans les villes de Bukit Batok (60 ha) et Choa Chu Kang (120 ha). La publication ne donne pas d'information précise sur les zones témoins, hormis le nombre d'habitants. Elles sont précisées sous forme de cartes de répartition qui montrent des zones non traitées étendues et bien réparties entre les zones traitées avec des zones tampons entre zones.

Des mâles *Ae. aegypti* adultes transinfectés par la souche *wAlbB* de *Wolbachia* ont été lâchés deux fois par semaine depuis le sol et les étages d'immeubles, sur des périodes de 109 à 209 semaines selon les villes (juillet 2018 - juillet 2022). Dans trois villes, la TII a été combinée avec la TIS, utilisant des pupes mâles triées selon la méthode de Fay-Morlan et stérilisées par rayons X (30-40 Gy). À Tampines, les moustiques mâles ont été séparés via un séparateur automatisé et ont été stérilisés aux rayons X (30-40 Gy) à partir de 2020.

Les auteurs ont suivi le pourcentage de couverture des lâchers (i.e. proportion de la zone d'étude qui a reçu des lâchers de moustiques *Wolbachia* pendant au moins 6 mois). Celui-ci allait de 29,5 % à 35,27 % dans les zones de lâcher avec une stratégie d'expansion et de 53,1 à 56,9 % dans les zones de lâchers avec une stratégie ciblée.

À l'issue de l'étude (i.e. 2 à 4 ans après le début des lâchers), le suivi entomologique hebdomadaire par pièges pondoirs a montré une réduction du nombre de femelles adultes dans les zones traitées de 62 %, 78 % et 91 % par rapport aux zones témoins après respectivement 3 mois, 6 mois et 18 mois de lâchers.

L'efficacité épidémiologique a été évaluée par le suivi du taux d'incidence hebdomadaire de la dengue de janvier 2014 à juillet 2022 dans chaque site d'intervention et dans les sites témoin. Les facteurs environnementaux et anthropiques ont été utilisés comme covariables. Les données ont été analysées par groupe d'âge, sexe et type de cas (groupés ou sporadiques) et mis en regard du taux de couverture du traitement. Une réduction globale de 57 % de l'incidence de la dengue sur l'ensemble de la période d'intervention a été observée. La réduction des cas était en moyenne de 47 %, 44 % et 61 % après respectivement 3, 6 et 12 mois de lâchers. L'efficacité maximale a été mesurée en 2022 : avec une couverture de 68 %, l'efficacité globale atteignait 66 % (53 % à 72 % selon les sites). L'efficacité la plus grande a

été observée sur les cas groupés, par rapport aux cas sporadiques. L'effet mesuré a également été plus important chez les adolescents (7-20 ans) et les adultes (21-60 ans) que chez les jeunes enfants et les personnes âgées.

À noter que pour les villes de Bukit Batok et Choa Chu Kang (stratégie ciblée), les premières interventions ont eu lieu en 2020. Les densités de moustiques observées sur ces zones étaient drastiquement réduites dès 2021.

Pour les villes de Yishun et Tampines (stratégie d'expansion), la zone d'intervention s'est agrandie d'année en année. Une observation spatiale de la densité des moustiques sur ces zones montre une forte réduction des moustiques piégés avec l'augmentation de la surface de la zone d'intervention. Les observations sur les zones non traitées en année n et traitée en année n+1 confirment cette observation.

Cette étude, malgré quelques limites méthodologiques (absence de randomisation et de réplication), constitue une preuve très robuste de l'efficacité de la TIS-TII pour réduire les populations d'*Ae. aegypti* et l'incidence de la dengue à Singapour.

4.4.2 Essais visant la réduction des populations d'*Ae. albopictus*

4.4.2.1 Essais en conditions semi-naturelles

Aucun essai en conditions semi-naturelles n'a été pris en compte par les experts.

4.4.2.2 Essais sur le terrain

Essais TII

Mains et al. (2016) ont mis en œuvre la TII dans le cadre d'une étude pilote pour lutter contre *Ae. albopictus* à Lexington, dans le Kentucky, aux États-Unis. Une étude préliminaire de marquage-lâcher-recapture (MLR) en 2013 a permis de définir un ratio optimal de 10:1. Les moustiques mâles ont été séparés des femelles par un système de séparation mécanique de type Fay-Morlan, complété par un tri manuel des adultes (J. W. Mains et al. 2016).

Les lâchers ont concerné 5 000 *Ae. albopictus* mâles wPip, deux fois par semaine pendant 17 semaines (juin à septembre 2014). La zone traitée couvrait un rayon de 250 m autour d'un point de lâcher unique (environ 20 ha). La zone témoin comprenait plusieurs sites proches ($\leq 1,5$ km) mais situés hors de l'aire de vol d'*Ae. albopictus* (> 250 m), avec des caractéristiques environnementales similaires.

Le suivi du taux d'éclosion des œufs et du nombre de femelles adultes a été réalisé sur onze sites dans la zone traitée et quinze sites dans la zone témoin. Des tests non paramétriques (Wilcoxon) ont été utilisés pour comparer les données entre les zones et entre les mois. Les comparaisons multiples entre zones et à travers les mois ont été effectuées avec le test de Steel-Dwass, et une correction de Bonferroni a été appliquée pour les comparaisons multiples. Les résultats ont montré une différence significative du taux d'éclosion des œufs entre la zone traitée (63 %, 58 %, 63 % en juin, juillet et août respectivement) et la zone témoin (80 %, 85 %, 85 %). Cela représente une réduction globale d'environ 33 % sur la période de lâchers. Une réduction significative du nombre de femelles adultes a également été observée en août et septembre, avec environ trois fois moins de femelles piégées dans la zone traitée par rapport à la zone témoin. Des tests PCR réalisés deux fois par mois sur les adultes issus des œufs collectés, ainsi qu'au printemps suivant (mai 2015) sur 61 individus, n'ont montré aucun établissement de la souche wPip dans la population locale.

Cette étude pilote montre l'efficacité de la TII pour réduire localement une population d'*Ae. albopictus*, avec une diminution du taux d'éclosion des œufs et une réduction du nombre de femelles adultes. Le protocole expérimental est globalement robuste avec une phase d'étude préliminaire, des analyses statistiques qui semblent adaptées et l'étude d'indicateurs

entomologiques complémentaires. Les limites de l'étude résident dans la petite surface de l'étude et l'absence de réplication du traitement.

Caputo et al. (2020) ont évalué la TII pour lutter contre *Ae. albopictus* à Rome, en Italie. Les auteurs ont utilisé une souche d'*Ae. albopictus* privée de son endosymbiote naturel et transinfectée avec la souche *wPip* de *Wolbachia*. Le sexage a été réalisé par tamisage mécanique des pupes suivi d'un tri manuel des adultes.

L'expérimentation a consisté en des lâchers hebdomadaires d'environ 4 500 mâles incompatibles adultes pendant six semaines (21 juin - 9 août 2018) en six points de lâcher, dans un espace vert de 2,7 ha. Le ratio moyen était de 7:10. Deux zones témoin de 2,7 ha et 1 ha ont été définies (Caputo et al. 2020).

L'efficacité a été évaluée par l'analyse de la viabilité de 7 153 œufs pondus par 128 femelles collectées dans la zone traitée et de 3 060 œufs pondus par 47 femelles dans les zones témoin. Un modèle mixte généralisé a été utilisé pour analyser la dynamique temporelle du taux de viabilité des œufs. Le pourcentage d'œufs viables pendant les lâchers était significativement plus faible dans les sites traités, avec une différence maximale de 16 % observée après le quatrième lâcher.

Caputo et al. (2023) ont poursuivi l'évaluation en comparant les résultats obtenus en 2019 avec ceux de 2018 à la même période. Les lâchers hebdomadaires moyens de 4 674 *Ae. albopictus* mâles incompatibles adultes porteurs de la souche *wPip* ont été effectués pendant 7 semaines (21 juin - 30 juillet 2019), avec un ratio moyen de 11:10 (contre 7:10 en 2018).

Les résultats, obtenus avec les mêmes modèles d'analyse, ont montré une réduction globale de la viabilité des œufs de 35 % (contre 16 % en 2018). La proportion estimée de femelles sauvages fécondées par des mâles incompatibles était de 41,8 %, avec un taux d'éclosion des œufs significativement inférieur (9,5 %) à celui des femelles accouplées avec des mâles sauvages (87,8 %), malgré une importante variabilité observée (Caputo et al. 2023).

Ces deux études, pionnières en Europe, ont montré une amélioration significative de l'efficacité entre 2018 et 2019, avec une réduction de la viabilité des œufs atteignant 35 %, ainsi qu'une bonne compétitivité des mâles incompatibles en conditions naturelles. Les résultats sont basés sur un suivi semblant rigoureux et des analyses statistiques appropriées. Les limites résident dans l'absence de réplication du traitement et la petite taille de la zone d'étude.

Zeng et al. (2022) ont implémenté la TII sur deux îles subtropicales de Guangzhou, en Chine, pour éliminer les populations d'*Ae. albopictus* dans la zone urbaine de Changsha. Les moustiques mâles *wPip* ont été produits dans une installation d'élevage de masse à Guangzhou. La séparation des sexes par tri mécanique a permis d'atteindre un taux de femelles résiduelles de 0,13 %.

L'étude a couvert une surface de 18 ha comprenant une zone de lâcher (3,8 ha), une zone témoin (3,3 ha) et une zone tampon (10,8 ha). Les lâchers consistaient en l'ouverture de boîtes contenant 8 000 moustiques adultes sur 17 points espacés de 35 mètres. L'analyse a porté sur toute la zone sans mise en place de répliquats (Zeng et al. 2022).

Après une phase initiale de lâchers hebdomadaires (6 juillet-10 août 2020, ratio de 2:1), puis bihebdomadaires (10 août-12 octobre 2020, ratio de 5,77:1), le nombre d'œufs éclos et de femelles adultes ont été significativement réduits de 97 % et 85 % respectivement. Les résultats sont statistiquement significatifs d'après un test de Mann-Whitney. Ces niveaux de réduction se sont maintenus pendant les trois semaines suivant la fin des lâchers, mais l'effet ne s'est pas maintenu l'année suivante. La suppression de la population a entraîné une diminution de 94 % des piqûres de moustiques lors d'essais de capture sur être humain, statistiquement validée par un test *t* apparié. Cette réduction a été obtenue avec seulement 28 % du nombre de mâles utilisés lors d'un essai précédent (Zheng et al., 2019). Aucun moustique *wPip* n'a été détecté sur le terrain après les lâchers, et le suivi sur deux ans n'a révélé aucun remplacement non intentionnel de la population lié au lâcher de femelles résiduelles.

Cette étude montre le potentiel de la TII pour réduire les populations d'*Ae. albopictus*. Le protocole expérimental est globalement robuste avec une durée d'étude relativement longue (2 ans), des analyses statistiques qui semblent adaptées et l'étude d'indicateurs entomologiques complémentaires. Les limites de l'étude résident dans l'absence de réplication du traitement.

Essais TIS-TII

Zheng et al. (2019) ont évalué l'efficacité de la TIS-TII chez *Ae. albopictus* en Chine, dans la ville de Guangzhou. Les auteurs ont utilisé des mâles *wPip* et stérilisés à une dose de 45 Gy. L'étude a été conduite sur deux sites : l'île de Shazai (25 ha, avec une zone témoin de surface similaire sur l'île de Xiaohu) et l'île de Dadaosha (7,5 ha, avec deux zones témoins sur cette même île et sur l'île de Guanlong).

La séparation des sexes a combiné la méthode de Fay-Morlan au stade pupes et une vérification manuelle au stade adulte, permettant d'atteindre un taux de femelles résiduelles de 0,24 %. Les lâchers ont été effectués depuis le sol, trois fois par semaine pendant les périodes de pic d'activité des moustiques : à Shazai, entre 1,5 et 2,6 millions de mâles adultes par semaine sur trois ans (2015-2017, mars à novembre) ; à Dadaosha, entre 600 000 et 890 000 mâles par semaine sur deux ans (2016-2017, fin mars à fin novembre). Le ratio variait de 9:1 à 16:1 (Zheng et al. 2019).

Les analyses par tests de Mann-Whitney ont révélé une réduction significative ($p < 0,0001$) de plus de 94 % des œufs viables et de 83-94 % des femelles adultes en 2016-2017 dans les zones traitées. Des périodes allant jusqu'à 13 semaines sans détection d'œufs viables et 6 semaines sans capture de femelles ont été observées. Les captures sur humain ont montré une réduction significative des taux de piqûre de 96,6 % ($p = 0,006$) et 88,7 % ($p = 0,0376$) sur les sites 1 et 2 respectivement. L'analyse spatiale a indiqué une meilleure suppression dans les zones isolées. Aucun établissement de *wPip* dans la population cible n'a été observé.

Essai TII renforcée

Li et al. (2024) ont évalué une approche combinant la TII avec le PPF pour supprimer les populations d'*Ae. albopictus* dans le village de Xiashi (district de Baiyun, Guangzhou, Chine). Cette technique, nommée TII renforcée (TIIr), a utilisé une souche d'*Ae. albopictus* transinfectée par *wPip* et imprégnée d'une poudre contenant 10 % de PPF (1 g pour 45 000 moustiques mâles) (Y. Li et al. 2024).

En amont des lâchers, les pupes mâles et femelles ont été séparées à l'aide de la méthode de Fay-Morlan, couplée à une étape de tri manuel des adultes. Des mesures préparatoires ont été mises en place : élimination des gîtes larvaires, pulvérisations d'insecticides dans les zones adjacentes pour limiter l'immigration, et surveillance de la population pendant 7 semaines (juillet-août 2021). L'étude a comparé trois zones expérimentales : une zone TIIr (3 ha), une zone TII (3 ha) et une zone témoin (2 ha), avec une surveillance entomologique concentrée sur 1,5 ha au centre de chaque zone.

Les lâchers hebdomadaires ont été effectués pendant 11 semaines (23 août-1er novembre 2021) par des opérateurs à pied près des zones végétalisées, durant la période de pic d'activité d'*Ae. albopictus*. Au total, 445 000 moustiques mâles adultes ont été relâchés (environ 40 455 par semaine et par zone traitée), avec un ratio initial d'environ 3:1 dans les deux zones traitées. Le taux de contamination par les femelles était d'environ 0,1 % lors des lâchers sur le terrain.

Les résultats ont montré une réduction significative de la densité des femelles dans les zones traitées par rapport à la zone témoin (72,1 % zone TIIr et 35,2 % zone TII) et de la densité larvaire (80,3 % zone TIIr et 44,4 % zone TII). Aucune différence significative du taux d'infection par *wPip* dans la population cible n'a été observée entre les zones TIIr, TII et témoin. À noter toutefois la détection d'une larve transinfectée par *wPip* dans la zone TII, sur un échantillon de 49 larves. Une diminution significative de la population non-cible de *Culex quinquefasciatus* a été notée dans la zone TIIr, sans quantification précise.

Cette étude met en évidence une amélioration significative des résultats avec la TIIr par rapport à la TII classique. Cependant, plusieurs limitations sont à noter : la courte durée de

l'étude, l'absence de réplication, et le manque d'information sur l'impact environnemental du PPF malgré ses effets sur les populations de moustiques non-cibles (*Cx. quinquefasciatus*).

4.4.3 Essais visant la réduction des populations d'*Ae. polynesiensis*

4.4.3.1 Essais en conditions semi-naturelles

Chambers et al. (2011) ont évalué la TII pour le contrôle des populations d'*Ae. polynesiensis*, vecteur de la filariose lymphatique à Tahiti, en Polynésie (Chambers et al. 2011). Les auteurs ont utilisé des *Ae. polynesiensis* mâles transinfectés par une souche de *Wolbachia* du groupe B, issue d'*Ae. riversi* (C. L. Brelsfoard, Séchan et Dobson 2008). La séparation des sexes a été réalisée manuellement au stade adulte.

La compétitivité sexuelle des mâles incompatibles a été étudiée entre avril et juin 2009 dans des cages de 30,5 x 30,5 x 30,5 cm³, où 50 mâles adultes ont été mis en présence de 50 femelles vierges sauvages. Deux protocoles expérimentaux ont été mis en œuvre. Le premier protocole (expérience A) a comparé trois ratios (50:0, 25:25 et 0:50), avec quatre réplicats par condition répartis sur deux jours différents dans deux tentes distinctes. Le second protocole (expérience B) a évalué cinq ratios (50:0, 38:12, 25:25, 12:38 et 0:50) avec trois réplicats par condition sur trois jours différents.

Des analyses de la variance (test ANOVA) ont montré une diminution du taux d'éclosion des œufs, allant de 94 % à 99 %, inversement proportionnelle au nombre de mâles incompatibles relâchés. Dans l'expérience A, les taux d'éclosion étaient de 91 % pour le ratio 0:50, 51 % pour le ratio 25:25 et 1 % pour le ratio 50:0. Dans l'expérience B, les taux observés étaient de 72 % (0:50), 68 % (12:38), 44 % (25:25), 14 % (38:12) et 4 % (50:0).

Cette étude rigoureuse et bien documentée fournit des résultats solides et encourageants sur la compétitivité des mâles incompatibles et le potentiel de la TII pour réduire le taux d'éclosion des œufs d'*Ae. polynesiensis*.

4.4.3.2 Essais sur le terrain

O'Connor et al. (2012) ont évalué sur le terrain la compétitivité des moustiques mâles *Ae. polynesiensis* transinfectés par une souche de *Wolbachia* du groupe B issue d'*Ae. riversi*, ainsi que leur capacité de transmission horizontale de *Wolbachia*. La séparation des sexes a combiné un tri mécanique basé sur le dimorphisme sexuel des pupes et un tri manuel complémentaire au stade adulte (O'Connor et al. 2012).

Les lâchers ont été effectués sur trois motus⁴² (Tiano, Horea et Toamaro) en Polynésie française, sélectionnés pour leur petite taille, leur isolement et l'absence d'habitants. La caractérisation préalable des populations a révélé des densités inhabituellement élevées d'*Ae. polynesiensis*, cent fois supérieures aux sites continentaux adjacents. Une surveillance sur les trois sites a été réalisée pendant plus d'un an avant les lâchers.

À partir du 10 décembre 2009 et pendant trente semaines, le site Toamaro a reçu en moyenne 3 800 mâles incompatibles par semaine, représentant environ 37 % de la population mâle sauvage. Les sites Tiano et Horea ont servi de témoins.

L'évaluation de la compétitivité des mâles a été réalisée indirectement par le suivi du taux d'éclosion des œufs. La comparaison entre Toamaro et Horea a montré des taux similaires avant les lâchers (100 % et 98 % respectivement), une réduction significative pendant les

⁴² Un motu est un îlot corallien de faible altitude, généralement formé autour d'un lagon dans un atoll. Ce terme d'origine tahitienne désigne ces formations caractéristiques du Pacifique Sud, particulièrement présentes en Polynésie française. De nombreux motus entourent Tahiti et ses îles voisines, servant souvent de sites pour des hôtels de luxe, des excursions à la journée ou des espaces préservés pour la biodiversité locale.

lâchers (76 % et 93 %, soit 19 % de réduction), puis un retour à des taux comparables après les lâchers (97 % et 99 %).

L'impact sur le nombre de femelles adultes a été évalué selon un plan statistique BACIPS (*Before-After-Control-Impact-Paired-Series*). Les résultats ont montré une différence significative entre les périodes "avant" et "pendant" pour les comparaisons par paires de Toamaro avec Horea et Tiano. Aucune *Wolbachia* résiduelle n'a été détectée dans la population cible après les lâchers, démontrant que les mâles relâchés constituaient des "hôtes sans issue" pour *Wolbachia*.

Synthèse sur la mise en œuvre de la TII et de la TIS-TII pour le contrôle des moustiques *Aedes*

La TII utilisée pour le contrôle des moustiques *Aedes* a connu son premier déploiement sur le terrain en 2009 en Polynésie française. Depuis, les expérimentations se sont étendues à sept pays, couvrant aussi bien des régions où *Aedes* représente un risque sanitaire émergent (e.g. Italie, Chine, Australie, États-Unis), que des zones où les arboviroses sont endémiques (e.g. Taïwan, Pakistan). À noter que la Polynésie française reste le seul territoire ultramarin français à avoir publié des résultats de tels essais. Les expérimentations dans les zones endémiques se sont principalement limitées à des conditions semi-naturelles.

Si la majorité des déploiements s'est effectuée à petite échelle (quelques hectares⁴³), certains pays comme l'Australie et les États-Unis ont réalisé des essais plus ambitieux, atteignant plus de 200 ha. La technique a été appliquée sur les principales espèces d'*Aedes*, avec des essais ciblant aussi bien *Ae. albopictus* qu'*Ae. aegypti*, et même *Ae. polynesiensis* dans le contexte spécifique de la Polynésie française. La diversité se reflète également dans les souches de *Wolbachia* utilisées, avec une prédominance des souches *wAlbB* et *wPip* (issue de *Culex pipiens*), chacune étant spécifiquement adaptée à certaines espèces de moustiques. En effet, *Ae. albopictus* étant naturellement porteur des souches *wAlbA* et *wAlbB*, il est courant d'observer des essais avec des moustiques mâles transinfectés par *wPip* (J. W. Mains *et al.* 2016; Zeng *et al.* 2022). Toutefois, certaines publications rapportent des essais avec des *Ae. albopictus* débarrassés de leur symbiote naturel et transinfecté par *wPip* (Caputo *et al.* 2020). Les essais ciblant *Ae. aegypti* ont tous utilisé la souche *wAlbB* de *Wolbachia*, issue d'*Ae. albopictus*.

Concernant les techniques de sexage, la plupart des publications rapportent des systèmes de tri mécanique (tamis ou de type Fay-Morlan), automatisés ou non, exploitant le dimorphisme sexuel des pupes. Cette étape de séparation des pupes mâles et femelles, en raison du nombre trop important de femelles résiduelles en résultant, est quasi systématiquement suivie d'une étape de vérification manuelle (J.W. Mains *et al.* 2019; Caputo *et al.* 2020; O'Connor *et al.* 2012). Aux États-Unis, un système de tri multi-étapes permettant d'automatiser efficacement l'étape de sexage a été développé (Crawford *et al.* 2020).

En termes de protocole de lâchers, une grande diversité est à noter. En effet, si les lâchers sont toujours effectués avec des *Aedes* adultes, les dispositifs de lâchers peuvent aussi bien être disposés au sol par des agents chargés de libérer les moustiques à l'aide de contenants spécialisés et selon un maillage précis (Caputo *et al.* 2020), que depuis des immeubles (Lozano *et al.* 2022). Aux États-Unis, des lâchers par voitures équipées de dispositifs de libération automatisés par GPS (*Global Positioning System*) et minuterie ont été expérimentés (Crawford *et al.* 2020). La fréquence des lâchers varie d'une à sept fois par semaine, sur une durée moyenne de 17 semaines, en privilégiant les périodes de pic d'activité des populations cibles. Les fréquences les plus élevées sont observées dans le cas de dispositifs de lâchers mobiles et automatisés (Crawford *et al.* 2020) (Caputo *et al.* 2020).

Le ratio est considéré comme un paramètre majeur de la compétitivité des mâles incompatibles et donc du succès des interventions de TII (Bouyer, Maiga et Vreysen 2022). Une grande hétérogénéité est observée dans les publications retenues : les ratios annoncés par les auteurs sont tantôt des objectifs visés, tantôt des moyennes observées à différentes périodes, rendant difficile l'exploitation de cette information.

La combinaison de la Technique de l'Insecte Stérile avec la Technique de l'Insecte Incompatible (TIS-TII) est une approche récente, avec un premier essai sur le terrain documenté en 2015 en Chine. Cette stratégie est souvent adoptée comme une évolution

⁴³ 1 ha = 0,01 km².

d'essais initiaux de TII, l'irradiation étant ajoutée comme moyen de prévention contre les éventuels risques liés aux femelles résiduelles. À ce jour, seuls quatre pays ont expérimenté cette approche combinée : la Chine, le Mexique, Singapour et la Thaïlande, tous caractérisés par l'endémicité des arboviroses transmises par *Aedes*.

Les déploiements ont majoritairement été réalisés à petite échelle (quelques hectares), à l'exception de l'essai à Singapour qui a couvert plusieurs kilomètres carrés. Les interventions ont principalement ciblé *Ae. aegypti*, avec un seul essai sur *Ae. albopictus* en Chine. Comme pour la TII classique, les profils d'infection par *Wolbachia* sont divers et dépendent de l'espèce ciblée. La diversité des protocoles employés est accentuée par l'hétérogénéité des doses de rayonnement utilisées pour stériliser les éventuelles femelles résiduelles, celles-ci allant de 30 Gy (Lim *et al.* 2024a; Lim *et al.* 2024b) à 70 Gy (Kittayapong *et al.* 2019). Pour l'ensemble des études, cette étape de stérilisation intervient dans le protocole après une phase de séparation des pupes mâles et femelles.

Les interventions se caractérisent par des lâchers exclusivement réalisés au stade adulte, le plus souvent au sol, avec une fréquence d'une à trois fois par semaine sur une durée moyenne d'environ 17 semaines, couvrant la période d'activité des moustiques. Seule l'étude de Lim *et al.* (2024a) rapporte des lâchers depuis des immeubles. Cette publication est également la seule à rapporter des résultats relatifs à l'efficacité épidémiologique de la TIS-TII.

Le premier essai de TII renforcée (avec des moustiques imprégnés avec un insecticide, le PPF) sur le terrain identifié grâce à la revue systématique de la littérature a été réalisé en 2021 en Chine. Il fait suite aux essais de TIS-TII réalisés dans la même zone (Zheng *et al.* 2019).

L'ensemble de ces résultats est évalué au chapitre 5.

Tableau 7 : Synthèse des conditions de réalisation des essais de TII, de TIS-TII ou de TII renforcée dont les résultats sont publiés dans des revues avec comité de lecture

Référence	Lieu	Technique Souche de <i>Wolbachia</i>	Sexage	Surface zone d'étude	Réplica- tions	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
<i>Ae. aegypti</i>									
Liu WL <i>et al.</i> (2022)	Tainan, Taiwan	TII wAlbB	Non précisé	Cages de 80m ³	4	14 mois (avril 2019 – juin 2020)	/	/	3:1, 5:1, 10:1
Sarwar <i>et al.</i> (2022)	Lahore, Pakistan	TII wAlbB	Non précisé	Cages de 2,8m ³	3	3 mois (août – octobre 2016)	/	/	0:1, 1:1, 3:1, 1:0
Mains <i>et al.</i> (2019)	South Miami, USA	TII wAlbB	Fay-Morlan (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitée : 68,8ha Témoin : 68,8ha	1	26 semaines (janvier – juillet 2018)	Adultes, voiture	3 – 5 fois/semaine	7:1 visé
Crawford <i>et al.</i> (2020)	Californie, USA	TII wAlbB	Système Verily multi-étapes	Traitée : 293ha (3 zones) Témoin : non précisée (1 zone)	3	26 semaines (avril – décembre 2018)	Adultes, voiture automatisée	Quotidien	10 : 1
Beebe <i>et al.</i> (2020)	Nord Australie	TII wAlbB	Système Verily multi-étapes	Traitée : 44ha, 65ha et 85ha Témoin : 52ha, 48ha et 33ha	3	20 semaines (janvier – mai 2018)	Adultes, voiture	3 fois / semaine	5:1 à 30:1
Lozano <i>et al.</i> (2022)	Houston, USA	TII wAlbB	Non précisé	Traitée : 18,6ha Témoin : 29,6ha	1	2,5 mois (juin – août 2019)	Adultes, immeubles	3 fois / semaine	Non précisé
Kittayapon g <i>et al.</i> (2019)	Province de Chachoengs ao, Thaïlande	TIS-TII wAlbA et wAlbB ; 70 Gy	Fay-Morlan (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitée : 65ha Témoin : 52ha	1	6 mois (juin – décembre 2016)	Adultes, sol	1 fois / semaine	10:1 à 20:1
Martín- Park <i>et al.</i> (2022)	Yucatan, Mexique	TIS-TII	Fay-Morlan (pupes) + tri	Traitée : 50 ha Témoin : 30 ha	1	6 mois (juillet – décembre 2019)	Adultes, sol	2 fois / semaine	10:1

Référence	Lieu	Technique Souche de <i>Wolbachia</i>	Sexage	Surface zone d'étude	Réplica- tions	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
		wAlbB ; 45 Gy	manuel (adultes)						
Lim <i>et al.</i> (2024a et b) et Bansal <i>et al.</i> (2024)	Singapour	TIS-TII wAlbB ; 30- 40 Gy	Fay-Morlan (pupes) ou système Verily multi-étapes	Traitées : 350 ha, 500 ha, 60 ha, 120 ha² Témoin : non précisé	4	109 à 209 semaines selon les zones (juillet 2018 – juillet 2022)	Adultes, sol + immeubles	2 fois / semaine	Non précisé
<i>Ae. albopictus</i>									
Mains <i>et al.</i> (2016)	Lexington, USA	TII wPip	Fay-Morlan (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitée : 20 ha Témoin : non précisée	1	17 semaines (juin – octobre 2014)	Adultes, non précisé	2 fois / semaine	10 :1
Caputo <i>et al.</i> (2020)	Rome, Italie	TII wPip	Tamis (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitée : 2,7ha Témoin : 2,7 ha et 1ha	1	6 semaines (juin – août 2018)	Adultes, sol	1 fois / semaine	7 :10
Caputo <i>et al.</i> (2023)	Rome, Italie	TII wPip	Tamis (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitée : 2,7ha Témoin : 2,7ha et 1ha	1	7 semaines (juin – août 2019)	Adultes, sol	1 fois / semaine	11 :10
Zeng <i>et al.</i> (2022)	Guangzhou, Chine	TII wPip	Tri mécanique non précisé (pupes)	Traitée : 3,8 ha Témoin : 3,3 ha	1	3 mois (juillet – octobre 2020)	Adultes, sol	1 – 2 fois/semaine	2:1 puis 6:1
Zheng <i>et al.</i> (2019)	Guangzhou, Chine	TIS-TII wPip ; 45 Gy	Fay-Morlan (pupes) + tri manuel (adultes)	Traitées : 25 ha et 7,5 ha Témoin : non précisé	2	8 mois, sur 2 à 3 ans (mars à novembre 2015, 2016 et 2017)	Adultes, sol	3 fois / semaine	9:1 à 16:1
Li <i>et al.</i> 2024	Guangzhou, Chine	TII renforcée wPip ; 1g de PPF pour 45 000 moustiques	Fay-Morlan (pupes) + tri manuel (adultes)	TraitéeTII renforcée : 3 ha Traitée TII : 3 ha Témoin : 2 ha	2	11 semaines (23 août-1er novembre 2021)	Adultes, sol		3:1

Référence	Lieu	Technique Souche de <i>Wolbachia</i>	Sexage	Surface zone d'étude	Réplica- tions	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Ratio
<i>Ae. polynesiensis</i>									
Chambers <i>et al.</i> (2011)	Tahiti, Polynésie française	TII Souche du groupe B issue d' <i>Ae.</i> <i>riversi</i>	Manuel	Cages de 0,03 m ³	4	3 mois (avril-juin 2009)	/	/	50:0, 25 :25, 0:50
O'Connor <i>et al.</i> (2012)	Polynésie française	TII Souche du groupe B issue d' <i>Ae.</i> <i>riversi</i>	Tri mécanique non précisé (pupes) + tri manuel (adultes)	Non précisé	1	30 semaines (décembre 2009 – août 2010)	Adultes, sol	1 fois / semaine	0,37 :1

Légende : / = non renseigné dans l'article.

4.5 Mise en œuvre de la technique de remplacement pour le contrôle des pathogènes transmis par les moustiques *Aedes*

Parmi les publications retenues, 32 rapportent des résultats relatifs à l'efficacité de la technique de remplacement dont 30 sur le terrain et deux en conditions semi-naturelles. Ces essais ont uniquement ciblé *Ae. aegypti* et s'inscrivent le plus souvent dans des programmes de déploiement opérationnels (i.e. intégrés au système de lutte contre les arboviroses local). Ces programmes utilisent différentes souches de *Wolbachia*, la principale étant wMel, issue de *D. melanogaster*. Les souches wAlbB (issue d'*Ae. albopictus*) et wMelPop (issue de *D. melanogaster*) ont également été utilisées dans le cadre de certains essais.

4.5.1 Programmes utilisant la souche wMel

4.5.1.1 Exemple de l'Australie

Sept publications parmi celles retenues rendent compte de l'efficacité de lâchers de moustiques *Ae. aegypti* transinfectés par la souche wMel de *Wolbachia* en Australie. Les villes concernées par ces lâchers sont Cairns, Townsville, Yorkeys Knob et Gordonvale. Plus particulièrement les publications décrivent les études pilotes réalisées en périphérie de Cairns, puis les différentes études liées aux lâchers à grande échelle dans la ville.

Développement de la technique de remplacement à Yorkeys Knob et Gordonvale (Australie)

Hoffmann et al. (2011) ont mené une étude pilote utilisant la technique de remplacement chez *Ae. aegypti* dans deux localités près de Cairns, en Australie : Gordonvale et Yorkeys Knob. Cette région est caractérisée par des épidémies saisonnières de dengue. En amont de l'étude, une campagne d'engagement communautaire de deux ans a été menée, obtenant un soutien de 85 % de la population, suivie d'opérations de suppression des gîtes larvaires un mois avant l'intervention (Hoffmann et al. 2011).

Les lâchers hebdomadaires d'*Ae. aegypti* adultes transinfectés par la souche wMel de *Wolbachia* ont été effectués pendant 10 semaines consécutives à partir du 4 janvier 2011. Un total de 298 900 moustiques a été relâché (141 600 à Yorkeys Knob et 157 300 à Gordonvale), avec des quantités hebdomadaires variant entre 10 000 et 22 000 moustiques/semaine selon l'évolution de la prévalence de *Wolbachia* dans la population. La surface des zones concernées n'est pas précisée dans l'article.

Les résultats ont montré une augmentation significative des prévalences d'infection, atteignant 80 à 100 % à Yorkeys Knob et 90 % à Gordonvale après 10 semaines de lâchers. La dispersion occasionnelle à longue distance des moustiques a posé des défis pour contenir l'infection dans les zones ciblées.

Bien que l'étude montre un établissement réussi de *Wolbachia* dans les populations locales d'*Ae. aegypti*, celle-ci ne permet pas de vérifier la stabilité de l'envahissement à plus long terme en raison de sa courte durée. Par ailleurs, les éventuels coûts métaboliques associés à l'infection par *Wolbachia* pourraient être surestimés en raison d'une confusion entre les effets transitoires liés à l'élevage en laboratoire et les effets inhérents à l'infection. D'autre part, le modèle utilisé ne prend pas en compte les mouvements d'individus non infectés dans la population.

Hoffmann et al. (2014) ont ensuite étudié la stabilité de l'infection par wMel dans les populations d'*Ae. aegypti* de Yorkeys Knob et Gordonvale (Australie), deux à trois ans après les lâchers initiaux de 2011 (Hoffmann et al. 2014; Hoffmann et al. 2011). L'étude s'est déroulée sur 10 semaines entre janvier et avril/mai 2013. La surface des zones d'étude n'est pas précisée.

Le suivi entomologique a été réalisé par détection de *Wolbachia* chez des individus *Ae. aegypti* capturés grâce des pièges ciblant les femelles en recherche d'hôtes. L'analyse des résultats, fondée sur un modèle de dynamique des populations, a démontré une transmission maternelle quasi-parfaite de *wMel*, avec des intervalles de confiance supérieurs à 98 % en janvier et à 99 % en avril/mai. Les prévalences moyennes de *wMel* étaient de 94 à 95 %, malgré une légère baisse à 83 % début 2023 suivie d'une remontée à plus de 90 %.

L'étude démontre la stabilité à long terme de l'infection par *Wolbachia* (*wMel*) dans les populations d'*Ae. aegypti*, avec un maintien de taux d'infection élevés (>90 %) pendant plus de deux ans après les lâchers initiaux. Toutefois, la généralisation des résultats est limitée car l'étude n'est pas répliquée et a été menée dans un contexte géographique et climatique spécifique qui pourrait ne pas être représentatif d'autres zones de déploiement.

Développement de la technique de remplacement à Townsville (Australie)

O'Neill et al. (2018) ont conduit le premier déploiement à grande échelle de *wMel* chez *Ae. aegypti* à Townsville, en Australie, dans un contexte d'alternance entre cas importés et épidémies saisonnières de dengue associées à l'abondance de vecteurs en saison chaude et humide. Cette action du *World Mosquito Project*⁴⁴ (WMP) a impliqué un important engagement communautaire.

Les lâchers ont couvert une zone de 6 600 ha pendant 28 mois à partir d'octobre 2014. Les moustiques ont été relâchés au stade d'œufs à partir des seaux spécifiques (*Mosquito release container - MRC*) contenant 100 œufs chacun, renouvelés toutes les deux semaines. Les lâchers ont continué jusqu'à atteindre un seuil d'infection par *Wolbachia* de 50 %, considéré comme suffisant pour assurer l'invasion naturelle. Ce seuil a été atteint en sept à 19 semaines selon les localités, la prévalence continuant d'augmenter au-delà de 80 % après l'arrêt des lâchers. À noter que cinq quartiers ont nécessité des lâchers supplémentaires pour assurer l'établissement, possiblement en raison d'un stock important d'œufs non infectés qui auraient éclos progressivement. Au total, 4 millions de moustiques ont été relâchés (Scott L. O'Neill et al. 2018).

L'efficacité épidémiologique a été évaluée par une analyse de séries temporelles interrompues sur les notifications de cas de dengue entre 2000 et 2019. Les résultats de l'analyse par régression binomiale négative montrent une réduction significative de 95 % de l'incidence dans les zones traitées par rapport aux zones non traitées, après ajustement sur la saisonnalité et les cas importés. Malgré la poursuite des importations (54 cas après le programme contre 41 avant), les cas autochtones ont diminué significativement (de 94 à 4).

Cette étude démontre la faisabilité d'un déploiement de la technique de remplacement à grande échelle avec une bonne acceptabilité communautaire. Les points forts de l'étude incluent le suivi post-intervention sur quatre saisons de transmission. La principale limite est l'absence de zone témoin contemporaine de taille comparable, rendant difficile l'exclusion d'autres facteurs influençant la transmission de la dengue.

Ogunlade et al. (2023) ont analysé la situation pré- et post-lâchers à Townsville par modélisation de la dynamique de transmission de la dengue. Cette étude fait suite aux lâchers d'*Ae. aegypti* transinfectés par *wMel* réalisés entre octobre 2014 et février 2017 (28 mois) décrits par O'Neill et al. (2018). Avant les lâchers, des pics épidémiques saisonniers pouvaient être observés, le plus important ayant eu lieu en 2009 avec environ 50 cas mensuels (Ogunlade et al. 2023).

Les simulations réalisées par les auteurs indiquent une prévalence de *Wolbachia* supérieure à 90 % à la fin des lâchers, maintenue jusqu'en février 2019. Ce résultat est cohérent avec les observations de terrain à l'issue des lâchers, mais le modèle ne rend pas compte des variations temporelles réelles, possiblement dues à des facteurs non inclus dans le modèle comme la température et l'humidité.

L'impact épidémiologique a été évalué par une approche hybride combinant analyse avant/après et modélisation mathématique contrefactuelle sur les données 2001-2019. Le

⁴⁴ <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/work/about-us>

modèle estime une réduction de l'incidence de la dengue de 65 % entre octobre 2014 et février 2017 (pendant les lâchers) et de 99 % entre février 2017 et février 2019 (post-lâchers). Le taux de reproduction effectif ($R(t)$) est passé de 2,04 avant l'introduction de wMel à 0,55 deux ans après, indiquant une réduction de la transmission. Des cas importés ont continué à être observés.

Cette étude montre une réduction substantielle de l'incidence de la dengue après le déploiement de la technique de remplacement, malgré la persistance des cas importés. Les principales limites du modèle incluent la non-prise en compte des variations climatiques, l'utilisation d'un seul sérotype de DENV, et son applicabilité potentiellement limitée aux zones de forte endémicité compte tenu des paramètres du modèle. Les points forts comprennent la longue période d'observation (18 ans), l'approche contrefactuelle robuste, et la démonstration d'une efficacité entomologique durable post-lâchers.

Développement de la technique de remplacement à Cairns (Australie)

Schmidt et al. (2017) ont étudié la dynamique spatiale d'envahissement de wMel dans une population d'*Ae. aegypti* sur trois sites de lâchers espacés de 2 km à Cairns (Australie) : Edge Hill/Whitfield (EHW, 97 ha), Parramatta Park (PP, 52 ha) et Westcourt (WC, 11 ha). La région connaît des épidémies saisonnières de dengue. Une campagne de communication a précédé l'étude, mais les éventuelles interventions pré-lâchers ne sont pas précisées.

Des lâchers hebdomadaires d'adultes ont été effectués au sol pendant 15 semaines, du 10 janvier au 24 avril 2013. Un suivi entomologique par détection moléculaire de *Wolbachia* chez *Ae. aegypti* a été effectué pendant les lâchers et s'est poursuivi durant deux ans après l'arrêt des lâchers grâce à des pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte, placés dans les zones de lâchers et leur périphérie (Schmidt et al. 2017).

Dès l'arrêt des lâchers, l'infection par *Wolbachia* a atteint la fixation à des prévalences de 88 à 90 % dans les deux grandes zones (EHW et PP). Dans la petite zone (WC), la prévalence est restée inférieure à 70 % six mois après les lâchers avant de diminuer. L'analyse spatiale a révélé une propagation de *Wolbachia* suivant une vague progressive de 9 à 20 mètres par génération de moustiques. Selon les auteurs, l'échec à WC est expliqué par la taille trop petite de la zone de lâchers (11 ha), située en-dessous du seuil critique minimal théorique (52 ha) nécessaire pour l'établissement stable de *Wolbachia*. Dans les grandes zones (EHW et PP), une augmentation de la prévalence de *Wolbachia* a été observée, suggérant sa diffusion au-delà de la zone d'intervention.

Cette étude de bonne qualité montre qu'il est possible d'établir durablement wMel dans des zones urbaines non isolées, à condition que la zone de lâchers soit suffisamment grande. Le principal point fort de l'étude est son suivi sur deux ans avec une forte densité de pièges, permettant une analyse spatiale fine de la dynamique de dispersion, bien que l'absence de données épidémiologiques limite l'évaluation de l'impact sur la transmission des arboviroses.

Ryan et al. (2020) présentent une synthèse du déploiement de wMel chez *Ae. aegypti* dans 71 localités du Queensland du Nord, couvrant quatre régions entre 2011 et 2017. La plus grande zone était Cairns (4 640 ha, 35 899 foyers), suivie de Cassowary Coast (1 220 ha, 7 940 foyers), Douglas Shire (710 ha, 2 585 foyers) et Charters Towers (690 ha, 3 359 foyers).

Les méthodes de lâchers ont évolué : à Cairns, une combinaison initiale (en 2011) d'adultes (70/point) et d'œufs (75-150/conteneur) a été remplacée par des lâchers d'adultes uniquement à partir de 2016. Les trois autres régions ont fait l'objet de lâchers plus tardifs : Cassowary Coast entre mars et août 2017, avec des lâchers d'adultes et participation communautaire pour les œufs, Douglas Shire et Charters Towers entre octobre et décembre 2016, combinant lâchers d'adultes et d'œufs avec participation communautaire. La durée des lâchers variait de 8 semaines (Charters Towers, Douglas) à 16 semaines (certaines zones de Cassowary Coast), avec une fréquence hebdomadaire ou bi-hebdomadaire selon les zones (Ryan et al. 2020).

La proportion de moustiques transinfectés par *Wolbachia*, suivie hebdomadairement, a atteint 80 % après 12 semaines de lâchers et 92 % après 22 semaines, se maintenant au-dessus de 80 % pendant huit ans. L'analyse de série temporelle interrompue réalisée sur les données de

surveillance de la dengue entre 2000 et 2019 montre une réduction moyenne de 96 % de l'incidence de la dengue. À noter qu'entre 2000 et 2019, 2086 cas autochtones et 301 cas importés ont été recensés.

Cette étude démontre une réduction importante de l'incidence de la dengue avec maintien durable de *Wolbachia* dans la population d'*Ae. aegypti* ciblée. Le principal point fort est le suivi épidémiologique sur le long terme (2000-2019) et sur un large territoire (7 500 ha). Quelques limites mineures sont toutefois identifiées, telles que l'absence de zones témoins contemporaines et le faible nombre initial de cas de dengue, réduisant la puissance de l'analyse qui demeure significative.

Ross et al. (2022) ont également évalué la stabilité à long terme de *wMel* chez les moustiques *Ae. aegypti* à Cairns (Australie) et dans les villes alentour, suite aux lâchers réalisés entre 2011 et 2018. Les surfaces concernées ne sont pas précisées.

Entre 2016 et 2018, des échantillonnages annuels ont été effectués grâce à des pièges pondoires dans les zones de lâchers et leur périphérie. En 2018, la prévalence de *Wolbachia* était supérieure à 93 % dans toutes les zones traitées. Dans les zones périphériques, 5 à 21 % d'*Ae. aegypti* infectés ont été détectés, suggérant une progression de l'envahissement hors des zones traitées. Le suivi phénotypique a démontré l'absence de résistance à la tétracycline et le maintien de la densité bactérienne. La persistance de l'incompatibilité cytoplasmique et la compétitivité des moustiques transinfectés ont également été confirmées huit ans après les lâchers. Aucun indicateur épidémiologique n'a été suivi (Ross et al. 2022).

Cette étude présente un suivi entomologique sur dix ans et une approche multidimensionnelle combinant données de terrain, analyses phénotypiques et génomiques. La principale limite réside dans la spécificité géographique de la région de Cairns, où les conditions environnementales, notamment les températures élevées, pourraient affecter différemment la stabilité de l'infection par rapport à d'autres contextes.

En complément, **Sohail et al. (2024)** ont analysé les cas de dengue notifiés au système national australien entre janvier 2012 et décembre 2022, parallèlement aux données sur les déplacements des voyageurs. Sur 13 343 cas notifiés, 12 568 (94 %) étaient importés, 584 (4 %) autochtones et 191 (1 %) d'origine non enregistrée.

L'étude montre une nette diminution des cas autochtones, passant de 236 cas en 2013 à zéro en 2021 et 2022, malgré un nombre élevé d'importations (hors période COVID 2020-2021) (Sohail et al. 2024). Cette élimination des cas autochtones coïncide avec le déploiement de *Wolbachia* dans le nord du Queensland entre 2013 et 2019.

4.5.1.2 Exemple du Brésil

Déploiement de la technique de remplacement à Rio de Janeiro

Garcia et al. (2019) décrivent la première étude pilote avec la technique de remplacement à Tubiacanga (île du gouverneur, Rio de Janeiro), visant à évaluer l'établissement de *wMel* dans les populations d'*Ae. aegypti* sauvages. Une campagne de communication préalable a obtenu 87 % d'adhésion des communautés locales. Les surfaces des zones traitées ne sont pas précisées.

Les lâchers d'*Ae. aegypti* mâles et femelles transinfectés (dont le stade n'est pas précisé) ont été effectués en deux phases, avec des souches différentes. La première phase, qui a duré 20 semaines (septembre 2014 - janvier 2015) a utilisé la souche de moustique *wMelBr*, issue de 17 générations de rétrocroisements entre des moustiques importés d'Australie porteurs de *wMel* et des moustiques locaux introduits à hauteur de 10 % toutes les 5 générations. À l'issue de cette phase, la prévalence de *wMel* a atteint 65 % avant de chuter à 20 % cinq semaines après l'arrêt des lâchers. La seconde phase, de 24 semaines (août 2015 - février 2016) a utilisé la souche *wMelRio*, obtenue par rétrocroisement avec une souche locale résistante aux pyréthriinoïdes. Un an après l'arrêt des lâchers, la prévalence de *wMel* chez *Ae. aegypti* semblait stable et dépassait 85 % (Garcia et al. 2019).

Cette étude de bonne qualité identifie un facteur clé du succès de la technique de remplacement : la résistance aux insecticides utilisés localement et la proximité phénotypique entre les moustiques lâchés et sauvages. Elle démontre la faisabilité l'établissement durable de *Wolbachia* dans une population localisée, sans toutefois fournir de preuve d'efficacité épidémiologique.

Gesto et al. (2021b) ont évalué le déploiement de *wMel* dans une population d'*Ae. aegypti* sur l'île du gouverneur, à Rio de Janeiro, au Brésil, sur une surface de 4 000 ha divisée en deux zones : RJ1 et RJ2 dont les surfaces respectives ne sont pas précisées. Les lâchers hebdomadaires d'adultes de la souche *wMel*Rio résistante aux pyréthrinoides (Garcia et al., 2019) ont été effectués à partir de voitures ou de sac à dos entre août 2017 et mars 2020, en trois phases de huit à 22 semaines selon les sites.

Le suivi entomologique sur 131 semaines a révélé des prévalences de *wMel* de 55 à 65 % sur l'ensemble de la zone avec toutefois une hétérogénéité entre les deux zones (50 à 70 % dans RJ1, 30 à 60 % dans RJ2). À l'échelle du quartier, la prévalence de *wMel* était également très hétérogène avec des profils de dynamique très différents. L'analyse de corrélation a montré une faible association entre les dynamiques temporelles de prévalence de *wMel* dans RJ1 et RJ2, mais une corrélation plus forte entre méthodes de lâchers au sein d'une même zone, traduisant que la méthode de lâchers n'est probablement pas le principal facteur expliquant l'hétérogénéité des résultats. Les auteurs suggèrent que l'introduction de *wMel* a pu être freinée par l'interruption des lâchers due à des conflits locaux et d'autres facteurs environnementaux qui mériteraient d'être explorés (Gesto et al. 2021b).

L'étude montre la capacité de *wMel* à se propager dans une population d'*Ae. aegypti* sauvage, mais avec des niveaux de persistance hétérogènes après 131 semaines de lâchers. Le protocole appliqué semble pertinent, sans biais particulier identifié, mais l'absence d'analyse des facteurs pouvant expliquer l'hétérogénéité des résultats limite les conclusions sur l'ampleur et la stabilité de l'effet des lâchers.

Ribeiro Dos Santos et al. (2022) ont étudié le déploiement de la technique de remplacement utilisant des *Ae. aegypti* transinfectés par *wMel* à Rio de Janeiro sur 28 mois (août 2017 - décembre 2019). À noter qu'*Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* cohabitent dans la zone. Au Brésil, la dengue, le chikungunya et Zika sont endémiques, avec des épidémies saisonnières importantes tous les deux à cinq ans. Entre 2010 et 2019, la région avait enregistré en moyenne 28 327 cas de dengue par an et 14 426 cas de chikungunya par an entre 2016 et 2019. Pour la dengue, deux pics épidémiques importants ont été observés avec le début de l'intervention. Pour le chikungunya un seul pic épidémique d'ampleur modérée a été observé avant le début de l'intervention (Ribeiro Dos Santos et al. 2022).

L'étude couvrait cinq zones : une zone témoin (11 730 ha) et quatre zones de lâchers (8 680 ha au total). Environ 67 millions de moustiques adultes y ont été lâchés hebdomadairement depuis des voitures pendant 24 à 72 semaines selon la zone. À l'issue de ces lâchers, des lâchers d'œufs complémentaires ont été effectués dans les zones à faible prévalence de *Wolbachia* ou forte densité de population d'*Ae. aegypti*.

La prévalence de *wMel* a été suivie par détection moléculaire mensuelle (qPCR) chez des *Ae. aegypti* capturés à l'aide de pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte dans l'ensemble des sites traités. La prévalence de *Wolbachia* à l'issue de l'étude était de 33,8 % en moyenne, variant de 20 à 52 % selon les zones, avec des profils d'envahissement très divers. Selon les auteurs, le rôle d'*Ae. albopictus* dans cette dynamique d'envahissement mériterait d'être exploré.

Malgré cette prévalence hétérogène, l'analyse de série temporelle interrompues sur les cas géo-référencés d'arboviroses ont montré une réduction globale de 38 % de l'incidence de la dengue (sur la période 2010-2019) et de 10 % de l'incidence du chikungunya (sur la période 2016 – 2019). La modélisation de la dynamique de l'incidence des cas d'arboviroses en fonction de la prévalence de *Wolbachia* dans la population cible a montré une corrélation inverse entre prévalence de *Wolbachia* et incidence des arboviroses (Spearman's $r = 0,82$), avec une réduction significative dès 10-20 % de prévalence. Chaque augmentation de 10 %

de la prévalence serait associée à une réduction d'environ 15 % pour la dengue et 4 % pour le chikungunya.

Cette étude menée à grande échelle dans des conditions urbaines complexes, sur une période de plus de deux ans montre l'introduction de wMel suite à des lâchers d'*Ae. aegypti* transinfectés, mais de manière hétérogène et incomplète selon les zones. La stabilité de l'établissement n'est pas non plus complètement démontrée sur la période étudiée, avec des variations saisonnières et spatiales importantes. Par ailleurs cette étude présente plusieurs limites. Le modèle spatio-temporel utilisé ne tient pas compte des déplacements potentiels des personnes et des vecteurs, pouvant entraîner un biais dans les résultats. De plus, la surveillance du chikungunya a commencé en 2016, soit seulement environ 1,5 an avant le début de l'intervention. Cette période pré-intervention courte pourrait limiter la robustesse de la période de référence pour cette maladie. Une période d'observation plus longue post-intervention permettrait de mieux tenir compte des variations cycliques des épidémies de dengue et de chikungunya. Enfin, il est à noter que l'étude utilise un protocole observationnel qui ne permet pas de contrôler tous les facteurs de confusion potentiels. Ainsi, la faible prévalence de *Wolbachia* rapportée dans l'article semble difficilement compatible avec des réductions de 38 % de l'incidence de la dengue et de 10 % de l'incidence du chikungunya uniquement liées à l'intervention.

Déploiement de la technique de remplacement à Niterói

Gesto et al. (2021a) ont mené, après une phase de communication et d'engagement des communautés locales, une étude pilote à Jurujuba (Niterói, Rio de Janeiro) sur 253 ha divisés en sept zones. Des œufs d'*Ae. aegypti* (souche wMelRio) ont été lâchés toutes les deux semaines à partir de containers pendant 8 à 31 semaines selon les zones, entre août 2015 et janvier 2017.

Le suivi de la prévalence de wMel jusqu'en décembre 2019 par détection moléculaire mensuelle a montré qu'à la fin des lâchers (4 à 334 jours après arrêt des lâchers selon les zones), 60 à 90 % des individus étaient porteurs de la bactérie. Malgré l'hétérogénéité des profils d'envahissement de wMel entre les zones, des prévalences supérieures à 80 % se sont maintenues trois ans après l'arrêt des lâchers. Des tests de « challenge viral » ont confirmé l'inhibition des virus de dengue et Zika dans la salive des moustiques wMelRio capturés (Gesto et al. 2021a).

Cette étude, ne présentant pas de limite particulière, montre la capacité de wMel à s'établir dans des populations d'*Ae. aegypti* sauvages suite au déploiement de la technique de remplacement. Toutefois, les facteurs expliquant les variations de prévalences de wMel entre les zones ne sont pas explorés.

Pinto et al. (2021) ont évalué l'efficacité du déploiement de la technique de remplacement sur 35 mois (février 2017 - décembre 2019) à Niterói (13 500 ha), incluant le quartier de Jurujuba précédemment étudié (Gesto et al., 2021a). La ville a été divisée en cinq zones : une zone témoin (5 125 ha) et quatre zones de lâchers (4 000 ha au total). Une stratégie de communication et d'engagement communautaire a été mise en place avant les lâchers (Pinto et al. 2021).

Les lâchers hebdomadaires d'adultes wMelRio ont duré 10 à 16 semaines selon les zones à partir de février 2017. Un à deux lâchers supplémentaires ont été faits jusqu'en décembre 2019 dans les zones restant sous le seuil de 40 % de prévalence de wMel après trois événements de surveillance consécutifs, mesurés au moins quatre semaines après la fin des lâchers. Ce seuil a été estimé par Hoffmann et al. (2011) comme la prévalence au-delà de laquelle l'invasion de wMel peut se produire. Onze mois après l'arrêt des lâchers, l'établissement était hétérogène, variant de 40 % à plus de 80 % selon les zones. Selon les auteurs, cette hétérogénéité pourrait s'expliquer par le mode de lâchers en voiture, moins homogène que les lâchers au sol, et par les variations de température affectant la transmission maternelle et l'incompatibilité cytoplasmique (Ross, Turelli et Hoffmann 2019; Mancini et al. 2021). Toutefois, ils ne vérifient pas ces hypothèses dans leur étude.

L'efficacité épidémiologique a été évaluée, pour chaque zone de lâchers par rapport à la zone témoin, par analyse de séries temporelles interrompues basées sur les données de notification des cas suspects et confirmés géo-référencés de dengue (entre janvier 2007 et juin 2020), de chikungunya et de Zika (entre janvier 2015 et juin 2020), soit huit à 37 mois après l'arrêt des lâchers, issues du système national de surveillance (SINAN) du Brésil. Une régression binomiale négative a été utilisée pour modéliser les cas mensuels de dengue, chikungunya et Zika, en tenant compte de la taille de la population et de la variabilité saisonnière de l'incidence des maladies. Sur l'ensemble de la zone traitée, les auteurs ont estimé des réductions significatives de 69 % et 56 % de l'incidence de la dengue et du chikungunya respectivement. Une réduction non significative de 37 % de l'incidence du Zika a été observée. À noter que les piégeages sur le terrain ont été interrompus en mars 2020 en raison de la pandémie de Covid-19.

Cette étude à grande échelle montre l'établissement de wMel suite au déploiement de la technique de remplacement avec des niveaux variables, sans exploration des facteurs de succès et d'échec de l'intervention. Il est donc difficile de donner une conclusion globale quant à l'ampleur et la stabilité de l'effet des lâchers réalisés. Les principales limites de l'étude épidémiologique incluent l'absence de randomisation et la durée post-intervention variable selon les zones. Pour le Zika, l'analyse des cas notifiés est compromise car 91 % des cas (7 532 sur 8 247) sont survenus avant l'intervention. Aucune estimation fiable de l'impact épidémiologique de l'intervention sur le Zika n'est possible.

4.5.1.3 Exemple de l'Indonésie

Six publications parmi celles retenues rendent compte de l'efficacité de lâchers de moustiques *Ae. aegypti* transinfectés par la souche wMel de *Wolbachia* en Indonésie. Plus particulièrement, les publications décrivent les études pilotes réalisées en périphérie de Yogyakarta, puis les différentes études liées aux lâchers à grande échelle dans la ville. Aujourd'hui la technique de remplacement est totalement opérationnelle à Yogyakarta pour lutter contre la dengue.

Développement de la technique de remplacement à Yogyakarta (Indonésie)

Tantowijoyo et al. (2020) ont étudié les premiers déploiements de wMel dans quatre localités près de Yogyakarta (Java) : Kronggahan (61 ha), Nogotirto (26 ha), Jomblangan (29 ha) et Singosaren (18 ha). La dengue y est endémique avec des pics en saison des pluies, une séroprévalence élevée (68 %) chez les enfants de 1-10 ans et *Ae. aegypti* comme vecteur principal.

Dans le district de Sleman, les lâchers bi-hebdomadaires d'*Ae. aegypti* adultes depuis le sol ont duré 20 semaines, de janvier à mai 2014. Dans le district de Bantul, les lâchers hebdomadaires d'œufs à partir de containers ont duré 24 semaines, de Novembre 2014 à Mai 2015. Des campagnes de communication et de suppression des gîtes larvaires ont précédé les lâchers.

Afin de suivre la prévalence de *Wolbachia* dans les populations de moustiques ciblées, des analyses par PCR ont été effectuées sur des moustiques collectés grâce à des pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte ou issus d'œufs collectés à l'aide de pièges pondoires. Malgré une variabilité initiale, la prévalence a dépassé 80 % dans tous les sites de lâcher six mois après l'arrêt des lâchers, se maintenant à des niveaux allant de 80 à 90 % jusqu'à trois ans après. Aucune différence n'a été observée selon le stade de lâcher.

Cette étude bien contrôlée sur trois ans démontre l'établissement durable de wMel en zone tropicale, avec une bonne acceptation communautaire documentée par un système de gestion des incidents.

Indriani et al. (2020) ont évalué l'impact de lâchers d'*Ae. aegypti* transinfectés par wMel à Yogyakarta (422 732 habitants) sur 490 ha (64 600 habitants, sept villages) avec une zone témoin de 307 ha (33 500 habitants, trois villages) éloignée de 5 km.

Des œufs d'*Ae. aegypti* ont été lâchés à l'aide de dispositifs de libération d'œufs toutes les deux semaines pendant sept mois (août 2016 à mars 2017), soit 13 à 15 fois par site. À la fin des lâchers, la prévalence de *wMel* atteignait 80 % dans la population cible. Celle-ci s'est maintenue à 96-100 % deux ans après les lâchers (Indriani *et al.* 2020).

Sur le plan épidémiologique, l'analyse des séries temporelles interrompues des cas confirmés de dengue entre mars 2016 et septembre 2019 a montré une réduction significative de 73 % de l'incidence dans la zone d'intervention (34 cas contre 53 en zone témoin) sur 24 mois, atteignant 76 % après 6 mois supplémentaires d'observations.

Cette étude pilote, bien conçue, fournit une preuve de l'efficacité épidémiologique de la technique de remplacement en zone endémique, avec une zone témoin appropriée et une analyse épidémiologique robuste.

Indriani *et al.* (2023) ont analysé les séries temporelles des notifications mensuelles de dengue hémorragique à Yogyakarta entre janvier 2006 et mai 2022. Les données ont été analysées selon le niveau de traitement par *wMel* (zones entièrement traitées, partiellement traitées, non traitées) et les quintiles de prévalence observés.

Sur les 24 zones de 100 ha étudiées (Utarini *et al.* 2021), 12 ont reçu *wMel* initialement, les 12 autres ayant été traitées 6 mois après l'essai, soit entre octobre 2020 et janvier 2021. Cette phase complémentaire de lâchers n'est pas décrite dans la publication (Indriani *et al.* 2023).

L'analyse par régression binomiale négative a montré une réduction de l'incidence de la dengue hémorragique de 83 % dans les zones entièrement traitées par rapport aux zones non traitées. La relation dose-réponse suivante a été observée : 76 à 78 % de réduction de l'incidence pour des prévalences de *wMel* comprises entre 60 et 80 %, et 80 et 100 % respectivement contre 57 % pour des prévalences comprises entre 20 et 40 %.

Cette étude d'excellente qualité vient compléter l'ensemble des publications décrivant l'effet du déploiement de la technique de remplacement à Yogyakarta en illustrant la relation entre prévalence de *wMel* *Wolbachia* et réduction de l'incidence de la dengue.

Utarini *et al.* (2021) ont mené un essai randomisé à Yogyakarta sur 2 600 ha (311 700 habitants), divisés en 24 clusters de 100 ha : 12 traités et 12 témoins. Les lâchers bimensuels d'œufs d'*Ae. aegypti* porteurs de *wMel* réalisés à partir de dispositifs de libération d'œufs ont duré 10 mois de mars à décembre 2017, avec neuf à 14 lâchers par cluster.

La prévalence médiane mensuelle de *wMel* détectée chez des moustiques capturés à l'aide de pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte était de 96 % durant les 27 mois de l'étude (Utarini *et al.* 2021).

L'efficacité épidémiologique a été évaluée dans le cadre d'une étude cas-témoin entre janvier 2018 et mars 2020 sur 6 306 patients recrutés (2 905 en zone traitée, 3 401 en zone témoin). Les critères d'inclusion étaient : fièvre > 37,5°C depuis 1 à 4 jours, âge de 3 à 45 ans, résidence dans la zone d'étude pendant 10 jours avant l'apparition des symptômes. L'ensemble des patients a été testé directement (RT-PCR) ou indirectement (ELISA) pour confirmer leur statut vis-à-vis de la dengue et déterminer le sérotype concerné pour les patients viropositifs. L'infection a été confirmée pour 67 cas (2,7 %) en zone traitée contre 318 (9,4 %) en zone témoin, représentant une efficacité protectrice de 77 % sans différence selon le sérotype. Les hospitalisations dues à la dengue ont également été réduites de 86 % (13/2 905 dans la zone traitée contre 102/3 401 dans la zone témoin).

Cette étude randomisée montre l'efficacité épidémiologique de la technique de remplacement de manière robuste, couplée à un établissement stable de *wMel* dans la population cible d'*Ae. aegypti*. Bien qu'une contamination progressive des zones témoin par *Wolbachia* ait été observée en fin d'étude, l'analyse per-protocole prenant en compte les mouvements de population de moustiques et humaine a donné des résultats similaires à l'analyse en intention de traiter, démontrant l'absence de biais lié à ce phénomène.

Tantowijoyo *et al.* (2022) ont évalué si les résultats d'Utarini *et al.* (2021) pourraient s'expliquer par d'autres facteurs que la seule réduction de la compétence vectorielle induite par *Wolbachia*. Pour cela, les auteurs ont suivi : i) l'abondance relative d'*Ae. aegypti* et

d'*Ae. albopictus* avant, pendant et après l'introduction de wMel ; et ii) les phénotypes de résistance aux insecticides d'*Ae. aegypti* au cours de la première et de la deuxième année suivant le déploiement de wMel (Tantowijoyo *et al.* 2022).

Ainsi, entre mars 2015 et mars 2020, 478 254 *Ae. aegypti* et 17 623 *Ae. albopictus* ont été capturés grâce à un réseau de pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte.

La régression binomiale négative à effets mixtes effectuée a révélé que l'abondance d'*Ae. aegypti* est restée stable avant, pendant et après les lâchers dans les zones traitées et témoins avec en moyenne 8,5 spécimens capturés par piège. Pour *Ae. albopictus*, le nombre moyen de spécimens capturés par piège oscillait entre 0,26 et 0,31, sans différence significative selon la période et la zone.

Par ailleurs, les populations d'*Ae. aegypti* des zones traitées et témoins présentaient des profils de résistance similaires au malathion, à la perméthrine et à la cyfluthrine.

Cette étude de bonne qualité montre que le déploiement de la technique de remplacement n'a pas eu d'effet sur la densité des populations d'*Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*. Par ailleurs, elle suggère que ni l'abondance des *Aedes*, ni les profils de résistance aux insecticides des moustiques n'étaient des facteurs confondants dans l'étude d'Utarini *et al.* (2021).

Dufault *et al.* (2022) ont analysé les liens spatio-temporels entre les 385 cas confirmés de l'étude d'Utarini *et al.* (2021), l'objectif étant d'observer l'impact du déploiement de la technique de remplacement sur l'observation de cas groupés de dengue autour de cas primaires. L'analyse spatio-temporelle (régression logistique complétée par une méthode de permutation), effectuée sur 27 mois (janvier 2018 à mars 2020), a montré que parmi les 385 cas de dengue confirmés virologiquement, 67 (17 %) résidaient en zone traitée et 318 (83 %) en zone témoin. Les résultats montrent également l'absence de regroupement spatio-temporel parmi 53 cas de dengue confirmés dans les zones traitées par wMel. En effet, sur les 12 sites traités, six ne présentaient aucune paire de cas homotypiques (i.e. de même sérotype). En zone témoin, un regroupement spatial jusqu'à 300 m a été démontré parmi 265 cas, les paires de cas situés à moins de 50 m et 30 jours d'intervalle ayant 4,7 fois plus de chances d'être homotypiques que les paires de cas survenant à n'importe quelle autre distance. Ces résultats suggèrent une transmission locale active du virus, où des cas proches dans l'espace et le temps sont plus susceptibles d'être liés épidémiologiquement. Selon les auteurs, l'introduction de wMel dans les populations d'*Ae. aegypti* permettrait donc de limiter les cas de transmission de dengue à partir d'un cas primaire et ainsi de réduire non seulement l'incidence globale mais également la taille des foyers (Dufault *et al.* 2022).

L'analyse de l'article de **Dufault *et al.* (2024)** souligne que l'essai primaire (Utarini *et al.*, 2021), qui a permis une réduction de l'incidence de la dengue de 77,1 % pour les participants résidant dans des zones randomisées où les lâchers de wMel *Aedes aegypti* ont été effectués, est susceptible de sous-estimer l'ensemble des bénéfices de l'intervention pour la santé publique (Dufault *et al.* 2024). En effet, l'exposition des personnes à *Wolbachia* a été estimée dans l'essai primaire à l'échelle de clusters et non pas des individus, et ce, sans prendre en compte la mobilité de personnes dans les différentes zones. En utilisant des données spatio-temporelles sur la distribution des moustiques avec wMel et la mobilité des participants ($n = 6\,306$), cette étude réévalue à l'échelle des individus l'efficacité épidémiologique de l'intervention à 82,7 % [IC 95 % 71,7 - 88,4], en comparant les participants ayant un indice d'exposition à wMel ≥ 80 % par rapport à ceux dont l'exposition était <20 %. Cette efficacité épidémiologique est supérieure à celle rapportée dans l'analyse primaire montrant une réduction de 77,1 % [65,3 - 84,9].

Ces études (Indriani *et al.*, 2020 et 2023 ; Utarini *et al.*, 2021 ; Tantowijoyo *et al.*, 2022 ; Dufault *et al.*, 2022 et 2024) démontrent comment les mouvements des humains et des moustiques peuvent conduire à une sous-estimation des effets de l'intervention et indiquent que l'efficacité protectrice de wMel est encore plus élevée que celle rapportée dans les résultats de l'essai primaire.

Les travaux d'**Edenborough *et al.* (2024)** constituent une étude rétrospective associée à l'essai randomisé en grappes qui a été menée à Yogyakarta, Indonésie, en 2018-2020 par

Utarini et al (2021), lors duquel des moustiques *Ae. aegypti* transinfectés par la souche de *Wolbachia* wMel ont été lâchés, conduisant à une réduction significative de l'incidence de la dengue confirmée virologiquement (pour les quatre sérotypes). Edenborough *et al.*, séquençant 318 génomes du virus de la dengue de cas détectés à Yogyakarta lors de l'étude d'Utarini *et al.* (2021) pour caractériser la diversité génétique des souches du DENV circulant lors de l'essai, ainsi que pour évaluer les effets de l'intervention en fonction du génotype du virus. L'analyse phylogénomique de toutes les séquences de DENV a révélé une co-circulation de six génotypes de DENV endémiques en Indonésie : DENV-1 génotypes I et IV, DENV-2 Cosmopolitan (majoritaire), DENV-3 génotype I, et DENV-4 génotype II, ainsi qu'un génotype récemment importé, DENV-4 génotype I (Edenborough *et al.* 2024). Les auteurs démontrent un effet protecteur de wMel, vis-à-vis des six génotypes détectés à Yogyakarta ; point fort de la technique dans les régions hyper-endémiques. Il faut toutefois noter que l'estimation de l'ampleur de cet effet protecteur par sérotype présente des limites pour les sérotypes qui ont moins circulé lors de la période d'étude. En effet, les échantillons sont faibles: DENV-1 génotype IV (*major lineage* C, n = 15 ; 4,7 %) and DENV-4 génotype I (*major lineage* A, n = 5 ; 1,6 %), comparativement aux autres. Ce qui ne permet pas de faire des analyses statistiques correctes. Enfin, l'étude met en lumière une transmission du DENV très localisée autour des maisons dans les zones non traitées par wMel, ainsi qu'une interruption quasi-totale de la transmission par wMel dans les zones traitées.

4.5.1.4 Exemple de la Colombie

Deux publications parmi celles retenues rendent compte de l'efficacité de lâchers de moustiques *Ae. aegypti* transinfectés par la souche wMel de *Wolbachia* en Colombie. Les villes concernées par ces lâchers sont Bello, Medellín et Itagüí. Après un déploiement progressif de la technique de remplacement, celle-ci est utilisée de manière opérationnelle dans la région de Medellín.

Développement de la technique de remplacement à Bello, Medellín et Itagüí (Colombie)

Velez *et al.* (2023a) ont réalisé l'un des plus importants déploiements de wMel dans une population d'*Ae. aegypti* sur sept ans dans trois villes colombiennes, couvrant 13 500 ha (3,3 millions d'habitants). Les lâchers se sont déroulés en trois phases : une phase pilote (juin 2015 – décembre 2016) dans le quartier de Paris à Bello (Colombie), une première phase de lâchers à grande échelle à Bello (mai 2018 - avril 2019) et Medellín (octobre 2018 - octobre 2019), puis une phase d'extension des lâchers à Itagüí (août 2019 - novembre 2020) (Velez *et al.* 2023a).

Les lâchers à grande échelle ont couvert 30 sites de 100 à 700 ha et ont été répliqués une à 12 fois par ville. Six sites à Medellín ont fait l'objet d'une étude épidémiologique cas-témoin, avec trois zones témoin de 200 à 1 100 ha, traitées seulement entre février et avril 2022. Les lâchers hebdomadaires d'adultes ont été effectués depuis des voitures (pour les lâchers à grande échelle) ou à pied (pour les lâchers pilotes à Bello). Dans neuf communes, des lâchers hebdomadaires à partir de dispositifs de libération d'œufs de moustiques ont complété le protocole.

Lors de l'étude à grand échelle, entre octobre 2016 et novembre 2017, une première tentative avec une souche sensible à la perméthrine a montré une faible efficacité, avec seulement quatre zones sur les 30 présentant une prévalence de wMel comprise entre 60 et 80 %, les 26 autres atteignant 20 à 45 %. Dans l'ensemble des zones, six mois après l'arrêt des lâchers, la prévalence de wMel a chuté à moins de 25 %. Une seconde tentative (octobre 2018-octobre 2019) avec une souche résistante à la perméthrine a permis d'atteindre des prévalences de wMel supérieures à 60 % dans 67 % des zones traitées. Les prévalences finales étaient de 81 à 96 % à Bello (29 mois post-lâchers), 18 à 98 % à Medellín (33 à 36 mois post-lâchers), et 64 à 92 % à Itagüí (20-27 mois post-lâchers). Les prévalences de *Wolbachia* dans la population cible sont très hétérogènes et ne permettent pas de rendre compte de la stabilité de son établissement. Aucune variation significative de la densité des populations d'*Ae. aegypti* n'a été observée au cours de l'étude.

Cette étude compile des données de surveillance entomologique obtenues pendant huit ans dans trois villes suite au déploiement de la technique de remplacement sur de grandes surfaces, montrant des prévalences de *wMel* élevées jusqu'à trois ans après l'arrêt des lâchers dans certaines zones. Bien qu'elle mette en évidence l'importance de lâchers des *Aedes* transinfectés résistants aux insecticides utilisés localement pour le succès de l'introduction de *Wolbachia*, elle n'explore pas les facteurs expliquant l'hétérogénéité des résultats observés.

Velez et al. (2023b) ont évalué l'efficacité épidémiologique de la technique de remplacement telle que décrite par Velez et al. (2023a). À noter que la Colombie est caractérisée par une forte circulation de la dengue et des épidémies fréquentes et de grande ampleur. En effet, entre janvier 2008 et décembre 2017 (i.e. avant les lâchers de moustiques), 60 896 cas de dengue ont été notifiés au système national de surveillance dans les trois villes (Bello : 5 569 cas correspondant à 378 cas pour 1 000 habitants ; Medellín : 47 212 cas, 20 pour 1 000 ; Itagüí : 8 115 cas, 777 pour 1 000) (Velez et al. 2023b).

L'étude cas-témoin menée à Medellín de mai 2019 à décembre 2021 (i.e après la phase de déploiement de la technique de remplacement) a porté sur 725 patients (351 en zones traitées, 374 en zones témoin), avec interruption d'avril 2020 à janvier 2021 due au COVID-19. Les cas ont été confirmés par RT-qPCR et ELISA et les possibles co-infections ont également été recherchées. Les résultats ont été analysés par régression logistique. Sur l'ensemble des participants, 23 cas de dengue confirmés virologiquement (VCD) ont été identifiés, dont huit dans la zone d'intervention contre 15 dans la zone témoin, montrant une réduction non significative de 45 % de l'incidence. En considérant les cas confirmés et suspects (i.e. 38 cas), 13 provenaient de la zone traitée contre 25 de la zone témoin, révélant une réduction significative de 47 %. Une analyse par sérotype, réalisée pour la DENV-1 montre une réduction non significative de 57 % des cas confirmés par rapport aux zones témoins. Les trois zones traitées avec des moustiques *wMel* ont été classées parmi les 10 zones avec la plus faible incidence de la dengue depuis 2019, ce qui n'était pas le cas avant les déploiements de *Wolbachia* (période 2010-2017).

L'analyse des séries temporelles des cas de dengue notifiés à l'Institut National de la Santé de Colombie entre 2008 et 2023 révèle une réduction significative de l'incidence de la dengue après l'introduction de *Wolbachia* dans les trois villes. À Bello, l'incidence est passée de 145 cas pour 100 000 personnes-années en période pré-intervention à 6,4 cas en période de traitement complet, soit une réduction de 95 %. À Medellín, l'incidence a diminué de 181 à neuf cas pour 100 000 personnes-années, représentant également une réduction de 95 %. À Itagüí, la baisse a été la plus marquée, passant de 300 à sept cas pour 100 000 personnes-années, soit une réduction de 97 %. Ces réductions substantielles ont été observées après l'établissement stable de *Wolbachia* à une prévalence supérieure à 60 % dans les populations d'*Ae. aegypti* locales, et se sont maintenues sur plusieurs saisons de transmission.

Les deux analyses complémentaires effectuées par les auteurs montrent un impact épidémiologique de la technique de remplacement en comparant d'une part une zone traitée avec une zone témoin et d'autre part en intégrant une analyse avant/après traitement. Cet impact épidémiologique est observé dès 60 % de prévalence de *wMel* dans la population d'*Ae. aegypti* cible. Des limites sont toutefois à noter. Bien que l'étude cas témoin suggère une réduction de l'incidence de la dengue, la petite taille de l'échantillon limite la robustesse des résultats, ne permettant pas d'observer un effet significatif sur l'incidence des cas confirmés. Quant à l'analyse de séries temporelles utilisée, elle ne permet pas de distinguer les cas autochtones des cas importés, pouvant masquer l'efficacité réelle de l'intervention localement. Par ailleurs celle-ci ne prend pas en compte les facteurs climatiques, pouvant masquer des effets confondants. Toutefois, la longue période d'observation post-intervention (environ six ans) permet de limiter ce phénomène.

Calle-Tobón et al. (2024) examinent la prévalence et la distribution de l'infection par la souche *wMel* de *Wolbachia* chez les moustiques *Ae. aegypti* à Medellín, en Colombie. Cette étude fait suite à des lâchers de moustiques transinfectés par *wMel* entre 2017 et 2022 et a donc été menée deux ans après les lâchers. Ces lâchers ont été conduits dans 19 communes de Medellín, soit à partir de véhicule, soit à partir de points fixes, et les nombres de moustiques

lâchés ont été hétérogènes. Des échantillons ont été collectés entre août et octobre 2023 à l'aide de 416 ovitraps répartis dans 19 communes de Medellín. Sept-cent-soixante-quatorze (774) femelles *Ae. aegypti* ont été identifiées et regroupées en 182 lots (comprenant entre un et cinq moustiques) des 19 communes de Medellín. Même si cette méthode a été validée pour établir l'absence de relation entre la taille du pool et la probabilité de détection, il est noté que des données au niveau individuel seraient plus précises. La détection de *Wolbachia* a été réalisée par PCR et les taux d'infection ont été estimés par des méthodes statistiques (*Maximum Likelihood Estimation* - MLE et approche bayésienne) (Calle-Tobón *et al.* 2024).

Wolbachia wMel a été détectée dans 33,5 % des lots, avec un taux d'infection estimé entre 9,5 % et 33,2 %. Une distribution hétérogène de l'infection a été observée, avec des foyers plus importants dans le nord-est et le sud-ouest de la ville. Comparée aux résultats rapportés pour la période 2021 - 2022 (Velez *et al.* 2023a), la prévalence de *Wolbachia* a diminué. Ainsi, les résultats suggèrent que la prévalence de *Wolbachia* diminue depuis la fin des lâchers et ceci pourrait être expliqué par des facteurs environnementaux et locaux, ainsi que par les limitations rencontrées lors des lâchers. En effet, divers facteurs ont pu contribuer à cette variabilité, notamment le nombre total cumulé de lâchers de moustiques plus faible dans certaines zones dû à l'hétérogénéité des caractéristiques du paysage qui ont limité l'accès des véhicules de lâchers de moustiques.

4.5.1.5 Exemple de l'Océanie (Fiji, Kiribati, Vanuatu)

Simmons *et al.* (2024) rapportent le déploiement de la technique de remplacement dans trois îles du Pacifique : Fiji, Vanuatu et Kiribati. Ce déploiement est une émanation du WMP. La finalité est la lutte antivectorielle contre *Ae. aegypti* dans un contexte sanitaire de type épidémique. La méthode consiste à lâcher des moustiques adultes transinfectés par wMel (produits par rétrocroisements entre la lignée australienne transinfectée et les populations cibles respectives). Au total, 37 zones de lâchers et d'échantillonnages (découpage arbitraire) sont documentés dans différentes régions des trois îles. Les lâchers sont en général hebdomadaires et se poursuivent jusqu'à ce que la prévalence de wMel dépasse 50 % pendant deux échantillonnages successifs, soit entre deux et cinq mois (C.P. Simmons *et al.* 2024).

Les échantillonnages se sont poursuivis avec un, deux, voire trois ans après l'arrêt des lâchers. Les prévalences varient souvent entre dates et les lieux, mais montrent néanmoins un maintien de wMel après les lâchers dans la grande majorité des zones étudiées. La souche wMel de *Wolbachia* s'est établie durablement dans les populations locales d'*Ae. aegypti*, en particulier dans les régions les plus peuplées des trois îles. La souche wMel s'est largement déployée dans 22 sites sur 23, dépassant 75%, voire 80% dans les zones les plus peuplées de Fidji. A Port Vila, Vanuatu, sur les 12 sites, 9 ont montré un établissement de wMel supérieur à 80%, voire atteignant 95% dans 5 sites, un site a atteint 60% de wMel dans la population cible et dans deux sites wMel ne s'est pas établi sans raison claire. À Kiribati, les lâchers n'ont été faits que dans deux sites dû au nombre insuffisant d'*Ae. aegypti* infectés par le wMel libérés par rapport à l'abondance des moustiques sauvages. Sur ces deux sites, wMel s'est établi à plus de 85 % dans la population cible d'un site et à 55 % dans l'autre site avec des différences géographiques importantes puisqu'à l'ouest de ce site (proche de l'autre site), les niveaux atteignaient 50 à 100 %, alors qu'à l'est wMel ne dépassait pas 32 %. L'impact épidémiologique est discuté avec une possible réduction des cas confirmés de dengue et de chikungunya, mais l'interaction avec la pandémie de Covid19 et la nature épidémique des maladies à virus dans ces régions empêchent d'émettre des conclusions claires.

Pour l'évaluation de l'établissement de wMel, cette opération ne présente pas de limite méthodologique invalidante. Les lâchers sont correctement planifiés et répétés (pas de vagues supplémentaires) et la durée de suivi est suffisante pour documenter le maintien de wMel. L'absence d'établissement dans certaines zones est mal comprise.

Lin *et al.* (2024) ont exploré l'efficacité du déploiement par drone de moustiques *Ae. aegypti* infectés par la bactérie wMel *Wolbachia*. L'objectif principal de l'étude est d'évaluer la faisabilité et l'efficacité d'une telle méthode en comparaison aux méthodes terrestres, en

termes de dispersion, de survie des moustiques et d'établissement de l'infection à *Wolbachia* dans la population cible.

Deux essais de terrain ont été menés aux îles Fidji (Nakasi et Nausori) pour comparer le lâcher de moustiques par drone avec les méthodes traditionnelles au sol :

- essai 1 (2018, Nakasi, 100 ha) : comparaison entre lâchers aériens et au sol avec suivi du taux de recapture des moustiques. Les lâchers de moustiques transinfectés par *wMel* et marqués avec des poudres fluorescentes ont été menés chaque semaine pendant quatre semaines ;
- essai 2 (2019, Nausori, 200 ha) : mesure de la propagation de *wMel* dans une population locale par des lâchers aériens uniquement. Les lâchers de moustiques transinfectés par *wMel* et marqués avec des poudres fluorescentes ont été menés chaque semaine pendant 4,5 mois avec une interruption de cinq semaines dans les premiers mois.

Des pièges BG (Biogents) ont été utilisés pour évaluer la dispersion et la survie des moustiques et des analyses de la longévité, de la fertilité et du taux de transmission de *Wolbachia* ont été effectuées (Lin *et al.* 2024).

L'essai 1 a montré que 87 % des points de largage ont été réussis par drone contre 100 % au sol. Les largages aériens ont montré une efficacité similaire en termes de recapture et de dispersion des moustiques, bien que des pannes mécaniques aient temporairement interrompu le programme. Quant à l'essai 2 permettant d'estimer l'établissement de *wMel*, il montre qu'un an après l'arrêt des lâchers, la souche transinfectée était toujours présente à hauteur de 60 % dans la population locale.

4.5.2 Programmes utilisant la souche *wAlbB*

Nazni *et al.* (2019) ont étudié les lâchers d'*Ae. aegypti* porteurs de *wAlbB* dans six sites du grand Kuala Lumpur (Malaisie) pendant 20 semaines, de mai 2017 à janvier 2018. Selon les auteurs, la souche *wAlbB* a été choisie pour sa meilleure tolérance aux températures élevées. Les sites, sélectionnés pour leur historique de dengue sur quatre ans, incluaient différents types d'habitat : bâtiments de grande hauteur (18 étages), immeubles, bâtiments de 4-5 étages, mélange de commerces et appartements, terrasses et maisons individuelles. Il est important de noter qu'*Ae. aegypti* a été collecté dans des ovitraps jusqu'au 18ème étage.

Les moustiques, issus de quatre générations de rétrocroisement avec des populations locales, présentaient des profils de résistance aux insecticides similaires aux populations cibles. Suite à une campagne de communication auprès des communautés locales, des lâchers hebdomadaires d'adultes ont été effectués à pied depuis le sol, puis tous les trois étages dans les immeubles. Des lâchers depuis des dispositifs de libération d'œufs de moustiques ont été faits dans un centre commercial (Nazni *et al.* 2019).

La surveillance entomologique, démarrée quatre semaines après le début des lâchers, a révélé une prévalence de *wAlbB* supérieure à 80 % dans tous les sites après 8 semaines. Douze mois après, elle restait à 98 % à Mentari Court et dépassait 95 % dans les autres zones malgré des fluctuations dans les profils de dynamique d'envahissement.

Sur le plan épidémiologique, l'étude rapporte une réduction de l'incidence de la dengue dans les sites où des lâchers ont eu lieu par rapport aux sites témoins. En effet, un modèle de série temporelle bayésien basé sur les résultats de surveillance passive des cas de dengue de 2013 à 2019 a estimé une réduction moyenne significative des cas de dengue de 40,3 %, avec des intervalles de confiance de 5 % à 65 %, sur l'ensemble des sites d'intervention. Le nombre de cas avant traitement des sites avec les lâchers de *wAlbB* oscillait autour de 30 à plusieurs centaines de cas (jusqu'à 400 cas) par semaine selon les sites. Après interventions, le nombre de cas chute dans un intervalle de zéro à 100 cas hebdomadaires maximum selon les sites. Toutefois, l'intervalle de confiance associé est très large, rendant incertaine l'estimation de

l'ampleur de l'effet. Cela s'explique en partie par le fait qu'*Ae. aegypti* pique pendant la journée et que la dengue peut donc être contractée pendant un déplacement, en dehors du lieu de la zone traitée. Toutefois, les auteurs expliquent que de nettes diminutions de l'incidence des cas de dengue ont été observées entre les sites d'intervention et les sites témoins. Par ailleurs, les auteurs ajoutent que l'introduction de *wAlbB* a réduit les cas de dengue à un point tel que la pulvérisation d'insecticide par les autorités sanitaires locales n'était plus considérée comme nécessaire.

Cette étude montre l'efficacité de la technique de remplacement utilisant la souche *wAlbB* pour réduire l'incidence de la dengue en Malaisie, avec des dynamiques d'établissement de *Wolbachia* variables selon les sites de lâcher, alors qu'une bonne persistance de la bactérie dans la population cible a été démontrée. Les principales limites méthodologiques de l'étude résident dans le système de surveillance passive des cas la présence d'*Ae. albopictus* non ciblé par l'intervention, qui pourrait intervenir dans la transmission de la dengue et un large intervalle de confiance dans l'estimation de l'effet de l'intervention sur l'incidence ne permettent pas de tirer de conclusion quant à l'ampleur de l'effet. Les points forts de l'étude comprennent un plan expérimental robuste avec des sites témoins appariés, une analyse statistique sophistiquée, et la démonstration de l'efficacité de *wAlbB* dans des conditions de températures élevées (températures maximales quotidiennes dépassant 36 °C) où d'autres souches comme *wMel* pourraient être moins performantes.

Cheong et al. (2023) ont approfondi l'étude de Nazni et al. (2019) à Mentari Court (90 267 m², sept immeubles de 18 étages). Les lâchers hebdomadaires d'adultes transinfectés par *wAlbB* ont été effectués en octobre 2017 pendant 20 semaines dans les parkings et tous les trois étages.

Le suivi par détection moléculaire de *wAlbB* chez des *Ae. aegypti* adultes issus d'œufs collectés sur le terrain par pièges pondoirs s'est poursuivi jusqu'en avril 2021, avec une fréquence décroissante (mensuelle au départ à semestrielle en fin d'étude). L'étude a permis de montrer : (i) que les moustiques transinfectés par *Wolbachia* présentaient une prévalence d'infection élevée quatre ans après les lâchers (> 80 %) ; (ii) des effets mineurs des étages et des blocs sur la prévalence de *wAlbB* avec une prévalence relativement plus élevée au huitième étage (100 %) et une invasion plus lente dans les aires de parking comparée aux aires résidentielles ; (iii) l'indice *Ae. albopictus* (i.e le pourcentage de pièges positifs) était plus abondant dans les parkings, tandis qu'*Ae. aegypti* était plus fréquent dans le bloc résidentiel (bâtiments de grande hauteur) et il n'y avait pas de changement dans l'indice *Ae. aegypti* entre 2017 et 2021 (Cheong et al. 2023).

Hoffmann et al. (2024) ont évalué le programme de lutte contre la dengue utilisant des *Ae. aegypti* transinfectés par *wAlbB* dans la région de Kuala Lumpur, en Malaisie (2017-2023). L'étude couvrait 20 zones résidentielles totalisant 3 000 ha de zones de lâcher et témoin (Hoffmann et al. 2024).

Les lâchers hebdomadaires d'œufs et d'adultes mâles et femelles (10 moustiques/logement) ont continué jusqu'à atteindre 80 % de prévalence pendant trois mois consécutifs. La prévalence moyenne finale était de 82 % avec des variations allant de 56 à 96 % selon les zones. L'analyse épidémiologique montre une réduction moyenne de 62,4 % des cas de dengue post-intervention, atteignant 75,8 % dans les zones où *wAlbB* est fixée dans la population (i.e. sa prévalence atteint 100 %).

Bien que la nature opérationnelle de l'étude ait empêché la randomisation des sites, cette étude démontre de manière rigoureuse l'efficacité de *wAlbB* pour réduire la transmission de la dengue en contexte épidémique avec des ressources limitées.

4.5.3 Programmes utilisant *wMelPop*

Walker et al. (2011) ont comparé l'envahissement des souches *wMel* et *wMelPop-CLA* transinfectées chez *Ae. aegypti* dans le Queensland (Australie), dans des cages semi-

naturelles dont la taille n'est pas précisée. Les lâchers quotidiens pendant six jours comprenaient 120 nymphes de chaque sexe avec un ratio de 2:1 en faveur des transinfectés. Pour wMel, les lâchers réalisés entre avril et juin 2010 ont entraîné une fixation à des prévalences supérieures à 90 % atteintes en 30 jours et 80 jours dans les cages B et A respectivement. Pour wMelPop-CLA, les lâchers réalisés entre novembre 2009 et mars 2010 ont entraîné une augmentation de prévalence plus lente, atteignant la fixation en 40 jours dans la cage B et 80 % après 80 jours dans la cage A. Selon les auteurs, la prédation par des geckos dans la cage B a accéléré l'invasion (Walker *et al.* 2011).

Par ailleurs, les moustiques porteurs de wMel présentaient 1 500 fois moins de virus DENV-2 que les témoins, avec 12,5 % de dissémination contre 82,6 %. Les niveaux étaient encore plus bas avec wMelPop-CLA (4 logs de réduction).

Enfin, la souche wMel a causé une réduction d'environ 10 % de la longévité des femelles, tandis que la souche wMelPop-CLA a entraîné une réduction de plus de 40 % par rapport à des moustiques non infectés. L'impact de l'infection par *Wolbachia* sur la fitness d'*Ae. aegypti* est donc fonction des conditions environnementales, mais aussi de la souche utilisée, wMelPop-CLA ayant un coût plus important que wMel.

Cette étude de grande qualité montre que wMelPop-CLA a un coût métabolique plus important que wMel chez *Ae. aegypti*, pouvant expliquer les différences de dynamique d'envahissement entre les deux souches. L'étude est limitée aux différences potentielles entre conditions semi-naturelles et naturelles et l'utilisation d'un seul sérotype de dengue pour observer l'interférence avec le pathogène.

Nguyen *et al.* (2015) décrivent l'introduction de la souche wMelPop de *Wolbachia* dans des zones endémiques pour la dengue, en Australie et au Vietnam. L'étude a démarré en janvier 2012 dans 2 sites du nord de l'Australie (Machans Beach – 47 ha, 430 résidences et Babinda – 118 ha, 390 résidences) et s'est poursuivie à Tri Nguyen au Vietnam (20 ha, 850 résidences) (Nguyen *et al.* 2015).

En Australie, à Babinda, 15 lâchers hebdomadaires d'adultes (mâles et femelles en proportions similaires, 13-28 individus/maison) ont été effectués pendant quatre mois. À Machans Beach, une première phase similaire a été suivie, après six semaines d'interruption, d'une seconde phase en saison sèche avec des lâchers en majorité de mâles. À Babinda, la prévalence de *Wolbachia* a rapidement augmenté pour atteindre 70 à 90 % mais est tombée sous 10 % 41 semaines après l'arrêt des lâchers. À Machans Beach, l'augmentation a été plus lente, atteignant au maximum 80 %, avant de chuter à 30 %. La seconde phase de lâchers a permis d'atteindre 90 % avant un nouveau déclin.

Au Vietnam, les lâchers ont été précédés d'une tentative de suppression de la population locale. Les lâchers de pupes (mâles et femelles) ont commencé en avril 2013 et ont duré 23 semaines, à raison de 20 pupes/maison/semaine, augmentés à 40 après sept semaines. La prévalence a atteint 30 % en 3-5 semaines, puis 70 % aux semaines 10-20, culminant à 90 %. Après l'arrêt des lâchers, elle est tombée sous 20 % en 20 semaines.

Cette étude illustre l'échec de l'établissement de la souche wMelPop de *Wolbachia* suite au déploiement de la technique de remplacement dans deux pays différents.

Synthèse sur la mise en œuvre de la technique de remplacement pour le contrôle des pathogènes transmis par les moustiques *Aedes*

La technique de remplacement ciblant des populations d'*Aedes* et visant l'introduction et l'établissement d'une souche de *Wolbachia* capable d'induire des interférences avec les principaux agents pathogènes transmissibles par ces moustiques (i.e. dengue, chikungunya et Zika) a connu son premier déploiement sur le terrain en 2011 en Australie, pays où elle a été initialement développée. Depuis, cette approche s'est étendue à plusieurs autres pays (e.g. Brésil, Colombie, Indonésie, Malaisie, Vietnam), tous caractérisés par leur endémicité pour la dengue. La grande majorité des déploiements de cette technique se font dans le cadre du *World Mosquito Program*. La technique de remplacement se distingue par son passage rapide de la phase expérimentale à son déploiement dans la majorité des pays l'ayant testée. Seules les études réalisées en Indonésie ont mis en œuvre un design expérimental robuste à grande échelle (Indriani *et al.* 2020; Utarini *et al.* 2021).

L'ampleur des déploiements constitue une caractéristique notable de cette approche, avec des surfaces d'intervention atteignant jusqu'à 13 500 ha dans certains cas comme en Colombie (Velez *et al.* 2023a). Le déploiement de cette technique s'est concentré exclusivement sur *Ae. aegypti*, reflétant une stratégie ciblée sur le vecteur principal de la dengue dans les zones d'intervention. Il est toutefois à noter qu'*Ae. albopictus* peut également s'avérer être un vecteur efficace d'arbovirus dans ces zones (cf. chapitre 2).

La souche wMel de *Wolbachia*, issue de *D. melanogaster*, domine largement dans les protocoles sur le terrain, bien que la souche wAlbB, issue d'*Ae. albopictus*, ait également été utilisée, notamment en Malaisie, pour sa plus grande résistance aux fortes températures par rapport à wMel. Cela démontre l'importance d'adapter le choix de la souche aux objectifs visés et aux conditions locales. La souche wMelPop semble quant à elle moins utilisée en raison de son coût métabolique important pour *Ae. aegypti* (Ritchie *et al.* 2015).

Contrairement aux autres techniques, la technique de remplacement implique le lâcher délibéré de moustiques mâles et femelles (cf. chapitre 3) et ne nécessite donc pas de sexage. Une autre particularité significative de cette approche réside dans la diversité des stades de développement auxquels les moustiques sont lâchés : si le stade adulte reste prédominant, des interventions ont également exploité les lâchers d'œufs (O'Neill *et al.* 2018), voire une combinaison œufs/adultes (Tantowijoyo *et al.* 2020; Ribeiro Dos Santos *et al.* 2022). Cette diversité se reflète également dans les dispositifs de lâcher utilisés, allant de containers fixes au sol (O'Neill *et al.* 2018) aux lâchers depuis des véhicules (Gesto *et al.*, 2021b) ou des étages d'immeubles (Cheong *et al.* 2023), chaque méthode présentant ses propres avantages logistiques et opérationnels. Les lâchers d'œufs présentent l'avantage de la facilité de stockage et de transport. Par ailleurs, ce système de lâcher peut paraître moins invasif et être mieux accepté par les populations humaines locales (Indriani *et al.* 2020). Toutefois, il est plus difficile de maîtriser le nombre d'adultes qui émergeront, leur dispersion et le ratio mâles : femelles. Dans la plupart des cas, les lâchers sont réalisés une fois par semaine. Certains articles rapportent toutefois des lâchers quotidiens (Walker *et al.* 2011) ou bimensuels (O'Neill *et al.* 2018 ; Utarini *et al.* 2021). De plus, plusieurs études ont montré que cette technique ne nécessiterait pas la continuation des lâchers et serait auto-entretenu lorsque wMel (Garcia *et al.*, 2019 ; Gesto *et al.* 2021a ; Tantowijoyo *et al.*, 2020) ou wAlbB (Hoffmann *et al.* 2024; Cheong *et al.* 2023; Nazni *et al.* 2019) s'est établi dans la population cible. Enfin, il est à noter que la majorité des publications portant sur la technique de remplacement rapportent à la fois des indicateurs d'efficacité entomologiques et épidémiologiques.

L'ensemble de ces résultats est évalué au chapitre 5.

Tableau 8 : Synthèse des conditions de réalisation des essais avec la technique de remplacement utilisée pour le contrôle d'*Aedes aegypti*

Référence	Lieu	Surface zones d'étude	Contexte épidémio	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Durée surveillance épidémio et méthode d'analyse
wMel							
Hoffmann <i>et al.</i> (2011)	Australie (Yorkeys Knob et Gordonvale)	Non précisé	Non endémique	Janvier à mars 2011 (10 semaines)	Adultes, sol	1 fois / semaine	Non évalué
Hoffmann <i>et al.</i> (2014)	Australie (Yorkeys Knob et Gordonvale)	Non précisé	Non endémique	/	/	/	Non évalué
Schmidt <i>et al.</i> (2017)	Australie (Cairns)	EHW: 97 ha, PP: 52 ha, WC: 11 ha	Non endémique	Janvier à avril 2013 (15 semaines)	Adultes, sol	1 fois / semaine	Non évalué
O'Neill <i>et al.</i> (2018)	Australie (Townsville)	6 600 ha	Non endémique	Octobre 2014 à 2017 (28 mois)	Dispositif de libération d'œufs de moustiques	2 fois / semaine	2000-2019; Série temporelle
Ogunlade <i>et al.</i> (2023)	Australie (Townsville)	6 600 ha	Non endémique	/	/	/	2001-2019; Série temporelle
Ryan <i>et al.</i> (2020)	Australie (Queensland)	7 500 ha	Non endémique	/	/	/	2000-2019; Série temporelle
Ross <i>et al.</i> (2022)	Australie (Queensland)	Non précisé	Non endémique	/	/	/	Non évalué
Sohail <i>et al.</i> (2024)	Australie	Non précisé	Non endémique	/	/	/	2012-2022; Série temporelle
Garcia <i>et al.</i> (2019)	Brésil (Rio de Janeiro)	Non précisé	Endémique	Phase 1: 20 semaines Phase 2: 24 semaines	Adultes, sol	Non précisée	Non évalué
Gesto <i>et al.</i> (2021b)	Brésil (Rio de Janeiro)	4 000 ha	Endémique	3 phases de 8 à 22 semaines (2017 à 2020)	Adultes, voiture et sol	1 fois / semaine	Non évalué
Ribeiro <i>et al.</i> (2022)	Brésil (Rio de Janeiro)	Traitée: 8 680 ha, Témoin: 11 730 ha	Endémique	2017 à 2019 (28 mois)	Adultes, sol Dispositif de libération d'œufs de moustiques	1 fois / semaine	2010-2019; Série temporelle

Référence	Lieu	Surface zones d'étude	Contexte épidémi	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Durée surveillance épidémi et méthode d'analyse
Gesto <i>et al.</i> (2021a)	Brésil (Niterói)	253 ha	Endémique	2015 à 2017 (8 à 31 semaines)	Dispositif de libération d'œufs de moustiques	2 fois / semaine	Non évalué
Pinto <i>et al.</i> (2021)	Brésil (Niterói)	Traitée: 4 000 ha, Témoin: 5 100 ha	Endémique	2017 à 2019 (35 mois)	Adultes, sol	1 fois / semaine	2007-2020; Série temporelle
Tantowijoyo <i>et al.</i> (2020)	Indonésie (Yogyakarta)	18 à 61 ha	Endémique	2014 à 2015 (20 à 24 semaines)	Adultes et œufs	1 à 2 fois / semaine	Non évalué
Indriani <i>et al.</i> (2020)	Indonésie (Yogyakarta)	Lâcher: 490 ha, Témoin: 307 ha	Endémique	2016 à 2017 (7 mois)	Dispositif de libération d'œufs de moustiques	2 fois / semaine	2016-2019; Série temporelle
Utarini <i>et al.</i> (2021)	Indonésie (Yogyakarta)	2 600	Endémique	2017 (10 mois)	Dispositif de libération d'œufs de moustiques	2 fois / semaine	2018-2020; RCT
Dufault <i>et al.</i> (2022)	Indonésie (Yogyakarta)	/	Endémique	/	/	/	2018-2020; Analyse spatiale
Indriani <i>et al.</i> (2023)	Indonésie (Yogyakarta)	/	Endémique	/	/	/	2006-2022; Série temporelle
Tantowijoyo <i>et al.</i> (2022)	Indonésie (Yogyakarta)	Non précisé	Endémique	/	/	/	Non évalué
Edenborough <i>et al.</i> (2024)	Indonésie (Yogyakarta)	Non précisé	Endémique	/	/	/	Non évalué
Dufault <i>et al.</i> (2024)	Indonésie (Yogyakarta)	Non précisé	Endémique	Non applicable	/	/	2018-2020 ; Analyse spatio-temporelle
Velez <i>et al.</i> (2023a)	Colombie (Bello, Medellin et Itagui)	13 500 ha	Endémique	2015 à 2020	Adultes, voiture Dispositif de libération d'œufs de moustiques	1 fois / semaine	Non évalué
Velez <i>et al.</i> (2023b)	Colombie (Bello, Medellin et Itagui)	/	Endémique	/	/	/	2008-2023; Cas-témoin et série temporelle

Référence	Lieu	Surface zones d'étude	Contexte épidémiologique	Date et durée de lâcher	Méthode de lâcher (stade et dispositif)	Fréquence de lâcher	Durée surveillance épidémiologique et méthode d'analyse
Calle-Tobón <i>et al.</i> (2024)	Colombie (Medellin)	37 620 ha	Endémique	/	/	/	Août-Oct 2023 : 9,5% à 33,2% prévalence de wMel chez <i>Ae. aegypti</i>
Simmons <i>et al.</i> (2024)	Polynésie (Fidji, Vanuatu, Kiribati)	Fidji : 11 640 ha Vanuatu : 3 807 ha Kiribati : 530 ha	Epidémique	2018-2019 (2 à 5 mois selon les sites)	Fidji et Vanuatu : adultes Kiribati : Dispositif de libération d'œufs de moustiques et adultes	/	Série temporelle Fidji : 2018-2021 Vanuatu : 2018-2020 Kiribati : 2018-2022
Lin <i>et al.</i> (2024)	Polynésie (Fidji)	Non précisé	Epidémique	Avril 2019 à sept 2019	Adultes lâchés par Drone	1 fois / semaine	Épidémiologie non évaluée Établissement de wMel après la fin des lâchers : 71,4% (5 semaines après) et 58,6% (un an après)
wAlbB							
Nazni <i>et al.</i> (2019)	Malaisie (Kuala Lumpur)	Non précisé	Endémique	2017 à 2018 (20 semaines)	Adultes, sol et immeubles Dispositif de libération d'œufs de moustiques	1 fois / semaine	2013-2019; Série temporelle
Cheong <i>et al.</i> (2023)	Malaisie (Mentari Court)	9 ha	Endémique	2017 (20 semaines)	Adultes, sol et immeubles	1 fois / semaine	Non évalué
Hoffmann <i>et al.</i> (2024)	Malaisie (Kuala Lumpur)	3 000 ha	Endémique	2017 à 2023	Adultes, sol Dispositif de libération d'œufs de moustiques	1 fois / semaine	Série temporelle
wMelPop							
Walker <i>et al.</i> (2011)	Australie (Queensland)	Non précisé	Non endémique	6 jours	/	Quotidien	Non évalué
Nguyen <i>et al.</i> (2015)	Australie et Vietnam	Australie : 47 à 118 ha Vietnam : 20 ha	Non endémique	4 à 23 semaines	Adultes, non précisé Pupes, non précisé	1 fois / semaine	Non évalué

Légende : / = non renseigné dans l'article.

Synthèse sur le bilan des essais

La revue systématique de la littérature réalisée par les experts du GT « TIS-TII » permet de dégager des éléments de comparaison entre les différentes approches qui font l'objet de la saisine et d'apprécier certains facteurs de succès et d'échec des techniques, devant faire l'objet d'une attention particulière lors de la conception de protocoles d'essais. En raison d'un manque de documentation de ces facteurs dans les publications retenues, ils n'ont toutefois pas fait l'objet d'une analyse approfondie. Cette synthèse s'est appuyée sur les 63 publications retenues, portant sur des expérimentations réalisées dans 25 pays et territoires à travers le monde.

Les techniques objets de la saisine présentent des niveaux d'aboutissement et de couverture géographiques variables. La technique de l'insecte stérile, approche la plus ancienne (premier essai réalisé sur *Aedes albopictus* en 2004 (Bellini *et al.* 2007)), a été testée dans 15 pays et territoires, principalement en Europe. La technique de remplacement, bien que plus récente (premier essai documenté en 2011 (Hoffmann *et al.* 2011)), a connu un passage rapide à l'échelle opérationnelle et est aujourd'hui déployée dans plusieurs pays où les virus de la dengue, du chikungunya et de Zika sont responsables d'épidémies de grandes ampleurs plus ou moins fréquentes. Depuis 2020, il s'agit de la seule technique de LAV dont la pertinence dans la lutte contre la dengue a été reconnue par le groupe consultatif de l'OMS sur la LAV (OMS 2021). La technique de l'insecte incompatible (TII) a été expérimentée dans sept pays, tandis que le TIS-TII (TII combinée à la technique de l'insecte stérile-TIS) reste moins répandue avec quatre pays l'ayant expérimentée, dont Singapour où des résultats épidémiologiques prometteurs ont été rapportés (Lim *et al.* 2024a et b). Les approches TIS et TII renforcées sont les plus récentes et les moins documentées, avec un seul essai de TII renforcée publié en 2024 (Y. Li *et al.* 2024) et un seul sur la TIS renforcée en 2025 (Bouyer *et al.* 2025).

À noter que les déploiements conduits dans certains pays (e.g. Brésil, Indonésie, Chine, Mexique) font l'objet de publications portant sur plusieurs des techniques objet de la saisine. Cela pose la question de l'articulation des différentes techniques sur un même territoire et de la gouvernance de la LAV sur ces territoires.

Les essais ont majoritairement ciblé deux espèces d'*Aedes* reconnues préoccupantes pour la santé publique : *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti*. La TIS et la TII ont été appliquées aux deux espèces, avec une prédominance des essais sur *Ae. albopictus* pour la TIS et une répartition plus équilibrée pour la TII. La technique de remplacement s'est concentrée exclusivement sur *Ae. aegypti* en raison de son statut de vecteur principal dans les zones endémiques pour la dengue. Seule la TII a fait l'objet d'essais sur *Ae. polynesiensis* en Polynésie française.

La superficie des zones traitées varie considérablement selon les techniques. Les essais de TIS et de TII ont généralement été conduits sur des zones de petite taille, de moins de 100 ha, avec de rares exceptions comme l'essai réalisé en Californie par Crawford *et al.* (2020) sur presque 300 ha. La technique de remplacement a rapidement atteint des superficies de plusieurs kilomètres carrés, comme à Yogyakarta (2 600 ha) en Indonésie (Utarini *et al.*, 2021), à Rio de Janeiro (8 680 ha) au Brésil (Ribeiro Dos Santos *et al.*, 2022) et jusqu'à 13 500 ha en Colombie (Velez *et al.*, 2023a), reflétant l'opérationnalisation de la technique à l'échelle de villes entières, voire de mégapoles.

Les protocoles de lâcher diffèrent fondamentalement entre les techniques, reflétant leurs objectifs distincts et leurs mécanismes d'action spécifiques : alors que la TIS, la TII et leurs variantes visent principalement la suppression des populations de moustiques en vue de réduire l'incidence des arboviroses transmises par *Aedes*, la technique de remplacement cherche à le faire en modifiant la compétence vectorielle de la population entière d'*Aedes*. Par ailleurs, les deux premières techniques nécessitent des lâchers répétés d'un très grand nombre de moustiques, contrairement à la technique de remplacement qui est auto-entretenu (après établissement de la souche de *Wolbachia* dans la population de

moustique ciblée). Ces différences majeures de fonctionnement peuvent expliquer certaines différences de protocole.

Les techniques visant la suppression des populations d'*Aedes* reposent sur des lâchers exclusivement de mâles, les femelles pouvant compromettre l'efficacité des techniques et contribuer aux nuisances et aux risques sanitaires (cf. Chapitre 3). Les lâchers sont réalisés principalement depuis le sol, avec un maillage devant permettre une couverture homogène du territoire traité (Bellini *et al.* 2013b; Caputo *et al.* 2020). Des innovations récentes incluent les lâchers par drone expérimentés par Bouyer *et al.* (2020b) au Brésil et les systèmes automatisés de lâcher par voiture déployés par Crawford *et al.* (2020) en Californie.

Les lâchers sont hebdomadaires dans la plupart des cas et s'étalent sur des périodes de plusieurs mois, coïncidant généralement avec les pics d'activités des moustiques sauvages. La fréquence et la période de lâcher sont importantes pour maintenir un ratio suffisant, assurer la possibilité des accouplements entre les moustiques lâchés et les femelles sauvages et éviter les phénomènes de compensation démographique. Ces derniers dépendent fortement de la densité de la population sauvage (cf. § 2.1.5).

En ce qui concerne la technique de remplacement, une variété de stades et de dispositifs ont été utilisés pour les lâchers, incluant des lâchers d'adultes depuis le sol (Garcia *et al.* 2019) ou depuis les étages d'immeubles (Cheong *et al.* 2023), d'œufs grâce à des containers spécialisés (O'Neill *et al.* 2018 ; Utarini *et al.* 2021) ou parfois une combinaison d'adultes et d'œufs (Tantowijoyo *et al.* 2020). Les lâchers d'œufs, inexistant dans les approches TIS et TII, présentent des avantages logistiques (e.g. logistique simplifiée, coûts réduits, meilleure dispersion locale, etc.) importants mais ne permettent pas de maîtriser la dispersion des moustiques, ni le sex-ratio. Les lâchers sont généralement hebdomadaires ou bi-hebdomadaires, sur des périodes pouvant atteindre plusieurs années. Ce dernier cas de figure a été observé dans le cadre de programmes opérationnels, lorsque des lâchers complémentaires d'œufs ont été réalisés suite à un déclin de la prévalence de *Wolbachia* observé après plusieurs années dans la population cible (Hoffmann *et al.* 2024; Velez *et al.* 2023a).

5 Qualification de l'efficacité des techniques objets de la saisine

Ce chapitre a pour objectif de répondre à la deuxième question de la saisine : « rendre compte de l'efficacité de ces différentes techniques (TIS, TIS renforcée, TII, TIS-TII, TII renforcée et technique de remplacement) utilisées pour le contrôle des moustiques du genre *Aedes* en termes de réduction des populations de moustiques et de réduction de l'incidence des maladies transmises par ces moustiques ».

Ainsi, ce chapitre présente une évaluation qualitative de l'efficacité entomologique et épidémiologique de la TIS, de la TII et de la technique de remplacement. Celle-ci s'est appuyée sur la méthode d'évaluation du poids des preuves décrite ci-dessous (§ 5.1).

Pour répondre à la question de la saisine, le GT a adopté une approche pragmatique et opérationnelle de l'efficacité en s'intéressant aux indicateurs permettant de rendre compte, dans des conditions les plus proches possibles du terrain, d'une réduction ou d'une transformation de la population des moustiques ciblés avec l'objectif final d'une réduction de l'incidence des arboviroses transmises par les *Aedes* (principalement *Ae. aegypti*). Ainsi, le GT n'a pas :

- recensé les essais réalisés en laboratoire, ceux-ci ne permettant pas d'évaluer directement l'efficacité des techniques en conditions réelles ;
- pris en compte les travaux de modélisation sans validation sur le terrain ;
- analysé des indicateurs de la qualité du produit (e.g. compétitivité des mâles lâchés) ;
- analysé de manière quantitative les informations extraites des publications compte tenu i) du faible nombre de publications disponibles par technique ; ii) de l'hétérogénéité des protocoles mis en œuvre pour une même technique ; iii) du manque de standardisation des indicateurs utilisés dans les publications pour rendre compte de l'efficacité des techniques.

5.1 Méthodologie

5.1.1 Indicateurs d'efficacité retenus par les experts

5.1.1.1 Efficacité entomologique

Dans le cadre de ce rapport, les experts proposent de définir l'efficacité entomologique d'une technique comme sa capacité à réduire la densité d'une population cible d'*Aedes* ou à remplacer une population d'*Aedes* sauvage par une population porteuse d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt (i.e. capable d'induire une interférence avec un ou des agents pathogènes transmis aux humains par les *Aedes*).

Le GT a identifié une diversité d'indicateurs permettant de rendre compte des effets de la technique de LAV étudiée (Tableau 9). Dans les études, l'évolution de ces indicateurs est suivie dans des zones traitées et comparée dans le temps (avant et après les lâchers) ou par rapport à des zones témoins.

Tableau 9 : Indicateurs de l'efficacité entomologique des techniques de LAV utilisés dans les articles revus par les experts

Indicateurs de l'efficacité entomologique des techniques visant	
une réduction des populations d' <i>Aedes</i> (i.e. TIS, TII et leurs variantes)	à transinfecter une souche de <i>Wolbachia</i> dans un remplacement de population d' <i>Aedes</i> locale (technique de remplacement)
<ul style="list-style-type: none"> - densité des œufs - taux d'éclosion des œufs - densité des femelles adultes - nombre de piqûres 	<ul style="list-style-type: none"> - introduction d'une souche de <i>Wolbachia</i> d'intérêt - établissement d'une souche de <i>Wolbachia</i> d'intérêt

Remarque : aucun indicateur s'intéressant à longévité des moustiques n'a été étudié dans les articles analysés.

Pour la TIS, la TIS renforcée, la TII, la TIS-TII et la TII renforcée

L'efficacité entomologique de la TIS, de la TII et de leurs variantes est évaluée par les indicateurs suivants :

- la **densité des œufs**, définie par le nombre d'œufs par unité de surface ou de volume dans une zone définie. Certains auteurs, ayant réalisé des essais de TIS ou de TII, utilisent cet indicateur comme une estimation de la densité des populations d'*Aedes* présentes dans la zone (Bellini *et al.* 2013b; Carrieri *et al.* 2011), bien que la pertinence de cette extrapolation soit discutable. En effet, bien qu'une relation entre ces deux indicateurs ait déjà été suggérée par certains auteurs (Carrieri *et al.* 2011), d'autres n'ont pas montré de corrélation (Fávaro *et al.* 2008; Focks 2004). En pratique, cet indicateur est mesuré sur le terrain par le comptage régulier des œufs collectés dans un réseau de pièges pondoires. En théorie, une diminution de la densité des femelles adultes est attendue suite à la diminution de la densité des œufs ;
- le **taux d'éclosion des œufs**, défini par le pourcentage d'œufs qui éclosent avec succès et donnent naissance à des larves viables. Cet indicateur permet de calculer, entre autres, la stérilité induite (i.e. la réduction du taux d'éclosion des œufs dans le temps ou en comparant zone traitée vs témoin) par les accouplements entre des femelles sauvages et des mâles stériles et/ou incompatibles lâchés. En pratique, cet indicateur est mesuré sur le terrain par la collecte régulière d'œufs grâce à un réseau de pièges pondoires, suivie de leur mise en observation en conditions contrôlées pour compter le nombre de larves vivantes ;
- la **densité de femelles** : cet indicateur est une estimation de l'abondance relative de la population d'*Aedes* adultes présente dans une zone. En pratique, cet indicateur est mesuré sur le terrain par le déploiement d'un réseau de pièges de capture spécifiques aux femelles en recherche d'hôtes, relevés à intervalles réguliers ;
- le **taux de piqûres**, défini par le nombre de piqûres effectuées par les *Aedes* femelles sur des hôtes humains en un temps donné. En pratique, cet indicateur (qui est de moins en moins utilisé pour des raisons éthiques) est mesuré sur le terrain par le décompte des femelles se posant sur des hôtes volontaires exposés lors de sessions régulières de capture (*human landing collection* ou HLC).

Pour la technique de remplacement

L'efficacité de la technique de remplacement est évaluée par les deux indicateurs suivants, l'objectif étant de suivre l'évolution de ces indicateurs au cours du temps dans une zone traitée ou de comparer les résultats entre zones traitées et zones témoins :

- l'**introduction d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt** est définie comme l'augmentation de la prévalence d'une souche d'intérêt de *Wolbachia* transinfectée, portée par les moustiques lâchés dans une population cible pendant la phase de

lâchers. Une introduction effective est caractérisée dans la plupart des études, et de manière empirique, par une prévalence passant de 0 % à environ 50 % en quelques semaines. Un succès d'introduction montre que les moustiques lâchés ont survécu et se sont reproduits avec la population cible, transmettant ainsi la bactérie *Wolbachia* à la descendance. En pratique, cet indicateur est mesuré sur le terrain par la capture régulière de moustiques, soit directement au stade adulte à l'aide de pièges ciblant les femelles en recherche d'hôte, soit au stade d'œuf à l'aide de pièges pondoires. La capture est suivie d'analyses moléculaires (PCR) pour détecter la présence de la souche d'intérêt de *Wolbachia* chez les adultes capturés ou émergents ;

- **l'établissement d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt** est définie comme la persistance (i.e. le maintien ou l'augmentation) dans le temps de la prévalence d'une souche d'intérêt de *Wolbachia* dans une population cible après l'arrêt des lâchers. Celle-ci rend compte de la stabilité de l'invasion de *Wolbachia* dans la population cible et donc du remplacement de la population visée. Cette prévalence peut être proche de 100 %, auquel cas il s'agit d'un remplacement complet. La prévalence peut être plus basse et dans ce cas, il s'agit d'un établissement partiel. Une absence d'établissement est définie comme une décroissance de la prévalence de la souche introduite après l'arrêt des lâchers pouvant conduire à son élimination. En pratique, l'établissement est mesuré de la même manière que l'introduction de *Wolbachia*, à savoir à travers la prévalence de la souche d'intérêt de *Wolbachia* dans la population cible. Seule l'échelle temporelle par rapport aux lâchers diffère. Pour chaque étude publiée, l'établissement a été apprécié par les experts du GT en observant les dynamiques temporelles de cette prévalence.

Sur un plan plus théorique, Turelli et Barton (2017) recommandent de viser une prévalence d'au moins 60 à 80 % pour garantir que la bactérie puisse s'établir durablement et se propager spatialement dans la population de moustiques.

À noter que, dans les publications retenues par le GT, l'expression de ces indicateurs est rarement standardisée (i.e. rapportée à des unités temporelles ou de surfaces). Ainsi, compte tenu de la difficulté d'obtenir des données comparables, la méthode adoptée par le GT et présentée ci-après s'intéresse principalement au sens (i.e. augmentation, réduction) des effets observés. Un ordre de grandeur de la taille des effets observés est néanmoins donné à titre indicatif.

5.1.1.2 Efficacité épidémiologique

Dans le cadre de ce rapport, l'efficacité épidémiologique d'une technique est définie comme la capacité de cette technique à réduire l'incidence de principales maladies vectorielles dont les agents pathogènes responsables sont transmis à l'humain par les moustiques du genre *Aedes* (i.e. dengue, chikungunya et Zika ou encore filariose).

Ainsi, pour l'ensemble des techniques qui font l'objet de ce rapport, le GT a évalué l'efficacité épidémiologique à travers la réduction de l'incidence des cas suspects ou cliniquement évocateurs ou confirmés de la dengue, du chikungunya ou du Zika soit : i) dans une ou des zones par comparaison de groupes traités par rapport à une zone ou des groupes témoins, soit : ii) au cours du temps dans une zone traitée.

Selon l'OMS, les indicateurs d'efficacité épidémiologique sont indispensables pour démontrer l'efficacité d'une technique sur l'incidence d'une maladie vectorielle chez l'humain (OMS 2017c).

5.1.2 Méthode d'évaluation du poids des preuves

Le GT a qualifié l'efficacité des techniques qui font l'objet de la saisine à partir d'une méthode d'évaluation du poids des preuves. Cette méthode est issue de la réflexion d'un groupe de travail de l'Anses autour des méthodes d'évaluation des risques (GT MER) (Anses 2016). Elle peut être utilisée à la suite d'une revue systématique de la littérature pour en formaliser une synthèse et repose sur les étapes méthodologiques suivantes :

- définition des hypothèses à tester. Cette étape correspond à l'identification des effets pour rendre compte de l'efficacité entomologique et épidémiologique de chacune des techniques (cf. § 5.1.1) ;
- établissement des lignes de preuve. Une ligne de preuve est définie comme un « ensemble d'informations de même nature intégrées pour évaluer une hypothèse (i.e. un ensemble de publications qui constituent un élément de réponse à l'hypothèse posée) » (Anses, 2016). Par exemple, les publications permettant d'évaluer la capacité de la TII à induire une réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. aegypti* en conditions semi-naturelles constitue une ligne de preuve. Les lignes de preuve visant la qualification de l'efficacité des différentes techniques ont été définies et validées par le GT lors de la réunion du 18 octobre 2024 (voir Tableau 10, Tableau 11, Tableau 12) ;
- évaluation du niveau de preuve. Cette étape vise à qualifier la solidité des preuves disponibles. Elle s'appuie sur différents critères. Dans le cas du présent rapport, les experts ont défini les niveaux de preuve pour chaque ligne de preuve à partir : i) du nombre d'études disponibles (ou d'essais distincts au sein d'une même publication) pour une ligne de preuve ; ii) de la qualité globale de ces publications ; iii) de la convergence ou non des résultats ; iv) de l'existence ou non d'une explication convaincante en cas de divergence des résultats. Ces critères visent à attribuer l'un des trois qualificatifs suivants pour chaque ligne de preuve (Figure 1) :
 - **preuves suffisantes** : une relation positive a été établie entre le déploiement de la technique et la survenue de l'effet étudié, à travers plusieurs études de qualité satisfaisante et aux résultats majoritairement convergents et cohérents ;
 - **preuves limitées** : une association positive a été observée entre le déploiement de la technique et l'effet étudié, mais le nombre d'études ou leur qualité (i.e. existence de limites méthodologiques majeures ou de divergences inexpliquées dans les résultats) sont insuffisants pour conclure avec certitude à l'existence de l'effet ;
 - **preuves inexistantes** : aucune donnée probante n'est disponible pour établir une conclusion.

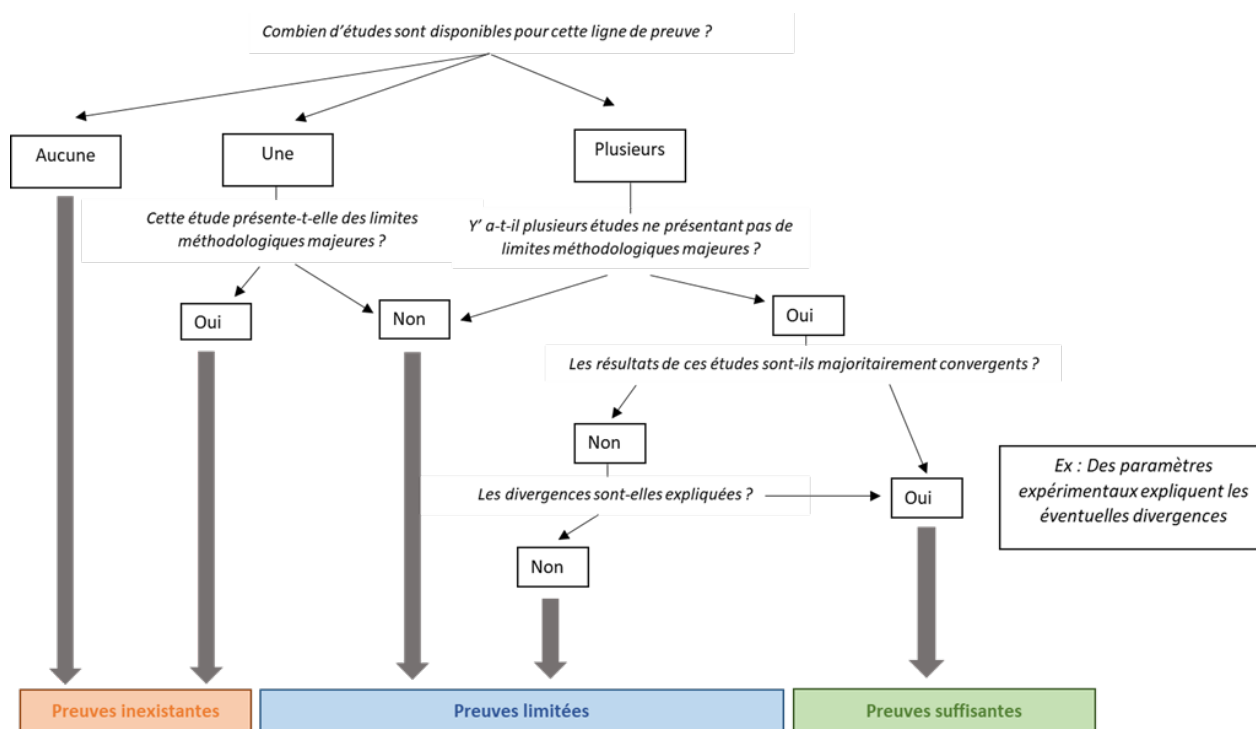


Figure 22 : Logigramme de définition du niveau de preuve associé à une ligne de preuve

L'évaluation de la qualité globale des publications s'est appuyée sur les éléments relevés dans le bilan des essais rédigé par les experts (§ 4) et a consisté en l'identification de potentielles limites méthodologiques majeures (i.e. ne permettant pas d'exploiter les données des études avec suffisamment de confiance), telles que des biais importants, des incohérences inexplicables dans les résultats, des protocoles non réellement adaptés à l'objectif (e.g. durée d'étude trop courte) ou, dans certains cas, une absence de réplication dans les études. Cette appréciation a été discutée en GT et la qualification de la publication comme présentant une ou des limites méthodologiques a été faite sur avis d'experts. Lorsque des limites méthodologiques majeures sont identifiées, celles-ci sont explicitées dans l'évaluation du poids des preuves (§ 5.2, § 5.3 et § 5.4). À noter que l'absence de réplication dans une étude a été considérée comme une limite méthodologique majeure uniquement dans le cas où une ligne de preuve est constituée d'une seule étude ;

- combinaison des lignes de preuves. Dans le cas où cela est pertinent, les lignes de preuves pour un effet sont combinées entre elles pour conclure sur la plausibilité de la survenue de l'effet consécutif à une exposition au traitement (i.e. à l'une des techniques étudiées). Les experts ont défini une matrice pour combiner les lignes de preuves établies dans différentes conditions expérimentales pour un même effet entomologique (Figure 2). Dans cette matrice, les études réalisées sur le terrain ont un poids supérieur aux études réalisées en conditions semi-naturelles. En effet, malgré le manque d'études réalisées avec des plans expérimentaux robustes dans la plupart des cas, un poids plus important a été accordé à celles conduites sur le terrain car plus proches de la réalité.

Dans le cas de l'efficacité épidémiologique, les résultats obtenus en zone endémique ont été considérés tout aussi informatifs que ceux obtenus en zone non-endémique. Ils n'ont pas été combinés à l'aide d'une matrice. Les lignes de preuves pour ce volet ont été établies par souche de *Wolbachia* et par contexte épidémiologique afin de détailler l'analyse, sans que ces critères ne pondèrent la qualification de l'effet.

Ainsi, les effets épidémiologiques ont été qualifiés par les experts du GT à l'aide des définitions suivantes :

- **effet avéré** : des éléments de preuves suffisants quant à l'existence de l'effet sont disponibles dans plusieurs contextes. Une association positive a été établie entre la technique et l'effet étudié lors de plusieurs essais terrain ;
- **effet probable** : des éléments de preuves, au mieux, limités en faveur de l'existence de l'effet sur le terrain sont disponibles. Une association positive a été observée entre la technique et l'effet étudié, mais les experts estiment que les preuves ne permettent pas de conclure à un effet avéré, par exemple en raison d'un manque de diversité de contextes expérimentaux ou d'une divergence inexpiquée dans les résultats ;
- **effet possible** : quelques éléments de preuves en faveur de l'existence de l'effet sont disponibles mais ceux-ci sont très limités en quantité et/ou en qualité. Il n'y a pas d'éléments de preuves suffisants démontrant l'association entre la technique et l'effet ;
- **effet non qualifiable** : les données disponibles ne permettent pas de conclure à l'existence de l'effet.

La méthode d'évaluation du poids des preuves a pour objectif de qualifier les preuves de l'efficacité des techniques, en incluant une étape d'analyse globale du nombre d'études, de leur qualité et de leur pertinence, sur la base d'une revue systématique de la littérature. Toutefois, elle ne permet pas : i) de rendre compte de l'ampleur des effets étudiés, ii) de mettre en évidence les facteurs environnementaux pouvant expliquer l'hétérogénéité des résultats entre les études, iii) de rendre compte de l'hétérogénéité des résultats intra-essai (i.e. entre les différents sites de lâchers d'un même essai). À noter que cette méthode ne prend en compte que le nombre d'études disponibles pour chaque ligne de preuve indépendamment de la taille et de la durée de ces études.

Conditions de terrain \ Conditions semi naturelles	Preuves suffisantes	Preuves limitées	Preuves inexistantes
Preuves suffisantes	Effet avéré		
Preuves limitées	Effet probable		Effet possible
Preuves inexistantes	Effet possible		Effet non qualifiable

Effet avéré : des éléments de preuves suffisants de l'existence de l'effet sont disponibles dans plusieurs contextes. Une association positive a été établie entre la technique et l'effet étudié lors de plusieurs essais terrain.

Effet probable : des éléments de preuves, au mieux, limités en faveur de l'existence de l'effet sur le terrain sont disponibles. Une association positive a été observée entre la technique et l'effet étudié mais les experts estiment que les preuves ne permettent pas de conclure avec certitude à un effet avéré.

Effet possible : quelques éléments de preuves en faveur de l'existence de l'effet sont disponibles mais celles-ci sont très limitées en quantité et/ou en qualité. Il n'y a pas d'éléments de preuves suffisants démontrant l'association entre la technique et l'effet.

Effet non qualifiable : les données disponibles ne permettent pas de conclure à l'existence de l'effet

Figure 23 : Matrice de combinaison des lignes de preuves de l'efficacité entomologique

5.2 Qualification de l'efficacité de la TIS et de la TIS renforcée

À partir de la littérature scientifique disponible, l'efficacité de TIS et de la TIS renforcée a été évaluée à partir des indicateurs suivants :

- densité des œufs ;
- taux d'éclosion des œufs ;
- densité des femelles estimée par l'abondance relative.

À la connaissance des experts, il n'y a pas de publications s'intéressant à l'efficacité de la TIS sur les indicateurs mentionnés au chapitre 5.1 (nombre de piqûres, réduction de l'incidence des arboviroses).

La qualification de cette efficacité s'est appuyée sur quinze publications relatives (essais réalisés entre 2004 et 2020) à l'efficacité de la TIS, dont cinq en conditions semi-naturelles et dix sur le terrain. Douze des publications concernées ont ciblé *Ae. albopictus*. Quatre publications ont ciblé *Ae. aegypti*, dont celle de Bond *et al.* (2021) qui s'est intéressée aux deux espèces. Aucune ne concernait *Ae. polynesiensis*. Les lignes de preuves étudiées par le GT sont présentées dans le Tableau 11.

5.2.1 Capacité de la TIS à réduire la densité des œufs

5.2.1.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte de cet indicateur pour cette espèce.

Une seule étude a été menée en conditions de terrain à Cuba par Gato *et al.* (2021) pour évaluer l'efficacité entomologique de la TIS. Avant le démarrage des lâchers de mâles stériles, les densités d'œufs de moustiques dans la zone traitée et la zone témoin étaient comparables. Après cinq semaines de lâchers, une réduction significative de la densité des œufs a été relevée dans la zone traitée par rapport à la zone témoin, allant de 50 % 5 semaines après les lâchers et jusqu'à 100% 17 semaines après ceux-ci. Cette diminution s'est poursuivie de manière marquée, jusqu'à ce qu'après 17 semaines, le nombre moyen d'œufs collectés par piège et par semaine dans cette zone soit nul. Dans la zone témoin, le nombre d'œufs collectés par piège et par semaine était de 31 (Gato *et al.* 2021). Ces résultats traduisent une réduction de la densité des œufs atteignant 100 %, dans la zone de lâchers de moustiques stériles. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction de la densité des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction de la densité des œufs d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la TIS amène les experts à conclure (selon la matrice de combinaison de la Figure 23) à un **effet possible** pour cet indicateur.

5.2.1.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte de cet indicateur pour cette espèce.

Quatre publications rapportent des études sur le terrain qui ont été menées dans différents pays européens pour évaluer la capacité de la TIS à réduire la densité des œufs d'*Ae. albopictus* : en Grèce (Balastos *et al.*, 2021 ; 2024), en Italie (Bellini *et al.* 2013b) et en Espagne (Tur *et al.*, 2023). En Italie, Bellini *et al.* n'ont initialement pas observé d'effet avec des lâchers réalisés en 2005. D'après les auteurs, cela peut avoir affecté l'efficacité de la TIS. Dans un second temps, les auteurs ont observé une réduction significative de la densité des œufs de 51 % suite à des lâchers effectués dans la même zone, à Boschi, en 2008 (Bellini *et*

al. 2013b). En Espagne, Tur *et al.* (2023) n'ont pas observé d'effets significatifs la première année des lâchers, mais une diminution de la densité des œufs atteignant 74 % à partir de la deuxième année (sur une surface de 45 ha). Dans une première étude menée sur une surface de 5 ha pendant 7,5 semaines en Grèce par Balastos *et al.* en 2018, aucun impact significatif sur la densité des œufs n'a été observé (Balastos *et al.*, 2021). Dans une seconde étude, menée en 2019 par les mêmes auteurs pendant 22 semaines dans la même zone élargie à 10 ha une réduction de 78 % de la densité des œufs a été observée sur la zone traitée par rapport à la zone témoin (Balastos *et al.* 2024).

Ainsi, les résultats des études réalisées sur le terrain sont divergents, et ces divergences ne sont pas complètement expliquées. Les preuves disponibles sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction de la densité des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction de la densité des œufs d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TIS amène les experts à conclure (selon la matrice de combinaison de la Figure 23) à un **effet possible** pour cet indicateur.

5.2.2 Capacité de la TIS à réduire le taux d'éclosion des œufs

5.2.2.1 Chez *Ae. aegypti*

Deux études ont été menées en conditions semi-naturelles chez *Ae. aegypti*. La première, menée par Bond *et al.* (2021) au Mexique dans des serres de 6 m³, a montré une stérilité induite significative dans les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Deux doses de rayonnement (50 et 70 Gy) et trois ratios mâles stériles/mâles sauvages (1:1, 5:1 et 10:1) ont été testés. Les réductions du taux d'éclosion des œufs observées étaient les suivantes : 32 à 67 % (5:1), et 64 à 88 % (10:1), avec une meilleure efficacité observée à 50 Gy. Pour le ratio 1:1, l'effet n'a pas été significatif. La seconde étude, menée au Sri Lanka en 2018 dans des cages extérieures de 3 m³ (Ranathunge *et al.*, 2022), a montré une différence du taux d'éclosion des œufs entre les cages traitées et les cages témoins fertiles, proportionnelle au nombre de moustiques stériles lâchés. Cinq ratios ont été testés, 0:1 (témoin fertile), 1:1, 3:1, 5:1 et 1:0 (témoin stérile). Les taux d'éclosion observés étaient de 90 % (témoin fertile), 60 % (1:1), 51 % (3:1), 39 % (5:1) et 1 % (témoin stérile).

Ainsi, en suivant le logigramme de la Figure 22, les preuves disponibles en conditions semi-naturelles sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. aegypti*.

Deux études ont été menées sur le terrain pour évaluer l'impact de la TIS sur le taux d'éclosion des œufs chez *Ae. aegypti*. La première, réalisée à Cuba en 2020 (Gato *et al.*, 2021), a estimé une stérilité induite atteignant 90 % à 100 %, 15 semaines après le premier lâcher. La deuxième étude menée au Brésil entre 2017 et 2018 (Bouyer et Vreysen 2020a) avait pour objectif d'évaluer la faisabilité du lâcher de mâles stériles par drones. Le taux de stérilité (i.e. la proportion d'œufs non viables collectés) n'a été évalué que sur trois semaines. Une augmentation de plus de 50 % de la proportion d'œufs non viables a tout de même été observée dans la zone de lâchers par rapport à la zone témoin. Le manque de données sur le suivi à long terme de la population constitue une limite méthodologique pour évaluer l'efficacité de la technique pour contrôler les populations d'*Ae. aegypti* (le taux d'œufs non viables est passé d'une valeur proche de 0 % à une valeur supérieure à 50 % dans la zone de lâchers).

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la TIS amène les experts à conclure à un **effet probable** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.2.2.2 Chez *Ae. albopictus*

Quatre études montrent une différence significative du taux d'éclosion des œufs entre groupes témoins et traités en conditions semi-naturelles chez *Ae. albopictus*.

L'étude de Bellini *et al.* (2013a) menée pendant les étés de 2006 à 2009 en Italie dans des cages de 112 m³ (8 x 5 x 2,8 m³) a montré un taux d'éclosion des œufs plus bas dans les groupes traités (ratio 1:1) que dans les groupes témoins. Plusieurs doses d'irradiation ont été testées : 50 à 60 Gy en 2006 et 30 à 40 Gy de 2007 à 2009. Les taux d'éclosion globaux rapportés sont de 45 % pour les mâles irradiés à 30 Gy et 52 % pour ceux irradiés à 40 Gy, contre 87 % dans le groupe témoin (Bellini *et al.* 2013a). L'étude de Madakacherry *et al.* (2014) menée en 2012-2013, dans des cages extérieures (de 1,75 m²) au laboratoire FAO/AIEA de Seibersdorf (Autriche) sur l'espèce *Ae. albopictus* a montré un taux d'éclosion des œufs significativement plus bas dans les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Cette réduction était proportionnelle au ratio utilisé (Madakacherry *et al.* 2014). Les taux d'éclosion moyens observés étaient de 85 %, 35 %, 25 %, 20 % et 4 % pour des ratios de 0:1 (témoin fertile), 1:1, 3:1, 5:1 et 1:0 (témoin stérile) respectivement. L'étude de Iyaloo *et al.* (2020a) menée à l'Île Maurice dans des cages de 8 m³ (2 x 2 x 2 m³) a montré des taux d'éclosion des œufs significativement plus bas dans les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Cette réduction était proportionnelle au ratio utilisé (1:1, 3:1 et 5:1). La stérilité des œufs induite était de 40 %, 60 % et 77 % pour les ratios 1 :1, 3 :1 et 5 :1 respectivement. L'étude de Bond *et al.* (2021) menée dans des serres (de 6 m³) a montré des taux d'éclosion des œufs significativement plus faible dans les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Deux doses de rayonnement (40 et 60 Gy) et trois ratios ont été testés (1:1, 5:1 et 10:1). Les réductions du taux d'éclosion des œufs observées étaient respectivement les suivantes à 40 et 60 Gy : 19 et 22 % (avec un ratio de 1:1), 37 et 60 % (avec un ratio de 5:1), 52 et 88 % (avec un ratio de 10:1). Une meilleure efficacité a été systématiquement observée à 40 Gy.

Ainsi, les preuves disponibles sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. albopictus* en conditions semi-naturelles.

Sept publications rapportent des études qui ont été menées sur le terrain concernant le taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus*. Trois de ces publications concernent des études menées en Italie par la même équipe (Bellini *et al.* 2007; Bellini *et al.* 2021; Bellini *et al.* 2013b) et la publication de 2021 est une synthèse de l'ensemble des études. L'étude, menée entre 2008 et 2018 sur huit sites différents en Italie, a montré que des mâles stériles relâchés ont induit une stérilité des œufs allant de 15 à 70 % dans la population locale d'*Ae. albopictus* (Bellini *et al.* 2021). L'essai de Balastos, mené en 2018 en Grèce avec des lâchers effectués sur une surface de 5 ha pendant 7,5 semaines, a montré une chute du taux d'éclosion des œufs après six semaines de lâchers (Balastos *et al.*, 2021). Celui-ci a chuté de 54 % à 14 % dans la zone traitée, alors qu'aucun impact significatif des lâchers n'a été observé sur le taux d'éclosion des œufs sur le site témoin. Les auteurs ont effectué un nouvel essai dans la même zone, dont la surface a été élargie à 10 ha, en 2019 pendant 22 semaines, lors duquel ils ont observé une réduction moyenne du taux d'éclosion des œufs de 49 % dans la zone traitée par rapport à la zone témoin sur l'ensemble de la période de lâchers (Balastos *et al.* 2024). L'étude menée en 2020 en Allemagne, a montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers menés pendant 18,5 semaines dans la ville de Melm : la stérilité moyenne des œufs était de 85 % pendant la période des lâchers dans la zone traitée et de 36 % et 54 % dans les zones témoins (Becker *et al.* 2022). Suite aux lâchers réalisés dans la ville de Metzgergrün pendant 16 semaines, la stérilité moyenne des œufs était de 63 % dans la zone traitée et de 15 % dans la zone témoin. Enfin, une dernière étude, menée entre 2007

et 2020 en Espagne a montré une stérilité induite moyenne dans la zone traitée par rapport à la zone témoin de 32 % en 2019 et de 20 % en 2020 (Tur et al, 2023). Ces études mettent toutes en évidence une réduction du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles stériles. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant le taux de réduction de l'éclosion des œufs d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TIS amène les experts à conclure à un **effet avéré** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.2.3 Capacité de la TIS à réduire la densité des femelles

5.2.3.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible pour cette espèce.

5.2.3.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte de cet indicateur pour cette espèce.

Une seule étude a été menée en conditions de terrain en Espagne en 2019 et 2020 par Tur *et al.* (2023) pour évaluer l'efficacité entomologique de la TIS. En 2019, le nombre moyen de femelles par piège et par jour était de 0,2 dans un site traité, alors que dans un site témoin celui-ci était de 1,0. Pour 2020, le nombre moyen de femelles par piège et par jour était de 0,7 dans un site traité, alors que dans un site témoin celui-ci était de 2,4. Cela représente des pourcentages de réduction moyens de 81 % et 71 % en 2019 et 2020 respectivement. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de femelles adultes suite à l'utilisation de la TIS chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du nombre d'*Ae. albopictus* femelles suite à l'utilisation de la TIS amène les experts à conclure à un **effet possible** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.2.4 Efficacité de la TIS renforcée (dite *boostée*)

Aucune preuve relative à l'efficacité de la TIS renforcée pour réduire les populations d'*Aedes* et réduire l'incidence des arboviroses dues aux *Aedes* n'était disponible au moment de l'analyse de la littérature, le seul article connu (Bouyer *et al.*, 2025) ayant été publié après la fin de la revue bibliographique.

Synthèse relative à l'efficacité de la TIS et de la TIS renforcée

L'évaluation de l'efficacité de la TIS par les experts (voir Tableau 10) s'est fondée sur quatorze articles et trois indicateurs : la densité des œufs, le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles *Aedes* (cf. § 5.1).

Le seul indicateur pour lequel les preuves scientifiques amènent les experts à conclure à un effet avéré est la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus*. Cet indicateur reflète le succès de la stérilisation par irradiation des mâles lâchés ainsi que de l'accouplement entre ces mâles stériles et les femelles sauvages. Il représente le premier effet observable sur le terrain suite à l'utilisation de la TIS (Tableau 10). Cependant, il ne rend pas compte d'une réduction des populations d'*Aedes*. Ainsi, selon les experts, cet indicateur n'est pas suffisant pour évaluer l'efficacité de la TIS et il doit être complété par des indicateurs révélateurs d'effets finaux attendus tels que la réduction du nombre de femelles et la réduction de l'incidence des maladies à transmission vectorielle dues aux *Aedes* (Tableau 10).

Concernant la densité des œufs, les experts relèvent que la pertinence de cet indicateur comme estimation de la densité des femelles est discutable. En effet, bien qu'une relation entre ces deux indicateurs ait déjà été suggérée par certains auteurs (Carrieri *et al.* 2011), d'autres n'ont pas montré de corrélation (Fávaro *et al.* 2008; Focks 2004).

En outre, la survenue d'une réduction du nombre de femelles suite à une réduction du taux d'éclosion des œufs n'est pas garantie. En effet, d'une part, les preuves relatives à ces indicateurs sont limitées, voire inexistantes chez certaines espèces d'*Aedes*. D'autre part, une réduction du taux d'éclosion des œufs et par conséquent du nombre de larves issues de ces œufs pourrait, dans certaines configurations de densité de population, aboutir à un nombre d'adultes émergents plus important que le nombre d'adultes qui auraient émergé naturellement, sans intervention sur le taux d'éclosion des œufs. Ce phénomène s'explique par les relations de densité-dépendance décrites au § 2.1.5.

À noter également que la plupart des études retenues pour évaluer l'efficacité de la TIS ne s'appuient pas sur des protocoles répliqués indépendamment dans des sites expérimentaux randomisés. Ce constat n'a toutefois pas été considéré par les experts comme une limite méthodologique majeure lors de l'évaluation globale de la qualité des études pour une ligne de preuve dès lors que cette dernière est constituée d'au moins deux publications, ou qu'elle est constituée d'une étude présentant plusieurs indicateurs complémentaires (§ 5.1). Toutefois, les experts soulignent que ces aspects méthodologiques sont primordiaux pour permettre l'inférence des résultats obtenus dans le cadre d'une étude et d'exclure autant que possible les facteurs de confusion.

Enfin, les experts rappellent que la capacité vectorielle⁴⁵ d'une population de vecteurs dépend d'une multitude de facteurs (§ 2.3.1) et qu'il n'est en aucun cas garanti qu'une réduction de la densité des populations d'*Aedes* aboutisse à une réduction de l'incidence des arboviroses. L'absence d'étude rendant compte de la capacité de la TIS à réduire l'incidence des arboviroses dues aux *Aedes* est donc une limite critique à l'objectivation de l'efficacité épidémiologique de la technique.

À noter qu'aucune preuve relative à l'efficacité de la TIS renforcée (dite « boostée ») n'était disponible au moment de l'analyse de la littérature, le seul article connu (Bouyer *et al.*, 2025) ayant été publié après la fin de la revue de la littérature effectuée dans ce rapport.

En conclusion, la TIS a démontré un impact significatif uniquement sur le taux d'éclosion des œufs parmi les paramètres entomologiques analysés. Pour une évaluation plus

⁴⁵ La capacité vectorielle représente l'aptitude d'une population d'arthropodes vecteurs à assurer la transmission d'un agent infectieux à un moment donné, en un endroit donné (elle est assimilable au taux de reproduction R0 en épidémiologie). Elle intègre des paramètres écologiques, comportementaux et génétiques de la population de vecteurs comme leur abondance et longévité, leurs préférences trophiques, ou encore, leur compétence vectorielle.

complète et précise de son efficacité dans la lutte antivectorielle, il serait pertinent de compléter cette analyse avec des résultats pour d'autres indicateurs entomologiques, tels que le nombre de femelles, ainsi que par des études épidémiologiques.

Tableau 10 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la TIS

Espèce	Conditions	Références	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Réduction de la densité des œufs				
Ae. aegypti	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Possible
	Terrain	Gato <i>et al.</i> (2021)	Limitées	
Ae. albopictus	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Possible
	Terrain	Bellini <i>et al.</i> (2013b) Balastos <i>et al.</i> (2021) Tur <i>et al.</i> (2023) Balastos <i>et al.</i> (2024)	Limitées	
Ae. polynesiensis	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes	
Réduction du taux d'éclosion des œufs				
Ae. aegypti	Semi-naturelles	Bond <i>et al.</i> (2021) Ranathunge <i>et al.</i> (2022)	Suffisantes	Probable
	Terrain	Bouyer <i>et al.</i> (2020)* Gato <i>et al.</i> (2021)	Limitées	
Ae. albopictus	Semi-naturelles	Bellini <i>et al.</i> (2013a) Madakacherry <i>et al.</i> (2014) Iyaloo <i>et al.</i> (2020) Bond <i>et al.</i> (2021)	Suffisantes	Avéré
	Terrain	Bellini <i>et al.</i> (2007) Bellini <i>et al.</i> (2013b) Bellini <i>et al.</i> (2021) Balastos <i>et al.</i> (2021) Becker <i>et al.</i> (2022) Tur <i>et al.</i> (2023) Balastos <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes	
Ae. polynesiensis	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes	
Réduction de la densité des femelles adultes				
Ae. aegypti	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes	
Ae. albopictus	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Possible

Espèce	Conditions	Références	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
	Terrain	Tur <i>et al.</i> (2023)	Limitées	
<i>Ae. polynesiensis</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes	
Réduction de l'incidence des arboviroses				
<i>Ae. aegypti</i>	Zone endémique/épidémique	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non épidémique	/	Inexistantes	
<i>Ae. albopictus</i>	Zone endémique/ épidémique	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non épidémique	/	Inexistantes	
<i>Ae. polynesiensis</i>	Zone endémique/épidémique	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non épidémique	/	Inexistantes	

Légende : * : étude(s) ne permettant pas d'évaluer l'effet considéré ; / : absence d'étude.

5.3 Qualification de l'efficacité de la TII et de ses variantes

L'efficacité de la TII et de ses variantes (i.e. TIS-TII et TII renforcée) est définie dans le cadre de ce rapport comme la capacité de la technique à induire les effets suivants :

- réduction du taux d'éclosion des œufs ;
- réduction de la densité des femelles ;
- réduction du nombre de piqûres ;
- réduction de l'incidence des arboviroses pour lesquelles les agents pathogènes responsables sont transmis par les *Aedes*.

Les indicateurs mentionnés au chapitre 5.1 qui n'apparaissent pas ici (en l'occurrence la réduction de la densité des œufs) n'ont pas été évalués pour la TII et ses variantes en raison de leur absence dans les publications rapportant les résultats d'essais avec cette technique.

La qualification de cette efficacité s'est appuyée sur 19 études relatives à l'efficacité de la TII, dont neuf sur le terrain et trois en conditions semi-naturelles. Les essais ont ciblé *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Ae. polynesiensis*. Les lignes de preuves étudiées par le GT sont présentées dans le Tableau 11. À noter que pour alléger le corps du texte, les lignes de preuves sans données apparaissent dans le tableau mais ne sont pas reportées dans le texte.

5.3.1 Capacité de la TII à réduire le taux d'éclosion des œufs

5.3.1.1 Chez *Ae. aegypti*

Deux articles rendent compte d'une réduction du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles wAlbB en conditions semi-naturelles. L'étude de Sarwar *et al.* (2022), réalisée dans des cages de 2,8 m³, a mis en évidence une réduction significative du taux d'éclosion des œufs par rapport au témoin avec des réductions de 35 % et 73 % pour des ratios lâchés respectivement de 1 :1 et 3 :1 (Sarwar *et al.*, 2022). L'étude de Liu *et al.* (2022), réalisée dans des cages de 80 m³, a mis en évidence une réduction significative du taux d'éclosion des œufs par rapport au témoin avec des réductions de 77 %, 66 % et 61 % pour des ratios de mâles stériles : mâles sauvages de 3:1, 5:1 et 10:1 respectivement (W.-L. Liu, Yu, *et al.* 2022). Chaque condition expérimentale (i.e. ratio testé) est répliquée trois ou quatre fois dans ces deux études.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions semi-naturelles sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. aegypti*.

En complément, deux études sur le terrain aux États-Unis et en Australie ont montré une réduction significative du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles wAlbB. Des taux d'éclosion compris entre 32 % et 62 % en zone traitée et entre 69 % et 93 % dans la zone non traitée ont été observés (J.W. Mains *et al.* 2019). Une réduction significative du taux d'éclosion des œufs a aussi été observée dans une étude avec trois réplicats (Beebe *et al.*, 2021)⁴⁶. Les résultats fournis sous forme graphique font état d'un très faible taux d'éclosion en fin d'essai dans les zones traitées par rapport aux zones témoins. Les pics d'éclosion observés dans les zones traitées étaient de moins grande ampleur que ceux observés dans les zones témoins.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées par les experts de **suffisantes** en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. aegypti*.

⁴⁶ Les auteurs rapportent le taux de « productivité larvaire » qui est considéré équivalent au taux d'éclosion des œufs.

L'ensemble des lignes de preuves concernant le taux de réduction de l'éclosion des œufs d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la TII amène les experts à conclure à un **effet avéré** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23). À noter que tous ces résultats ont été obtenus uniquement suite à des lâchers d'*Ae. aegypti* mâles transinfectés avec wAlbB.

5.3.1.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte d'une réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. albopictus*.

Quatre études de terrain rendent compte d'une réduction globale (i.e évaluée sur l'ensemble de la période de lâchers) significative du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles transinfectés par wPip⁴⁷ (Mains *et al.*, 2016 ; Zeng *et al.*, 2022 ; Caputo *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2024). Cette réduction par rapport aux témoins est de l'ordre de 33 % dans l'article de Mains *et al.* (2016), de 35 % dans l'article de Caputo *et al.* (2023)⁴⁸, de 44 % dans l'étude de Li *et al.* (2024) et a atteint 97 % dans l'article de Zeng *et al.* (2022). Aucune de ces études ne s'appuie sur des protocoles répliqués indépendamment.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées par les experts de **suffisantes** en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant le taux de réduction de l'éclosion des œufs d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII amène les experts à conclure à un **effet avéré** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23). À noter que l'ensemble de ces résultats a été obtenu uniquement suite à des lâchers d'*Ae. albopictus* mâles transinfectés avec wPip.

5.3.1.3 Chez *Ae. polynesiensis*

Un seul article rend compte d'une réduction du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles transinfectés par une souche de *Wolbachia* issue d'*Ae. riversi* appartenant au groupe B en conditions semi-naturelles, dans des cages de 2,8 m³ (Chambers *et al.* 2011). Dans cette étude, deux protocoles sont évalués : un protocole A comparant trois ratios (50:0, 25:25 et 0:50) et un protocole B comparant cinq ratios (50:0, 38:12, 25:25, 12:38 et 0:50). Pour le protocole A, les réductions observées sont de 44 % et 99 % comparativement au témoin fertile pour les ratios 25:25 et 0:50 respectivement. De même, pour le protocole B, les réductions sont proportionnelles au nombre de mâles incompatibles lâchés et vont de 5 % à 94 % pour les ratios de 12:38 et 50 :0 respectivement. Chaque condition expérimentale (i.e. ratio testé) est répliquée trois ou quatre fois dans cette étude.

Ainsi, ces observations ne reposant que sur une seule étude, les preuves disponibles en conditions semi-naturelles sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. polynesiensis*.

Ces résultats sont complétés par une étude sur le terrain qui rend compte d'une réduction du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles transinfectés par la même souche de *Wolbachia* issue d'*Ae. riversi* appartenant au groupe B que dans l'étude de Chambers *et al.* (2011) avec une réduction de 19 % en comparaison au témoin (O'Connor *et al.*, 2012).

⁴⁷ Dans le cas de triples infections chez *Ae. albopictus*, seule la souche wPip est transinfectée chez les individus, les souches wAlbA et wAlbB étant naturellement présente chez cette espèce d'*Aedes* (cf. Chapitre 2).

⁴⁸ Dans cet article, le paramètre rapporté est la « viabilité des œufs » qui est considéré équivalent au taux d'éclosion des œufs.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. polynesiensis*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant le taux de réduction de l'éclosion des œufs d'*Ae. polynesiensis* suite à l'utilisation de la TII amène les experts à conclure à un **effet probable** pour cet indicateur (selon la matrice de combinaison de la Figure 23). À noter que ces résultats ont été obtenus pour des lâchers de mâles *Ae. polynesiensis* transinfectés par une souche de *Wolbachia* du groupe B, issue d'*Ae. riversi*.

5.3.2 Capacité de la TII à réduire la densité des femelles

5.3.2.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte d'une réduction du nombre de femelles suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. aegypti*.

Quatre études de terrain rendent compte d'une réduction du nombre de femelles suite à des lâchers de mâles wAlbB. Les pourcentages de réduction observés dans les zones traitées par rapport aux zones témoins sont compris entre 78 % (Mains *et al.*, 2019) et 94 % (Crawford *et al.*, 2020 ; Lozano *et al.* 2022) à la fin des lâchers. Dans l'étude de Beebe *et al.* (2021), cette réduction a dépassé 80 %. Aucune de ces études ne s'appuie sur des protocoles répliqués indépendamment.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de femelles suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du nombre de femelles adultes d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la TII amène les experts à conclure à un **effet avéré** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23). À noter que ces résultats ont été obtenus pour des lâchers de mâles *Ae. aegypti* transinfectés avec wAlbB.

5.3.2.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte d'une réduction du nombre de femelles adultes suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. albopictus*.

Trois études de terrain rendent compte d'une réduction significative du nombre de femelles suite à des lâchers de mâles wPip. Cette réduction par rapport aux témoins a atteint 35 % dans l'étude de Li *et al.* (2024), 65 % dans l'étude de Mains *et al.* (2016) et 97 % dans l'étude de Zeng *et al.* (2022).

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de femelles suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du nombre de femelles adultes d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII avec des mâles transinfectés avec wPip amène les experts à conclure à un **effet avéré** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.2.3 Chez *Ae. polynesiensis*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible pour rendre compte d'une réduction du nombre de femelles suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. polynesiensis*.

O'Connor *et al.* (2012) rendent compte d'une réduction significative du nombre de femelles suite à des lâchers de mâles transinfectés par une souche de *Wolbachia* issue d'*Ae. riversi* appartenant au groupe B (O'Connor *et al.* 2012). Les résultats rapportés sous forme graphique font état d'une nette réduction du nombre d'adultes à la suite des premiers lâchers dans la zone traitée alors qu'un pic de population était observé dans les zones témoins. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. polynesiensis*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du nombre de femelles adultes d'*Ae. Polynesiensis* suite à l'utilisation de la TII amène les experts à conclure à un **effet possible** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23). À noter que ces résultats ont été obtenus pour des lâchers de mâles *Ae. polynesiensis* transinfectés par une souche de *Wolbachia* du groupe B, issue d'*Ae. riversi*.

5.3.3 Capacité de la TII à réduire le nombre de piqûres

5.3.3.1 Causées par *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible.

5.3.3.2 Causées par *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte d'une réduction significative du nombre de piqûres d'*Ae. albopictus* suite à des lâchers de mâles wPip en conditions de terrain (Zeng *et al.*, 2022) avec une réduction de 94 % de l'indice de piqûre. L'indice de piqûre rapporté par les auteurs correspond à un dénombrement des femelles présentes sur des volontaires exposés pendant une durée de 15 minutes. Bien que présentant des problèmes déontologiques, cet indicateur est pertinent pour rendre compte du risque de piqûre. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction des piqûres causées par *Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII chez cette espèce.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction des piqûres d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII avec des mâles transinfectés wPip avec amène les experts à conclure à un **effet possible** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.3.3 Causées par *Ae. polynesiensis*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible.

5.3.4 Capacité de la TIS-TII à réduire le taux d'éclosion des œufs

5.3.4.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Deux études de terrain rendent compte d'une réduction significative du taux d'éclosion des œufs suite à des lâchers de mâles transinfectés par *Wolbachia* et stérilisés par irradiation en comparaison à des zones témoins. Une réduction de 84 % a été observée par Kittayapong *et al.* (2019) après six mois de lâchers de moustiques transinfectés par les souches *wAlbA* et *wAlbB* de *Wolbachia* et stérilisés à la dose de 70 Gy. Une réduction de 77 à 92 % a été observée par Martín-Park *et al.* (2022), suite à des lâchers de moustiques transinfectés par la souche *wAlbA* et stérilisés à la dose de 45 Gy. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant le taux d'éclosion des œufs d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la TIS-TII amène les experts à conclure à un **effet avéré** pour la réduction du taux d'éclosion des œufs.

5.3.4.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte d'une réduction significative du taux d'éclosion des œufs de 94 % sur les zones traitées par rapport aux zones témoins suite à des lâchers sur le terrain de mâles *wPip* stérilisés à la dose de 45 Gy (Zheng *et al.* 2019). Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du taux d'éclosion des œufs d'*Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TIS-TII avec des mâles transinfectés avec *wPip* amène les experts à conclure à un **effet possible** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.5 Capacité de la TIS-TII à réduire la densité des femelles

5.3.5.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Trois études de terrain rendent compte d'une réduction significative du nombre de femelles adultes suite à des lâchers de mâles transinfectés par *Wolbachia* et stérilisés par irradiation. Une réduction de 97 % a été observée par Kittayapong *et al.* (2019) après six mois de lâchers de moustiques transinfectés par les souches *wAlbA* et *wAlbB* de *Wolbachia* et stérilisés à la dose de 70 Gy. Des réductions allant de 55 % à 75 % à l'extérieur des habitations et de 61 % à 91 % à l'intérieur ont été observées par Martín-Park *et al.* (2022), suite à des lâchers de moustiques transinfectés par la souche *wAlbA* et stérilisés à la dose de 45 Gy. Bansal *et al.* (2024) ont observé une réduction significative du nombre de femelles suite à des lâchers de mâles stériles transinfectés par *Wolbachia* (souche *wAlbB*) et stérilisés à 30 à 40 Gy avec des réductions de 62 %, 78 % et 91 % par rapport aux zones témoins après respectivement trois, six et 18 mois de lâchers (Bansal *et al.*, 2024). Ainsi, les preuves disponibles en conditions de

terrain sont qualifiées de **suffisantes** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de femelles adultes suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du nombre de femelles *Ae. aegypti* adultes suite à l'utilisation de la TIS-TII amène les experts à conclure à un **effet avéré** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.5.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte d'une réduction significative du nombre de femelles adultes suite à des lâchers sur le terrain de mâles *wPip* stérilisés à la dose de 45 Gy (Zheng *et al.* 2019). Les résultats montrent une réduction globale du nombre de femelles de 83 % à 94 % dans la zone traitée par rapport à la zone témoin en 2016 et 2017 respectivement. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées par les experts de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de femelles adultes suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction nombre de femelles *Ae. albopictus* adultes suite à l'utilisation de la TIS-TII avec des moustiques transinfectés avec *wPip* amène les experts à conclure à un **effet possible** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.6 Capacité de la TIS-TII à réduire le nombre de piqûres

5.3.6.1 Causées par *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée sur la capacité de la TIS-TII à réduire le nombre de piqûres causées par *Ae. aegypti* n'est disponible.

5.3.6.2 Causées par *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte de la réduction du nombre de piqûres faisant suite à des lâchers sur le terrain de mâles *wPip* stérilisés à une dose de 45 Gy. Cette réduction entre zone traitée et zone témoin varie de 89 % à 97 % selon les sites (Zheng *et al.*, 2019). Ainsi, les preuves disponibles sont qualifiées de **limitées** par les experts en ce qui concerne la réduction du nombre de piqûres causées par *Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TIS-TII chez cette espèce.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction des piqûres causées par *Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TIS-TII avec des moustiques transinfectés par *wPiP* et stérilisés à la dose de 45 Gy amène les experts à conclure à un **effet possible** (selon la matrice de combinaison de la Figure 23).

5.3.7 Capacité de la TIS-TII à réduire l'incidence des arboviroses

5.3.7.1 *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en zone non endémique n'est disponible pour cet indicateur.

Une seule étude, ayant fait l'objet de deux articles complémentaires, rend compte d'une réduction significative du nombre de cas de dengue suite à des lâchers de mâles stériles transinfectés par *Wolbachia* (souche *wAlbB*) et stérilisés de 30 à 40 Gy, à Singapour, zone endémique pour la dengue (Lim *et al.*, 2024a et b). Cette réduction est estimée à 57 % en comparant les incidences totales des zones traitées et zones témoins sur toute la durée des lâchers. La réduction des cas était en moyenne de 47 %, 44 % et 61 % après respectivement trois, six et douze mois de lâchers. Ainsi, les preuves disponibles sont qualifiées par les experts de **limitées** en ce qui concerne la réduction de l'incidence de la dengue suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. aegypti*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction de l'incidence de la dengue suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. aegypti* amène les experts à conclure (selon la matrice de combinaison de la Figure 23) à un **effet possible** sur la base de résultats obtenus avec des moustiques transinfectés par *WAlbB* et stérilisés à faible dose (entre 30 et 40 Gy). Ainsi, les conclusions ne s'appliquent qu'à la TIS-TII utilisant ce profil de transinfection et de stérilisation chez *Ae. aegypti*.

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible concernant la réduction de l'incidence des autres principaux arbovirus pouvant être transmis par *Ae. aegypti* (i.e. chikungunya et Zika).

5.3.7.2 *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible concernant la réduction de l'incidence d'arboviroses suite à l'utilisation de la TIS-TII chez *Ae. albopictus* n'est disponible.

5.3.8 Capacité de la TII renforcée à réduire le taux d'éclosion des œufs

5.3.8.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible pour cette espèce.

5.3.8.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte d'une réduction du taux d'éclosion des œufs d'*Ae. albopictus* en conditions de terrain suite à des lâchers de mâles *wPip* et imprégnés d'une poudre contenant 10 % de pyriproxyfène (PPF) (cf. § 3.1.1.5) à raison d'1 g pour 45 000 moustiques mâles, soit environ 2 µg de PPF/moustique (Y. Li *et al.* 2024). La réduction moyenne sur la période d'intervention était de 80 % comparée à la zone témoin. Cette efficacité était supérieure à celle de la TII seule, déployée sur une autre zone du dispositif expérimental avec une efficacité moyenne sur la période d'intervention de 44 % comparé à la zone témoin. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées par les experts de **limitées** en ce qui concerne la réduction du taux d'éclosion des œufs suite à l'utilisation de la TII renforcée chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII renforcée amène les experts à conclure (selon la matrice de combinaison de la Figure 23) à un **effet possible** sur la base de résultats obtenus avec des moustiques *wPip* imprégnés de pyriproxyfène à raison d'environ 2 µg de PPF/moustique.

5.3.9 Capacité de la TII renforcée à réduire la densité des femelles

5.3.9.1 Chez *Ae. aegypti*

À la connaissance des experts, aucune donnée n'est disponible pour cette espèce.

5.3.9.2 Chez *Ae. albopictus*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Un seul article rend compte d'une réduction de la densité des femelles d'*Ae. albopictus* en conditions de terrain suite à des lâchers de mâles *wPip* et imprégnés d'une poudre contenant 10 % de PPF à raison d'1 g pour 45 000 moustiques mâles, soit environ 2 µg de PPF/moustique (Li *et al.*, 2024) avec une réduction moyenne sur la période d'intervention de 72 % comparé à la zone témoin. Cette efficacité était supérieure à celle de la TII seule, déployée sur une autre zone du dispositif expérimental avec une efficacité moyenne sur la période d'intervention de 35 % comparé à la zone témoin. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées par les experts de **limitées** en ce qui concerne une réduction du nombre de femelles suite à l'utilisation de la TII chez *Ae. albopictus*.

L'ensemble des lignes de preuves concernant du nombre de femelles *Ae. albopictus* suite à l'utilisation de la TII renforcée amènent les experts à conclure (selon la matrice de combinaison de la Figure 23) à un **effet possible** sur la base de résultats obtenus avec des moustiques transinfectés avec *wPip* et imprégnés de pyriproxifène à raison d'environ 2 µg de PPF/moustique.

Synthèse concernant l'efficacité de la TII, de la TIS-TII et de la TII renforcée

L'évaluation de l'efficacité de la TII et de ses variantes (TIS-TII et TII renforcée) (voir Tableau 11) s'est fondée sur plusieurs indicateurs : le taux d'éclosion des œufs, le nombre de femelles, le nombre de piqûres et l'incidence des arboviroses.

Les études ont concerné *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Ae. polynesiensis*. Cependant, la répartition d'*Ae. polynesiensis*, considérablement restreinte par rapport à celles d'*Ae. aegypti* et d'*Ae. albopictus* (voir § 2.2), peut expliquer le plus faible nombre de données disponibles pour cette espèce.

La quasi-totalité des données disponibles portent sur des indicateurs entomologiques. Elles montrent la capacité de la TII et de ses variantes à réduire à la fois le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles, de manière plus ou moins robuste selon les couples indicateurs/espèces (Tableau 11). Les experts rappellent que ces indicateurs sont complémentaires et indispensables pour évaluer l'efficacité entomologique de la TII sur le terrain. La réduction du taux d'éclosion des œufs reflète la survenue d'une incompatibilité cytoplasmique lors d'accouplements entre des mâles lâchés transinfectés par une souche de *Wolbachia* et les femelles sauvages de la population cible. Le nombre de femelles reflète directement la densité de population de moustiques et constitue, avec l'incidence des maladies à transmission vectorielle dues aux *Aedes*, un indicateur final de l'efficacité de la TII et de ses variantes (Figure 14).

Les experts notent que les dispositifs expérimentaux, à l'exception de ceux mis en œuvre par Crawford *et al.* (2020) et Beebe *et al.* (2021) ne sont ni répliqués, ni randomisés. Ainsi, il est impossible d'exclure l'impact de certains facteurs de confusion liés aux conditions environnementales des essais (e.g. hétérogénéité du milieu, conditions météorologiques), aux possibles migrations d'individus entre zones traitées et non traitées ou encore aux mécanismes de compensation densité-dépendante dans les gîtes larvaires, ce qui constitue des sources d'incertitudes (cf. chapitre 7).

Enfin, comme pour l'évaluation de l'efficacité de la TIS, les experts soulignent le manque d'études épidémiologiques. En effet, il n'existe qu'une seule étude, rendant compte de la capacité de la TIS-TII, appliquée à *Ae. aegypti*, à réduire l'incidence de la dengue. Bien que certaines études se soient intéressées à la réduction du nombre de piqûres causées par certaines espèces d'*Aedes*, il est impossible d'établir un lien direct entre cet estimateur des contacts hôte-vecteur et la survenue d'un effet épidémiologique. Il s'agit d'une limite critique à l'objectivation de l'efficacité épidémiologique de la TII.

Globalement, les experts soulignent que le nombre d'études disponibles concernant les variantes de la TII (TIS-TII et TII renforcée), expérimentées plus récemment, est plus limité par rapport à la TII. Par ailleurs, peu d'études permettent de comparer, dans des conditions similaires, les performances de ces techniques par rapport à la TII classique.

Concernant la TII renforcée, les experts rappellent que cette technique repose sur l'utilisation d'un biocide (PPF) et qu'il est nécessaire de s'intéresser au devenir de celui-ci dans l'environnement et de considérer les conséquences de son éventuelle utilisation sur, par exemple, les espèces non cibles, la santé humaine et l'acceptabilité de la technique.

Pour conclure, la TII et ses variantes ont montré des effets significatifs sur les paramètres entomologiques étudiés. Toutefois, des études épidémiologiques supplémentaires sont nécessaires pour réaliser une évaluation plus complète et pertinente de l'efficacité de la TII.

Tableau 11 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la TII, de la TIS-TII et de la TII renforcée

Espèce	Conditions	TII			TIS-TII			TII renforcée		
		Publication(s)	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publication	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Réduction du taux d'éclosion des œufs										
<i>Ae. aegypti</i>	Semi-naturelles	Liu W-L <i>et al.</i> (2022) ; Sarwar <i>et al.</i> (2022)	Suffisantes	Avéré	/	Inexistantes	Avéré	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	Mains <i>et al.</i> (2019) Beebe ⁴⁹ <i>et al.</i> (2020)	Suffisantes		Kittayapong <i>et al.</i> (2019) ; Martin-Park <i>et al.</i> (2022)	Suffisantes		/	Inexistantes	
<i>Ae. albopictus</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Avéré	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Possible
	Terrain	Mains <i>et al.</i> (2016) ; Zeng Q. <i>et al.</i> (2022) ; Caputo <i>et al.</i> (2023) ; Li <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes		Zheng <i>et al.</i> (2019)	Limitées		Li <i>et al.</i> (2024)	Limitées	
<i>Ae. polynesiensis</i>	Semi-naturelles	Chambers <i>et al.</i> (2011)	Limitées	Probable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	O'Connor <i>et al.</i> (2012)	Limitées		/	Inexistantes		/	Inexistantes	

49 L'indicateur étudié est la réduction de la productivité larvaire.

Espèce	Conditions	TII			TIS-TII			TII renforcée		
		Publication(s)	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publication	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Réduction de la densité des femelles adultes										
<i>Ae. aegypti</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Averé	/	Inexistantes	Averé	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	Mains <i>et al.</i> (2019) ; Crawford <i>et al.</i> (2020) ; Lozano <i>et al.</i> (2022) ; Beebe <i>et al.</i> (2020)	Suffisantes		Kittayapong <i>et al.</i> (2019) ; Martín-Park <i>et al.</i> (2022) ; Bansal <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes		/	Inexistantes	
<i>Ae. albopictus</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Averé	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Possible
	Terrain	Mains <i>et al.</i> (2016) ; Zeng Q. <i>et al.</i> (2022) ; Li <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes		Zheng <i>et al.</i> (2019)	Limitées		Li <i>et al.</i> (2024)	Limitées	
<i>Ae. polynesiensis</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	O'Connor <i>et al.</i> (2012)	Limitées		/	Inexistantes		/	Inexistantes	
Réduction des piqûres										
<i>Ae. aegypti</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	
<i>Ae. albopictus</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	Zeng Q. <i>et al.</i> (2022)	Limitées		Zheng <i>et al.</i> (2019)	Limitées		/	Inexistantes	
<i>Ae. polynesiensis</i>	Semi-naturelles	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Terrain	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	

Espèce	Conditions	TII			TIS-TII			TII renforcée		
		Publication(s)	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publication	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Réduction de l'incidence de la dengue										
Ae. aegypti	Zone endémique	/	Inexistantes	Non qualifiable	Lim et al. (2024a et b)	Limitées	Possible (uniquement pour la dengue)	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non endémique	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	Non qualifiable
Ae. albopictus	Zone endémique	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non endémique	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	
Ae. polynesiensis	Zone endémique	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
	Zone non endémique	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	

Légende : * : Étude(s) ne permettant pas d'évaluer l'effet considéré ; / : absence d'étude.

5.4 Qualification de l'efficacité de la technique de remplacement

L'efficacité de la technique de remplacement est définie dans le cadre de ce rapport comme la capacité de la technique à induire les effets suivants :

- introduction d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt ;
- établissement d'une souche de *Wolbachia* d'intérêt ;
- réduction de l'incidence des arboviroses à transmission vectorielle dues aux *Aedes*.

La qualification de cette efficacité s'est appuyée sur 36 études relatives à l'efficacité de la technique de remplacement. Ces essais ont uniquement ciblé *Ae. aegypti* et s'inscrivent dans des programmes de déploiement à l'échelle de territoires entiers. Ces programmes utilisent différentes souches de *Wolbachia*, la principale étant *wMel*. Les souches *wAlbB* et *wMelPop* ont également été utilisées dans le cadre de certains essais. Les lignes de preuves étudiées par le GT sont présentées par souche de *Wolbachia* dans le Tableau 12.

La revue de la littérature réalisée par les experts du GT « TIS-TII » a permis d'identifier 24 publications scientifiques étudiant la capacité de la technique de remplacement à introduire et établir une souche de *Wolbachia* d'intérêt dans une population cible d'*Ae. aegypti*. Les articles retenus décrivent le déploiement de la technique de remplacement avec trois souches de *Wolbachia* : *wMel* (issue de *D. melanogaster*) ; *wAlbB* (issue d'*Ae. albopictus*) et *wMelPop* (issue aussi de *D. melanogaster*).

Par ailleurs, la revue bibliographique a également permis d'identifier douze articles scientifiques étudiant la capacité de la technique de remplacement (chez *Ae. aegypti* uniquement) à réduire l'incidence de la dengue, du chikungunya ou de Zika. Les articles retenus décrivent le déploiement de la technique de remplacement avec deux souches de *Wolbachia* : *wMel* et *wAlbB*.

Les experts soulignent que les premières études s'intéressant à l'efficacité épidémiologique de la technique de remplacement ont été menées en Australie, pays non-endémique vis-à-vis des arbovirus d'intérêt pour la saisine, et dans lequel la technique a été mise au point et développée pour une application chez *Ae. aegypti*. La majorité des études ont ensuite été réalisées dans des pays dits endémiques, possédant un historique important de données d'incidence d'arboviroses (e.g. saisonnalité). Ces zones endémiques sont ainsi mieux appropriées pour l'observation de changements épidémiologiques liés à la technique de remplacement malgré la nature fluctuante des épisodes épidémiques liés aux arbovirus.

L'efficacité épidémiologique dans ces études a été évaluée par des analyses de séries temporelles (interrompues ou non) de cas suspects ou confirmés d'arboviroses, par des études écologiques⁵⁰ spatiales et des essais randomisés en grappes avec analyse cas-témoin (*randomized clustered trials with test-negative case-control analysis* - RCT). Les analyses de séries temporelles permettent alors d'analyser des variations d'incidence des arboviroses au-delà de leurs fluctuations « naturelles ». En revanche, elles ne permettent pas d'exclure totalement des facteurs confondants non explorés et pouvant influencer l'incidence des arboviroses (Naish *et al.* 2014).

5.4.1 Technique de remplacement utilisant *wMel*

5.4.1.1 Capacité à introduire *wMel*

Une seule étude a été réalisée, en conditions semi-naturelles, pour étudier l'introduction de *wMel* au sein d'une population d'*Ae. aegypti* avec la technique de remplacement (Walker *et*

⁵⁰ Une étude écologique utilise des données agrégées au niveau d'une population.

al. 2011). La taille des cages n'est pas précisée dans la publication. La libération des moustiques avec un ratio de 2:1 a abouti à une augmentation de la prévalence de wMel jusqu'à 100 % 30 jours après introduction des moustiques dans l'une des cages où une prédation involontaire par des geckos a été observée⁵¹ (mais non quantifiée) et après 80 jours dans l'autre cage où aucune prédation n'a été constatée. À noter qu'en l'absence de répétition, il est impossible de déterminer les facteurs expliquant les différences de rapidité d'invasion de wMel dans les cages.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions semi-naturelles sont qualifiées de **limitées** en ce qui concerne l'introduction de la souche wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant wMel.

Dix-sept études réalisées sur le terrain rapportent des résultats concernant l'introduction de wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti*. À noter que dans la plupart des études, les lâchers sont effectués pendant au moins 10 semaines et jusqu'à ce que la prévalence de wMel dans la population cible atteigne 50 %. En Australie, Hoffmann *et al.* (2011) et Schmidt *et al.* (2017) rapportent respectivement des prévalences de wMel atteignant jusqu'à 100 % à Yorkeys Knob et 90 % à Cairns. Au Brésil, deux souches d'*Ae. aegypti* ont été utilisées successivement : l'une sensible aux pyréthrinoïdes, l'autre résistante à ces molécules insecticides. Avec la première, Garcia *et al.* (2019) ont observé une prévalence moyenne de wMel de 65 % dans la population cible à l'issue des lâchers à Rio de Janeiro. Avec la seconde, résistante aux pyréthrinoïdes, la prévalence de wMel observée à Rio de Janeiro était de 85 % (Garcia *et al.*, 2019) et de 55 à 65 % sur l'île du Gouverneur (Gesto *et al.*, 2021b). En Indonésie, Tantowijoyo *et al.* (2020) ont observé des prévalences de wMel supérieures à 80 % dans les quatre localités de Yogyakarta concernées par les lâchers. Dans ces régions, lorsque les lâchers ont été étendus à des échelles plus grandes, dans le cadre de l'opérationnalisation de la technique, les prévalences moyennes observées lors de l'arrêt des lâchers allaient de 34 % à Rio de Janeiro (Ribeiro dos Santos *et al.* 2022) à 96 % à Yogyakarta (Utarini *et al.* 2021). En Colombie, deux souches d'*Ae. aegypti* ont été utilisées : l'une sensible à la perméthrine, l'autre résistante à cette molécule. Avec la souche sensible, Velez *et al.* (2023a) ont observé une prévalence moyenne de wMel allant de 20 à 45 % dans la plupart des sites de lâchers. Avec la souche résistante, la prévalence de wMel observée était en moyenne de 67 %. En Océanie (au îles Fidji, au Vanuatu et à Kiribat), deux études (Lin *et al.* 2024 ; Simmons *et al.* 2024) rapportent des prévalences de wMel atteignant respectivement jusqu'à 86 % et de 14,3 à 100 % selon les sites.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** en ce qui concerne l'introduction de la souche wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti*.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet avéré** concernant la capacité de la technique de remplacement à introduire wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti*. Il est toutefois important de souligner l'hétérogénéité des résultats observés. Certains auteurs ont identifié l'importance de faire correspondre les phénotypes de résistance aux insecticides des moustiques lâchés avec ceux des moustiques de la population cible (Garcia *et al.* 2019 ; Velez *et al.* 2023a), ce qui peut expliquer une certaine hétérogénéité des résultats lorsque ce n'est pas le cas. Cependant, cette hétérogénéité reste assez mal comprise. Il est possible qu'elle résulte de différences dans les méthodes de lâcher (e.g. nombre de moustiques, dispositif de lâcher, ratio, durée des lâchers) ou encore de facteurs environnementaux (e.g. hétérogénéité des terrains et des accès, conditions météorologiques ou climatiques).

⁵¹ Cela pourrait avoir augmenté les taux de mortalité des adultes et diminué, plus tard dans la vie, les coûts de remise en forme associés à la transinfection par *Wolbachia*. *Wolbachia* semblait donc plus invasif lorsque les taux de mortalité globaux étaient élevés ce qui, d'après les auteurs, pourrait mieux refléter les conditions de terrain.

5.4.1.2 Capacité à induire l'établissement de wMel

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Dix-huit publications (dont une avec limites méthodologiques majeures) rapportent des résultats de terrain permettant de suivre l'évolution de la prévalence de wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti* au cours du temps, suite à l'introduction de cette souche.

En Australie, les publications rendent compte d'un maintien des prévalences de wMel au-dessus de 80 % plus de deux ans après l'arrêt des lâchers (Schmidt *et al.*, 2017 ; Hoffmann *et al.* 2014, O'Neill *et al.* 2018). Le maintien des niveaux d'infestation a été huit ans après les lâchers (Ryan *et al.* 2020), voire neuf ans après (Ross *et al.* 2022). Toutefois, quelques fluctuations temporelles ont pu être observées (Hoffmann *et al.* 2014; Ogunlade *et al.* 2023). Au Brésil, les résultats obtenus sont plus mitigés. En effet, bien que certaines études rendent compte de prévalences globales supérieures à 80 % plusieurs mois après l'arrêt des lâchers (Garcia *et al.* 2019, Gesto *et al.* 2021a), d'autres montrent des résultats plus mitigés, avec des prévalences de wMel restant au maximum à 65 % (Gesto *et al.* 2021b). Par ailleurs, l'ensemble de ces études rapporte une grande variabilité dans les dynamiques temporelles d'établissement de wMel et/ou une grande hétérogénéité dans les prévalences observées en fin d'étude. Par exemple, Garcia *et al.* (2019) rapportent une chute de la prévalence de *Wolbachia*, passant de 65 à 20 % cinq semaines après l'arrêt des lâchers. Ce déclin rapide est expliqué par la sensibilité de la souche d'*Ae. aegypti* aux insecticides utilisés localement et donc la mort des individus présentant ce phénotype. Dans l'étude de Gesto *et al.* (2021a), l'augmentation de prévalence décrite n'est pas homogène pour tous les sites, avec de fortes réductions pouvant alterner avec des augmentations (la prévalence atteint 80 %, puis chute brusquement à 40 % avant de remonter sans que de nouveaux lâchers aient été faits). L'incompréhension de ces fluctuations ne permet pas de conclure quant à la stabilité de l'établissement de wMel. Au Brésil, Pinto *et al.* (2021) rapportent des difficultés pour établir wMel dans la population cible d'*Ae. aegypti*, ce qui a nécessité des lâchers répétés. Dans cette étude, les prévalences de *Wolbachia* ont décliné dans certaines zones et n'ont pas dépassé 20 à 40 %, alors que dans d'autres, une augmentation de prévalence au-delà de 80 % a été observée. L'étude de Ribeiro dos Santos *et al.* (2022) présente la même limite et il est impossible de conclure quant à l'établissement de wMel à partir de cette étude étant donnée la continuité des lâchers rapportée dans la publication.

En Indonésie, les trois publications disponibles rapportent des augmentations quasi continues de la prévalence de wMel jusqu'à plus de 90 % trois ans après les lâchers (Tantowijoyo *et al.* 2020, Indriani *et al.* 2020, Utarini *et al.* 2021). Peu de variations sont observées entre les différentes zones de lâchers. À noter le design expérimental particulièrement robuste utilisé par Utarini *et al.* (2021), seule étude comparant plusieurs sites témoins et traités, sélectionnés aléatoirement (essai témoin randomisé - RCT), conduite pendant trois années.

En Colombie, Velez *et al.* (2023a) rapportent des prévalences finales de 81 à 96 % dans la ville de Bello (29 mois post-lâchers), de 18 à 98 % à Medellín (33 à 36 mois post-lâchers) et de 64 à 92 % à Itagüí (20-27 mois post-lâchers). Cependant, ce résultat est issu d'un unique point de mesure, précédé par une dynamique temporelle d'invasion instable et hétérogène entre les sites d'étude. Cette variabilité temporelle et cette hétérogénéité entre les sites ne permettent pas de conclure dans tous les sites à l'établissement stable et durable de wMel à partir de cette étude. Ces conclusions sont appuyées par l'étude de Calle-Tobon *et al.* (2024) qui rapportent une diminution de la prévalence globale de wMel deux ans après les lâchers décrits par Velez *et al.* (2023a) à Medellín avec un niveau maximum observé à 33 %.

Dans les îles Pacifiques, Simmons *et al.* (2024) rapportent les résultats de l'établissement de wMel aux Fidji, au Vanuatu et à Kiribati. Aux Fidji, les prévalences finales observées, plus de deux ans après l'arrêt des lâchers, étaient supérieures à 80 % dans la quasi-totalité des zones avec peu de variabilité temporelle, à l'exception de la zone de Denarau où l'utilisation intensive d'insecticides a engendré la mort prématurée des moustiques transinfectés et empêché l'établissement de wMel. Au Vanuatu, wMel s'est établie dans la majorité des zones avec des

prévalences dépassant 95 %. Toutefois, l'établissement a échoué dans une des zones, sans explication particulière. Par ailleurs, le faible nombre de moustiques capturés dans certaines zones diminue la confiance dans les résultats observés. À Kiribati, le programme initialement prévu dans huit zones a été réduit à deux zones (Betio et Bairiki) en raison de difficultés de production et d'une densité élevée de moustiques sauvages. L'étude a conduit à un établissement hétérogène avec une prévalence élevée à Betio, mais variable à Bairiki (50-100 % à l'ouest contre 14-31 % à l'est). En résumé, l'établissement de wMel a été un succès aux Fidji, mais les résultats sont plus mitigés au Vanuatu et à Kiribati.

Lin *et al.* 2024 rapportent également des résultats permettant d'estimer l'établissement de wMel. Les auteurs montrent qu'un an après l'arrêt des lâchers menés aux îles Fidji (Nakasi et Nausori), la souche transinfectée était toujours présente à hauteur de 60 % dans la population locale.

L'hétérogénéité des résultats observés est à souligner. Toutefois, les déploiements de la technique de remplacement en Australie, en Indonésie et aux îles Fidji fournissent des exemples clairs d'établissement et de fixation de wMel. Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** en ce qui concerne l'établissement de la souche wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet avéré** concernant la capacité de la technique de remplacement à induire l'établissement de wMel dans une population cible d'*Ae. aegypti*. Les seuils d'établissement (de partiel le plus souvent à quasi-complet) peuvent néanmoins varier en fonction des conditions locales.

5.4.1.3 Capacité à réduire l'incidence de la dengue

Cinq analyses de séries temporelles ont été menées dans plusieurs pays où la dengue est endémique (Indonésie, Brésil, Colombie) pour évaluer la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue. Elles ont montré des réductions significatives de l'incidence de la dengue mais d'ampleurs hétérogènes allant de 38 % (Ribeiro dos Santos *et al.*, 2022) à 97 % (Velez *et al.*, 2023b) selon les études. Parmi ces études, seule celle réalisée à Yogyakarta en Indonésie, est contrôlée et randomisée (Indriani *et al.* 2023) permettant de contrôler les facteurs de confusion pour estimer l'effet épidémiologique véritablement associé à la prévalence de *Wolbachia*. Elle rapporte une efficacité de 78 % de réduction de cas de dengue hémorragique sur une base de 8363 cas sévères. Cette efficacité a été réévaluée à 80 % dans l'étude de Dufault *et al.* (2024). Par ailleurs, l'effet épidémiologique a été observé sur les quatre sérotypes DENV1-4 (Edenborough *et al.* 2024). Les méthodes d'analyse utilisées dans chacune des études sont robustes avec des périodes de suivi des cas de dengue suffisamment longues (i.e. minimum quatre ans) avant et après l'intervention. Outre la réduction de l'incidence de la dengue observée, les études montrent une corrélation directe entre la prévalence de wMel dans les populations d'*Ae. aegypti* et la réduction de l'incidence de la dengue, renforçant la plausibilité biologique de l'effet. Elles soulignent également le besoin d'une prévalence suffisante de *Wolbachia* dans la population (> 60 %) pour pouvoir considérer qu'une zone est traitée par la technique de remplacement (Velez *et al.* 2023b). Par conséquent, la faible prévalence de *Wolbachia* rapportée dans l'article de Ribeiro dos Santos *et al.* (2022) semble difficilement compatible avec une réduction de 38 % de l'incidence de la dengue uniquement liée à l'intervention.

L'impact de la prévalence de wMel dans les populations d'*Ae. aegypti* sur l'incidence de la dengue a également été exploré par un essai randomisé en grappes avec analyse cas-témoin test-négatif en Indonésie (Utarini *et al.* 2021) et en Colombie (Velez *et al.* 2023b). Ces études comparent le nombre de cas suspects et confirmés de dengue entre plusieurs zones traitées

et témoins ayant des caractéristiques initiales similaires (i.e. surface, densité de vecteurs, nombre de cas de dengue avant lâchers). Elles montrent une réduction de 77 % des cas de dengue en Indonésie (n=2905 participants) et de 47 % en Colombie (n=725 participants). À noter que, pour l'étude réalisée en Colombie, la réduction d'incidence a été significative pour l'ensemble des cas, qu'ils soient confirmés ou suspects. En revanche, la petite taille d'échantillon de cas confirmés (n=23) n'a pas permis une puissance statistique suffisante pour observer un effet significatif. Par ailleurs, l'étude d'Utarini *et al.* (2021) montre une réduction de 86 % des hospitalisations dues à la dengue.

Ainsi, les preuves disponibles en zone endémique concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue sont qualifiées de **suffisantes**.

Quatre études réalisées en Australie permettent d'évaluer la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue dans des zones où cette arbovirose n'est pas endémique (i.e. 12 568 cas importés et 584 cas autochtones recensés entre 2012 et 2022) (O'Neill *et al.* 2018 ; Ryan *et al.* 2020 ; Ogunlade *et al.* 2023 ; Sohail *et al.* 2024). Ces études ont été réalisées dans le nord Queensland, dans les villes de Cairns et de Port Douglas (Ryan *et al.* 2020) et à Townsville située à 347 km de Cairns (O'Neill *et al.* 2018) par les mêmes équipes. Ogunlade *et al.* (2023) ont établi un modèle mathématique sur les données obtenues à Townsville par O'Neill *et al.* (2018). Sohail *et al.* (2024) ont analysé les données épidémiologiques de dengue suite au déploiement de wMel dans le nord Queensland effectué par O'Neill *et al.* (2018) et Ryan *et al.* (2020). Ces études rapportent toutes une réduction des cas autochtones de dengue suite aux interventions qui ont eu lieu en Australie entre 2013 et 2019. O'Neill *et al.* (2018) rapportent une réduction d'incidence initiale (94 cas autochtones) de 95 % dans les zones traitées par rapport aux zones témoins, associée à une prévalence de wMel stable et supérieure à 80 % après arrêt des lâchers. Ogunlade *et al.* (2023) ont complété l'analyse par un modèle de transmission de la dengue ayant permis d'estimer une réduction du taux reproducteur effectif⁵² de 2,04 avant les lâchers à 0,55 deux ans après. Ryan *et al.* (2020) ont montré une réduction de l'incidence de la dengue de 96 % après l'intervention par rapport à une période sans intervention, associée à une prévalence de wMel supérieure à 80 % huit ans après les lâchers. En Australie, malgré un nombre initial de cas de dengue importés et autochtones très faible et fluctuant, l'étude de Sohail *et al.* (2024), démontre qu'au fil du temps, le nombre de cas autochtones confirmés de dengue passe d'un pic de 236 cas en 2013 à zéro cas en 2021 et 2022 et ce, malgré un nombre de cas importés quatre fois plus élevé sur le territoire durant cette période (8,29/100 000 voyageurs en 2012 *versus* 34,79/100 000 voyageurs en 2022 ; hors période COVID-19 2020-2021).

Ainsi, les preuves disponibles en zone non endémique concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue sont qualifiées de **suffisantes** par les experts.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet avéré** concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel à induire une réduction de l'incidence de la dengue quel que soit le contexte épidémiologique. Les experts soulignent toutefois que l'ampleur de l'effet observé peut être très variable et que celle-ci dépend fortement de la prévalence de wMel dans la population de moustiques ciblée et du mode d'estimation de cet effet (i.e. l'analyse sur des cas évocateurs seulement peut conduire à une surestimation de l'effet épidémiologique, notamment en zone non endémique). En dessous d'une prévalence de 60 %⁵³, la survenue de l'effet, indépendamment de facteurs de confusion, est moins certaine. Par ailleurs, les experts rappellent que les preuves disponibles sont plus importantes en contexte endémique de

⁵² Le taux de reproduction (R) ou taux de reproduction effectif désigne le nombre moyen de cas secondaires générés par un cas dans une population partiellement immunisée et sous l'effet de mesures de contrôle.

⁵³ Il s'agit d'un seuil empirique utilisé par le *World Mosquito Program* (WMP) à partir duquel une zone est considérée comme traitée avec la technique de remplacement (Velez *et al.*, 2023b).

dengue, dans des zones où les épidémies sont régulières et de forte ampleur. À noter que les preuves d'efficacité ne sont disponibles que pour des lâchers d'*Ae. aegypti*, ne permettant pas de se prononcer sur la capacité de wMel à induire les mêmes effets lorsqu'elle est transinfectée chez d'autres espèces d'*Aedes*.

5.4.1.4 Capacité à réduire l'incidence du chikungunya

Deux analyses de séries temporelles ont été réalisées au Brésil, en zone endémique de chikungunya, suite à des lâchers d'*Ae. aegypti* transinfectés par la souche wMel (Ribeiro dos Santos *et al.* 2022 ; Pinto *et al.* 2021).

Ribeiro dos Santos *et al.* (2022) ont estimé à l'aide d'un modèle une diminution moyenne de 10 % de l'incidence du chikungunya à l'issue des lâchers, associée à un établissement moyen de wMel de 33,8 %, avec une forte hétérogénéité entre les quatre zones (toutes situées à Rio de Janeiro) allant de 27 à 60 % (données brutes non disponibles). Les experts soulignent que cette étude présente des limites méthodologiques. En effet, les effets de l'intervention sur l'incidence du chikungunya doivent être interprétés avec prudence compte tenu de la circulation modérée de chikungunya durant l'étude. Par ailleurs, la surveillance du chikungunya a commencé en 2016, soit seulement environ un an et demi avant le début de l'intervention. La surveillance post-intervention a duré deux ans. Ces courtes périodes permettent difficilement de caractériser les variations saisonnières et les cycles épidémiques naturels du chikungunya, limitant la distinction entre l'effet réel de l'intervention et les fluctuations naturelles de l'incidence de la maladie au Brésil. La réduction modeste de 10 % observée pourrait ainsi résulter d'autres facteurs (e.g. facteurs climatiques, immunité de la population) plutôt que de l'intervention elle-même. Ce constat est appuyé par la faible prévalence de wMel rapportée dans l'étude (33,8 % en moyenne), qui diminue le niveau de confiance accordé aux résultats. Cette étude ne donne pas de résultats probants quant à la capacité de wMel à réduire l'incidence du chikungunya.

L'étude de Pinto *et al.* (2021) présente une analyse de séries temporelles des cas de chikungunya pendant presque six ans (de janvier 2015 à juin 2020). Elle montre une diminution significative de 56 % de l'incidence du chikungunya dans les zones traitées par rapport aux zones témoins, associée à une forte hétérogénéité de la prévalence de wMel allant de 40 à 80 % selon les zones traitées.

Ainsi, sur la base de ces deux études aux résultats contrastés, les preuves disponibles en zone épidémique concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant wMel chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence du chikungunya sont qualifiées de **limitées** par les experts.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction de l'incidence du chikungunya suite au déploiement de la technique de remplacement utilisant wMel amène les experts à conclure à un **effet possible** pour cet indicateur. À noter que l'ensemble de ces résultats a été obtenu uniquement suite à des lâchers d'*Ae. aegypti*. Ainsi les présentes conclusions ne s'appliquent qu'à la technique de remplacement ciblant cette espèce d'*Aedes*.

5.4.1.5 Capacité à réduire l'incidence du Zika

Une seule analyse de séries temporelles a été réalisée au Brésil, zone épidémique de Zika, suite à des lâchers d'*Ae. aegypti* portant la souche wMel de *Wolbachia* (Pinto *et al.* 2021). Les auteurs rapportent une réduction non significative de l'incidence du Zika de 37 %, associée à une forte hétérogénéité de la prévalence de wMel dans la population d'*Ae. aegypti*, allant de 40 à 80 %. Les experts soulignent une limite majeure dans l'analyse des cas de Zika. En effet, la principale épidémie de Zika, qui représente 91 % des cas analysés (7 532 sur 8 247), est survenue avant l'intervention. Ainsi, la faible et ponctuelle circulation du virus Zika, pendant et après les lâchers d'*Ae. aegypti* porteurs de wMel, compromet une estimation précise de l'impact épidémiologique de l'intervention.

Ainsi, les preuves disponibles en zone épidémique concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant *wMel* chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence du Zika sont qualifiées d'**inexistantes**.

L'ensemble des lignes de preuves concernant la réduction de l'incidence du Zika suite au déploiement de la technique de remplacement utilisant *wMel* amène les experts à conclure à un **effet non qualifiable** pour cet indicateur. À noter que l'ensemble de ces résultats a été obtenu uniquement suite à des lâchers d'*Ae. aegypti*. Les présentes conclusions ne s'appliquent donc qu'à la technique de remplacement ciblant cette espèce d'*Aedes*.

5.4.2 Technique de remplacement utilisant *wAlbB*

5.4.2.1 Capacité à introduire *wAlbB*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Trois publications rapportent des résultats de terrain sur l'introduction de *wAlbB* dans une population cible d'*Ae. aegypti*. Ces études ont été réalisées en Malaisie (Cheong *et al.* 2023 ; Nazni *et al.* 2019, Hoffmann *et al.* 2024) par la même équipe de recherche, mais elles couvrent des zones géographiques différentes, tout en montrant une expansion progressive des lâchers. L'étude initiale (Nazni *et al.* 2019) a documenté les premiers lâchers dans six sites ciblés, dont Mentari Court. Cheong *et al.* (2023) se sont concentrés exclusivement sur la distribution spatiale et la persistance à long terme de *wAlbB* dans le site spécifique de Mentari Court, où les lâchers ont été effectués depuis différents étages d'un immeuble. Hoffmann *et al.* (2024) ont analysé 20 sites de lâchers à travers le grand Kuala Lumpur. À l'issue des lâchers, les prévalences moyennes de *wAlbB* observées dans la population cible allaient de 80 % à 100 % dans l'ensemble du grand Kuala Lumpur (Nazni *et al.* 2019, Hoffmann *et al.* 2024), avec les prévalences les plus élevées dans la zone de Mentari Court, où les lâchers ont été effectués depuis les étages d'un immeuble de 18 étages (Cheong *et al.* 2023).

Ainsi, le GT a considéré les publications comme trois essais distincts et les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** en ce qui concerne l'introduction de la souche *wAlbB* dans une population cible d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet avéré** concernant la capacité de la technique de remplacement à introduire *wAlbB* dans une population cible d'*Ae. aegypti* et dans le contexte spécifique de la Malaisie.

5.4.2.2 Capacité à induire l'établissement de *wAlbB*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

Les trois publications évaluées (Nazni *et al.* 2019 ; Cheong *et al.* 2023 ; Hoffmann *et al.* 2024) rapportent des résultats relatifs à l'évolution de la prévalence de *wAlbB* au cours du temps dans une population cible d'*Ae. aegypti*. Les prévalences rapportées par les auteurs (Nazni *et al.* 2019, Hoffmann *et al.* 2024) sont élevées (> 80 %), mais il est difficile de conclure quant à l'établissement de *wAlbB* compte tenu des lâchers complémentaires qui ont été réalisés dès lors qu'une baisse de prévalence était observée dans la population cible. Cheong *et al.* (2023) ont par la suite montré que la prévalence de *wAlbB* après les lâchers dans les cages d'escalier tous les 2-3 étages depuis un immeuble de 18 étages à Mentari Court sont restées supérieures à 80 % quatre ans après l'arrêt des lâchers.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **limitées** en ce qui concerne l'établissement de la souche *wAlbB* dans une population cible d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

Des études supplémentaires évaluant l'évolution des prévalences de *wAlbB* après l'arrêt des lâchers (i.e. sans intervention complémentaire) dans d'autres contextes, permettraient de préciser les conclusions.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet possible** concernant la capacité de la technique de remplacement à induire l'établissement de *wAlbB* dans une population cible d'*Ae. aegypti* et dans le contexte spécifique de la Malaisie.

5.4.2.3 Capacité à réduire l'incidence de la dengue

Deux publications rapportent une analyse de séries temporelles réalisée en Malaisie, zone endémique de la dengue, suite à des lâchers d'*Ae. aegypti* transinfectés par la souche *wAlbB* de *Wolbachia* sur 6 sites autour de Kuala Lumpur (Nazni *et al.* 2019) et 20 sites dans la région de Selangor (Hoffmann *et al.* 2024), en comparaison à des sites témoins. Ces deux publications témoignent d'une efficacité épidémiologique importante vis-à-vis de la dengue, avec des réductions d'incidence entre zones traitées et zones témoins observées allant de 40 % (Nazni *et al.* 2019) à 62 % (Hoffmann *et al.* 2024). Ces diminutions sont associées à des prévalences élevées de *wAlbB* à l'issue des lâchers, pouvant dépasser 95 % avec quelques fluctuations notées dans l'étude de Hoffmann *et al.* (2024), variant entre 56 % et 96 % en fonction des zones.

Ainsi, les preuves disponibles en zone endémique concernant la capacité de la technique de remplacement utilisant *wAlbB* chez *Ae. aegypti* à réduire l'incidence de la dengue sont qualifiées de **suffisantes** par les experts.

L'ensemble des preuves concernant la réduction de l'incidence de la dengue, suite au déploiement de la technique de remplacement utilisant *wAlbB*, amène les experts à conclure à un **effet avéré** pour cet indicateur avec la souche *wAlbB* transinfectée chez *Ae. aegypti*.

5.4.3 **Technique de remplacement utilisant *wMelPop***

5.4.3.1 Capacité à introduire *wMelPop*

Une seule étude a été réalisée en conditions semi-naturelles pour étudier l'introduction de *wMelPop* au sein d'une population d'*Ae. aegypti* dans le cadre de la technique de remplacement (Walker *et al.*, 2011). La taille des cages n'est pas précisée dans la publication. La libération des moustiques avec un ratio de 2:1 a abouti à une augmentation de la prévalence de *wMel* jusqu'à 80 % après 40 jours de lâchers dans l'une des cages où une prédation involontaire par des geckos a été observée et après 80 jours dans l'autre où aucune prédation n'a été constatée. Les auteurs ont également souligné une réduction de plus de 40 % de la longévité des moustiques transinfectés par *wMelPop* par rapport à des moustiques non symbiotiquement modifiés.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions semi-naturelles sont qualifiées de **limitées** en ce qui concerne l'introduction de la souche *wMelPop* dans une population cible d'*Ae. aegypti*, suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

Une seule publication rapporte les résultats de deux essais distincts (un en Australie et l'autre au Vietnam) réalisés sur le terrain concernant l'introduction de *wMelPop* dans des populations cibles d'*Ae. aegypti*, suite au déploiement de la technique de remplacement utilisant cette

souche en Australie et au Vietnam (Nguyen *et al.* 2015). En Australie, les lâchers réalisés ont permis d'atteindre des prévalences de *wMelPop* de 70 à 90 % à l'issue des lâchers. Au Vietnam, cette prévalence a atteint 90 % à l'issue de 20 semaines de lâchers.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** en ce qui concerne l'introduction de la souche *wMelPop* dans une population cible d'*Ae. aegypti*, suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à un **effet avéré** concernant la capacité de la technique de remplacement à introduire *wMelPop* dans une population cible d'*Ae. aegypti*.

5.4.3.2 Capacité à induire l'établissement de *wMelPop*

À la connaissance des experts, aucune donnée issue d'essais réalisés en conditions semi-naturelles n'est disponible.

La publication de Nguyen *et al.* (2015) rapporte des résultats de deux essais distincts relatifs à l'évolution de la prévalence de *wMelPop* au cours du temps dans des populations cibles d'*Ae. aegypti*, après l'arrêt des lâchers réalisés en Australie et au Vietnam. En Australie, après avoir atteint jusqu'à 90 %, la prévalence de *wMelPop* est passée sous les 10 % 41 semaines après l'arrêt des lâchers. Une nouvelle phase de lâchers a abouti au même résultat. Au Vietnam, la même tendance a été observée avec une chute de la prévalence de *wMelPop* en dessous de 20 % 20 semaines après l'arrêt des lâchers. Les auteurs expliquent ces résultats par les coûts métaboliques importants engendrés par la transinfection de *wMelPop* chez *Ae. aegypti*.

Ainsi, les preuves disponibles en conditions de terrain sont qualifiées de **suffisantes** en ce qui concerne l'absence d'établissement de la souche *wMelPop* dans une population cible d'*Ae. aegypti* suite à l'utilisation de la technique de remplacement utilisant cette souche de *Wolbachia*.

L'ensemble des preuves disponibles décrites ci-dessus amène les experts à conclure à une **absence avérée d'effet** concernant la capacité de la technique de remplacement à induire l'établissement de *wMelPop* dans une population cible d'*Ae. aegypti*.

Synthèse relative à l'efficacité de la technique de remplacement

L'évaluation de l'efficacité de la technique de remplacement (voir Tableau 12) s'est fondée sur les résultats observés dans le cadre d'études dans différents contextes de lâchers de moustiques transinfectés par différentes souches⁵⁴ de *Wolbachia* : wMel, wAlbB et wMelPop (seulement l'efficacité entomologique pour cette dernière) dans une population cible d'*Ae. aegypti* sur :

- l'introduction de la souche de *Wolbachia* (au cours des lâchers) ;
- l'établissement de la souche de *Wolbachia* (après l'arrêt des lâchers) ;
- l'incidence d'une arbovirose (i.e. dengue, chikungunya ou Zika).

D'un point de vue entomologique, la capacité à introduire (wMel, wAlbB et wMelPop) et à établir (wMel) dans une population cible d'*Ae. aegypti* a été considérée avérée par les experts. La capacité à établir wAlbB a été considérée possible. Ces résultats sont consolidés par la réalisation d'études dans plusieurs contextes pour la souche wMel. Des études telles que celle publiée par Utarini *et al.* (2021) montrent que des designs expérimentaux robustes sont possibles et valorisables.

À noter cependant que les experts soulignent la difficulté d'évaluer l'établissement d'une souche de *Wolbachia* dans une population cible d'*Ae. aegypti* compte tenu :

- de l'absence de consensus concernant la prévalence de *Wolbachia* à atteindre dans la population cible pour l'établissement de la souche. Certains auteurs ont réalisé des lâchers jusqu'à atteindre une prévalence de 50 % (Hoffmann *et al.* 2014, Nazni *et al.* 2019, Simmons *et al.* 2024), d'autres considèrent que le seuil à atteindre pour considérer une zone comme traitée est de 60 % (Velez *et al.* 2023a). Sur un plan plus théorique, Turelli et Barton (2017) recommandent de viser une prévalence d'au moins 60 à 80 % pour garantir que la bactérie puisse s'établir durablement et se propager spatialement dans la population de moustiques ;
- de la diversité dans la manière de présenter les résultats des études (résultats agrégés vs résultats détaillés par site de lâchers). Dans les cas où les résultats détaillés sont présentés, une grande hétérogénéité est observée en termes de dynamique temporelle et d'ampleur d'effet ;
- de l'absence d'investigation des facteurs de succès et d'échec de l'établissement de *Wolbachia*, à l'exception des phénotypes de résistances aux insecticides et du coût métabolique de *Wolbachia* pour les moustiques transinfectés.

D'un point de vue épidémiologique, l'efficacité de la technique à réduire l'incidence de la dengue est avérée avec wMel et wAlbB. De plus, la réduction de l'incidence du chikungunya est considérée par les experts comme possible avec wMel. Des trois techniques étudiées, la technique de remplacement est la seule qui dispose de preuves de son efficacité épidémiologique, avérées vis-à-vis de la dengue et possibles vis-à-vis du chikungunya.

Les experts soulignent que l'ampleur des effets observés dépend de la prévalence de *Wolbachia* dans la population cible. En effet, une corrélation positive entre le taux de prévalence de wMel et wAlbB dans la population et la réduction de l'incidence des cas de dengue a été mise en évidence dans la plupart des études (O'Neill *et al.* 2018 ; Nazni *et al.* 2019 ; Indriani *et al.* 2020 ; Ryan *et al.* 2020 ; Pinto *et al.* 2021 ; Utarini *et al.* 2021 ; Ribeiro dos Santos *et al.* 2022 ; Indriani *et al.* 2023 ; Velez *et al.* 2023b ; Hoffmann *et al.* 2024 ; Ogunlade *et al.* 2023 ; Sohail *et al.* 2024).

⁵⁴ Concernant la souche wAlbB, celle-ci est parfois mise en avant pour sa résistance aux températures élevées (températures maximales quotidiennes dépassant 36°C) (Nazni *et al.* 2019), contrairement à wMel (Hague, Wheeler et Cooper 2024). Toutefois, peu d'études publiées rendent compte de l'utilisation de cette souche dans le cadre de la technique de remplacement.

Les experts relèvent également que la plupart des analyses statistiques réalisées dans les études épidémiologiques sont fondées sur les cas de dengues notifiés (i.e. cas suspects et confirmés) aux systèmes de surveillance nationaux. Étant donné que les symptômes des trois arboviroses (dengue, chikungunya, Zika) sont très similaires, voire également très proches d'autres maladies virales (*West Nile Virus*, grippe, etc.), l'ampleur de l'effet des interventions avec la technique de remplacement peut être sur- ou sous-estimée. Il est donc important d'utiliser davantage, et quand c'est possible, l'indicateur des cas d'arbovirose confirmés. En outre, le caractère cyclique et saisonnier particulier des épidémies devrait encourager des études épidémiologiques plus longues permettant de mieux maîtriser les facteurs de confusion liés à cette saisonnalité.

D'autre part, les experts soulignent l'absence de données relatives à l'application de la technique de remplacement à d'autres espèces qu'*Ae. aegypti*. Or, cette espèce cohabite parfois avec d'autres, dont *Ae. albopictus* (cf chapitre 2), vecteur très efficace de nombreux arbovirus (Anubis Vega-Rúa *et al.* 2020; A. Vega-Rúa *et al.* 2014; Lwande *et al.* 2020). La présence de ces deux vecteurs en sympatrie pourrait donc impacter négativement l'efficacité de la technique de remplacement lorsqu'elle est appliquée à une seule espèce.

Tableau 12 : Évaluation du poids des preuves de l'efficacité de la technique de remplacement

Conditions	wMel			wAlbB			wMelPop		
	Publications	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Introduction dans une population cible d’ <i>Ae. aegypti</i>									
Semi-naturelles	Walker <i>et al.</i> (2011)	Limitées	Avéré	/	Inexistantes	Avéré	Walker <i>et al.</i> (2011)	Limitées	Avéré
Terrain (petite échelle/ essai pilote)	Hoffmann <i>et al.</i> (2011) ; Schmidt <i>et al.</i> (2017) ; Garcia <i>et al.</i> (2019) ; Tantowijoyo et al (2020) ; Gesto <i>et al.</i> (2021b) ; Lin <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes		Cheong <i>et al.</i> (2023)	Suffisantes		Nguyen <i>et al.</i> (2015) (avec deux essais distincts)	Suffisantes	
Terrain (grande échelle/ essai opérationnel)	O’Neill <i>et al.</i> (2018) ; Indriani <i>et al.</i> (2020) ; Ryan <i>et al.</i> (2020) ; Gesto <i>et al.</i> (2021a) ; Pinto <i>et al.</i> (2021) ; Utarini <i>et al.</i> (2021) ; Ribeiro dos santos <i>et al.</i> (2022) ; Ogunlade <i>et al.</i> (2023) ; Velez <i>et al.</i> (2023a) ; Simmons <i>et al.</i> (2024) ; Dufault <i>et al.</i> (2024)			Nazni <i>et al.</i> (2019) ; Hoffmann <i>et al.</i> (2024)			/		

Conditions	wMel			wAlbB			wMelPop		
	Publications	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Établissement dans une population cible d'Ae. aegypti									
Semi-naturelles	/	Inexistantes	Avéré	/	Inexistantes	Possible	/	Inexistantes	Absence d'effet avérée
Terrain (petite échelle/ essai pilote)	Hoffmann <i>et al.</i> (2014) ; Schmidt <i>et al.</i> (2017) ; Garcia <i>et al.</i> (2019) ; Tantowijoyo et al (2020) ; Gesto <i>et al.</i> (2021b) ; Lin <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes		Cheong <i>et al.</i> (2023)	Limitées		Nguyen <i>et al.</i> (2015) (avec deux essais distincts)	Suffisantes	
Terrain (essais opérationnels)	O'Neill <i>et al.</i> (2018) ; Indriani <i>et al.</i> (2020) ; Ryan <i>et al.</i> (2020) ; Gesto <i>et al.</i> (2021a) ; Pinto <i>et al.</i> (2021) ; Utarini <i>et al.</i> (2021) ; Ribeiro dos santos <i>et al.</i> (2022)* ; Ross <i>et al.</i> (2022) ; Ogunlade <i>et al.</i> (2023) ; Velez <i>et al.</i> (2023a) ; Calle-Tobon <i>et al.</i> (2024) ; Simmons <i>et al.</i> (2024)			Nazni <i>et al.</i> (2019)* ; Hoffmann <i>et al.</i> (2024)*			/		
Réduction de l'incidence de la dengue									
Zone épidémique ou endémique	Analyses de séries temporelles Indriani <i>et al.</i> (2020); Velez <i>et al.</i> (2023b) ; Ribeiro dos Santos <i>et al.</i> (2022) ; Pinto <i>et al.</i> (2021) ; Indriani <i>et al.</i> (2023) Études cas-témoin ou RCT Utarini <i>et al.</i> (2021) ; Velez <i>et al.</i> (2023b)	Suffisantes	Avéré	Nazni <i>et al.</i> (2019) ; Hoffmann <i>et al.</i> (2024)	Suffisantes	Avéré		Inexistantes	Non qualifiable
Zone non endémique	O'Neill <i>et al.</i> (2018) ; Ogunlade <i>et al.</i> (2023) ; Ryan <i>et al.</i> (2020) ; Sohail et al (2024)	Suffisantes		/	Inexistantes			Inexistantes	

Conditions	wMel			wAlbB			wMelPop		
	Publications	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné	Publi.	Niveau de preuve	Niveau de preuve combiné
Réduction de l'incidence du chikungunya									
Zone épidémique ou endémique	Ribeiro dos Santos <i>et al.</i> (2022) ; Pinto <i>et al.</i> (2021)	Limitées	Possible	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
Zone non endémique	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	
Réduction de l'incidence du Zika									
Zone épidémique ou endémique	Pinto <i>et al.</i> (2021)	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable	/	Inexistantes	Non qualifiable
Zone non endémique	/	Inexistantes		/	Inexistantes		/	Inexistantes	

* Études ne permettant pas d'évaluer l'effet considéré.

6 Effets non-intentionnels potentiels

L'objet de ce chapitre 6 est de dresser une liste d'effets non-intentionnels (ENI) potentiellement associés aux techniques de LAV considérées dans ce rapport. Contrairement au chapitre 5 traitant de leur efficacité, cette partie n'a pas fait l'objet d'une revue systématique de la littérature. Elle a été rédigée à partir des articles identifiés sur avis d'experts pour dresser cette liste d'effets, sans évaluer leur probabilité d'apparition ni leur ampleur pour l'une ou l'autre des techniques. À l'occasion de ce travail prospectif, les experts du GT ont constaté la rareté des publications scientifiques sur le sujet des ENI et ont mis en évidence des lacunes importantes concernant les connaissances sur l'ensemble de ces effets. Des travaux mériteraient d'être menés afin d'approfondir le sujet (voir recommandations spécifiques sur le sujet au chapitre 9).

Comme toutes les techniques de LAV, la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement, même si elles sont développées en tant qu'alternatives de biocontrôle, peuvent entraîner des ENI. Ces effets peuvent être décrits à différentes échelles et sont sous-tendus par différents mécanismes. À l'échelle des populations de moustiques, il s'agit de processus génétiques et démographiques. À l'échelle des écosystèmes, il s'agit de changements dans les réseaux trophiques, les interactions entre espèces ou les niches écologiques. Enfin, il peut également y avoir des ENI sur la santé humaine.

Ci-après les effets non-intentionnels sont envisagés dans leur globalité, qu'ils puissent être considérés comme négatifs ou positifs. Par exemple, l'établissement de *Wolbachia* peut freiner la transmission d'autres virus que celui de la dengue initialement ciblé, ou encore, des lâchers massifs de mâles stériles peuvent profiter aux organismes insectivores locaux. Ce parti pris d'intégration des effets repose sur le fait que la conséquence d'un effet dépend de l'angle sous lequel il est analysé.

Le Tableau 13 ci-dessous dresse une liste des différents ENI potentiels sur les populations, les communautés et les écosystèmes ainsi que sur la santé humaine des techniques étudiées dans ce rapport, sans présager de leur ampleur ni de leur gravité.

Tableau 13 : Synthèse des ENI potentiels de la TIS, la TII, la technique de remplacement et leurs variantes

		TIS et variantes		TII et variantes			Remplacement
		TIS	TIS renforcée	TII	TII renforcée	TIS-TII	
Effets non-intentionnels à l'échelle populationnelle chez les moustiques cibles							
Modifications comportementales		X	X	X	X	X	X
Résistance à <i>Wolbachia</i>	Chez le moustique	-	-	X	X	X	X
	Chez le virus	-	-	-	-	-	X
Résistance génétique au PPF		-	X	-	X	-	-
Transfert de mutations génétiques		X	X	-	-	X	-
Hybridation		X	X	X	X	X	X
Transfert du microbiote entre espèces de moustiques ou autres insectes	<i>Wolbachia</i>	-	-	X	X	X	X
	Autres micro-organismes	X	X	X	X	X	X

	TIS et variantes		TII et variantes			Remplacement
	TIS	TIS renforcée	TII	TII renforcée	TIS-TII	
(Sur)compensation démographique	X	X	X	X	X	-
Effets non-intentionnels à l'échelle des communautés et des écosystèmes						
Déséquilibre des chaînes trophiques	X	X	X	X	X	-
Modifications de niches écologiques	X	X	X	X	X	-
Toxicité du PPF pour les écosystèmes	-	X	-	X	-	-
Effets non-intentionnels pour la santé humaine						
Possibilité de transmission d'autres pathogènes	-	-	-	-	-	X
Nuisance et risque de transmission	X	X	X	X	X	X
Baisse d'immunité	X	X	X	X	X	X
Toxicité du PPF pour la santé humaine	-	X	-	X	-	-

Légende : X : ENI possible ; - : absence d'ENI

6.1 Effets non-intentionnels à l'échelle des populations de moustiques

Plusieurs catégories d'ENI décrits ci-dessous sont des conséquences de mutations ponctuelles dans le génome des moustiques utilisés. Ces mutations aléatoires, lorsqu'elles améliorent l'aptitude phénotypique des individus qui les portent (meilleure survie ou reproduction), peuvent se maintenir dans les populations. Le recours aux pesticides (utilisés dans le cadre de la TIS ou de la TII renforcées), aux rayonnements ionisants (dans le cadre de la TIS) ou encore à des souches de *Wolbachia* transinfectées (dans le cadre de la TII ou de la technique de remplacement) peut accélérer les phénomènes évolutifs sous pression de sélection.

6.1.1 Résistances

6.1.1.1. Modifications comportementales

Les méthodes de TIS et de TII sont fondées sur l'hypothèse que les femelles sauvages s'accouplent indifféremment avec les mâles lâchés, stériles (préalablement irradiés) ou incompatibles (porteurs de *Wolbachia*). Pour différentes raisons, cette hypothèse n'est pas toujours vérifiée.

D'une part, les mâles stérilisés par irradiation ont une aptitude phénotypique généralement inférieure à celle des mâles sauvages (Pérez-Staples, Shelly et Yuval 2013). Chez *Ae. albopictus* par exemple, l'indice de compétitivité (ou *fitness*) des mâles stérilisés varie selon les conditions, mais peut être de l'ordre de 0,06 à 0,76 (Oliva *et al.* 2012). Chez *Ae. aegypti* au Brésil, l'indice de compétitivité de mâles lâchés par drone a été estimé à 0,26 (Bouyer *et al.* 2020b). La réduction de la compétitivité des mâles irradiés pourrait être une limite de la TIS qui doit être surveillée afin de limiter ses effets dans la mesure du possible. Pour certains auteurs, cela représente un argument en faveur de la TII ou de la combinaison TIS-TII (Zheng *et al.* 2019; P. Kittayapong *et al.* 2025).

D'autre part, dans les environnements traités par la TIS, la TII ou la technique de remplacement, les comportements favorisant l'accouplement des moustiques femelles avec des mâles fertiles ou compatibles pourraient être sélectionnés, ce qui pourrait réduire l'efficacité de ces techniques. Chez les arthropodes, les symbiontes bactériens, y compris *Wolbachia*, peuvent influencer le choix du partenaire sexuel (Sharon *et al.* 2010; Beltran-Bech et Richard 2014). L'évitement de partenaires porteurs d'une souche de *Wolbachia* incompatible a été montré chez des acariens (Vala *et al.* 2004) et un isopode (Moreau *et al.* 2001), mais ce comportement n'est pas généralisé. En particulier, il n'y a pas de données allant dans ce sens chez les moustiques.

Des modifications comportementales (dues à une baisse de compétitivité des *Aedes* mâles irradiés ou à un éventuel évitement de partenaires porteurs d'une souche de *Wolbachia* incompatible) peuvent apparaître, ce qui pourrait réduire l'efficacité de la TIS, de la TII ou de la technique de remplacement.

6.1.1.2. Résistance à *Wolbachia* ou incompatibilité cytoplasmique

6.1.1.2.1. **Chez le moustique**

Des mutations génétiques favorisant la compatibilité du moustique pour *Wolbachia* pourraient être sélectionnées et ainsi faire évoluer les populations de moustiques cibles vers un contournement de l'incompatibilité cytoplasmique.

Une diminution de l'efficacité de l'incompatibilité cytoplasmique, due à des mutations génétiques, a été observée chez des moustiques, par exemple chez *Culex pipiens* (Duron *et al.* 2012) ou *Ae. albopictus* (Fu *et al.* 2010; Ant et Sinkins 2018).

Une diminution de l'efficacité de l'incompatibilité cytoplasmique, due à des mutations génétiques, a été observée chez des moustiques. Ceci pourrait affecter l'efficacité des techniques mises en œuvre.

6.1.1.2.2. **Chez le virus**

Dans une approche fondée sur l'utilisation de *Wolbachia* avec la technique de remplacement visant à bloquer directement la réplication et la transmission de virus, il est possible qu'un virus capable d'échapper à ce blocage soit sélectionné. Cette hypothèse est évoquée depuis plusieurs années (Bull et Turelli 2013; Ross, Turelli et Hoffmann 2019; Vi *et al.* 2017).

L'introduction de *Wolbachia* dans les moustiques du genre *Aedes* diminue leur aptitude à transmettre certains agents pathogènes (orthoflavivirus, alphavirus, etc.) (Johnson 2015; Ant *et al.* 2023). En revanche, la transmission par les *Aedes* vecteurs d'arbovirus ayant des stratégies de réplication différentes (ex : virus à ARN de polarité négative) (McLean *et al.* 2019) semble moins impactée par *Wolbachia* (ex : Jamestown Canyon virus) (Lau *et al.* 2023).

Il a été observé que la répllication de quelques virus (ex : Jamestown Canyon virus) serait moins affectée par *Wolbachia* que celle des agents pathogènes ciblés par la technique de remplacement, ce qui pourrait modifier la dynamique de transmission d'agents pathogènes non ciblés (cf. § 6.3.1).

6.1.1.3. Résistance génétique au pyriproxifène

Dans le cas des techniques renforcées (TIS ou TII dites boostées), il est possible qu'un allèle de résistance au PPF⁵⁵ (préexistants à faible fréquence ou apparus au fil de mutations postérieures aux interventions) soit sélectionné dans une population de moustiques cible selon des mécanismes de sélection de résistances similaires à ceux d'autres insecticides. La sélection de d'allèles de résistance est favorisée par un processus de sélection naturelle rapide sous pression de sélection.

Il a ainsi été montré que l'apparition d'une résistance au PPF peut être sélectionnée chez des populations de moustiques, comme chez deux vecteurs majeurs d'agents du paludisme *An. gambiae* et *An. funestus* (Yunta *et al.* 2016; Yunta *et al.* 2019), ainsi que chez *Ae. aegypti* (Marcombe *et al.* 2014; Hustedt *et al.* 2020). Elle est également présente chez d'autres espèces telles que la mouche domestique *Musca domestica* (Shah *et al.* 2015).

Par ailleurs, l'exposition au PPF pourrait favoriser la sélection de résistances à d'autres insecticides. En effet, des recherches récentes ont montré que des doses sub-létales de PPF pouvaient augmenter la résistance aux pyréthriinoïdes (perméthrine, deltaméthrine) chez *An. arabiensis* (Opiyo *et al.* 2021).

La TIS et la TII renforcées peuvent induire la sélection d'une résistance au PPF. L'utilisation du PPF pourrait également être à l'origine de résistances croisées avec d'autres insecticides (ex : pyréthriinoïdes).

6.1.2 **Transfert de mutations génétiques**

Le processus de stérilisation aux rayons ionisants entraîne de par sa nature même une mutagenèse aléatoire (Ravasi *et al.* 2024; Sancho *et al.* 2021). Ainsi, des moustiques mâles (ou femelles résiduelles⁵⁶) ayant été traités par irradiation, mais n'ayant pas été totalement stérilisés (en raison d'une irradiation non-uniforme par exemple) (F. Balestrino *et al.* 2024), pourraient être lâchés.

Ces lâchers pourraient entraîner le transfert de mutations aléatoires dans les populations naturelles de moustiques de manière non contrôlée. De telles mutations pourraient ainsi modifier la capacité vectorielle ou d'autres traits d'histoire de vie (comportement de piqure, augmentation de l'efficacité de la reproduction, etc.) et potentiellement engendrer de nouveaux risques pour la santé humaine (voir § 6.3.2).

La très grande majorité des mutations est délétère ou neutre. Malgré le fort taux de reproduction des moustiques, la probabilité d'apparition de traits nouveaux bénéfiques pour les moustiques et allant à l'encontre des objectifs de contrôle est très faible. Ceci est d'autant plus vrai pour les traits complexes polygéniques tels que les comportements, qui nécessitent la sélection conjointe de mutations dans différents gènes.

⁵⁵ Le pyriproxifène, analogue de l'hormone juvénile est un régulateur de croissance qui affecte les voies de signalisation hormonales, notamment de l'hormone thyroïdienne. Il est utilisé dans les techniques renforcées (cf 3.1.1.5).

⁵⁶ En effet, les méthodes de sexage existantes sont encore imparfaites et peuvent conduire à des lâchers accidentels de femelles (voir § 3.1.1.1, le « sexage »).

Ces évènements génétiques font partie des évènements rares, mais leurs conséquences imprévisibles peuvent impacter la capacité vectorielle ou d'autres traits d'histoire de vie du moustique.

6.1.3 Hybridation

Lorsque les moustiques lâchés diffèrent génétiquement des populations cibles, des croisements (introgression de matériel génétique) peuvent produire de nouveaux génotypes aux caractéristiques indésirables liées à la vigueur hybride⁵⁷ (par exemple plus féconds).

En Espagne, des flux de gènes (nucléaire et mitochondrial) ont été observés sur les populations de mouche méditerranéenne (*Ceratitis capitata*) stérilisées, suggérant que des femelles fertiles ont été lâchées de manière non intentionnelle et qu'une hybridation s'est produite, sans conséquence négative observée (Sancho *et al.* 2021).

Des flux de gènes limités ont également été observés en Thaïlande chez des mouches orientales des fruits (*Bactrocera dorsalis*) stérilisées (Aketaarawong *et al.* 2011).

De nouveaux génotypes de moustiques peuvent apparaître lors de l'hybridation entre moustiques sauvages et moustiques lâchés. C'est l'une des raisons pour lesquelles les souches locales d'*Aedes* doivent être privilégiées lors de lâchers de moustiques.

6.1.4 Transfert du microbiote d'une espèce de moustique à une autre, voire à d'autres insectes

6.1.1.4. Transfert de *Wolbachia*

Wolbachia est une bactérie endosymbiotique naturellement présente chez environ 40-60 % des espèces d'arthropodes (Hilgenboecker *et al.* 2008; Werren, Baldo et Clark 2008), ainsi que certaines espèces de nématodes (Werren, Baldo et Clark 2008). Elle se transmet verticalement des femelles porteuses à leur descendance (Hoffmann, Turelli et Harshman 1990). Néanmoins, il existe des preuves issues d'études de phylogénie moléculaire mettant en évidence l'existence de phénomènes de transmissions horizontales entre espèces (intertaxons) (Werren, Windsor et Guo 1995b; Werren, Zhang et Guo 1995a; S. L. O'Neill *et al.* 1992; Schilthuizen et Stouthamer 1997; Vavre *et al.* 1999; Shaikevich *et al.* 2019; Nikoh *et al.* 2008). Ces transferts sont rendus possibles notamment par la circulation de *Wolbachia* dans le phloème des plantes (ex : le cotonnier, les plants de concombre et le niébé) (S.J. Li *et al.* 2017) et par le biais d'insectes parasitoïdes qui injectent leurs œufs dans l'hémocoel de leurs hôtes (Heath *et al.* 1999).

Un tel changement d'hôte pour être 'effectif' doit franchir plusieurs étapes :

- le transfert physique de la bactérie *Wolbachia* à un individu d'une autre espèce ;
- la multiplication de la bactérie dans cet individu ;
- une transmission verticale ;
- la propagation dans l'espèce nouvellement porteuse (et non initialement ciblée par la technique).

Les souches de *Wolbachia* utilisées pour la TII et la technique de remplacement proviennent de drosophiles. Une fois introduites dans les populations cibles, ces souches de *Wolbachia* pourraient être à leur tour être transmises vers d'autres espèces d'insectes.

Une fois transinfectées dans les populations cibles, les souches de *Wolbachia* pourraient à leur tour être transmises à d'autres espèces d'insectes. Cependant, le changement

⁵⁷ Notion d'hétérosis qui désigne l'augmentation des capacités et ou de la vigueur d'un hybride par rapport aux parents.

d'hôte reste un événement complexe et naturel qui n'est pas suffisamment documenté et nécessite des recherches plus approfondies.

6.1.1.5. Transfert d'autres micro-organismes

Tout comme les moustiques lâchés peuvent introduire des gènes exogènes dans les populations cibles, ils peuvent également introduire leur microbiote et ainsi modifier l'aptitude phénotypique (ou *fitness*) des moustiques sauvages. Il a été récemment montré qu'un transfert de bactéries et de levures était possible entre partenaires sexuels chez deux espèces de drosophiles (*D. suzukii* et *D. melanogaster*) et que le microbiote des donneurs et des receveurs affectait la fréquence de transmission, avec des taux de transmission variant entre 4 et 41 % lors des accouplements (Guilhot, Xuéreb et Fellous 2025). Sachant que la composition des microbiotes (nature et proportion) est en grande partie due aux conditions environnementales et au régime alimentaire, on peut s'attendre à des microbiotes distincts entre individus sauvages et individus relâchés après un élevage de masse notamment. En effet, les conditions d'élevage influencent fortement le microbiote des moustiques en réduisant sa biodiversité, diminuant d'autant la probabilité que des bactéries aient un impact sur *Wolbachia* (Tuanudom *et al.* 2021; Dickson *et al.* 2018).

D'après des expériences réalisées en laboratoire, d'autres bactéries que *Wolbachia*, en particulier *Enterobacter* Esp. Z et *Serratia marcescens* (qui peuvent aussi être trouvées chez des moustiques sauvages), sont capables de bloquer le développement de *Plasmodium* spp., responsable du paludisme chez des moustiques anophèles (Cirimotich *et al.* 2011; Dong, Manfredini et Dimopoulos 2009). Une autre bactérie, *Chromobacterium Csp_P*, exerce à la fois des activités anti-*Plasmodium* et anti-dengue *in vitro*, montrant un potentiel de blocage de la transmission pour ces deux pathogènes et donc du paludisme et de la dengue (Ramirez *et al.* 2014). Il a été observé *in vitro* que *Chromobacterium Csp_P* inhibe également la croissance d'autres bactéries du microbiote de l'intestin de moustiques *Aedes* (Ramirez *et al.* 2014), aussi la question se pose d'une éventuelle interaction négative avec *Wolbachia* due au microbiote des moustiques sauvages ciblés par la TII ou la technique de remplacement.

Ainsi, la présence d'autres bactéries dans le microbiote des *Aedes*, telles que celles citées ci-dessus, peut avoir un effet négatif sur le déploiement de *Wolbachia* dans les populations sauvages des sites traités, ce qui réduirait d'autant l'efficacité de la TII et de la technique de remplacement. Toutefois, la communauté microbienne des adultes est généralement considérée comme moins diversifiée que celle des larves de moustiques, car seuls certains taxons spécifiques sont transmis directement de la larve à la nymphe, puis à l'adulte. De nombreux micro-organismes sont perdus au cours de la métamorphose, mais certains sont réacquis à partir du site de reproduction larvaire, lorsque les moustiques nouvellement émergés entrent en contact avec l'eau et avec le nectar de fleurs qu'ils consomment (E. P. Caragata, Tikhe et Dimopoulos 2019).

Les moustiques lâchés peuvent transmettre une partie de leur microbiote aux moustiques sauvages, ce qui pourrait avoir des conséquences sur le risque vectoriel :

- soit en modifiant l'aptitude phénotypique et la *fitness* des moustiques sauvages ;
- soit par une éventuelle interaction négative avec *Wolbachia*.

6.1.5 (Sur)compensation démographique

La baisse du taux d'éclosion des œufs provoquée par les TIS ou la TII peut entraîner un relâchement de la compétition larvaires (cf. § 2.1.5), et donc, une meilleure survie (McIntire et Juliano 2018; Bouyer 2023). Ce phénomène de compensation démographique a été

observé dans de nombreux essais de TIS utilisée pour lutter contre les *Aedes* et est moins documenté mais probablement similaire avec la TII (Evans *et al.* 2022).

Le phénomène de compensation ou de surcompensation démographique se produit à de fortes densités larvaires. Il peut avoir pour conséquence un nombre d'adultes *Aedes* émergeant aussi grand, voire plus grand que celui qui aurait été observé en absence de traitement. C'est une des raisons pour lesquelles il est indispensable de réduire les populations d'*Aedes* sauvages avant de déployer la TIS ou la TII.

La technique de remplacement n'est, quant à elle, pas directement concernée par cet effet (la réduction de taille de population n'étant pas un objectif visé avec cette technique).

6.2 Effets non-intentionnels à l'échelle des communautés et des écosystèmes

6.2.1 Déséquilibre des chaînes trophiques

La réduction ou l'élimination d'une population d'une espèce d'insecte peut représenter un risque pour l'environnement lié au rôle que joue cette espèce dans l'écosystème, notamment en raison de sa position dans la chaîne trophique (effet en cascade) (Goudard 2007; Weterings, Umponstira et Buckley 2018). Aussi, la raréfaction des insectes a des conséquences importantes pour les insectivores, les interactions interspécifiques et le fonctionnement des écosystèmes (Møller 2019), notamment des effets ascendants de cascades trophiques sur les populations d'oiseaux, de poissons, de batraciens et de reptiles (Lister et Garcia 2018). Par exemple, il a été observé en Camargue que la consommation de nématocères (sous-ordre des diptères, incluant les moucheron et les moustiques) et de leurs prédateurs (araignées et libellules) par les hirondelles rustiques (*Delichon urbicum*) avait significativement diminué dans les sites traités au *Bti* (un larvicide), parallèlement à l'augmentation de la consommation de fourmis volantes. La taille des nichées et le taux de survie des oisillons de martinets étaient aussi significativement plus faibles sur les sites traités que sur les sites témoins, avec respectivement 2,3 contre 3,2 oisillons arrivant à l'âge adulte par nid (Poulin, Lefebvre et Paz 2010).

Au stade larvaire, les moustiques consomment des micro-organismes et constituent des proies pour certains organismes aquatiques (poissons, amphibiens, larves de libellules et autres insectes, etc.). Au stade adulte, ils constituent également des proies pour certains prédateurs spécialisés ou non (certains oiseaux insectivores, chauves-souris, araignées, insectes, lézards, etc.). D'après le peu de données disponibles sur le sujet, les organismes associés aux moustiques sont d'une part des prédateurs (tels que certains Coléoptères (Vanslebrouck *et al.* 2024), certains Hétéroptères et Odonates (Weterings *et al.* 2018), des Copépodes (Pauly, Jakoby et Becker 2022) ou *Toxorhynchites* (Sukupayo, Poudel et Ghimire 2024), et d'autre part des commensaux comme les daphnies dans les différents gîtes larvaires (creux d'arbres, soucoupes, mobilier urbain, etc.).

Par exemple, à La Réunion, des analyses moléculaires des restes d'insectes à partir d'excréments de chauves-souris (Petit Molosse ou *Mormopterus francoismoutoui*) ont montré qu'elles se nourrissaient d'au moins quatre espèces de moustiques, dont *Aedes albopictus*. Cependant, l'abondance de ce moustique dans leur régime alimentaire est très faible, du moins à la période de l'année étudiée (novembre). Ceci peut s'expliquer par des périodes d'activité différentes : le Petit Molosse étant une espèce nocturne, elle sort se nourrir à la tombée de la nuit, alors qu'*Aedes albopictus* est surtout actif en fin de journée (Dietrich *et al.* 2025).

L'impact d'une réduction ou de l'élimination d'une population de moustiques aura un effet lié à sa position au sein du réseau trophique.

À noter qu'il est rapporté que les communautés d'hirondelles présentes dans l'environnement proche des locaux d'élevage de la souche de *Ceratitis capitata* stérilisés en Espagne présentent un abdomen coloré (en rouge) et indiquant une alimentation copieuse (J. A. Jaques, communication personnelle). Ceci serait lié à l'abondance en *C. capitata* marquées au colorant rouge consommées par les hirondelles, soit suite à des fuites de *C. capitata* des locaux, soit à une entrée des hirondelles dans les locaux. En tout état de cause, la TIS implique des lâchers d'un très grand nombre d'individus et met ainsi à disposition de prédateurs de grandes quantités de ressource alimentaire. Aucune conséquence négative liée à ces variations en ressources alimentaire n'a été rapportée.

Aucune étude ne mentionne les impacts que pourraient créer à court, moyen ou long termes des lâchers d'insectes stériles sur la survie des organismes associés (prédateurs de moustiques notamment). Certains prédateurs de moustiques pourraient être avantagés par les lâchers, puis désavantagés en cas de réduction substantielle de la densité de moustiques. Il se peut qu'il y ait une simplification des chaînes trophiques, mais cet aspect n'est pas du tout documenté. Toutefois, dans le cas d'espèces invasives comme *Ae. albopictus* ou *Ae. aegypti*, l'augmentation des populations peut être rapide, voire démesurée (stratégie de type r^{58}) en conditions très favorables et du fait que, comme de nombreuses espèces invasives, ces espèces possèdent peu de prédateurs.

Les experts considèrent que les lâchers abondants de mâles stériles ou au contraire, la réduction de populations de moustiques, pourraient entraîner des perturbations non intentionnelles des chaînes trophiques préexistantes. Ces effets sont variables selon le contexte local et dépendent notamment :

- de la diversité en espèces de moustiques à un endroit donné (dynamique d'espèces différentes selon les lieux) ;
- de l'espèce de moustique ciblée par la technique ;
- de l'absence de prédateurs dépendants, a fortiori si l'espèce est invasive ;
- de la position des moustiques au sein du réseau trophique ;
- des possibilités de recolonisations d'habitats.

6.2.2 Modifications des niches écologiques

La réduction ou l'élimination de la population d'un insecte vecteur entraîne la possibilité qu'une nouvelle espèce ou une autre espèce de moustique, elle-même potentiellement vectrice d'agents pathogènes (éventuellement différents), remplace la population réduite ou éliminée. Ce phénomène est d'autant plus significatif que la réduction de la population est importante et prolongée dans le temps.

Bien qu'*Ae. albopictus* soit généralement un compétiteur supérieur à *Ae. aegypti*, un effet compétitif plus fort de certaines populations d'*Ae. aegypti* sur l'envahisseur *Ae. albopictus* peut contribuer à la résistance biotique à l'envahisseur par le biais de la compétition en conditions expérimentales (Leisnham et Juliano 2010).

Les modifications de niches écologiques pourraient avoir des conséquences non-intentionnelles sur les chaînes trophiques (ex : espèces non-cibles qui peuvent être soumises à de nouvelles pressions -prédateurs, agents pathogènes...- du fait de la modification de la niche écologique, cf. § 6.2.1), notamment sur des insectes pollinisateurs (y compris des moustiques), dont l'impact économique peut être significatif (cf. 6.4).

De plus, une sympatrie est observée parmi les espèces des genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Coulibaly *et al.* 2023; Hery, Boullis et Vega-Rúa 2021; Koumba *et al.* 2018; N'DRI *et al.* ; Roux et Robert 2019). Aussi, les différentes techniques visant à réduire les populations

de moustiques pourraient altérer les assemblages⁵⁹ d'espèces partageant les mêmes niches écologiques.

Les potentialités de recolonisation des niches écologiques laissées vacantes par la forte diminution des populations d'*Aedes* sont à considérer.

6.2.3 Toxicité du pyriproxyfène pour les écosystèmes

En conditions aérobies, le PPF est un insecticide peu persistant dans l'environnement aquatique, avec une demi-vie d'environ 16 à 21 jours (OMS 2008), principalement en raison de sa dégradation rapide sous l'effet de la lumière (Sullivan et Goh 2008; Moura et Souza-Santos 2020; Devillers 2020). Cependant, en conditions anaérobies, sa persistance peut atteindre 288,9 jours dans certains sédiments (Sullivan & Goh, 2008) et présenter une demi-vie allant jusqu'à 346,5 jours dans l'eau (Sullivan & Goh, 2008). Bien qu'elle puisse être perçue comme intéressante en LAV (en raison des conditions de développement des larves en milieux à tendance anaérobique avec forte charge organique), cette caractéristique est préoccupante pour la faune non-cible dans le cadre de l'utilisation du PPF pour lutter contre les moustiques (OMS 2006).

Par ailleurs cette toxicité est avérée sur de nombreux organismes (Cabral *et al.* 2024) avec des impacts négatifs sur le développement de poissons et amphibiens ou la détermination du sexe chez des invertébrés aquatiques non-cibles (notamment chez les microcrustacés tels que *Daphnia magna* (Moura & Souza-Santos, 2020). Cet aspect est peu documenté mais fait apparaître des impacts du PPF sur de nombreux crustacés d'eau douce des genres *Artemia*, *Daphnia*, *Leander*... ou de larves de Névroptères observés dans les gîtes larvaires (Caixeta *et al.* 2016; Trayler et Davis 1996).

La toxicité du PPF est avérée sur de nombreux organismes. Les experts estiment qu'il est essentiel de considérer son impact écologique en prenant en compte les risques sur les écosystèmes et les structures des communautés aux concentrations utilisées en TIS ou TII renforcées.

6.3 Effets non-intentionnels pour la santé humaine

6.3.1 Modification de la dynamique de transmission d'arbovirus

Certains virus peuvent être moins impactés par l'interférence avec le pathogène due à *Wolbachia* (ex : Jamestown Canyon virus) que ceux ciblés par la technique de remplacement (cf. 6.1.1.2). En outre, certaines études rapportent une répllication accrue de virus spécifiques d'insectes chez des moustiques porteurs de *Wolbachia* (Ant *et al.* 2023; Amuzu *et al.* 2018; de Faria, de Almeida et Marques 2024). Toutefois, les virus spécifiques d'insectes ne se répliquent pas dans les cellules vertébrées et ne constituent donc pas en soi un problème direct pour la santé publique. Cependant, ils ont le potentiel d'interagir avec les arbovirus humains et de moduler leur répllication lorsqu'ils co-infectent les mêmes cellules du moustique hôte, pouvant alors affecter sa compétence vectorielle.

Ces mécanismes, appelés mécanismes d'exclusion de la surinfection, sont des processus par lesquels une cellule hôte infectée par un virus voit sa capacité à soutenir la répllication productive d'une infection virale secondaire réduite (Ant *et al.*, 2023 ; Burivong, 2004 ; Schultz *et al.* 2018). Ceci a notamment été observé en conditions expérimentales pour le virus de la dengue et Zika (Burivong *et al.* 2004; Schultz, Frydman et Connor 2018).

⁵⁹ Cas d'ensembles de populations interconnectées ou non (métapopulations (Levins 1969)).

Cependant, d'autres travaux suggèrent que l'infection de moustiques *Aedes* par certains virus spécifiques d'insectes augmenterait la capacité des moustiques à transmettre le virus de la dengue et le virus Zika (Olmo *et al.* 2023; de Faria, de Almeida et Marques 2024).

Les changements de compétence vectorielle induits par *Wolbachia* pourraient modifier le virome du moustique. Les conséquences de ces découvertes sur une possible transmission vectorielle sur le terrain ne sont pas encore bien comprises. Néanmoins, elles pourraient modifier les dynamiques écologiques de transmission virale, laissant une possibilité d'élargissement de niche écologique à d'autres agents pathogènes pour l'être humain, ainsi que les animaux.

6.3.2 Nuisance et risque de transmission d'agents pathogènes par des femelles résiduelles

L'ensemble de techniques repose sur des lâchers de moustiques en grandes quantités. Dans le cadre de la technique de remplacement, les lâchers de femelles piqueuses augmenteraient de façon transitoire la nuisance et ce, sans conduire à un risque accru de transmission d'arbovirus étant donné qu'il s'agit de femelles résistantes à leur transmission. Après les lâchers de moustiques transinfectés avec *Wolbachia*, les études analysées dans ce rapport ne montrent pas de changements dans la densité de populations, soulignant le caractère transitoire de cette nuisance.

Dans le cadre des techniques TIS et TII et de leurs variantes, une quantité plus importante d'individus doit être lâchée de façon répétée. Le fait de lâcher des moustiques mâles (et donc non piqueurs) réduirait le risque de nuisance. Cependant, la présence de femelles résiduelles lors des lâchers, issue d'une séparation par sexage imparfaite (§ 3.1.1.1), peut entraîner une augmentation de la nuisance voire un risque de transmission d'agents pathogènes (autres que ceux ciblés par la technique). En outre, ces femelles peuvent s'accoupler avec les mâles incompatibles ou stériles relâchés, réduisant ainsi le nombre de mâles disponibles pour s'accoupler avec les femelles sauvages ciblées.

L'AIEA recommande de ne pas dépasser le seuil de 1 % de femelles résiduelles avec la TIS (OMS-AIEA 2020). Un taux de contamination supérieur à 1 % risque de diminuer l'acceptabilité de la technique.

Avec la TII, les femelles résiduelles transinfectées par *Wolbachia* peuvent également augmenter la nuisance. En outre, ces femelles ne sont pas stériles et peuvent donc produire une descendance viable si elles s'accouplent avec des mâles sauvages (infectés ou non par la même souche de *Wolbachia*). Cela peut réduire le rapport coût-efficacité de la technique et potentiellement conduire à un remplacement de population non désiré si la souche de *Wolbachia* s'établit. Ce dernier aspect a motivé certains groupes à associer la TII avec la TIS, afin de rendre les femelles résiduelles stériles (Zheng *et al.* 2019). Des résultats d'une étude en Chine indiquent cependant l'absence de contamination par des femelles résiduelles dans une approche se basant uniquement sur la TII (Zeng *et al.* 2022). Dans le cas d'espèces vectrices d'agents pathogènes, ces femelles représentent toujours un risque sanitaire comme l'indiquent des travaux démontrant que l'irradiation des femelles d'*Ae. aegypti* et d'*Ae. albopictus* n'affectent pas leur aptitude à transmettre les virus DENV et CHIKV (Fabrizio Balestrino *et al.* 2022b).

Il est toutefois à noter que des travaux récents montrent que si l'irradiation augmente, la sensibilité des femelles *Ae. aegypti* vis-à-vis du virus Mayaro (MAYV) augmente également (sans toutefois indiquer si l'efficacité de la transmission du MAYV est elle aussi augmentée) ; elle réduit aussi paradoxalement leur capacité vectorielle en altérant leur comportement alimentaire et leur survie (Trefry *et al.* 2024).

Des travaux de modélisation montrent que la présence de femelles résiduelles lors des lâchers est à prendre en considération, notamment en période de circulation virale (Diana P. Iyaloo *et al.* 2020b; Olmo *et al.* 2023; Dumont et Yatat-Djeumen 2024).

Aussi, pour la TIS, et encore plus pour la TII, la qualité du sexage est cruciale pour éviter les échecs et les risques liés aux femelles résiduelles relâchées accidentellement. Malgré le développement de méthodes automatisées ayant permis d'atteindre des taux théoriques de contamination d'une femelle pour 900 millions de mâles (Crawford *et al.* 2020), la plupart des méthodes de sexage restent imparfaites (Kittayapong *et al.* 2019). Ainsi les experts recommandent d'effectuer une vérification manuelle du taux de femelles résiduelles avant les lâchers, comme cela est généralement déjà fait et/ou de combiner la TII à la TIS.

6.3.3 Baisse d'immunité

En cas de baisse de circulation de virus pathogènes pour l'être humain, les niveaux de protection immune chez les individus pourraient décliner, ce qui aurait pour conséquence une probabilité accrue de développer de la maladie, lors d'un nouvel épisode épidémique (Ribeiro *et al.* 2020).

Autrement dit, la baisse d'immunité de la population humaine liée à la diminution initiale de l'incidence de la maladie, si elle est avérée, pourrait rendre cette population plus susceptible face à la réapparition d'un agent pathogène et favoriser le retour de foyers épidémiques, voire l'ampleur des épidémies en cas d'arrivée de nouveaux moustiques capables de transmettre l'agent pathogène (Ribeiro *et al.*, 2020).

La relation entre baisse d'immunité et réapparition d'épidémie est complexe et dépend des agents pathogènes concernés. Elle doit néanmoins être envisagée comme un effet de la diminution de la circulation des agents pathogènes ciblés par les techniques étudiées.

Cette perte d'immunité pourrait, par ailleurs, être compensée d'une part par des campagnes de vaccination (lorsqu'un vaccin est disponible) et d'autre part par le maintien d'une stratégie de lutte antivectorielle intégrée.

6.3.4 Toxicité du pyriproxyfène pour la santé humaine

La concentration limite du PPF recommandée par l'OMS dans l'eau potable est de 0,01 mg/L, soit très largement supérieure aux doses efficaces pour avoir un impact sur les gîtes larvaires (OMS 2008). Cependant, des inquiétudes ont été soulevées concernant la toxicité du PPF.

Se posent en effet des questions quant à sa toxicité et notamment son rôle de perturbation dans la signalisation des hormones thyroïdiennes (Vancamp *et al.* 2021). En effet un métabolite du PPF, le 4'-OH-PPF, dont la structure moléculaire présente une forte ressemblance avec l'hormone thyroïdienne T3, interfère avec l'action des hormones thyroïdiennes. Ainsi des expériences menées sur des cellules souches neuronales de souris ont révélé que l'exposition au PPF entraîne une diminution de la production de cellules gliales et une augmentation de leur mortalité, perturbant ainsi l'équilibre entre neurones et cellules gliales, essentiel au développement cérébral. Ces travaux ont montré une production accrue de Musaschi-1, une protéine dont le virus Zika a besoin pour se répliquer.

Des travaux ont par ailleurs révélé la toxicité du PPF sur la structure des cellules neuronales et l'ossification du crâne chez des embryons de poulets exposés de manière aiguë à 0,01 mg/L et 10 mg/L de PPF (Luckmann *et al.* 2024).

Le PPF pourrait perturber la signalisation des hormones thyroïdiennes.

Cependant, dans son rapport de 2019, l'Efsa n'émet pas d'inquiétude sur la potentielle toxicité du PPF mais précise en même temps qu'il subsiste des lacunes dans la littérature concernant sa toxicité ainsi que celle de ses métabolites (European Food Safety *et al.* 2019).

6.4 Effets socio-économiques non-intentionnels

Les effets socio-économiques non-intentionnels ne rentrent pas dans le champ de la saisine mais le GT a souhaité l'évoquer ci-après.

D'après les experts du GT, la mise en œuvre de la TIS, de la TII et de leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement pourraient avoir de nombreux effets socio-économiques (négatifs ou positifs), notamment :

- des effets institutionnels au niveau de la gouvernance, du pilotage et de la mise en œuvre des actions de prévention, de contrôle et de gestion des arboviroses, notamment des changements dans l'organisation des rôles et des interactions entre les acteurs de la LAV et de la démoustication (ARS, collectivités, opérateurs, associations, etc.) au niveau de la prise de décision, de la communication autour de la stratégie, etc. ;
- des effets directs et indirects sur les activités économiques, tels que :
 - o des coûts économiques pour les acteurs de la LAV (coûts opérationnels sur le long terme pour assurer la pérennité des programmes) ;
 - o des modifications des modèles économiques tels que la création, la localisation ou l'arrêt de certaines activités (ex : production en masse de moustiques, transport, etc.) affectant les activités humaines (création ou suppressions de postes dans le secteur de la LAV, de la production de biocides à la mobilisation sociale, etc.) ;
 - o des effets sur les services écosystémiques des moustiques (pollinisation (Gorham 1976; Shannon *et al.* 2024), épuration de l'eau, régulation de certains micro-organismes, etc.) et de régulation et de maintien d'une diversité biologique fournis par des prédateurs ou des agents pathogènes de moustiques (Roux et Robert 2019; Dangles et Casas 2019; Lavorel 2012, 2024; Bierry *et al.* 2015) ;
- des impacts en termes de couverture médiatique (ex : stigmatisation des régions traitées par ces techniques dues à des craintes ou de la désinformation qui pourraient influencer la perception des zones traitées, affectant le tourisme ou l'économie locale) ;
- des impacts sur les stratégies de recherche des entreprises pharmaceutiques (ex : moindre développement de vaccins contre les maladies vectorielles dengue, chikungunya, Zika, etc.) ;
- des impacts sur les comportements et les perceptions individuelles tels que :
 - o un relâchement, voire arrêt des mesures de prévention individuelles contre les moustiques (élimination des gîtes larvaires, utilisation de moustiquaires, etc.) par les populations locales en raison de la diminution de la vigilance ;
 - o une défiance éventuelle des populations locales vis-à-vis de l'utilisation de moustiques (stériles ou transinfectés par *Wolbachia*) dans la lutte antivectorielle si des campagnes de sensibilisation adaptées au contexte local ne sont pas réalisées de manière satisfaisante ;
- des impacts en termes d'accroissement des inégalités sociales entre quartiers traités et non traités (ex. label « villes sans moustiques »).

À la connaissance des experts du GT, ces impacts socio-économiques sont abordés dans de rares publications et n'ont pas été étudiés davantage dans le cadre de la présente expertise. Ils font néanmoins l'objet de recommandations au chapitre 9.

7 Analyse des incertitudes

Les experts du GT ont listé les principales sources d'incertitudes dans le Tableau 14 en suivant les recommandations du rapport du groupe de travail « Méthodologie d'Évaluation des Risques » (GT MER) de l'Anses (Anses 2017).

Tableau 14 : Typologie des sources d'incertitude

Volet de l'expertise	Source d'incertitude	Prise en compte par le GT	Impact de l'incertitude sur le résultat de l'expertise	
			Amplitude (très faible, faible, moyenne, forte, non qualifiable)	Direction (sur estimation, sous-estimation, non qualifiable)
Cadrage et périmètre de l'expertise	Non exhaustivité de la recherche bibliographique et de la prise en compte des études potentiellement pertinentes pour l'expertise	<p>Oui : réalisation d'une revue systématique de la littérature avec des mots-clés, et réalisation d'un diagramme Prisma</p> <p>La recherche bibliographique a été faite sur 3 bases de données (Pubmed, Scopus et <i>Web of science</i>) à deux dates différentes</p> <p>Utilisation de facteurs d'inclusions et d'exclusions pour améliorer la pertinence de la recherche</p>	Faible (impacte surtout l'identification et la qualification des déterminants de l'efficacité)	Sous-estimation du nombre de publications recensées
	Non exhaustivité du recensement des essais terminés non publiés ou en cours à l'international et dans les TUM	Oui : pas de recensement exhaustif des essais en cours à l'international → focus sur les TUM	Très faible	Sous-estimation du nombre de publications recensées

Volet de l'expertise	Source d'incertitude	Prise en compte par le GT	Impact de l'incertitude sur le résultat de l'expertise	
			Amplitude (très faible, faible, moyenne, forte, non qualifiable)	Direction (sur estimation, sous-estimation, non qualifiable)
Bilan des essais	Certains essais n'ont pas été publiés (ex : dans les TUM)	Oui : réalisation d'auditions auprès de responsables d'essais dans les TUM	Faible à moyen	Sous-estimation du nombre d'essais
Évaluation de l'efficacité des techniques	Biais de publication dans les études (i.e. sous-représentation de résultats peu probants)	Non	Non quantifiable	Sur-estimation de l'efficacité
	Nombre limité de publications pour certaines techniques (ex : TIS renforcée, TIS-TII, TII renforcée, certaines souches de <i>Wolbachia</i> peu étudiées) et/ou certaines espèces (ex : <i>Ae. polynesiensis</i>) et/ou résultats divergents	Oui : Le GT a réalisé une évaluation qualitative de l'efficacité de chacune des techniques en prenant en compte la qualité et la quantité des données disponibles pour évaluer le poids des preuves pour chaque espèce cible	Faible à fort selon les couples technique / espèce	Sur- ou sous-estimation selon les couples technique / espèce
	La méthode d'évaluation du poids des preuves s'intéresse uniquement à la survenue des effets, indépendamment de leur ampleur et des déterminants pouvant conditionner leur survenue	Oui : Les résultats d'efficacité de chacune des études sont donnés à titre indicatif et les déterminants de l'efficacité sont discutés par les experts du GT	Non qualifiable	Non qualifiable

Volet de l'expertise	Source d'incertitude	Prise en compte par le GT	Impact de l'incertitude sur le résultat de l'expertise	
			Amplitude (très faible, faible, moyenne, forte, non qualifiable)	Direction (sur estimation, sous-estimation, non qualifiable)
	Les publications scientifiques peuvent avoir des défauts méthodologiques (absence de répliqués, petites surfaces d'étude, séries temporelles trop courtes, etc.)	Oui : - Le GT a pris en compte la qualité des publications dans son analyse - La méthode du poids des preuves permet de pallier les défauts méthodologiques des études pour évaluer l'existence d'un effet en regroupant les résultats de différentes études	Faible à forte selon les techniques	Sur- ou sous-estimation selon les techniques
Identification et évaluation des ENI	Identification des ENI Impossibilité pour le GT de réaliser une revue de la littérature dans le temps imparti et pas d'audition d'experts spécifique aux ENI Non-exhaustivité de l'identification des ENI	Oui Identification des ENI sur la base d'une recherche opportuniste	Faible	Sous-estimation
	Évaluation de l'ampleur des ENI Quasi-absence d'indicateurs pour surveiller les ENI et absence de données de surveillance de ceux-ci Le GT n'a pas été constitué pour évaluer spécifiquement les ENI	Non L'ampleur et la probabilité d'apparition des ENI n'ont pas été évaluées	Forte	Non qualifiable

8 Conclusions du GT

La technique de l'insecte stérile (la TIS, ainsi que la TIS renforcée), la technique de l'insecte incompatible (la TII, ainsi que la TIS-TII, et la TII renforcée), et la technique de remplacement sont des outils innovants de lutte antivectorielle déployés sur le terrain pour réduire les risques vectoriels et/ou les nuisances dues aux *Aedes*. Les résultats de la revue de la littérature scientifique concernant ces techniques montrent des niveaux de preuve de leur efficacité très contrastés.

Concernant la TIS, le seul indicateur pour lequel l'effet est considéré avéré est la réduction du taux d'éclosion des œufs chez *Ae. albopictus*. Cet indicateur reflète le succès de la stérilisation par irradiation des mâles lâchés et de l'accouplement entre les mâles stériles et les femelles sauvages. Cependant, il ne rend pas directement compte d'une réduction du nombre de femelles (effet qualifié de possible). En outre, l'absence d'études mesurant l'impact de la TIS sur l'incidence des arboviroses ne permet pas, au moment de la rédaction du rapport, d'évaluer l'efficacité épidémiologique de la technique.

Concernant la TII, la quasi-totalité des données disponibles porte sur des indicateurs entomologiques. Elles montrent la capacité de la TII et de la TIS-TII à réduire à la fois le taux d'éclosion des œufs et le nombre de femelles, de manière plus ou moins robuste selon les combinaisons espèce (*Aedes*) - souche (*Wolbachia*). La réduction du nombre de femelles rend directement compte de l'efficacité entomologique de la technique (niveau de preuve avéré pour *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, niveau de preuve possible pour *Ae. polynesiensis*). La seule étude épidémiologique réalisée rend compte, chez *Ae. aegypti*, de la capacité de la TIS-TII à réduire l'incidence de la dengue (effet qualifié de possible).

Enfin, concernant la technique de remplacement, toutes les études ont été réalisées sur *Ae. aegypti*. La capacité de cette technique à introduire *wMel*, *wAlbB* et *wMelPop* et à établir *wMel* dans une population sauvage d'*Ae. Aegypti* est avérée, alors que l'établissement de *wAlbB* est possible chez *Ae. aegypti*. Sa capacité à réduire l'incidence de la dengue est également avérée avec *wMel* et *wAlbB*. De plus, son efficacité sur la réduction de l'incidence du chikungunya est considérée comme possible avec *wMel*. Les experts soulignent que l'ampleur des effets observés dépend de la prévalence de *Wolbachia* dans la population cible et qu'en dessous d'une prévalence de 60 %, l'efficacité épidémiologique n'a pas été démontrée.

Des trois techniques étudiées, la technique de remplacement est la seule qui présente des preuves de son efficacité épidémiologique qualifiées d'avérées vis-à-vis de la dengue et de possibles vis-à-vis du chikungunya. Des résultats probants en termes d'efficacité ont été obtenus dans plusieurs contextes (épidémique ou pas) par différentes équipes et sur plusieurs continents (Asie, Amérique latine, Australie, etc.).

Les conclusions relatives à l'efficacité de ces techniques ne sont valables que pour les espèces étudiées et, du fait des caractéristiques biologiques intrinsèques à chacune, elles ne peuvent être extrapolées à une autre espèce de moustique, même au sein du genre *Aedes*. À noter que pour la TII, le choix de la souche de *Wolbachia* dépendant de l'espèce et des profils symbiotiques de la population cible, il n'est pas possible d'extrapoler les conclusions d'une espèce de moustique à une autre. Pour la technique de remplacement, les mécanismes de l'interférence avec l'agent pathogène viral étant encore mal connus, il n'est pas non plus possible d'étendre les conclusions d'une espèce à une autre ou à d'autres agents pathogènes que ceux ayant été étudiés dans les publications retenues par le GT. De plus, les indicateurs d'efficacité ne sont pas standardisés d'une publication à une autre, rendant hasardeuses toutes comparaisons, notamment en termes quantitatifs. En résumé, sans connaître précisément les déterminants de l'efficacité des techniques, il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus d'un contexte à un autre. Afin de consolider les preuves scientifiques de l'efficacité des techniques, des travaux de recherche

supplémentaires à plus grande échelle et avec un réel effort d'harmonisation des indicateurs et des protocoles apparaissent donc indispensables.

À noter néanmoins que d'un point de vue méthodologique, certaines expérimentations basées sur des designs robustes avec traitements randomisés dans une matrice de répétitions spatiales (par exemple, Utarini et al 2021) sont considérées comme de très bonne qualité. De plus, la variabilité des approches réalisées, tout comme les recommandations possibles pour celles à venir, ne doivent pour autant pas ternir plusieurs facettes importantes des recherches menées sur les techniques de LAV utilisant des lâchers de moustiques, notamment (1) l'articulation entre recherche fondamentale, recherche appliquée et déploiement sur le terrain, avec des allers-retours fructueux entre théorie et expérimentation ; (2) l'interdisciplinarité, avec des dialogues réels entre microbiologie, biologie des populations d'insectes, écologie, épidémiologie, et sciences humaines et sociales ; (3) le nombre de publications dans des revues scientifiques d'excellente qualité. Certaines avancées scientifiques sont particulièrement ingénieuses et innovantes, comme l'utilisation de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* pour sa capacité à induire des croisements incompatibles ou à se propager dans les populations de moustiques tout en bloquant leur transmission de virus. Dans l'ensemble, les recherches évaluées dans ce rapport pourraient aussi servir de modèle à d'autres domaines, comme celui de la lutte contre les ravageurs en agriculture.

Pour être efficaces, ces techniques doivent être mises en œuvre sur le long terme. En effet, afin de réduire le risque vectoriel, les lâchers doivent être réalisés de manière préventive. Concrètement, ces techniques nécessitent des lâchers hebdomadaires d'un très grand nombre de moustiques sur de grandes superficies en amont et pendant toute la durée d'activité de l'insecte ciblé. Pour la technique de remplacement, les lâchers ne sont plus nécessaires après établissement de la souche de *Wolbachia* dans la population de moustique ciblée.

Ces techniques devront être déployées dans le cadre d'une stratégie de LAV intégrée, en complément d'autres méthodes de prévention et de lutte (physique, chimique ou biologique), notamment celles visant la réduction des populations de moustiques en amont des lâchers, ainsi que d'une stratégie vaccinale adaptée le cas échéant.

Au-delà d'une évaluation à court ou moyen terme de l'efficacité de ces techniques, leur efficacité à long terme et leurs effets non-intentionnels devront également être évalués. À ce jour, ces effets ont rarement été évalués lors des essais et doivent faire l'objet de travaux de recherche spécifiques et de recommandations en termes de maîtrise des risques.

9 Recommandations

9.1 Recommandations à destination des acteurs⁶⁰ en charge du déploiement de la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement

9.1.1 Encadrement du déploiement de ces techniques

Considérant :

- le niveau de preuves actuellement disponibles pour évaluer l'efficacité de la TIS, la TII, leurs variantes, ainsi que la technique de remplacement pour contrôler les populations d'*Aedes* et réduire le nombre de cas d'arboviroses ;
- que ces techniques sont destinées à être préventives et/ou à être utilisées sur du long terme ;
- les potentiels effets non-intentionnels de ces techniques et le manque de données sur le sujet ;
- que l'évaluation des risques doit être un processus continu et itératif, faisant l'objet d'une surveillance attentive afin de minimiser les conséquences négatives et inattendues du déploiement de ces techniques ;
- l'absence de statut réglementé pour les insectes transinfectés par *Wolbachia* ;
- la nécessité de respecter les normes et réglementations nationales et de se conformer aux directives de l'OMS (OMS 2022; OMS-AIEA 2020) pour déployer ces techniques ;
- l'existence d'une réglementation concernant l'entrée sur le territoire et l'introduction dans l'environnement des macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux (décret 2012-140⁶¹ et arrêté du 28 juin 2012⁶²) ;

les experts du GT recommandent :

1. la mise en place d'une réglementation claire et constituant une base commune pour les porteurs de projets et autorités locales, afin d'encadrer les lâchers de moustiques. Cette réglementation pourrait s'inspirer de celle existante pour les macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux et devrait notamment inclure :
 - la mise en place d'une démarche administrative comprenant (voir propositions détaillées en annexe 1) :
 - une déclaration obligatoire préalable à la mise en place des différentes étapes de la technique (élevage en masse, marquage-recapture, essais en conditions semi-naturelles...) auprès d'une autorité compétente centralisée ;
 - une autorisation préalable aux lâchers opérationnels auprès d'une autorité compétente locale (par exemple le Préfet, la DREAL ou l'ARS), ainsi qu'un bilan (de l'efficacité et des ENI) en cours et en fin d'essais ;
 - la création d'un statut réglementaire pour les insectes transinfectés par *Wolbachia* et/ou irradiés pour un usage en santé publique (ainsi qu'en agriculture) ;
2. de mettre en œuvre ces techniques dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée ;

⁶⁰ Par exemple Ministères en charge de l'environnement et de la santé, Préfet, DREAL, ARS, collectivités, etc.

⁶¹ Décret 2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux.

⁶² Arrêté du 28 juin 2012 relatif aux demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique.

3. de définir des indicateurs permettant de surveiller de manière standardisée les ENI (voir ceux listés au chapitre 6) ;
4. de prendre en compte les ENI potentiels et les résultats des études coût-efficacité⁶³ et/ou coût-bénéfices⁶⁴ pour choisir la stratégie de LAV intégrée la mieux adaptée au contexte local.

9.1.2 Participation citoyenne et gouvernance lors du déploiement des techniques

Considérant :

- que ces techniques doivent être déployées en combinaison avec d'autres techniques de LAV ;
- que l'utilisation de ces techniques peut avoir des conséquences socio-économiques (e.g. acceptabilité des opérations de LAV, gouvernance et organisation de la LAV) ;
- que ces techniques peuvent susciter des questions, voire des inquiétudes dans la population ;

les experts du GT recommandent :

1. de mettre en place d'une instance de coordination et de pilotage des essais et du déploiement de ces techniques sur le territoire national ;
2. de mettre en place une stratégie de communication, de concertation et de mobilisation sociale précoce et adaptée au contexte local (ex : instances de concertation, etc.), afin de faciliter l'accès à l'information du public en toute transparence ;
3. d'impliquer les acteurs locaux de la LAV (autorités sanitaires, opérateurs de démoustication, collectivités, associations) dans la mise en œuvre et le suivi des interventions ;
4. d'évaluer l'acceptabilité sociale à chaque étape du processus ;
5. d'anticiper les risques et les opportunités en termes socio-économiques et d'envisager des politiques publiques d'accompagnement économique à l'échelle des territoires.

9.2 Recommandations à destination de la recherche

9.2.1 Priorités de recherche

Considérant :

- les déficits de connaissances subsistant en matière d'efficacité (entomologique et épidémiologique) et d'ENI de ces techniques ;
- le nombre très limité de publications pour certaines techniques (ex : TIS renforcée -dite « boostée »-, TIS-TII et TII renforcée) et/ou certaines espèces (ex : *Ae. polynesiensis*) ;

⁶³ L'analyse coût-efficacité est une méthode quantitative consistant à comparer le « retour sur investissement » d'une action (ici une méthode de LAV) (c'est-à-dire les résultats souhaités qu'elle produit, rapportés à son coût), par comparaison avec d'autres actions possibles. Cette approche permet de comparer différentes stratégies de gestion.

⁶⁴ L'analyse coûts-bénéfices (ACB) est un outil d'aide à la décision mettant en avant les bénéfices escomptés d'un projet, d'une stratégie ou d'une politique en les comparant aux coûts liés à sa mise en œuvre.

les experts du GT recommandent de promouvoir les travaux de recherche par des institutions indépendantes (non impliquées dans le déploiement de ces techniques) et leur financement, notamment :

1. d'approfondir les travaux interdisciplinaires de recherche (associant épidémiologie, entomologie, modélisation...) en priorité pour :
 - évaluer l'efficacité épidémiologique des techniques (notamment de la TIS pour laquelle il n'y a pas de données) ;
 - explorer la stabilité de la fréquence de *Wolbachia* dans les populations d'*Aedes* cibles pour la technique de remplacement ;
 - évaluer le poids des différents facteurs (période, sites et durée des lâchers, nombre de mâles stériles lâchés par semaine, ratio, autres méthodes de LAV mises en œuvre dans les zones des essais, etc.) pouvant influencer les résultats en termes d'efficacité de ces techniques ;
2. d'encourager les travaux de recherche sur les effets non-intentionnels potentiels de ces techniques, après avoir défini des indicateurs pour les surveiller ;
3. d'encourager la recherche d'alternatives au PPF pour la TIS et la TII renforcées ;
4. de réaliser des travaux de recherche de type coût-efficacité et/ou coût-bénéfice de ces techniques ainsi que sur leurs impacts socio-économiques (e.g. acceptabilité des opérations de LAV, gouvernance et organisation de la LAV).

9.2.2 Conception expérimentale rigoureuse et optimisation des protocoles techniques

Considérant l'existence de lignes directrices (OMS 2022; OMS-AIEA 2020), le GT recommande en premier lieu de les appliquer en portant attention aux points mentionnés en Annexe 2, ainsi que :

1. de standardiser les indicateurs d'évaluation d'efficacité entomologiques (inclure systématiquement la densité de femelles) et épidémiologiques (se fondant préférentiellement sur les cas confirmés) et la manière de les calculer pour faciliter les comparaisons entre études et l'analyse de leurs résultats ;
2. de privilégier des designs expérimentaux robustes permettant des conclusions claires sur l'efficacité :
 - avec réplicats et randomisations (avec des zones témoins de surface équivalente à celles des lâchers),
 - ou des séries temporelles suffisamment longues : prévoir un suivi pré-intervention (pour avoir un témoin temporel et évaluer l'effet de l'intervention) et post-intervention (pour couvrir plusieurs saisons et les fluctuations des arboviroses dans les TUM, en particulier pour la technique de remplacement dont les effets sont supposés durables).
3. de documenter les facteurs (période, sites et durée des lâchers, nombre de mâles stériles lâchés par semaine, ratio lâchés/sauvages, autres méthodes de LAV mises en œuvre dans les zones des essais, etc.) pouvant influencer les résultats en termes d'efficacité de ces techniques et rendre les données brutes disponibles.

10 Références bibliographiques

10.1. Publications

- Aketarawong, N., S. Chinvinijkul, W. Orankanok, C. R. Guglielmino, G. Franz, A. R. Malacrida et S. Thanaphum. 2011. "The utility of microsatellite DNA markers for the evaluation of area-wide integrated pest management using SIT for the fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), control programs in Thailand." *Genetica* 139 (1): 129-40. <https://doi.org/10.1007/s10709-010-9510-8>.
- Allard, Antoine, Benjamin M. Althouse, Samuel V. Scarpino et Laurent Hébert-Dufresne. 2017. "Asymmetric percolation drives a double transition in sexual contact networks." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (34): 8969-8973. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703073114>.
- Almeida, A. P., Y. M. Gonçalves, M. T. Novo, C. A. Sousa, M. Melim et A. J. Grácio. 2007. "Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal." *Euro surveillance : bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 12 (11): E071115.6.
- Amuzu, H. E., K. Tsyganov, C. Koh, R. I. Herbert, D. R. Powell et E. A. McGraw. 2018. "Wolbachia enhances insect-specific flavivirus infection in *Aedes aegypti* mosquitoes." *Ecol Evol* 8 (11): 5441-5454. <https://doi.org/10.1002/ece3.4066>.
- Anses. 2016. "Évaluation du poids des preuves à l'Anses : revue critique de la littérature et recommandations à l'étape d'identification des dangers".
- Anses. 2021a. *Proposition de lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs de type Aedes, Anopheles et Culex aux insecticides*
- Anses. 2024/01/22/ 2024. *Avis de l'Anses relatif à la priorisation des lieux fréquentés par les cas importés d'arbovirose pour la réalisation des prospections entomologiques et des actions de lutte antivectorielle (2022-AST-0103)*. (Maisons-Alfort). <https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2022AST0103.pdf>.
- Ant, T. H., M. V. Mancini, C. J. McNamara, S. M. Rainey et S. P. Sinkins. 2023. "Wolbachia-Virus interactions and arbovirus control through population replacement in mosquitoes." *Pathog Glob Health* 117 (3): 245-258. <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2117939>.
- Ant, T. H. et S. P. Sinkins. 2018. "A Wolbachia triple-strain infection generates self-incompatibility in *Aedes albopictus* and transmission instability in *Aedes aegypti*." *Parasit Vectors* 11 (1): 295. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2870-0>.
- Balatsos, Georgios, Vasileios Karras, Arianna Puggioli, Fabrizio Balestrino, Romeo Bellini, Dimitrios P. Papachristos, Panagiotis G. Milonas, Nikos T. Papadopoulos, Marco Malfacini, Marco Carrieri, Apostolos Kapranas, Wadaka Mamai, George Mastronikolos, Ioanna Lytra, Jérémy Bouyer et Antonios Michaelakis. 2024. "Sterile Insect Technique (SIT) field trial targeting the suppression of *Aedes albopictus* in Greece." *Parasite (Paris, France)* 31: 17. <https://doi.org/10.1051/parasite/2024020>.
- Balatsos, Georgios, Arianna Puggioli, Vasileios Karras, Ioanna Lytra, George Mastronikolos, Marco Carrieri, Dimitrios P. Papachristos, Marco Malfacini, Angeliki Stefopoulou, Charalampos S. Ioannou, Fabrizio Balestrino, Jérémy Bouyer, Dušan Petrić, Igor Pajović, Apostolos Kapranas, Nikos T. Papadopoulos, Panagiotis G. Milonas, Romeo Bellini et Antonios Michaelakis. 2021. "Reduction in Egg Fertility of *Aedes albopictus* Mosquitoes in Greece Following Releases of Imported Sterile Males." *Insects* 12 (2). <https://doi.org/10.3390/insects12020110>.
- Balestrino, F., N. S. Bimbilé Somda, M. Samuel, S. Meletiou, O. Bueno, T. Wallner, H. Yamada, W. Mamai, M. J. B. Vreysen et J. Bouyer. 2024. "Mass irradiation of adult *Aedes*

- mosquitoes using a coolable 3D printed canister." *Scientific Reports* 14 (1): 4358. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55036-2>.
- Balestrino, F., A. Medici, G. Candini, M. Carrieri, B. Maccagnani, M. Calvitti, S. Maini et R. Bellini. 2010. "Gamma ray dosimetry and mating capacity studies in the laboratory on *Aedes albopictus* males." *Journal of medical entomology* 47 (4): 581-591. <https://doi.org/10.1603/me09272>.
- Balestrino, Fabrizio, Jérémy Bouyer, Marc J. B. Vreysen et Eva Veronesi. 2022b. "Impact of Irradiation on Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) for Dengue and Chikungunya Viruses." *Frontiers in bioengineering and biotechnology* 10: 876400. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.876400>.
- Bansal, Somya, Jue Tao Lim, Chee-Seng Chong, Borame Dickens, Youming Ng, Lu Deng, Caleb Lee, Li Yun Tan, Evdoxia G. Kakani, Yanni Yoong, David Du Yu, Grace Chain, Pei Ma, Shuzhen Sim, Lee Ching Ng et Cheong Huat Tan. 2024. "Effectiveness of Wolbachia-mediated sterility coupled with sterile insect technique to suppress adult *Aedes aegypti* populations in Singapore: a synthetic control study." *The Lancet. Planetary Health* 8 (9): e617-e628. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(24\)00169-4](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(24)00169-4).
- Basurko, Célia, Séverine Matheus, Hélène Hildéral, Sibille Everhard, Marion Restrepo, Emma Cuadro-Alvarez, Véronique Lambert, Rachida Boukhari, Jean-Pierre Duvernois, Anne Favre, Mathieu Nacher et Gabriel Carles. 2018. "Estimating the Risk of Vertical Transmission of Dengue: A Prospective Study." *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 98 (6): 1826-1832. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0794>.
- Becker, Norbert, Sophie Min Langentepe-Kong, Artin Tokatlian Rodriguez, Thin Thin Oo, Dirk Reichle, Renke Lühken, Jonas Schmidt-Chanasit, Peter Lüthy, Arianna Puggioli et Romeo Bellini. 2022. "Integrated control of *Aedes albopictus* in Southwest Germany supported by the Sterile Insect Technique." *Parasites & vectors* 15 (1): 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-05112-7>.
- Beebe, Nigel W., Dan Pagendam, Brendan J. Trewin, Andrew Boomer, Matt Bradford, Andrew Ford, Catherine Liddington, Artiom Bondarenko, Paul J. De Barro, Joshua Gilchrist, Christopher Paton, Kyran M. Staunton, Brian Johnson, Andrew J. Maynard, Gregor J. Devine, Leon E. Hugo, Gordana Rasic, Helen Cook, Peter Massaro, Nigel Snoad, Jacob E. Crawford, Bradley J. White, Zhiyong Xi et Scott A. Ritchie. 2021. "Releasing incompatible males drives strong suppression across populations of wild and Wolbachia-carrying *Aedes aegypti* in Australia." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (41): e2106828118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2106828118>.
- Behbahani, A., T. J. Dutton, N. Davies, H. Townson et S. P. Sinkins. 2005. "Population differentiation and *Wolbachia* phylogeny in mosquitoes of the *Aedes scutellaris* group." *Medical and Veterinary Entomology* 19 (1): 66-71. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2005.00542.x>.
- Bellini, R., F. Balestrino, A. Medici, G. Gentile, R. Veronesi et M. Carrieri. 2013a. "Mating Competitiveness of *Aedes albopictus* Radio-Sterilized Males in Large Enclosures Exposed to Natural Conditions." *Journal of Medical Entomology* 50 (1): 94-102. <https://doi.org/10.1603/ME11058>.
- Bellini, R., M. Calvitti, A. Medici, M. Carrieri, G. Celli et S. Maini. 2007. "Use of the sterile insect technique against *Aedes albopictus* in Italy: First results of a pilot trial." *Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation*: 505-515. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6059-5_47.
- Bellini, R., Marco Carrieri, Fabrizio Balestrino, Arianna Puggioli, Marco Malfacini et Jeremy Bouyer. 2021. "Field Competitiveness of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Irradiated Males in Pilot Sterile Insect Technique Trials in Northern Italy." *Journal of medical entomology* 58 (2): 807-813. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa235>.

- Bellini, R., A. Medici, A. Puggioli, F. Balestrino et M. Carrieri. 2013b. "Pilot field trials with *Aedes albopictus* irradiated sterile males in Italian urban areas." *Journal of Medical Entomology* 50 (2): 317-325. <https://doi.org/10.1603/me12048>.
- Beltran-Bech, Sophie et Freddie-Jeanne Richard. 2014. "Impact of infection on mate choice." *Animal Behaviour* 90: 159-170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.01.026>.
- Bierry, Adeline, Fabien QUÉTIER, Florence BAPTIST, Lucie WEGENER et Sandra LAVOREL. 2015. "Apports potentiels du concept de services écosystémiques au dialogue territorial." *Sciences Eaux & Territoires* (Articles hors-série 2015): 1-5.
- Black, Wc Iv et C. G. Moore. 1996. "Population biology as a tool for studying vector-borne diseases." Dans *The biology of disease vectors*, édité par W. C. Marquardt et B. J. Beaty, 393-416. : University Press of Colorado.
- Bond, J. Guillermo, Santiago Aguirre-Ibáñez, Adriana R. Osorio, Carlos F. Marina, Yeudiel Gómez-Simuta, Rodolfo Tamayo-Escobar, Ariane Dor, Pablo Liedo, Danilo O. Carvalho et Trevor Williams. 2021. "Sexual Competitiveness and Induced Egg Sterility by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Gamma-Irradiated Males: A Laboratory and Field Study in Mexico." *Insects* 12 (2). <https://doi.org/10.3390/insects12020145>.
- Bond, J. Guillermo, Adriana R. Osorio, Nancy Avila, Yeudiel Gómez-Simuta, Carlos F. Marina, Ildefonso Fernández-Salas, Pablo Liedo, Ariane Dor, Danilo O. Carvalho, Kostas Bourtzis et Trevor Williams. 2019. "Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program." *PloS one* 14 (2): e0212520. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212520>.
- Bouyer, J. 2023. "When less is more: accounting for overcompensation in mosquito SIT projects." *Trends in Parasitology* 39 (4): 235-237. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2023.02.001>.
- Bouyer, J., N. J. Culbert, A. H. Dicko, M. Gomez Pacheco, J. Virginio, M. C. Pedrosa, L. Garziera, A. T. Macedo Pinto, A. Klapotcz, J. Germann, T. Wallner, G. Salvador-Herranz, R. Argiles Herrero, H. Yamada, F. Balestrino et M. J. B. Vreysen. 2020b. "Field performance of sterile male mosquitoes released from an uncrewed aerial vehicle." *Science robotics* 5 (43): eaba6251. <https://doi.org/10.1126/scirobotics.aba6251>.
- Bouyer, J., David Almenar Gil, Ignacio Pla Mora, Vicente Dalmau Sorlí, Hamidou Maiga, Wadaka Mamai, Iris Claudel, Ronan Brouazin, Hanano Yamada, Louis-Clément Gouagna, Marie Rossignol, Fabrice Chandre, Marlène Dupraz, Frédéric Simard, Thierry Baldet et Renaud Lancelot. 2025. "Suppression of *Aedes* mosquito populations with the boosted sterile insect technique in tropical and Mediterranean urban areas." *Scientific Reports* 15 (1): 17648. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-02795-1>.
- Bouyer, J., H. Maiga et M. J. B. Vreysen. 2022. "Assessing the efficiency of Verily's automated process for production and release of male *Wolbachia*-infected mosquitoes." *Nature Biotechnology* 40 (10): 1441-1442. <https://doi.org/10.1038/s41587-022-01324-z>.
- Bouyer, J. et M. J. B. Vreysen. 2020a. "Yes, Irradiated Sterile Male Mosquitoes Can Be Sexually Competitive!" *Trends in Parasitology* 36 (11): 877-880. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.09.005>.
- Brady, Oliver J., Nick Golding, David M. Pigott, Moritz U. G. Kraemer, Jane P. Messina, Robert C. Reiner Jr, Thomas W. Scott, David L. Smith, Peter W. Gething et Simon I. Hay. 2014. "Global temperature constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* persistence and competence for dengue virus transmission." *Parasites & Vectors* 7 (1): 338. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-338>.
- Brady, Oliver J., Michael A. Johansson, Carlos A. Guerra, Samir Bhatt, Nick Golding, David M. Pigott, Hélène Delatte, Marta G. Grech, Paul T. Leisnham, Rafael Maciel-de-Freitas, Linda M. Styer, David L. Smith, Thomas W. Scott, Peter W. Gething et Simon I. Hay. 2013. "Modelling adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival at different temperatures in

- laboratory and field settings." *Parasites & Vectors* 6 (1): 351. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-351>.
- Brelsfoard, C. L., Y. Séchan et S. L. Dobson. 2008. "Interspecific hybridization yields strategy for South Pacific filariasis vector elimination." *PLoS Negl Trop Dis* 2 (1): e129. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000129>.
- Brelsfoard, Corey L. et Stephen L. Dobson. 2012. "Population genetic structure of *Aedes polynesiensis* in the Society Islands of French Polynesia: implications for control using a Wolbachia- based autocidal strategy." *Parasites & Vectors* 5 (1): 80. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-80>.
- Briegel, Hans et Susanne E. Timmermann. 2001. "<i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae): Physiological Aspects of Development and Reproduction." *Journal of Medical Entomology* 38 (4): 566-571. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.566>.
- Bull, J. J. et M. Turelli. 2013. "Wolbachia versus dengue: Evolutionary forecasts." *Evol Med Public Health* 2013 (1): 197-207. <https://doi.org/10.1093/emph/eot018>.
- Burford Reiskind, Martha O., Paul Labadie, Irka Bargielowski, L. Philip Lounibos et Michael H. Reiskind. 2018. "Rapid evolution and the genomic consequences of selection against interspecific mating." *Molecular Ecology* 27 (18): 3641-3654. <https://doi.org/10.1111/mec.14821>.
- Burivong, P., S. N. Pattanakitsakul, S. Thongrungrat, P. Malasit et T. W. Flegel. 2004. "Markedly reduced severity of Dengue virus infection in mosquito cell cultures persistently infected with *Aedes albopictus* dengue virus (AaDENV)." *Virology* 329 (2): 261-9. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.08.032>.
- Cabral, A. P., Fpds Maia, D. C. Magliano, J. B. Graceli, P. Soares, E. A. R. Morris et L. Miranda-Alves. 2024. "Pyriproxyfen, villain or good guy? A brief review." *Arch Endocrinol Metab* 68 (Spec Issue): e240154. <https://doi.org/10.20945/2359-4292-2024-0154>.
- Caixeta, E. S., C. F. Silva, V. S. Santos, E. Olegário de Campos Júnior et B. B. Pereira. 2016. "Ecotoxicological assessment of pyriproxyfen under environmentally realistic exposure conditions of integrated vector management for *Aedes aegypti* control in Brazil." *J Toxicol Environ Health A* 79 (18): 799-803. <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1191400>.
- Calle-Tobón, Arley, Raúl Rojo-Ospina, Sara Zuluaga, Juan F. Giraldo-Muñoz et Jorge Mario Cadavid. 2024. "Evaluation of Wolbachia infection in *Aedes aegypti* suggests low prevalence and highly heterogeneous distribution in Medellín, Colombia." *Acta Tropica* 260: 107423. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107423>.
- Calvez, Elodie, Nicolas Pocquet, Atoloto Malau, Sosiasi Kilama, Alefosio Taugamoa, Didier Labrousse, Philippe Boussès, Anna-Bella Failloux, Myrielle Dupont-Rouzeyrol et Françoise Mathieu-Daudé. 2020. "Assessing entomological risk factors for arboviral disease transmission in the French Territory of the Wallis and Futuna Islands." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 14 (5): e0008250. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008250>.
- Campbell, Lindsay P., Caylor Luther, David Moo-Llanes, Janine M. Ramsey, Rogelio Danis-Lozano et A. Townsend Peterson. 2015. "Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370 (1665): 20140135. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0135>.
- Caputo, Beniamino, Riccardo Moretti, Mattia Manica, Paola Serini, Elena Lampazzi, Marco Bonanni, Giulia Fabbri, Verena Pichler, Alessandra Della Torre et Maurizio Calvitti. 2020. "A bacterium against the tiger: preliminary evidence of fertility reduction after release of *Aedes albopictus* males with manipulated Wolbachia infection in an Italian urban area." *Pest management science* 76 (4): 1324-1332. <https://doi.org/10.1002/ps.5643>.
- Caputo, Beniamino, Riccardo Moretti, Chiara Virgillito, Mattia Manica, Elena Lampazzi, Giulia Lombardi, Paola Serini, Verena Pichler, Nigel W. Beebe, Alessandra Della Torre et

- Maurizio Calvitti. 2023. "A bacterium against the tiger: further evidence of the potential of noninundative releases of males with manipulated Wolbachia infection in reducing fertility of *Aedes albopictus* field populations in Italy." *Pest management science* 79 (9): 3167-3176. <https://doi.org/10.1002/ps.7495>.
- Caragata, E. P., C. V. Tikhe et G. Dimopoulos. 2019. "Curious entanglements: interactions between mosquitoes, their microbiota, and arboviruses." *Curr Opin Virol* 37: 26-36. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.05.005>.
- Caragata, Eric P., Heverton L. C. Dutra et Luciano A. Moreira. 2016. "Exploiting Intimate Relationships: Controlling Mosquito-Transmitted Disease with Wolbachia." *Trends in parasitology* 32 (3): 207-218. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.10.011>.
- Cardona-Salgado, Daiver, Doris Elena Campo-Duarte, Lilian Sofia Sepulveda-Salcedo, Olga Vasilieva et Mikhail Svinin. 2021. "Optimal release programs for dengue prevention using *Aedes aegypti* mosquitoes transinfected with *wMel* or *wMelPop* Wolbachia strains." *Mathematical Biosciences and Engineering* 18 (3): 2952-2990. <https://doi.org/10.3934/mbe.2021149>.
- Carrieri, Marco, Alessandro Albieri, Paola Angelini, Flavia Baldacchini, Claudio Venturelli, Silvia Mascali Zeo et Romeo Bellini. 2011. "Surveillance of the chikungunya vector *Aedes albopictus* (Skuse) in Emilia-Romagna (northern Italy): organizational and technical aspects of a large scale monitoring system." *Journal of Vector Ecology* 36 (1): 108-116. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00147.x>.
- Cedano, Jorge Andrés, Bárbara Lucía Mora, Luis Gabriel Parra-Lara, Ramiro Manzano-Núñez et Fernando Rosso. 2019. "A scoping review of transmission of dengue virus from donors to recipients after solid organ transplantation." *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 113 (8): 431-436. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trz024>.
- Chambers, Eric W., Limb Hapairai, Bethany A. Peel, Hervé Bossin et Stephen L. Dobson. 2011. "Male mating competitiveness of a Wolbachia-introgressed *Aedes polynesiensis* strain under semi-field conditions." *PLoS neglected tropical diseases* 5 (8): e1271. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001271>.
- Chandley, Pankaj, Asha Lukose, Rajesh Kumar et Soma Rohatgi. 2023. "An overview of anti-Chikungunya antibody response in natural infection and vaccine-mediated immunity, including anti-CHIKV vaccine candidates and monoclonal antibodies targeting diverse epitopes on the viral envelope." *The Microbe* 1: 100018. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2023.100018>.
- Chastel, Claude. 2009. "En 1927-1928, la dengue s'abattait sur la Grèce : les enseignements d'une épidémie." *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 193 (2): 485-493. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)32598-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)32598-1).
- Cheong, Yoon Ling, Wasi A. Nazni, Han Lim Lee, Ahmad NoorAfizah, Ibrahim C. MohdKhairuddin, Ghazali M. R. Kamarul, Nasir M. N. Nizam, Mohd A. K. Arif, Zabari M. NurZatilAqmar, Saidin M. Irwan, Khairuddin Khadijah, Yusof M. Paid, Omar Topek, Asim H. Hasnor, Rahman AbuBakar, Balvinder Singh Gill, Kamaludin Fadzilah, Aris Tahir, Steven P. Sinkins et Ary A. Hoffmann. 2023. "Spatial Distribution and Long-Term Persistence of Wolbachia-Infected *Aedes aegypti* in the Mentari Court, Malaysia." *Insects* 14 (4). <https://doi.org/10.3390/insects14040373>.
- Chotiwan, Nunya, Barbara G. Andre, Irma Sanchez-Vargas, M. Nurul Islam, Jeffrey M. Grabowski, Amber Hopf-Jannasch, Erik Gough, Ernesto Nakayasu, Carol D. Blair, John T. Belisle, Catherine A. Hill, Richard J. Kuhn et Rushika Perera. 2018. "Dynamic remodeling of lipids coincides with dengue virus replication in the midgut of *Aedes aegypti* mosquitoes." *PLoS pathogens* 14 (2): e1006853. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006853>.
- Chung, Hae-Na, Stacy D. Rodriguez, Kristina K. Gonzales, Julia Vulcan, Joel J. Cordova, Soumi Mitra, Christopher G. Adams, Nathan Moses-Gonzales, Nicole Tam, Joshua W. Cluck,

- Geoffrey M. Attardo et Immo A. Hansen. 2018. "Toward Implementation of Mosquito Sterile Insect Technique: The Effect of Storage Conditions on Survival of Male *Aedes aegypti* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) During Transport." *Journal of Insect Science* 18 (6). <https://doi.org/10.1093/jisesa/iey103>.
- Cirimotich, C. M., Y. Dong, A. M. Clayton, S. L. Sandiford, J. A. Souza-Neto, M. Mulenga et G. Dimopoulos. 2011. "Natural microbe-mediated refractoriness to *Plasmodium* infection in *Anopheles gambiae*." *Science* 332 (6031): 855-8. <https://doi.org/10.1126/science.1201618>.
- Cnev. 2016/06// 2016a. *Guide à l'attention des collectivités souhaitant mettre en oeuvre une lutte contre les moustiques urbains vecteurs de dengue, de chikungunya et de Zika*. https://www.anses.fr/fr/system/files/CNEV-Ft-Juin2016-Guide_collectivites_lutte_antivectorielle.pdf, 72.
- Coulibaly, Drissa, Michel Laurince Yapo, Mouhamadou Koné, Essane Gertrude Akpess, Elvis Prince Valery Ozoukou et Yalamoussa Tuo. 2023. "Caractérisation des gîtes larvaires de moustiques en saison des pluies à l'intérieur et autour du périmètre universitaire de Korhogo (Côte d'Ivoire)." *Entomologie faunistique-Faunistic Entomology*.
- Covars. 2023. Risques sanitaires de la Dengue du Zika et du Chikungunya en lien avec le changement climatique.
- Cramer, Monica M., Thomas M. Gabel et Laura B. Duvall. 2023. "Characterizing Physical Interactions between Male and Female Mosquitoes (*Aedes aegypti*) in Relation to Female Receptivity and Insemination Outcomes Using a Hydrophobic Fluorescent Dye." *Integrative And Comparative Biology* 63 (2): 382-392. <https://doi.org/10.1093/icb/icad041>.
- Crawford, J. E., David W. Clarke, Victor Criswell, Mark Desnoyer, Devon Cornel, Brittany Deegan, Kyle Gong, Kaycie C. Hopkins, Paul Howell, Justin S. Hyde, Josh Livni, Charlie Behling, Renzo Benza, Willa Chen, Karen L. Dobson, Craig Eldershaw, Daniel Greeley, Yi Han, Bridgette Hughes, Evdoxia Kakani, Joe Karbowski, Angus Kitchell, Erika Lee, Teresa Lin, Jianyi Liu, Martin Lozano, Warren MacDonald, James W. Mains, Matty Metlitz, Sara N. Mitchell, David Moore, Johanna R. Ohm, Kathleen Parkes, Alexandra Porshnikoff, Chris Robuck, Martin Sheridan, Robert Sobecki, Peter Smith, Jessica Stevenson, Jordan Sullivan, Brian Wasson, Allison M. Weakley, Mark Wilhelm, Joshua Won, Ari Yasunaga, William C. Chan, Jodi Holeman, Nigel Snoad, Linus Upson, Tiantian Zha, Stephen L. Dobson, F. Steven Mulligan, Peter Massaro et Bradley J. White. 2020. "Efficient production of male *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations." *Nature biotechnology* 38 (4): 482-492. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0471-x>.
- Crawford, J. E., K. C. Hopkins, A. Buchman, T. Zha, P. Howell, E. Kakani, J. R. Ohm, N. Snoad, L. Upson, J. Holeman, P. Massaro, S. L. Dobson, F. S. Mulligan et B. J. White. 2022. "Reply to: Assessing the efficiency of Verily's automated process for production and release of male *Wolbachia*-infected mosquitoes." *Nature Biotechnology* 40 (10): 1443-1446. <https://doi.org/10.1038/s41587-022-01325-y>.
- Dangles, Olivier et Jérôme Casas. 2019. "Ecosystem services provided by insects for achieving sustainable development goals." *Ecosystem Services* 35: 109-115. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2018.12.002>.
- Day, Jonathan. 2016. "Mosquito Oviposition Behavior and Vector Control." *Insects* 7 (4): 65. <https://doi.org/10.3390/insects7040065>.
- de Faria, Isaque J. S., João P. P. de Almeida et João T. Marques. 2024. "Impact of symbiotic insect-specific viruses on mosquito vector competence for arboviruses." *Current Opinion in Insect Science* 63: 101194. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cois.2024.101194>.
- Dean, Jeffry L. et Stephen L. Dobson. 2004. "Characterization of *Wolbachia* Infections and Interspecific Crosses of *Aedes* (*Stegomyia*) *polynesiensis* and

- <i>Ae.</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>riversi</i> (Diptera: Culicidae)." *Journal of Medical Entomology* 41 (5): 894-900. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.5.894>.
- Degner, Ethan C. et Laura C. Harrington. 2016. "Polyandry Depends on Postmating Time Interval in the Dengue Vector *Aedes aegypti*." *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 94 (4): 780-785. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0893>.
- Delatte, H., C. Paupy, J. S. Dehecq, J. Thiria, A. B. Failloux et D. Fontenille. 2008. "<i>Aedes albopictus</i> , vecteur des virus du chikungunya et de la dengue à la Réunion : biologie et contrôle." *Parasite* 15 (1): 3-13. <https://doi.org/10.1051/parasite/2008151003>.
- Delatte, Helene, Amelie Desvars, Anthony Bouétard, Séverine Bord, Geoffrey Gimonneau, Gwenaél Vourc'h et Didier Fontenille. 2010. "Blood-Feeding Behavior of <i>Aedes albopictus</i> , a Vector of Chikungunya on La Réunion." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 10 (3): 249-258. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0026>.
- Delaunay, P., B. Mathieu, P. Marty, P. Fauran et F. Schaffner. 2007. "[Chronology of the development of *Aedes albopictus* in the Alpes-Maritimes Department of France, from 2002 to 2005]." *Medecine Tropicale: Revue Du Corps De Sante Colonial* 67 (3): 310-311.
- Devillers, James. 2020. "Fate and ecotoxicological effects of pyriproxyfen in aquatic ecosystems." *Environmental Science and Pollution Research* 27 (14): 16052-16068. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08345-8>.
- Devine, Gregor J. et Gerry F. Killeen. 2010. "The potential of a new larviciding method for the control of malaria vectors." *Malaria Journal* 9 (1): 142. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-142>.
- Devine, Gregor J., Elvira Zamora Perea, Gerry F. Killeen, Jeffrey D. Stancil, Suzanne J. Clark et Amy C. Morrison. 2009. "Using adult mosquitoes to transfer insecticides to <i>Aedes aegypti</i> larval habitats." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (28): 11530-11534. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901369106>.
- Dickson, L. B., A. Ghoslane, S. Volant, C. Bouchier, L. Ma, A. Vega-Rúa, I. Dusfour, D. Jiolle, C. Paupy, M. N. Mayanja, A. Kohl, J. J. Lutwama, V. Duong et L. Lambrechts. 2018. "Diverse laboratory colonies of *Aedes aegypti* harbor the same adult midgut bacterial microbiome." *Parasit Vectors* 11 (1): 207. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2780-1>.
- Dietrich, Muriel, David A. Wilkinson, Gildas Le Minter, Magali Turpin, Maxime Galan, Nathalie Charbonnel, Guillaume Dupuy, Nausicaa Habchi-Hanriot, Bernard Reynaud, Hélène Delatte et Camille Lebarbenchon. 2025. "Urban bats change the menu: dietary plasticity across human-modified landscapes of a tropical island." *bioRxiv*: 2025.05.06.652573. <https://doi.org/10.1101/2025.05.06.652573>.
- Diniz, Diego Felipe Araujo, Cleide Maria Ribeiro De Albuquerque, Luciana Oliveira Oliva, Maria Alice Varjal De Melo-Santos et Constância Flávia Junqueira Ayres. 2017. "Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success." *Parasites & Vectors* 10 (1): 310. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2235-0>.
- Dong, Yuemei, Fabio Manfredini et George Dimopoulos. 2009. "Implication of the Mosquito Midgut Microbiota in the Defense against Malaria Parasites." *PLOS Pathogens* 5 (5): e1000423. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000423>.
- Dufault, Suzanne M., Stephanie K. Tanamas, Citra Indriani, Riris Andono Ahmad, Adi Utarini, Nicholas P. Jewell, Cameron P. Simmons et Katherine L. Anders. 2024. "Reanalysis of cluster randomised trial data to account for exposure misclassification using a per-protocol and complier-restricted approach." *Scientific reports* 14 (1): 11207. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60896-9>.
- Dufault, Suzanne M., Stephanie K. Tanamas, Citra Indriani, Adi Utarini, Riris Andono Ahmad, Nicholas P. Jewell, Cameron P. Simmons et Katherine L. Anders. 2022. "Disruption of spatiotemporal clustering in dengue cases by wMel Wolbachia in Yogyakarta, Indonesia." *Scientific reports* 12 (1): 9890. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13749-2>.

- Dumont, Y. et I. V. Yatat-Djeumen. 2024. "About contamination by sterile females and residual male fertility on the effectiveness of the sterile insect technique. Impact on disease vector control and disease control." *Mathematical Biosciences* 370. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2024.109165>.
- Duong, Veasna, Louis Lambrechts, Richard E. Paul, Sowath Ly, Rath Srey Lay, Kanya C. Long, Rekol Huy, Arnaud Tarantola, Thomas W. Scott, Anavaj Sakuntabhai et Philippe Buchy. 2015. "Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (47): 14688-14693. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508114112>.
- Duron, Olivier, Jennifer Bernard, Célestine M. Atyame, Emilie Dumas et Mylène Weill. 2012. "Rapid evolution of Wolbachia incompatibility types." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279 (1746): 4473-4480. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1368>.
- Dusfour, Isabelle, Pilar Zorrilla, Amandine Guidez, Jean Issaly, Romain Girod, Laurent Guillaumot, Carlos Robello et Clare Strode. 2015. "Deltamethrin Resistance Mechanisms in *Aedes aegypti* Populations from Three French Overseas Territories Worldwide." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9 (11): e0004226. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004226>.
- Dutton, T. J. et S. P. Sinkins. 2004. "Strain-specific quantification of *Wolbachia* density in *Aedes albopictus* and effects of larval rearing conditions." *Insect Molecular Biology* 13 (3): 317-322. <https://doi.org/10.1111/j.0962-1075.2004.00490.x>.
- Duyen, Huynh T. L., Tran V. Ngoc, Do T. Ha, Vu T. T. Hang, Nguyen T. T. Kieu, Paul R. Young, Jeremy J. Farrar, Cameron P. Simmons, Marcel Wolbers et Bridget A. Wills. 2011. "Kinetics of Plasma Viremia and Soluble Nonstructural Protein 1 Concentrations in Dengue: Differential Effects According to Serotype and Immune Status." *The Journal of Infectious Diseases* 203 (9): 1292-1300. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir014>.
- Dzul-Manzanilla, Felipe, Jesús Ibarra-López, Wilbert Bibiano Marín, Andrés Martini-Jaimes, Joel Torres Leyva, Fabián Correa-Morales, Herón Huerta, Pablo Manrique-Saide et Gonzalo Vazquez M. Prokopec. 2016. "Indoor Resting Behavior of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Acapulco, Mexico." *Journal of Medical Entomology*: tjw203. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw203>.
- Ecdc. 2023. "Aedes aegypti - current known distribution: October 2023."
- Edenborough, Kathryn, Endah Supriyati, Suzanne Dufault, Eggi Arguni, Citra Indriani, Jai Denton, R. Tedjo Sasmono, Riris Andono Ahmad, Katherine L. Anders et Cameron P. Simmons. 2024. "Dengue virus genomic surveillance in the applying Wolbachia to eliminate dengue trial reveals genotypic efficacy and disruption of focal transmission." *Scientific Reports* 14 (1): 28004. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78008-y>.
- European Food Safety, Authority, Maria Anastassiadou, Maria Arena, Domenica Auteri, Stefania Barmaz, Alba Brancato, Laszlo Bura, Luis Carrasco Cabrera, Eugenia Chaideftou, Arianna Chiusolo, Daniele Court Marques, Federica Crivellente, Chloe De Lentdecker, Mark Egsmose, Gabriella Fait, Lucien Ferreira, Luna Greco, Alessio Ippolito, Frederique Istace, Samira Jarrah, Dimitra Kardassi, Renata Leuschner, Alfonso Lostia, Christopher Lythgo, Iris Mangas, Ileana Miron, Tunde Molnar, Laura Padovani, Juan Manuel Parra Morte, Ragnor Pedersen, Hermine Reich, Miguel Santos, Rositsa Serafimova, Rachel Sharp, Alois Stanek, Franz Streissl, Juergen Sturma, Csaba Szentes, Andrea Terron, Manuela Tiramani, Benedicte Vagenende et Laura Villamar-Bouza. 2019. "Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance dimethyl disulfide." *EFSA Journal* 17 (11): e05905. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5905>.
- Evans, Katherine G., Zoey R. Neale, Brendan Holly, Cecilia C. Canizela et Steven A. Juliano. 2022. "Survival-Larval Density Relationships in the Field and Their Implications for Control of Container-Dwelling Aedes Mosquitoes." *Insects* 14 (1): 17. <https://doi.org/10.3390/insects14010017>.

- Failloux, A et Jean-Pierre Hervé. 2003. "Bio-écologie et compétence vectorielle d'*Aedes aegypti*." *La dengue*: 3.
- FAO/AIEA. 2020b. *Guidelines for mass-rearing of Aedes mosquitoes*. édité par Hamidou Maiga, Wadaka Mamai, Hanano Yamada, Rafael Argiles Herrero et Jeremy Bouyer. Vienna, Austria.
- FAO/IAEA, H Yamada, A Parker, H Maiga, R Argiles et J Bouyer. 2020a. Guidelines for Irradiation of Mosquito Pupae in Sterile Insect Technique Programmes Version 1.0. : Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic
- Fávaro, Eliane A., Adriano Mondini, Margareth R. Dibo, Angelita A. C. Barbosa, Álvaro E. Eiras et Francisco Chiaravalloti Neto. 2008. "Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in São Paulo, Brazil." *Journal of Vector Ecology* 33 (1): 8-16. [https://doi.org/10.3376/1081-1710\(2008\)33\[8:AOEIOA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3376/1081-1710(2008)33[8:AOEIOA]2.0.CO;2).
- Ferreira-de-Lima, Victor Henrique et Tamara Nunes Lima-Camara. 2018. "Natural vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a systematic review." *Parasites & Vectors* 11 (1): 77. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2643-9>.
- Fikrig, Kara et Laura C. Harrington. 2021. "Understanding and interpreting mosquito blood feeding studies: the case of *Aedes albopictus*." *Trends in Parasitology* 37 (11): 959-975. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.07.013>.
- Focks, Dana A. 1980. "An Improved Separator for the Developmental Stages, Sexes, and Species of Mosquitoes (Diptera: Culicidae)." *Journal of Medical Entomology* 17 (6): 567-568. <https://doi.org/10.1093/jmedent/17.6.567>.
- Focks, Dana A. 2004. "A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors." (TDR/IDE/DEN/03.1).
- Fontenille, Didier, Christophe Lagneau, Sylvie Lecollinet et Régine Lefait Robin. 2009. *La lutte antivectorielle en France*. IRD Orstom.
- Fu, Y., L. Gavotte, D. R. Mercer et S. L. Dobson. 2010. "Artificial triple *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus* yields a new pattern of unidirectional cytoplasmic incompatibility." *Appl Environ Microbiol* 76 (17): 5887-91. <https://doi.org/10.1128/aem.00218-10>.
- Garcia, G., Gabriel Sylvestre, Raquel Aguiar, Guilherme Borges da Costa, Ademir Jesus Martins, José Bento Pereira Lima, Martha T. Petersen, Ricardo Lourenço-de-Oliveira, Marion F. Shadbolt, Gordana Rašić, Ary A. Hoffmann, Daniel A. M. Villela, Fernando B. S. Dias, Yi Dong, Scott L. O'Neill, Luciano A. Moreira et Rafael Maciel-de-Freitas. 2019. "Matching the genetics of released and local *Aedes aegypti* populations is critical to assure *Wolbachia* invasion." *PLoS neglected tropical diseases* 13 (1): e0007023. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007023>.
- Gato, René, Zulema Menéndez, Enrique Prieto, Rafael Argilés, Mislady Rodríguez, Waldemar Baldoquín, Yisel Hernández, Dennis Pérez, Jorge Anaya, Ilario Fuentes, Claudia Lorenzo, Keren González, Yudaisi Campo et Jérémy Bouyer. 2021. "Sterile Insect Technique: Successful Suppression of an *Aedes aegypti* Field Population in Cuba." *Insects* 12 (5). <https://doi.org/10.3390/insects12050469>.
- Gérardin, Patrick, Sylvain Sampériz, Duksha Ramful, Brahim Boumahni, Marc Bintner, Jean-Luc Alessandri, Magali Carbonnier, Isabelle Tiran-Rajaoefera, Gilles Beullier, Irénée Boya, Tahir Noormahomed, Jocelyn Okoï, Olivier Rollot, Liliane Cotte, Marie-Christine Jaffar-Bandjee, Alain Michault, François Favier, Monique Kaminski, Alain Fourmaintraux et Xavier Fritel. 2014. "Neurocognitive Outcome of Children Exposed to Perinatal Mother-to-Child Chikungunya Virus Infection: The CHIMERE Cohort Study on Reunion Island." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (7): e2996. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002996>.
- Gesto, João Silveira Moledo, Sofia B. Pinto, Fernando Braga Stehling Dias, Julia Peixoto, Guilherme Costa, Simon Kutcher, Jacqui Montgomery, Benjamin R. Green, Katherine L. Anders, Peter A. Ryan, Cameron P. Simmons, Scott L. O'Neill et Luciano Andrade Moreira. 2021b. "Large-Scale Deployment and Establishment of *Wolbachia* Into the *Aedes*

- aegypti Population in Rio de Janeiro, Brazil." *Frontiers in microbiology* 12: 711107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711107>.
- Gesto, João Silveira Moledo, Gabriel Sylvestre Ribeiro, Marcele Neves Rocha, Fernando Braga Stehling Dias, Julia Peixoto, Fabiano Duarte Carvalho, Thiago Nunes Pereira et Luciano Andrade Moreira. 2021a. "Reduced competence to arboviruses following the sustainable invasion of Wolbachia into native *Aedes aegypti* from Southeastern Brazil." *Scientific reports* 11 (1): 10039. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89409-8>.
- Gnankine, Olivier et Roch Kounbobr Dabiré. 2024. "Natural occurrence of Wolbachia in *Anopheles* sp. and *Aedes aegypti* populations could compromise the success of vector control strategies." *Frontiers in Tropical Diseases* 5: 1329015. <https://doi.org/10.3389/fitd.2024.1329015>.
- Gong, Jun-Tao, Wadaka Mamai, Xiaohua Wang, Jian Zhu, Yongjun Li, Julian Liu, Qixian Tang, Yuanhui Huang, Jixin Zhang, Jiayi Zhou, Hamidou Maiga, Nanwintoum Séverin Bimbilé Somda, Claudia Martina, Simran Singh Kotla, Thomas Wallner, Jérémy Bouyer et Zhiyong Xi. 2024. "Upscaling the production of sterile male mosquitoes with an automated pupa sex sorter." *Science Robotics* 9 (92): ead6261. <https://doi.org/10.1126/scirobotics.adj6261>.
- Gorham, J. Richard. 1976. "Orchid Pollination by *Aedes* Mosquitoes in Alaska." *The American Midland Naturalist* 95 (1): 208-210. <https://doi.org/10.2307/2424249>.
- Goudard, Alexandra. 2007. "Fonctionnement des écosystèmes et invasions biologiques: importance de la biodiversité et des interactions interspécifiques." Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- Grobusch, Martin P., Karin S. Van Der Fluit, Cornelis Stijnis, Cornelis A. De Pijper, Thomas Hanscheid, Philippe Gautret, Patricia Schlagenhauf et Abraham Goorhuis. 2020. "Can dengue virus be sexually transmitted?" *Travel Medicine and Infectious Disease* 38: 101753. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101753>.
- Guilhot, Robin, Anne Xuéreb et Simon Fellous. 2025. "Transmission of yeast and bacterial symbionts between sexual partners in *Drosophila suzukii* and *Drosophila melanogaster*." *Royal Society Open Science* 12 (2): 241149. <https://doi.org/doi:10.1098/rsos.241149>.
- Haby, M. M., M. Pinart, V. Elias et L. Reveiz. 2018. "Prevalence of asymptomatic Zika virus infection: a systematic review." *Bull World Health Organ* 96 (6): 402-413d. <https://doi.org/10.2471/blt.17.201541>.
- Hague, Michael T. J., Timothy B. Wheeler et Brandon S. Cooper. 2024. "Comparative analysis of Wolbachia maternal transmission and localization in host ovaries." *Communications Biology* 7 (1): 727. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06431-y>.
- Hall-Mendelin, S., A. T. Pyke, A. L. Ramirez, K. M. Staunton, P. Burtonclay, J. McMahon, J. Barcelon et A. F. van den Hurk. 2021. "Infection, Dissemination, and Replication of Urban and Sylvatic Strains of Dengue Virus Type 2 (Flaviviridae: Flavivirus) in Australian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)." *J Med Entomol* 58 (3): 1412-1418. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa292>.
- Halstead, Scott. 2019. "Recent advances in understanding dengue." *F1000Research* 8: 1279. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19197.1>.
- Hamada, Mayuko, Katja Schröder, Jay Bathia, Ulrich Kürn, Sebastian Fraune, Mariia Khalturina, Konstantin Khalturin, Chuya Shinzato, Nori Satoh et Thomas Cg Bosch. 2018. "Metabolic co-dependence drives the evolutionarily ancient Hydra–Chlorella symbiosis." *eLife* 7: e35122. <https://doi.org/10.7554/eLife.35122>.
- Haramboure, M., P. Labbé, T. Baldet, D. Damiens, L. C. Gouagna, J. Bouyer et A. Tran. 2020. "Modelling the control of *Aedes albopictus* mosquitoes based on sterile males release techniques in a tropical environment." *Ecological Modelling* 424. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109002>.

- HCB. 2017. "Avis en réponse à la saisine HCB du 12 octobre 2015 concernant l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés dans le cadre de la lutte antivectorielle. Paris, le 31 mai 2017." Haut conseil des biotechnologies.
- Hcini, Najeh, Véronique Lambert, Olivier Picone, Jean-Francois Carod, Gabriel Carles, Léo Pomar, Loïc Epelboin et Mathieu Nacher. 2024. "Arboviruses and pregnancy: are the threats visible or hidden?" *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines* 10 (1): 4. <https://doi.org/10.1186/s40794-023-00213-w>.
- Heath, B. D., R. D. Butcher, W. G. Whitfield et S. F. Hubbard. 1999. "Horizontal transfer of Wolbachia between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism." *Curr Biol* 9 (6): 313-6. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80139-0](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80139-0).
- Hendrichs, J., A. S. Robinson, J. P. Cayol et W. Enkerlin. 2002. "Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies." *Florida Entomologist* 85 (1): 1-13. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2002\)085\[0001:MASITP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2002)085[0001:MASITP]2.0.CO;2).
- Hertig, M. et S. B. Wolbach. 1924. "Studies on Rickettsia-Like Micro-Organisms in Insects." *The Journal of Medical Research* 44 (3): 329-374.7.
- Hery, Lyza, Antoine Boullis et Anubis Vega-Rúa. 2021. "Les propriétés biotiques et abiotiques des gîtes larvaires d'Aedes aegypti et leur influence sur les traits de vie des adultes (synthèse bibliographique)." *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 25 (1): 57-71.
- Hilgenboecker, Kirsten, Peter Hammerstein, Peter Schlattmann, Arndt Telschow et John H. Werren. 2008. "How many species are infected with Wolbachia? – a statistical analysis of current data: Wolbachia infection rates." *FEMS Microbiology Letters* 281 (2): 215-220. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01110.x>.
- Hoffmann, A. A., B. L. Montgomery, J. Popovici, I. Iturbe-Ormaetxe, P. H. Johnson, F. Muzzi, M. Greenfield, M. Durkan, Y. S. Leong, Y. Dong, H. Cook, J. Axford, A. G. Callahan, N. Kenny, C. Omodei, E. A. McGraw, P. A. Ryan, S. A. Ritchie, M. Turelli et S. L. O'Neill. 2011. "Successful establishment of Wolbachia in Aedes populations to suppress dengue transmission." *Nature* 476 (7361): 454-457. <https://doi.org/10.1038/nature10356>.
- Hoffmann, A. A., M. Turelli et L. G. Harshman. 1990. "Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in Drosophila simulans." *Genetics* 126 (4): 933-948. <https://doi.org/10.1093/genetics/126.4.933>.
- Hoffmann, Ary A., Nazni Wasi Ahmad, Wan Ming Keong, Cheong Yoon Ling, Noor Afizah Ahmad, Nick Golding, Nicholas Tierney, Jenarun Jelip, Perada Wilson Putit, Norhayati Mokhtar, Sukhvinder Singh Sandhu, Lau Sai Ming, Khadijah Khairuddin, Kamilan Denim, Norazman Mohd Rosli, Hanipah Shahar, Topek Omar, Muhammad Kamarul Ridhuan Ghazali, Nur Zatil Aqmar Mohd Zabari, Mohd Arif Abdul Karim, Mohamad Irwan Saidin, Muhammad Nizam Mohd Nasir, Tahir Aris et Steven P. Sinkins. 2024. "Introduction of Aedes aegypti mosquitoes carrying wAlbB Wolbachia sharply decreases dengue incidence in disease hotspots." *iScience* 27 (2): 108942. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108942>.
- Hoffmann, Ary A., Inaki Iturbe-Ormaetxe, Ashley G. Callahan, Ben L. Phillips, Katrina Billington, Jason K. Axford, Brian Montgomery, Andrew P. Turley et Scott L. O'Neill. 2014. "Stability of the wMel Wolbachia Infection following invasion into Aedes aegypti populations." *PLoS neglected tropical diseases* 8 (9): e3115. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003115>.
- Hoffmann, Ary A., Perran A. Ross et Gordana Rašić. 2015. "<i>Wolbachia</i> strains for disease control: ecological and evolutionary considerations." *Evolutionary Applications* 8 (8): 751-768. <https://doi.org/10.1111/eva.12286>.
- Hustedt, John Christian, Ross Boyce, John Bradley, Jeffrey Hii et Neal Alexander. 2020. "Use of pyriproxyfen in control of Aedes mosquitoes: A systematic review." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 14 (6): e0008205. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008205>.

- Indriani, Citra, Stephanie K. Tanamas, Uswatun Khasanah, Muhammad Ridwan Ansari, Rubangi, Warsito Tantowijoyo, Riris Andono Ahmad, Suzanne M. Dufault, Nicholas P. Jewell, Adi Utarini, Cameron P. Simmons et Katherine L. Anders. 2023. "Impact of randomised wmel Wolbachia deployments on notified dengue cases and insecticide fogging for dengue control in Yogyakarta City." *Global health action* 16 (1): 2166650. <https://doi.org/10.1080/16549716.2023.2166650>.
- Indriani, Citra, Warsito Tantowijoyo, Edwige Rancès, Bakti Andari, Equatori Prabowo, Dedik Yusdi, Muhammad Ridwan Ansari, Dwi Satria Wardana, Endah Supriyati, Indah Nurhayati, Ingrid Ernesia, Sigit Setyawan, Iva Fitriana, Eggi Arguni, Yudiria Amelia, Riris Andono Ahmad, Nicholas P. Jewell, Suzanne M. Dufault, Peter A. Ryan, Benjamin R. Green, Thomas F. McAdam, Scott L. O'Neill, Stephanie K. Tanamas, Cameron P. Simmons, Katherine L. Anders et Adi Utarini. 2020. "Reduced dengue incidence following deployments of Wolbachia-infected *Aedes aegypti* in Yogyakarta, Indonesia: a quasi-experimental trial using controlled interrupted time series analysis." *Gates open research* 4: 50. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.13122.1>.
- Invest, J. et J. Lucas. 2008. "Pyriproxyfen as a mosquito larvicide." *Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests Veszprem, Hungary*.
- Ippc. 2005. *Guidelines for the export, shipment, import and release of biological control agents and other beneficial organisms*. FAO ed.
- Iyaloo, D. P., C. Oliva, S. Facknath et A. Bheecarry. 2020a. "A field cage study of the optimal age for release of radio-sterilized *Aedes albopictus* mosquitoes in a sterile insect technique program." *Entomologia Experimentalis et Applicata* 168 (2): 137-147. <https://doi.org/10.1111/eea.12849>.
- Iyaloo, Diana P., Jeremy Bouyer, Sunita Facknath et Ambicadutt Bheecarry. 2020b. "Pilot Suppression trial of *Aedes albopictus* mosquitoes through an Integrated Vector Management strategy including the Sterile Insect Technique in Mauritius." *bioRxiv*: 2020.09.06.284968. <https://doi.org/10.1101/2020.09.06.284968>.
- Johnson, K. N. 2015. "The Impact of Wolbachia on Virus Infection in Mosquitoes." *Viruses* 7 (11): 5705-17. <https://doi.org/10.3390/v7112903>.
- Juliano, Steven A. et L. Philip Lounibos. 2005. "Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health." *Ecology Letters* 8 (5): 558-574. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00755.x>.
- Kamgang, Basile, Elysée Nchoutpouen, Frédéric Simard et Christophe Paupy. 2012. "Notes on the blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Cameroon." *Parasites & Vectors* 5 (1): 57. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-57>.
- Kittayapong, Pattamaporn, Suwannapa Ninphanomchai, Wanitch Limohpasmanee, Chitti Chansang, Uruyakorn Chansang et Piti Mongkalangoon. 2019. "Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: The first proof-of-concept to suppress *Aedes aegypti* vector populations in semi-rural settings in Thailand." *PLoS neglected tropical diseases* 13 (10): e0007771. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007771>.
- Kittayapong, Pattamaporn, Nuanla-Ong Kaeothaisong, Suwannapa Ninphanomchai et Wanitch Limohpasmanee. 2018. "Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: sex separation and quality of sterile *Aedes aegypti* male mosquitoes released in a pilot population suppression trial in Thailand." *Parasites & vectors* 11 (Suppl 2): 657. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3214-9>.
- Kittayapong, P., S. Ninphanomchai, P. Thayanukul, J. Yongyai et W. Limohpasmanee. 2025. "Comparison on the quality of sterile *Aedes aegypti* mosquitoes produced by either radiation-based sterile insect technique or Wolbachia-induced incompatible insect technique." *PLoS One* 20 (2): e0314683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314683>.
- Knipling, E. F. 1957. "Control of Screw-Worm Fly by Atomic Radiation." *The Scientific Monthly* 85: 195-202.

- Koskinioti, P., A. A. Augustinos, D. O. Carvalho, M. Misbah-ul-Haq, G. Pillwax, L. D. de la Fuente, G. Salvador-Herranz, R. A. Herrero et K. Bourtzis. 2021. "Genetic sexing strains for the population suppression of the mosquito vector *Aedes aegypti*." *PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES* 376 (1818). <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0808>.
- Koumba, Aubin Armel, Christophe Roland Zinga Koumba, Rodrigue Mintsa Nguema, Luc Salako Djogbenou, Pyazzi Obame Ondo, Guillaume Koffivi Ketoh, Pearl Comlan, Bertrand M'Batchi et Jacques François Mavoungou. 2018. "Distribution spatiale et saisonnière des gîtes larvaires des moustiques dans les espaces agricoles de la zone de Mouila, Gabon." *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 12 (4): 1754-1769.
- Kraemer, Moritz U. G., Robert C. Reiner, Oliver J. Brady, Jane P. Messina, Marius Gilbert, David M. Pigott, Dingdong Yi, Kimberly Johnson, Lucas Earl, Laurie B. Marczak, Shreya Shirude, Nicole Davis Weaver, Donal Bisanzio, T. Alex Perkins, Shengjie Lai, Xin Lu, Peter Jones, Giovanini E. Coelho, Roberta G. Carvalho, Wim Van Bortel, Cedric Marsboom, Guy Hendrickx, Francis Schaffner, Chester G. Moore, Heinrich H. Nax, Linus Bengtsson, Erik Wetter, Andrew J. Tatem, John S. Brownstein, David L. Smith, Louis Lambrechts, Simon Cauchemez, Catherine Linard, Nuno R. Faria, Oliver G. Pybus, Thomas W. Scott, Qiyong Liu, Hongjie Yu, G. R. William Wint, Simon I. Hay et Nick Golding. 2019. "Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*." *Nature Microbiology* 4 (5): 854-863. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0376-y>.
- Kraemer, Moritz Ug, Marianne E. Sinka, Kirsten A. Duda, Adrian Qn Mylne, Freya M. Shearer, Christopher M. Barker, Chester G. Moore, Roberta G. Carvalho, Giovanini E. Coelho, Wim Van Bortel, Guy Hendrickx, Francis Schaffner, Iqbal Rf Elyazar, Hwa-Jen Teng, Oliver J. Brady, Jane P. Messina, David M. Pigott, Thomas W. Scott, David L. Smith, Gr William Wint, Nick Golding et Simon I. Hay. 2015. "The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*." *eLife* 4: e08347. <https://doi.org/10.7554/eLife.08347>.
- Kulkarni, Aditi, Wanqin Yu, Jinjin Jiang, Concepcion Sanchez, Ajit K. Karna, Kalli J. L. Martinez, Kathryn A. Hanley, Michaela Buenemann, Immo A. Hansen, Rui-de Xue, Paul Ettestad, Sandra Melman, Dagne Duguma, Mustapha Debboun et Jiannong Xu. 2019. "<i>Wolbachia pipientis</i> occurs in <i>Aedes aegypti</i> populations in New Mexico and Florida, USA." *Ecology and Evolution* 9 (10): 6148-6156. <https://doi.org/10.1002/ece3.5198>.
- Laporta, Gabriel Z., Alexander M. Potter, Janeide F. A. Oliveira, Brian P. Bourke, David B. Pecor et Yvonne-Marie Linton. 2023. "Global Distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a Climate Change Scenario of Regional Rivalry." *Insects* 14 (1): 49. <https://doi.org/10.3390/insects14010049>.
- Lau, Meng-Jia, Heverton L. C. Dutra, Matthew J. Jones, Brianna P. McNulty, Anastacia M. Diaz, Fhallon Ware-Gilmore et Elizabeth A. McGraw. 2023. "Jamestown Canyon virus is transmissible by *Aedes aegypti* and is only moderately blocked by *Wolbachia* co-infection." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 17 (9): e0011616. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011616>.
- Lavorel, Sandra. 2012. "Impact du changement climatique sur les écosystèmes et les services écosystémiques." *Regards et débats sur la biodiversité*.
- Lavorel, Sandra. 2024. *Les écosystèmes, un bien commun*. CNRS éditions.
- Lecadie, Arnaud, Laura Teyseyre, Kevin Larsen, Charles Vidal, Margot Caron, Nicolas Traversier, Thomas Aujoulat, Jérôme Allyn et Nicolas Allou. 2021. "Case Report: Transmission of Dengue Virus from a Deceased Donor to a Kidney Transplant Recipient Previously Infected by Dengue Virus." *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 104 (6): 2199-2201. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.21-0137>.
- Lees, R. S., D. O. Carvalho et J. Bouyer. 2021. "Potential impact of integrating the sterile insect technique into the fight against disease-transmitting mosquitoes." *STERILE INSECT*

- TECHNIQUE, 2 EDITION: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*: 1081-1118. <https://doi.org/10.1201/9781003035572>.
- Leisnham, Paul T. et S. A. Juliano. 2010. "Interpopulation differences in competitive effect and response of the mosquito *Aedes aegypti* and resistance to invasion by a superior competitor." *Oecologia* 164 (1): 221-230. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1624-2>.
- Lequime, Sebastian et Louis Lambrechts. 2014. "Vertical transmission of arboviruses in mosquitoes: A historical perspective." *Infection, Genetics and Evolution* 28: 681-690. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.07.025>.
- Levins, Richard. 1969. "Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control." *Bulletin of the ESA* 15 (3): 237-240.
- Li, S. J., M. Z. Ahmed, N. Lv, P. Q. Shi, X. M. Wang, J. L. Huang et B. L. Qiu. 2017. "Plant-mediated horizontal transmission of *Wolbachia* between whiteflies." *Isme j* 11 (4): 1019-1028. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.164>.
- Li, Yongjun, Jiameng Peng, Haiying Li, Ruiqi Zhang, Jiexia Chen, Xiuying Hou et Guang Yang. 2024. "Integrating pyriproxyfen into the incompatible insect technique enhances mosquito population suppression efficiency and eliminates the risk of population replacement." *Pest management science* 80 (12): 6117-6129. <https://doi.org/10.1002/ps.8339>.
- Lim, J. T., S. Bansal, C. S. Chong, B. Dickens, Y. Ng, L. Deng, C. Lee, L. Y. Tan, G. Chain, P. Ma, S. Sim, C. H. Tan, A. R. Cook et L. C. Ng. 2024a. "Efficacy of *Wolbachia*-mediated sterility to reduce the incidence of dengue: a synthetic control study in Singapore." *Lancet Microbe* 5 (5): e422-e432. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(23\)00397-x](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(23)00397-x).
- Lim, J. T., Diyar Mailepessov, Chee-Seng Chong, Borame Dickens, Yee Ling Lai, Youming Ng, Lu Deng, Caleb Lee, Li Yun Tan, Grace Chain, Soon Hoe Ho, Chia-Chen Chang, Pei Ma, Somya Bansal, Vernon Lee, Shuzhen Sim, Cheong Huat Tan et Lee Ching Ng. 2024b. "Assessing *Wolbachia*-mediated sterility for dengue control: emulation of a cluster-randomized target trial in Singapore." *Journal of travel medicine* 31 (7). <https://doi.org/10.1093/jtm/taae103>.
- Lin, Ya-Hsun, Dirk Albert Joubert, Sebastian Kaeser, Cameron Dowd, Jurg Germann, Anam Khalid, Jai Andrew Denton, Kate Retski, Aminiasi Tavui, Cameron Paul Simmons, Scott Leslie O'Neill et Jeremie Roger Lionel Gilles. 2024. "Field deployment of *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* using uncrewed aerial vehicle." *Science Robotics* 9 (92): eadk7913. <https://doi.org/10.1126/scirobotics.adk7913>.
- Lister, Bradford C. et Andres Garcia. 2018. "Climate-driven declines in arthropod abundance restructure a rainforest food web." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115 (44): E10397-E10406. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722477115>.
- Liu, Qiuning, Saima Kausar, Yingyu Tang, Wuren Huang, Boping Tang, Muhammad Nadeem Abbas et Lishang Dai. 2022. "The Emerging Role of STING in Insect Innate Immune Responses and Pathogen Evasion Strategies." *Frontiers in Immunology* Volume 13 - 2022. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.874605>.
- Liu, Wei-Liang, Hui-Ying Yu, Yu-Xuan Chen, Bo-Yu Chen, Shiang Ning Leaw, Cheng-Han Lin, Matthew- P. Su, Ling-Shan Tsai, Yi Chen, Shin-Hong Shiao, Zhiyong Xi, Anna C. C. Jang et Chun-Hong Chen. 2022. "Lab-scale characterization and semi-field trials of *Wolbachia* Strain wAlbB in a Taiwan *Wolbachia* introgressed *Ae. aegypti* strain." *PLoS neglected tropical diseases* 16 (1): e0010084. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010084>.
- Longbottom, Joshua, Abel W. Walekhwa, Victor Mwingira, Oliver Kijanga, Furaha Mramba et Jennifer S. Lord. 2023. "*Aedes albopictus* invasion across Africa: the time is now for cross-country collaboration and control." *The Lancet Global Health* 11 (4): e623-e628. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(23\)00046-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00046-3).
- Lozano, Saul, Kevin Pritts, Dagne Duguma, Chris Fredregill et Roxanne Connelly. 2022. "Independent evaluation of *Wolbachia* infected male mosquito releases for control of *Aedes aegypti* in Harris County, Texas, using a Bayesian abundance estimator." *PLoS*

- neglected tropical diseases* 16 (11): e0010907.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010907>.
- Luckmann, M. R., M. A. S. Ferreira, N. M. da Silva et E. M. Nazari. 2024. "Developmental toxicity of pyriproxyfen induces changes in the ultrastructure of neural cells and in the process of skull ossification." *Toxicol Sci* 198 (2): 260-272. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfae009>.
- Lwande, Olivia Wesula, Vincent Obanda, Anders Lindström, Clas Ahlm, Magnus Evander, Jonas Näslund et Göran Bucht. 2020. "Globe-Trotting *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* : Risk Factors for Arbovirus Pandemics." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 20 (2): 71-81. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2486>.
- Maciel-de-freitas, Rafael, Roman Brocki Neto, Jaylei Monteiro Gonçalves, Claudia Torres Codeço et Ricardo Lourenço-de-oliveira. 2006. "Movement of Dengue Vectors Between the Human Modified Environment and an Urban Forest in Rio de Janeiro." *Journal of Medical Entomology* 43 (6): 1112-1120. <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.6.1112>.
- Madakacherry, Odessa, Rosemary Susan Lees et Jeremie Roger Lionel Gilles. 2014. "Aedes albopictus (Skuse) males in laboratory and semi-field cages: Release ratios and mating competitiveness." *Acta Tropica* 132: S124-S129. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.11.020>.
- Mains, J. W., C. L. Brelsfoard et S. L. Dobson. 2015. "Male Mosquitoes as Vehicles for Insecticide." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003406>.
- Mains, J. W., Corey L. Brelsfoard, Robert I. Rose et Stephen L. Dobson. 2016. "Female Adult Aedes albopictus Suppression by Wolbachia-Infected Male Mosquitoes." *Scientific reports* 6: 33846. <https://doi.org/10.1038/srep33846>.
- Mains, J.W., Patrick H. Kelly, Karen L. Dobson, William D. Petrie et Stephen L. Dobson. 2019. "Localized Control of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in Miami, FL, via Inundative Releases of Wolbachia-Infected Male Mosquitoes." *Journal of medical entomology* 56 (5): 1296-1303. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz051>.
- Major, Chelsea G., Gabriela Paz-Bailey, Susan L. Hills, Dania M. Rodriguez, Brad J. Biggerstaff et Michael Johansson. 2021. "Risk Estimation of Sexual Transmission of Zika Virus—United States, 2016–2017." *The Journal of Infectious Diseases*: jia173. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab173>.
- Mancini, Maria Vittoria, Thomas H Ant, Christie S Herd, Julien Martinez, Shivan M Murdochy, Daniel D Gingell, Enock Mararo, Paul CD Johnson et Steven P Sinkins. 2021. "High temperature cycles result in maternal transmission and dengue infection differences between Wolbachia strains in Aedes aegypti." *MBio* 12 (6): e00250-21.
- Manguin, S., M. J. Bangs, J. Pothikasikorn et T. Chareonviriyaphap. 2010. "Review on global co-transmission of human Plasmodium species and Wuchereria bancrofti by Anopheles mosquitoes." *Infection, Genetics and Evolution* 10 (2): 159-177. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.11.014>.
- Marbán-Castro, Elena, Anna Goncé, Victoria Fumadó, Lucía Romero-Acevedo et Azucena Bardají. 2021. "Zika virus infection in pregnant women and their children: A review." *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 265: 162-168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.07.012>.
- Marcombe, Sébastien, Ary Farajollahi, Sean P. Healy, Gary G. Clark et Dina M. Fonseca. 2014. "Insecticide Resistance Status of United States Populations of Aedes albopictus and Mechanisms Involved." *PLoS ONE* 9 (7): e101992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101992>.
- Margarita, Y., A. J. Gracio, I. Lencastre, A. Silva et Maria Novo. 2006. "First record of Aedes (Stegomyia) aegypti (Diptera, Culicidae) in Madeira Island- Portugal." *Acta Parasitol Port* 13: 59-61.

- Marie, Jérôme. 2013. "L'offensive de la recherche face aux insectes vecteurs et nuisibles." Dans *50 ans de recherche pour le développement en Polynésie*, édité par Philippe Lacombe, Fabrice Charleux, Corinne Ollier et Joël Orempuller, 78-87. : IRD Éditions.
- Martín-Park, Abdiel, Azael Che-Mendoza, Yamili Contreras-Perera, Silvia Pérez-Carrillo, Henry Puerta-Guardo, Josué Villegas-Chim, Guillermo Guillermo-May, Anuar Medina-Barreiro, Hugo Delfín-González, Rosa Méndez-Vales, Santos Vázquez-Narvaez, Jorge Palacio-Vargas, Fabián Correa-Morales, Guadalupe Ayora-Talavera, Norma Pavía-Ruz, Xiao Liang, Ping Fu, Dongjing Zhang, Xiaohua Wang, María Eugenia Toledo-Romaní, Zhiyong Xi, Gonzalo Vázquez-Prokopec et Pablo Manrique-Saide. 2022. "Pilot trial using mass field-releases of sterile males produced with the incompatible and sterile insect techniques as part of integrated *Aedes aegypti* control in Mexico." *PLoS neglected tropical diseases* 16 (4): e0010324. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010324>.
- Mashlawi, Abadi M., Hussain Alqahtani, Sara A. Abuelmaali, Andrea Gloria-Soria, Jassada Saingamsook, Martha Kaddumukasa, Ahmad Hassn Ghzwani, Ahmed A. Abdulhaq, Hesham M. Al-Mekhlafi et Catherine Walton. 2024. "Microsatellite-based analysis reveals *Aedes aegypti* populations in the Kingdom of Saudi Arabia result from colonization by both the ancestral African and the global domestic forms." *Evolutionary Applications* 17 (2): e13661. <https://doi.org/10.1111/eva.13661>.
- Matangkasombut, Ponpan, Kajohnpong Manopwisedjaroen, Nada Pitabut, Sasikanya Thaloengsok, Swangjit Suraamornkul, Tawatchai Yingtaweesak, Veasna Duong, Anavaj Sakuntabhai, Richard Paul et Pratap Singhasivanon. 2020. "Dengue viremia kinetics in asymptomatic and symptomatic infection." *International Journal of Infectious Diseases* 101: 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.1446>.
- McIntire, K. M. et S. A. Juliano. 2018. "How can mortality increase population size? A test of two mechanistic hypotheses." *Ecology* 99 (7): 1660-1670. <https://doi.org/10.1002/ecy.2375>.
- McLean, Breeanna J., Kimberley R. Dainty, Heather A. Flores et Scott L. O'Neill. 2019. "Differential suppression of persistent insect specific viruses in trans-infected wMel and wMelPop-CLA *Aedes*-derived mosquito lines." *Virology* 527: 141-145. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.11.012>.
- Medeiros, Matthew C. I., Emily C. Boothe, E. Brendan Roark et Gabriel L. Hamer. 2017. "Dispersal of male and female *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes using stable isotope enrichment." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11 (1): e0005347. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005347>.
- Mercer, David R., Herve Bossin, Michel Cheong Sang, Linda O'Connor et Stephen L. Dobson. 2012. "Monitoring Temporal Abundance and Spatial Distribution of *Aedes polynesiensis* Using BG-Sentinel Traps in Neighboring Habitats on Raiatea, Society Archipelago, French Polynesia." *Journal of Medical Entomology* 49 (1): 51-60. <https://doi.org/10.1603/ME11087>.
- Mercer, David R. et Maikol J. Castillo-Pizango. 2005. "Changes in Relative Species Compositions of Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) and an Outbreak of Oropouche Virus in Iquitos, Peru." *Journal of Medical Entomology* 42 (4): 554-558. <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.4.554>.
- Messina, Jane P., Oliver J. Brady, David M. Pigott, Nick Golding, Moritz U. G. Kraemer, Thomas W. Scott, G. R. William Wint, David L. Smith et Simon I. Hay. 2015. "The many projected futures of dengue." *Nature Reviews Microbiology* 13 (4): 230-239. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3430>.
- Møller, A. P. 2019. "Parallel declines in abundance of insects and insectivorous birds in Denmark over 22 years." *Ecol Evol* 9 (11): 6581-6587. <https://doi.org/10.1002/ece3.5236>.
- Morán-Aceves, Brenda M., Carlos F. Marina, Ariane Dor, Pablo Liedo et Jorge Toledo. 2021. "Sex separation of *Aedes* spp. mosquitoes for sterile insect technique application:

- a review." *Entomologia Experimentalis et Applicata* 169 (10): 918-927. <https://doi.org/10.1111/eea.13085>.
- Moreau, J., A. Bertin, Y. Caubet et T. Rigaud. 2001. "Sexual selection in an isopod with Wolbachia-induced sex reversal: males prefer real females." *Journal of Evolutionary Biology* 14 (3): 388-394. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2001.00292.x>.
- Morgan, Caitlin, Stavroula-Maria Paraskevopoulou, Elizabeth A. Ashley, Fey Probst et David Muir. 2015. "Nosocomial transmission of dengue fever via needlestick. An occupational risk." *Travel Medicine and Infectious Disease* 13 (3): 271-273. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2015.03.016>.
- Moura, Jéssica A. S. et Lília P. Souza-Santos. 2020. "Environmental risk assessment (ERA) of pyriproxyfen in non-target aquatic organisms." *Aquatic Toxicology* 222: 105448. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105448>.
- N'DRI, Félix Kouamé, Adonis Krou Damien KOUAME, Nicaise Aya, Jean-Michel Vianney BEUGRE N'GUESSAN, Diakaridia FOFANA, Eric Valère DJAGOUA et Asseypo Célestin HAUHOUOT. "Identification des gîtes larvaires d'anopheles et cartographie du risque d'accès palustre dans un contexte de lutte anti-vectorielle dans le district sanitaire de cocody-bingerville (Sud de la Côte d'Ivoire)."
- Naish, S., P. Dale, J. S. Mackenzie, J. McBride, K. Mengersen et S. Tong. 2014. "Climate change and dengue: a critical and systematic review of quantitative modelling approaches." *BMC Infect Dis* 14: 167. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-167>.
- Nazni, Wasi A., Ary A. Hoffmann, Ahmad NoorAfizah, Yoon Ling Cheong, Maria V. Mancini, Nicholas Golding, Ghazali M. R. Kamarul, Mohd A. K. Arif, Hasim Thohir, Halim NurSyamimi, M. Zabari ZatilAqmar, Mazni NurRuqqayah, Amran NorSyazwani, Azmi Faiz, Francis-Rudin M. N. Irfan, Subramaniam Rubaaini, Nasir Nuradila, Nasir M. N. Nizam, Saidin M. Irwan, Nancy M. Endersby-Harshman, Vanessa L. White, Thomas H. Ant, Christie S. Herd, Asim H. Hasnor, Rahman AbuBakar, Dusa M. Hapsah, Khairuddin Khadijah, Denim Kamilan, Soo Cheng Lee, Yusof M. Paid, Kamaludin Fadzilah, Omar Topek, Balvinder S. Gill, Han Lim Lee et Steven P. Sinkins. 2019. "Establishment of Wolbachia Strain wAlbB in Malaysian Populations of Aedes aegypti for Dengue Control." *Current biology : CB* 29 (24): 4241-4248.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.11.007>.
- Ng, D. H. L., H. J. Ho, A. Chow, J. Wong, W. M. Kyaw, A. Tan, P. Y. Chia, C. Y. Choy, G. Tan, T. W. Yeo et Y. S. Leo. 2018. "Correlation of clinical illness with viremia in Zika virus disease during an outbreak in Singapore." *BMC Infect Dis* 18 (1): 301. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3211-9>.
- Nguyen, Tran Hien, H. Le Nguyen, Thu Yen Nguyen, Sinh Nam Vu, Nhu Duong Tran, T. N. Le, Quang Mai Vien, T. C. Bui, Huu Tho Le, Simon Kutcher, Tim P. Hurst, T. T. H. Duong, Jason A. L. Jeffery, Jonathan M. Darbro, B. H. Kay, Iñaki Iturbe-Ormaetxe, Jean Popovici, Brian L. Montgomery, Andrew P. Turley, Flora Zigterman, Helen Cook, Peter E. Cook, Petrina H. Johnson, Peter A. Ryan, Chris J. Paton, Scott A. Ritchie, Cameron P. Simmons, Scott L. O'Neill et Ary A. Hoffmann. 2015. "Field evaluation of the establishment potential of wMelPop Wolbachia in Australia and Vietnam for dengue control." *Parasites & vectors* 8: 563. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1174-x>.
- Nikoh, N., K. Tanaka, F. Shibata, N. Kondo, M. Hizume, M. Shimada et T. Fukatsu. 2008. "Wolbachia genome integrated in an insect chromosome: evolution and fate of laterally transferred endosymbiont genes." *Genome Res* 18 (2): 272-80. <https://doi.org/10.1101/gr.7144908>.
- O'Connor, L., C. Plichart, A. C. Sang, C. L. Brelsfoard, H. C. Bossin et S. L. Dobson. 2012. "Open release of male mosquitoes infected with a wolbachia biopesticide: field performance and infection containment." *PLoS Negl Trop Dis* 6 (11): e1797. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001797>.

- O'Neill, S. L., R. Giordano, A. M. Colbert, T. L. Karr et H. M. Robertson. 1992. "16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (7): 2699-2702. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.7.2699>.
- O'Neill, Scott L., Peter A. Ryan, Andrew P. Turley, Geoff Wilson, Kate Retzki, Inaki Iturbe-Ormaetxe, Yi Dong, Nichola Kenny, Christopher J. Paton, Scott A. Ritchie, Jack Brown-Kenyon, Darren Stanford, Natalie Wittmeier, Nicholas P. Jewell, Stephanie K. Tanamas, Katherine L. Anders et Cameron P. Simmons. 2018. "Scaled deployment of Wolbachia to protect the community from dengue and other Aedes transmitted arboviruses." *Gates open research* 2: 36. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12844.3>.
- Ogunlade, S. T., A. I. Adekunle, M. T. Meehan et E. S. McBryde. 2023. "Quantifying the impact of Wolbachia releases on dengue infection in Townsville, Australia." *SCIENTIFIC REPORTS* 13 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42336-2>.
- Oliva, C. F., M. Q. Benedict, C. M. Collins, T. Baldet, R. Bellini, H. Bossin, J. Bouyer, V. Corbel, L. Facchinelli, F. Fouque, M. Geier, A. Michaelakis, D. Roiz, F. Simard, C. Tur et L. C. Gouagna. 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 (3). <https://doi.org/10.3390/insects12030191>.
- Oliva, C. F., M. Jacquet, J. Gilles, G. Lemperiere, P. O. Maquart, S. Quilici, F. Schooneman, M. J. Vreysen et S. Boyer. 2012. "The sterile insect technique for controlling populations of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: mating vigour of sterilized males." *PLoS One* 7 (11): e49414. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049414>.
- Olive, Marie-Marie, Gilbert Le Goff, Thierry Baldet et David Roiz. 2024. Are the sterile insect technique and the incompatible insect techniques effective in reducing Aedes mosquito populations?
- Olmo, R. P., Y. M. H. Tadjro, Ergr Aguiar, J. P. P. de Almeida, F. V. Ferreira, J. N. Armache, I. J. S. de Faria, A. G. A. Ferreira, S. C. G. Amadou, A. T. S. Silva, K. P. R. de Souza, A. P. P. Vilela, A. Babarit, C. H. Tan, M. Diallo, A. Gaye, C. Paupy, J. Obame-Nkoghe, T. M. Visser, C. J. M. Koenraadt, M. A. Wongsokarijo, A. L. C. Cruz, M. T. Prieto, M. C. P. Parra, M. L. Nogueira, V. Avelino-Silva, R. N. Mota, M. A. Z. Borges, B. P. Drumond, E. G. Kroon, M. Recker, L. Sedda, E. Marois, J. L. Imler et J. T. Marques. 2023. "Mosquito vector competence for dengue is modulated by insect-specific viruses." *Nat Microbiol* 8 (1): 135-149. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01289-4>.
- OMS-AIEA. 2020. *Guidance framework for testing the sterile insect technique as a vector control tool against aedes-borne diseases*. Geneva: World Health Organization.
- OMS. 2006. *Pesticides and their application : for the control of vectors and pests of public health importance, 6th ed*. World Health Organization ed.
- OMS. 2008 2008. *Pyriproxyfen in Drinking-water : Use for Vector control in Drinking-water Sources and Containers*. (Geneva, Switzerland). https://www.who.int/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/pyriproxyfen-background-document.pdf?sfvrsn=ef4b9372_4_14.
- OMS. 2011b. *Global insecticide use for vector-borne disease control: a 10-year assessment (2000-2009)*. Dr R. Yadav/WHOPES ed.
- OMS. 2017a. "Action mondiale pour lutter contre les vecteurs 2017-2030 (version 5.4)." Genève: OMS.
- OMS. 2017c. "How to design vector control efficacy trials. Guidance on phase III vector control field trial design." WHO 62.
- OMS. 2021. *Thirteenth Meeting of the WHO Vector Control Advisory Group*. 1st ed ed. Geneva: World Health Organization.
- OMS. 2022. TPP : Wolbachia Aedes aegypti population replacement.

- OMS. 2024b. "Filariose lymphatique." *who.int*.
- Opiyo, Mercy A., Halfan S. Ngowo, Salum A. Mapua, Monica Mpingwa, Nuru Nchimbi, Nancy S. Matowo, Silas Majambere et Fredros O. Okumu. 2021. "Sub-lethal aquatic doses of pyriproxyfen may increase pyrethroid resistance in malaria mosquitoes." *PLOS ONE* 16 (3): e0248538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248538>.
- Pan, Xiaoling, Andrew Pike, Deepak Joshi, Guowu Bian, Michael J. McFadden, Peng Lu, Xiao Liang, Fengrui Zhang, Alexander S. Raikhel et Zhiyong Xi. 2018. "The bacterium *Wolbachia* exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*." *The ISME Journal* 12 (1): 277-288. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.174>.
- Parker, Andrew et Kishor Mehta. 2007. "Sterile insect technique: a model for dose optimization for improved sterile insect quality." *Florida Entomologist* 90 (1): 88-95. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2007\)90\[88:SITAMF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2007)90[88:SITAMF]2.0.CO;2).
- Pattamaporn, Kittayapong, Kathy J. Baisley, Rosie G. Sharpe, Visut Baimai et Scott L. O'Neill. 2002. "Maternal transmission efficiency of *Wolbachia* superinfections in *Aedes albopictus* populations in Thailand." *The American journal of tropical medicine and hygiene* 66 (1): 103-107. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.66.103>.
- Pauly, I., O. Jakoby et N. Becker. 2022. "Efficacy of native cyclopoid copepods in biological vector control with regard to their predatory behavior against the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*." *Parasit Vectors* 15 (1): 351. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05460-y>.
- Paupy, C., H. Delatte, L. Bagny, V. Corbel et D. Fontenille. 2009. "*Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light." *Forum on Chikungunya* 11 (14): 1177-1185. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.05.005>.
- Pereira-dos-Santos, Taissa, David Roiz, Ricardo Lourenço-de-Oliveira et Christophe Paupy. 2020. "A Systematic Review: Is *Aedes albopictus* an Efficient Bridge Vector for Zoonotic Arboviruses?" *Pathogens* 9 (4): 266. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040266>.
- Pérez-Staples, Diana, Todd E. Shelly et Boaz Yuval. 2013. "Female mating failure and the failure of 'mating' in sterile insect programs." *Entomologia Experimentalis et Applicata* 146 (1): 66-78. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01312.x>.
- Petrić, Mina, Els Ducheyne, Céline M. Gossner, Cedric Marsboom, Gaëlle Nicolas, Roger Venail, Guy Hendrickx et Francis Schaffner. 2021. "Seasonality and timing of peak abundance of *Aedes albopictus* in Europe: Implications to public and animal health." *Geospatial Health* 16 (1). <https://doi.org/10.4081/gh.2021.996>.
- Pinto, Sofia B., Thais I. S. Riback, Gabriel Sylvestre, Guilherme Costa, Julia Peixoto, Fernando B. S. Dias, Stephanie K. Tanamas, Cameron P. Simmons, Suzanne M. Dufault, Peter A. Ryan, Scott L. O'Neill, Frederico C. Muzzi, Simon Kutcher, Jacqui Montgomery, Benjamin R. Green, Ruth Smithyman, Ana Eppinghaus, Valeria Saraceni, Betina Durovni, Katherine L. Anders et Luciano A. Moreira. 2021. "Effectiveness of *Wolbachia*-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study." *PLoS neglected tropical diseases* 15 (7): e0009556. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009556>.
- Pocquet, Nicolas, Olivia O'Connor, Heather A. Flores, Jordan Tutagata, Morgane Pol, David J. Hooker, Catherine Inizan, Sylvie Russet, Johanna M. Duyvestyn, Etienne C. Pacidônio, Dominique Girault, Daniela Da Silva Gonçalves, Marine Minier, Frédéric Touzain, Elodie Chalus, Kevin Lucien, Florie Cheilan, Tristan Derycke, Sylvie Laumond, Cameron P. Simmons, Myrielle Dupont-Rouzeyrol et Nadège Rossi. 2021. "Assessment of fitness and vector competence of a New Caledonia wMel *Aedes aegypti* strain before field-release." *PLOS Neglected Tropical Diseases* 15 (9): e0009752. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009752>.

- Poulin, Brigitte, Gaetan Lefebvre et Leire Paz. 2010. "Red flag for green spray: adverse trophic effects of Bti on breeding birds." *Journal of Applied Ecology* 47 (4): 884-889. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01821.x>.
- Powell, Jeffrey R., Andrea Gloria-Soria et Panayiota Kotsakiozi. 2018. "Recent History of *Aedes aegypti* : Vector Genomics and Epidemiology Records." *BioScience* 68 (11): 854-860. <https://doi.org/10.1093/biosci/biy119>.
- Pozzetto, Bruno, Gilda Grard, Guillaume Durand, Marie-Claire Paty, Pierre Gallian, Sophie Lucas-Samuel, Stéphanie Diéterlé, Muriel Fromage, Marc Durand, Didier Lepelletier, Christian Chidiac, Bruno Hoen et Xavier Nicolas De Lamballerie. 2023. "Arboviral Risk Associated with Solid Organ and Hematopoietic Stem Cell Grafts: The Prophylactic Answers Proposed by the French High Council of Public Health in a National Context." *Viruses* 15 (9): 1783. <https://doi.org/10.3390/v15091783>.
- Quérin, Lydia. 2023. "Dengue : des larves de moustique *Aedes Albopictus* découvertes à Saint-Barthélemy." *la1ère*.
- Ramirez, Jose Luis, Sarah M. Short, Ana C. Bahia, Raul G. Saraiva, Yuemei Dong, Seokyoung Kang, Abhai Tripathi, Godfree Mlambo et George Dimopoulos. 2014. "Chromobacterium Csp_P Reduces Malaria and Dengue Infection in Vector Mosquitoes and Has Entomopathogenic and In Vitro Anti-pathogen Activities." *PLOS Pathogens* 10 (10): e1004398. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004398>.
- Ranathunge, Tharaka, Jeevanie Harishchandra, Hamidou Maiga, Jeremy Bouyer, Y. I. Nilmini Silva Gunawardena et Menaka Hapugoda. 2022. "Development of the Sterile Insect Technique to control the dengue vector *Aedes aegypti* (Linnaeus) in Sri Lanka." *PloS one* 17 (4): e0265244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265244>.
- Ravasi, D., P. Topalis, A. Puggioli, C. Leo, E. Flacio, G. Papagiannakis, F. Balestrino, M. Martelli et R. Bellini. 2024. "Random mutations induced by a sub-sterilizing dose of gamma ray on *Aedes albopictus* male pupae and transmission to progeny." *Acta Trop* 256: 107271. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107271>.
- Reiter, P., M. A. Amador, R. A. Anderson et G. G. Clark. 1995. "Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs." *Am J Trop Med Hyg* 52 (2): 177-9. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1995.52.177>.
- Renault, David, Stéphane A. P. Derocles, Phillip Haubrock, Frédéric Simard, Ross N. Cuthbert et Claire Valiente-Moro. 2024. "Biological, ecological and trophic features of invasive mosquitoes and other hematophagous arthropods: What makes them successful?" *Biological Invasions* 26 (1): 33-55. <https://doi.org/10.1007/s10530-023-03158-5>.
- Ribeiro Dos Santos, Gabriel, Betina Durovni, Valeria Saraceni, Thais Irene Souza Riback, Sofia B. Pinto, Katherine L. Anders, Luciano A. Moreira et Henrik Salje. 2022. "Estimating the effect of the wMel release programme on the incidence of dengue and chikungunya in Rio de Janeiro, Brazil: a spatiotemporal modelling study." *The Lancet. Infectious diseases* 22 (11): 1587-1595. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00436-4).
- Ribeiro, G. S., G. L. Hamer, M. Diallo, U. Kitron, A. I. Ko et S. C. Weaver. 2020. "Influence of herd immunity in the cyclical nature of arboviruses." *Curr Opin Virol* 40: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.02.004>.
- Richard, V. et V. M. Cao-Lormeau. 2019. "Mosquito vectors of arboviruses in French Polynesia." *New Microbes and New Infections* 31: 100569. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100569>.
- Ritchie, Scott A., Michael Townsend, Chris J. Paton, Ashley G. Callahan et Ary A. Hoffmann. 2015. "Application of wMelPop Wolbachia Strain to Crash Local Populations of *Aedes aegypti*." *PLoS neglected tropical diseases* 9 (7): e0003930. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003930>.
- Rivière, François, Jean-Marie Klein, Jacques Duval, Yves Sechan, Remi Thirel, Marc Faarua et Léon Colombani. 1998. "Écologie d' *Aedes Polynesiensis* Marks, 1951 (Diptera:

- Culicidae) Vecteur de la Filariose de Bancroft. II. — Les Terriers du Crabe Terrestre <i>Cardisoma Carnifex</i> Comme Gîtes Larvaires." *Annales de la Société entomologique de France* (N.S.) 34 (3): 259-283. <https://doi.org/10.1080/21686351.1998.12277898>.
- Romiti, Federico, Riccardo Casini, Adele Magliano, Arianna Ermenegildi et Claudio De Liberato. 2022. "Aedes albopictus abundance and phenology along an altitudinal gradient in Lazio region (central Italy)." *Parasites & Vectors* 15 (1): 92. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05215-9>.
- Ross, P. A., Katie L. Robinson, Qiong Yang, Ashley G. Callahan, Thomas L. Schmidt, Jason K. Axford, Marianne P. Coquilleau, Kyran M. Staunton, Michael Townsend, Scott A. Ritchie, Meng-Jia Lau, Xinyue Gu et Ary A. Hoffmann. 2022. "A decade of stability for wMel Wolbachia in natural Aedes aegypti populations." *PLoS pathogens* 18 (2): e1010256. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010256>.
- Ross, P. A., M. Turelli et A. A. Hoffmann. 2019. "Evolutionary Ecology of Wolbachia Releases for Disease Control." *Annu Rev Genet* 53: 93-116. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043609>.
- Rosso, Fernando, Sarita Rodríguez, Jorge A. Cedano, Barbara L. Mora, Pablo A. Moncada et Juan D. Velez. 2018. "Chikungunya in solid organ transplant recipients, a case series and literature review." *Transplant Infectious Disease* 20 (6): e12978. <https://doi.org/10.1111/tid.12978>.
- Roth, A., A. Mercier, C. Lepers, D. Hoy, S. Duituturaga, E. Benyon, L. Guillaumot et Y. Souarès. 2014. "Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections – an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012–2014." *Eurosurveillance* 19 (41). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.41.20929>.
- Roux, Olivier et Vincent Robert. 2019. "Larval predation in malaria vectors and its potential implication in malaria transmission: an overlooked ecosystem service?" *Parasites & Vectors* 12 (1): 217. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3479-7>.
- Ryan, Peter A., Andrew P. Turley, Geoff Wilson, Tim P. Hurst, Kate Retzki, Jack Brown-Kenyon, Lauren Hodgson, Nichola Kenny, Helen Cook, Brian L. Montgomery, Christopher J. Paton, Scott A. Ritchie, Ary A. Hoffmann, Nicholas P. Jewell, Stephanie K. Tanamas, Katherine L. Anders, Cameron P. Simmons et Scott L. O'Neill. 2020. "Establishment of wMel Wolbachia in Aedes aegypti mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia." *Gates open research* 3: 1547. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.13061.2>.
- Samarawickrema, W. A., Fola Sone et R. F. Cummings. 1987. "Seasonal abundance, diel biting activity and parity of <i>Aedes polynesiensis</i> marks and A. samoanus (Grünberg) (Diptera: Culicidae) in Samoa." *Bulletin of Entomological Research* 77 (2): 191-200. <https://doi.org/10.1017/S0007485300011676>.
- Samarawickrema, W. A., Fola Sone, E. Kimura, L. S. Self, R. F. Cummings et G. S. Paulson. 1993. "The relative importance and distribution of Aedes polynesiensis and Ae.aegypti larval habitats in Samoa." *Medical and Veterinary Entomology* 7 (1): 27-36. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1993.tb00648.x>.
- Sancho, Rubén, Ana Guillem-Amat, Elena López-Errasquín, Lucas Sánchez, Félix Ortego et Pedro Hernández-Crespo. 2021. "Genetic analysis of medfly populations in an area of sterile insect technique applications." *Journal of Pest Science* 94 (4): 1277-1290. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01337-8>.
- Santé publique, France. 2024a. "Dengue." *Santé publique France*.
- Santé publique, France. 2024b. "Dengue en Guyane. Point au 28 mars 2024."
- Santé publique, France. 2024c. "Recrudescence de cas importés de dengue en France hexagonale : appel à la vigilance à l'approche de la saison d'activité du moustique tigre."

- Santé Publique France, SpF. 2025. "Bulletin épidémiologique Arboviroses, La Réunion."
- Sarwar, Muhammad Sajjad, Nusrat Jahan, Azeem Ali, Hafiz Kamran Yousaf et Iqra Munzoor. 2022. "Establishment of Wolbachia infection in *Aedes aegypti* from Pakistan via embryonic microinjection and semi-field evaluation of general fitness of resultant mosquito population." *Parasites & vectors* 15 (1): 191. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05317-4>.
- Schaffner, F. et A. Mathis. 2014b. "Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, present, and scenarios for the future." *Lancet Infect Dis* 14 (12): 1271-80. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(14\)70834-5](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(14)70834-5).
- Schilthuisen, M. et R. Stouthamer. 1997. "Horizontal transmission of parthenogenesis-inducing microbes in *Trichogramma* wasps." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 264 (1380): 361-366. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0052>.
- Schmidt, Tom L., Nicholas H. Barton, Gordana Rašić, Andrew P. Turley, Brian L. Montgomery, Inaki Iturbe-Ormaetxe, Peter E. Cook, Peter A. Ryan, Scott A. Ritchie, Ary A. Hoffmann, Scott L. O'Neill et Michael Turelli. 2017. "Local introduction and heterogeneous spatial spread of dengue-suppressing Wolbachia through an urban population of *Aedes aegypti*." *PLoS biology* 15 (5): e2001894. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001894>.
- Schultz, Michaela J., Horacio M. Frydman et John H. Connor. 2018. "Dual Insect specific virus infection limits Arbovirus replication in *Aedes* mosquito cells." *Virology* 518: 406-413. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.03.022>.
- Shah, R. M., N. Abbas, S. A. Shad et A. A. Sial. 2015. "Selection, resistance risk assessment, and reversion toward susceptibility of pyriproxyfen in *Musca domestica* L." *Parasitol Res* 114 (2): 487-94. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4206-0>.
- Shaikevich, Elena, Anna Bogacheva, Vera Rakova, Ludmila Ganushkina et Yury Ilinsky. 2019. "Wolbachia symbionts in mosquitoes: Intra- and intersupergroup recombinations, horizontal transmission and evolution." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 134: 24-34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.01.020>.
- Shannon, Danica M., Nalany Richardson, Chloé Lahondère et Daniel Peach. 2024. "Mosquito floral visitation and pollination." *Current Opinion in Insect Science* 65: 101230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cois.2024.101230>.
- Sharon, Gil, Daniel Segal, John M. Ringo, Abraham Hefetz, Ilana Zilber-Rosenberg et Eugene Rosenberg. 2010. "Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (46): 20051-20056. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009906107>.
- Simmons, C. P., W. Donald, L. Tagavi, L. Tarivonda, T. Quai, R. Tavoia, T. Noran, E. Manikaoti, L. Kareaua, T. T. Abwai, D. Chand, V. Rama, V. Deo, K. K. Deo, A. Tavuii, W. Valentine, R. Prasad, E. Seru, L. Naituku, A. Ratu, M. Hesketh, N. Kenny, S. C. Beebe, A. A. Goundar, A. McCaw, M. Buntine, B. Green, T. Frossard, J. R. L. Gilles, D. A. Joubert, G. Wilson, L. Q. Duong, J. B. Bouvier, D. Stanford, C. Forder, J. M. Duyvestyn, E. C. Pacidônio, H. A. Flores, N. Wittmeier, K. Retzki, P. A. Ryan, J. A. Denton, R. Smithyman, S. K. Tanamas, P. Kyrylos, Y. Dong, A. Khalid, L. Hodgson, K. L. Anders et S. L. O'Neill. 2024. "Successful introgression of wMel Wolbachia into *Aedes aegypti* populations in Fiji, Vanuatu and Kiribati." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 18 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012022>.
- Simmons, Gregory S., Melissa Cristal Salazar Sepulveda, Edith Alejandra Fuentes Barrios, Marcela Idalsoaga Villegas, Raul Enrique Medina Jimenez, Alvaro Rodrigo Garrido Jerez, Ruth Henderson et Hernán Donoso Rizzo. 2021. "Development of Sterile Insect Technique for Control of the European Grapevine Moth, *Lobesia botrana*, in Urban Areas of Chile." *Insects* 12 (5): 378. <https://doi.org/10.3390/insects12050378>.

- Sohail, Asma, Katherine L. Anders, Sarah L. McGuinness et Karin Leder. 2024. "The epidemiology of imported and locally acquired dengue in Australia, 2012–2022." *Journal of Travel Medicine* 31 (2): taee014. <https://doi.org/10.1093/jtm/taee014>.
- Sukupayo, Punya Ram, Ram Chandra Poudel et Tirth Raj Ghimire. 2024. "Nature's Solution to Aedes Vectors: Toxorhynchites as a Biocontrol Agent." *Journal of Tropical Medicine* 2024 (1): 3529261. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2024/3529261>.
- Sullivan, Jonathan J. et Kean S. Goh. 2008. "Environmental fate and properties of pyriproxyfen." *Journal of Pesticide Science* 33 (4): 339-350. <https://doi.org/10.1584/jpestics.R08-02>.
- Tantowijoyo, Warsito, Bakti Andari, Eggi Arguni, Nida Budiwati, Indah Nurhayati, Iva Fitriana, Ingrid Ernesia, Edwin W. Daniwijaya, Endah Supriyati, Dedik H. Yudianta, Munasdi Victorius, Dwi S. Wardana, Hilmi Ardiansyah, Riris Andono Ahmad, Peter A. Ryan, Cameron P. Simmons, Ary A. Hoffmann, Edwige Rancès, Andrew P. Turley, Petrina Johnson, Adi Utarini et Scott L. O'Neill. 2020. "Stable establishment of wMel Wolbachia in Aedes aegypti populations in Yogyakarta, Indonesia." *PLoS neglected tropical diseases* 14 (4): e0008157. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008157>.
- Tantowijoyo, Warsito, Stephanie K. Tanamas, Indah Nurhayati, Sigit Setyawan, Nida Budiwati, Iva Fitriana, Ingrid Ernesia, Dwi Satria Wardana, Endah Supriyati, Eggi Arguni, Yeti Meitika, Equatori Prabowo, Bakti Andari, Benjamin R. Green, Lauren Hodgson, Edwige Rancès, Peter A. Ryan, Scott L. O'Neill, Katherine L. Anders, M. Ridwan Ansari, Citra Indriani, Riris Andono Ahmad, Adi Utarini et Cameron P. Simmons. 2022. "Aedes aegypti abundance and insecticide resistance profiles in the Applying Wolbachia to Eliminate Dengue trial." *PLoS neglected tropical diseases* 16 (4): e0010284. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010284>.
- Tatem, Andrew J., Simon I. Hay et David J. Rogers. 2006. "Global traffic and disease vector dispersal." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (16): 6242-6247. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508391103>.
- Terradas, Gerard, Scott L. Allen, Stephen F. Chenoweth et Elizabeth A. McGraw. 2017. "Family level variation in Wolbachia-mediated dengue virus blocking in Aedes aegypti." *Parasites & vectors* 10 (1): 622. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2589-3>.
- Thistlewood, Howard M. A. et Gary J. R. Judd. 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 (9): 292. <https://doi.org/10.3390/insects10090292>.
- Thomas, Stephanie Margarete, Ulla Obermayr, Dominik Fischer, Juergen Kreyling et Carl Beierkuhnlein. 2012. "Low-temperature threshold for egg survival of a post-diapause and non-diapause European aedine strain, Aedes albopictus (Diptera: Culicidae)." *Parasites & Vectors* 5 (1): 100. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-100>.
- Trayler, K. M. et J. A. Davis. 1996. "Sensitivity of Daphnia carinata Ssensu Lato to the Insect Growth Regulator, Pyriproxyfen." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 33 (2): 154-156. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/eesa.1996.0019>.
- Trefry, Stephanie V., Robert L. Aldridge, Thomas R. Sprague, Robert G. Lowen, Jesse H. Erasmus, Margaret L. Pitt, Daniel A. Hahn, Farooq Nasar, Seth Gibson et Kenneth J. Linthicum. 2024. "Gamma-Irradiated Female Aedes aegypti Mosquitoes Exhibit Greater Susceptibility to Mayaro Virus." *The American journal of tropical medicine and hygiene* 111 (2): 421-428. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.23-0515>.
- Tsetsarkin, Konstantin A., Dana L. Vanlandingham, Charles E. McGee et Stephen Higgs. 2007. "A Single Mutation in Chikungunya Virus Affects Vector Specificity and Epidemic Potential." *PLoS Pathogens* 3 (12): e201. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030201>.
- Tuanudom, Ranida, Nichapat Yurayart, Channarong Rodkhum et Sonthaya Tiawsirisup. 2021. "Diversity of midgut microbiota in laboratory-colonized and field-collected Aedes albopictus (Diptera: Culicidae): A preliminary study." *Heliyon* 7 (10): e08259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08259>.

- Tur, Carlos, David Almenar, Mario Zacarés, Sandra Benlloch-Navarro, Ignacio Pla et Vicente Dalmau. 2023. "Suppression Trial through an Integrated Vector Management of *Aedes albopictus* (Skuse) Based on the Sterile Insect Technique in a Non-Isolated Area in Spain." *Insects* 14 (8). <https://doi.org/10.3390/insects14080688>.
- Turelli, Michael et Nicholas H. Barton. 2017. "Deploying dengue-suppressing *Wolbachia* : Robust models predict slow but effective spatial spread in *Aedes aegypti*." *Theoretical population biology* 115: 45-60. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2017.03.003>.
- Unlu, Isik, Devi S. Suman, Yi Wang, Kim Klingler, Ary Faraji et Randy Gaugler. 2017. "Effectiveness of autodissemination stations containing pyriproxyfen in reducing immature *Aedes albopictus* populations." *Parasites & Vectors* 10 (1): 139. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2034-7>.
- Utarini, Adi, Citra Indriani, Riris A. Ahmad, Warsito Tantowijoyo, Eggi Arguni, M. Ridwan Ansari, Endah Supriyati, D. Satria Wardana, Yeti Meitika, Ingrid Ernesia, Indah Nurhayati, Equatori Prabowo, Bakti Andari, Benjamin R. Green, Lauren Hodgson, Zoe Cutcher, Edwige Rancès, Peter A. Ryan, Scott L. O'Neill, Suzanne M. Dufault, Stephanie K. Tanamas, Nicholas P. Jewell, Katherine L. Anders et Cameron P. Simmons. 2021. "Efficacy of *Wolbachia*-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue." *The New England journal of medicine* 384 (23): 2177-2186. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2030243>.
- Vala, F., M. Egas, J. A. J. Breeuwer et M. W. Sabelis. 2004. "*Wolbachia* affects oviposition and mating behaviour of its spider mite host." *Journal of Evolutionary Biology* 17 (3): 692-700. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00679.x>.
- Vancamp, Pieter, Petra Spirhanzlova, Anthony Sébillot, Lucile Butruille, Jean-David Gothié, Sébastien Le Mével, Michelle Leemans, Karn Wejaphikul, Marcel Meima, Bilal B. Mughal, Pierre Roques, Sylvie Remaud, Jean-Baptiste Fini et Barbara A. Demeneix. 2021. "The pyriproxyfen metabolite, 4'-OH-PPF, disrupts thyroid hormone signaling in neural stem cells, modifying neurodevelopmental genes affected by ZIKA virus infection." *Environmental Pollution* 285: 117654. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117654>.
- Vanslebrouck, Adwine, Kevin Scheers, Xavier Vermeersch, Rens Hendrickx, Anna Schneider, Jacobus De Witte, Isra Deblauwe, Wim Van Bortel, Friederike Reuss et Ruth Müller. 2024. "Exploring the efficacy of predacious diving beetles as potential nature-based solution for combatting the invasive mosquito *Aedes albopictus* (Skuse, 1894)." *NeoBiota* 94: 179-203. <https://doi.org/https://doi.org/10.3897/neobiota.94.121987>.
- Vasquez, M. I., G. Notarides, S. Meletiou, E. Patsoula, M. Kavran, A. Michaelakis, R. Bellini, T. Toumazi, J. Bouyer et D. Petrić. 2023. "Two invasions at once: update on the introduction of the invasive species *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Cyprus - a call for action in Europe." *Parasite* 30: 41. <https://doi.org/10.1051/parasite/2023043>.
- Vavassori, Laura, Adam Saddler et Pie Müller. 2019. "Active dispersal of *Aedes albopictus*: a mark-release-recapture study using self-marking units." *Parasites & Vectors* 12 (1): 583. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3837-5>.
- Vavre, F., F. Fleury, D. Lepetit, P. Fouillet et M. Boulétreau. 1999. "Phylogenetic evidence for horizontal transmission of *Wolbachia* in host-parasitoid associations." *Mol Biol Evol* 16 (12): 1711-23. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026084>.
- Vega-Rúa, A., K. Zouache, R. Girod, A. B. Failloux et R. Lourenço-de-Oliveira. 2014. "High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus." *J Virol* 88 (11): 6294-306. <https://doi.org/10.1128/jvi.00370-14>.
- Vega-Rúa, Anubis, Michele Marconcini, Yoann Madec, Mosè Manni, Davide Carraretto, Ludvik Marcus Gomulski, Giuliano Gasperi, Anna-Bella Failloux et Anna Rodolfa Malacrida. 2020. "Vector competence of *Aedes albopictus* populations for chikungunya virus is

- shaped by their demographic history." *Communications Biology* 3 (1): 326. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-1046-6>.
- Velez, I. D., Stephanie K. Tanamas, Maria Patricia Arbelaez, Simon C. Kutcher, Sandra L. Duque, Alexander Uribe, Lina Zuluaga, Luis Martínez, Ana Cristina Patiño, Jovany Barajas, Estefanía Muñoz, Maria Camila Mejia Torres, Sandra Uribe, Sandra Porras, Rita Almanza, Henry Pulido, Scott L. O'Neill, Eduardo Santacruz-Sanmartin, Sandra Gonzalez, Peter A. Ryan, Jai A. Denton, Nicholas P. Jewell, Suzanne M. Dufault, Cameron P. Simmons et Katherine L. Anders. 2023b. "Reduced dengue incidence following city-wide wMel Wolbachia mosquito releases throughout three Colombian cities: Interrupted time series analysis and a prospective case-control study." *PLoS neglected tropical diseases* 17 (11): e0011713. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011713>.
- Velez, I. D., Alexander Uribe, Jovany Barajas, Sandra Uribe, Sandra Ángel, Juan David Suaza-Vasco, Maria Camila Mejia Torres, María Patricia Arbeláez, Eduardo Santacruz-Sanmartin, Lorena Duque, Luis Martínez, Tania Posada, Ana Cristina Patiño, Sandra Milena Gonzalez, Ana Lucía Velez, Jennifer Ramírez, Marlene Salazar, Sandra Gómez, Jorge E. Osorio, Inaki Iturbe-Ormaetxe, Yi Dong, Frederico C. Muzzi, Edwige Rances, Petrina H. Johnson, Ruth Smithyman, Bruno Col, Benjamin R. Green, Tibor Frossard, Jack Brown-Kenyon, D. Albert Joubert, Nelson Grisales, Scott A. Ritchie, Jai A. Denton, Jeremie R. L. Gilles, Katherine L. Anders, Simon C. Kutcher, Peter A. Ryan et Scott L. O'Neill. 2023a. "Large-scale releases and establishment of wMel Wolbachia in *Aedes aegypti* mosquitoes throughout the Cities of Bello, Medellín and Itagüí, Colombia." *PLoS neglected tropical diseases* 17 (11): e0011642. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011642>.
- Vi, T. T., D. T. Kien, B. Wills et C. P. Simmons. 2017. "A29 Wolbachia for dengue control; will dengue viruses evolve resistance?" *Virus Evol* 3 (Suppl 1). <https://doi.org/10.1093/ve/vew036.028>.
- Walker, T., P. H. Johnson, L. A. Moreira, I. Iturbe-Ormaetxe, F. D. Frentiu, C. J. McMeniman, Y. S. Leong, Y. Dong, J. Axford, P. Kriesner, A. L. Lloyd, S. A. Ritchie, S. L. O'Neill et A. A. Hoffmann. 2011. "The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations." *Nature* 476 (7361): 450-453. <https://doi.org/10.1038/nature10355>.
- Werren, J. H., L. Baldo et M. E. Clark. 2008. "Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology." *Nat Rev Microbiol* 6 (10): 741-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1969>.
- Werren, J. H., D. Windsor et L. Guo. 1995b. "Distribution of Wolbachia among neotropical arthropods." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 262 (1364): 197-204. <https://doi.org/10.1098/rspb.1995.0196>.
- Werren, J. H., W. Zhang et L. R. Guo. 1995a. "Evolution and phylogeny of Wolbachia: Reproductive parasites of arthropods." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 261 (1360): 55-63. <https://doi.org/10.1098/rspb.1995.0117>.
- Weterings, Robbie, Chanin Umponstira et Hannah L. Buckley. 2018. "Landscape variation influences trophic cascades in dengue vector food webs." *Science Advances* 4 (2): eaap9534. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9534>.
- Wilder-Smith, Annelies, Eng-Eong Ooi, Olaf Horstick et Bridget Wills. 2019. "Dengue." *The Lancet* 393 (10169): 350-363. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32560-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32560-1).
- Wint, William, Peter Jones, Moritz Kraemer, Neil Alexander et Francis Schaffner. 2022. "Past, present and future distribution of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*: The European paradox." *Science of The Total Environment* 847: 157566. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157566>.
- Xi, Zhiyong, Jeffry L. Dean, Cynthia Khoo et Stephen L. Dobson. 2005. "Generation of a novel Wolbachia infection in *Aedes albopictus* (Asian tiger mosquito) via embryonic microinjection." *Insect biochemistry and molecular biology* 35 (8): 903-910. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2005.03.015>.

- Yamada, H., A. G. Parker, C. F. Oliva, F. Balestrino et J. R. L. Gilles. 2014. "X-ray-induced sterility in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and male longevity following irradiation." *Journal of medical entomology* 51 (4): 811-816. <https://doi.org/10.1603/me13223>.
- Yunta, C., N. Grisales, S. Nász, K. Hemmings, P. Pignatelli, M. Voice, H. Ranson et M. J. Paine. 2016. "Pyriproxyfen is metabolized by P450s associated with pyrethroid resistance in *An. gambiae*." *Insect Biochem Mol Biol* 78: 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2016.09.001>.
- Yunta, C., K. Hemmings, B. Stevenson, L. L. Koekemoer, T. Matambo, P. Pignatelli, M. Voice, S. Nász et M. J. I. Paine. 2019. "Cross-resistance profiles of malaria mosquito P450s associated with pyrethroid resistance against WHO insecticides." *Pestic Biochem Physiol* 161: 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.06.007>.
- Zeng, Qin, Lingzhi She, Hao Yuan, Yuying Luo, Renke Wang, Wei Mao, Weifeng Wang, Yueting She, Chaojun Wang, Mengyi Shi, Ting Cao, Renxian Gan, Yongjun Li, Jiayi Zhou, Wei Qian, Shixiong Hu, Yong Wang, Xiaoying Zheng, Kuibiao Li, Lianyang Bai, Xiaoling Pan et Zhiyong Xi. 2022. "A standalone incompatible insect technique enables mosquito suppression in the urban subtropics." *Communications biology* 5 (1): 1419. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04332-6>.
- Zheng, Xiaoying, Dongjing Zhang, Yongjun Li, Cui Yang, Yu Wu, Xiao Liang, Yongkang Liang, Xiaoling Pan, Linchao Hu, Qiang Sun, Xiaohua Wang, Yingyang Wei, Jian Zhu, Wei Qian, Ziqiang Yan, Andrew G. Parker, Jeremie R. L. Gilles, Kostas Bourtzis, Jérémy Bouyer, Moxun Tang, Bo Zheng, Jianshe Yu, Julian Liu, Jiajia Zhuang, Zhigang Hu, Meichun Zhang, Jun-Tao Gong, Xiao-Yue Hong, Zhoubing Zhang, Lifeng Lin, Qiyong Liu, Zhiyong Hu, Zhongdao Wu, Luke Anthony Baton, Ary A. Hoffmann et Zhiyong Xi. 2019. "Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes." *Nature* 572 (7767): 56-61. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1407-9>.
- Zimmer, Carl. 2001. "<i>Wolbachia</i> : A Tale of Sex and Survival." *Science* 292 (5519): 1093-1095. <https://doi.org/10.1126/science.292.5519.1093>.
- Zouache, Karima, Albin Fontaine, Anubis Vega-Rua, Laurence Mousson, Jean-Michel Thiberge, Ricardo Lourenco-De-Oliveira, Valérie Caro, Louis Lambrechts et Anna-Bella Failloux. 2014. "Three-way interactions between mosquito population, viral strain and temperature underlying chikungunya virus transmission potential." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281 (1792): 20141078. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1078>.
- Zug, Roman et Peter Hammerstein. 2012. "Still a Host of Hosts for *Wolbachia*: Analysis of Recent Data Suggests That 40% of Terrestrial Arthropod Species Are Infected." *PLoS ONE* 7 (6): e38544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038544>.

10.1. Législation et réglementation

Décision d'exécution (UE) 2018/1623 de la Commission du 29 octobre 2018 conformément à l'article 3, paragraphe 3, du règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil sur les moustiques infectés de manière non naturelle par la bactérie *Wolbachia* utilisés à des fins de lutte contre les vecteurs

Décision 2007/389/CE de la Commission du 6 juin 2007 concernant la non-inscription du malathion à l'annexe I de la directive 91/414/CEE du Conseil et le retrait des autorisations de produits phytopharmaceutiques contenant cette substance [notifiée sous le numéro C(2007) 2337].

Règlement (UE) 2019/1021 du Parlement européen et du Conseil du 20 juin 2019 concernant les polluants organiques persistants

Règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides

Annexe 1 : Propositions détaillées pour la déclaration et l'autorisation préalable aux lâchers

- 1) une déclaration obligatoire préalable à la mise en place de la technique (élevage en masse, marquage-recapture, essais en conditions semi-naturelles...) comprenant a minima :
 - a. la technique utilisée (TIS, TII, variantes ou techniques de remplacement) et des informations sur le protocole (production en masse, sexage, irradiation ou la souche de *Wolbachia* utilisée le cas échéant...);
 - b. l'espèce de moustique utilisée et sa provenance ;
- 2) une autorisation préalable aux lâchers opérationnels comprenant a minima, en plus des informations précédentes :
 - a. la zone de lâcher, la fréquence et les périodes de lâchers ;
 - b. les ratios envisagés ;
 - c. un état des lieux initial des densités de moustiques cibles et de moustiques vecteurs non-cibles vivant en sympatrie ;
 - d. un point de situation épidémiologique (incidence, prévalence...) à t_0 et les années précédentes ;
 - e. un point de situation des ENI potentiels à t_0 , les démarches mises en œuvre pour le suivi des indicateurs pertinents d'ENI et propositions d'actions pour les limiter ;
- 3) un bilan et la fourniture des données brutes en cours et en fin de déploiement des techniques comprenant :
 - a. la description précise de ce qui a été réalisé en pratique ;
 - b. les résultats entomologiques (comprenant à la fois la population cible et les moustiques vecteurs non-cibles vivant en sympatrie) mesurés par un opérateur indépendant ;
 - c. les résultats épidémiologiques ;
 - d. la surveillance obligatoire et un bilan des ENI, après avoir préalablement défini les indicateurs à surveiller (cf. recommandation au § 9.1.1). À titre d'exemple :
 - spécifiquement pour la technique de remplacement :
 - la survenue d'une sélection de virus résistants ;
 - l'efficacité de la souche de *Wolbachia* utilisée au fil du temps (vérifier son établissement et sa persistance sur le long terme) ;
 - spécifiquement pour la TIS et la TII renforcées, les ENI liés aux composés parents du PPF, ainsi que leurs métabolites ;
- 4) l'évaluation systématique de l'efficacité de ces techniques par la mise en place de suivis :
 - a. entomologiques comprenant à la fois la population cible et les moustiques vecteurs non-cibles vivant en sympatrie lors du déploiement de la TIS, la TII et la technique de remplacement ;
 - b. épidémiologiques.

Annexe 2 : Recommandations pour la conception des protocoles

À l'issue de l'évaluation des techniques, les experts ont identifié les points d'attention suivants à porter à la conception des protocoles :

- La compétitivité (ou *fitness*) des moustiques lâchés, en particulier leur capacité à s'accoupler avec les moustiques sauvages et à se disperser efficacement, semble être un facteur déterminant du succès des techniques qui font l'objet de la saisine. Plusieurs études s'intéressant à l'efficacité des techniques ont rapporté l'importance de suivre la compétitivité des mâles lâchés (Bouyer *et al.* 2020a ; Madakacherry *et al.* 2014 ; Iyaloo *et al.* 2020b). Les experts indiquent que cet indicateur de qualité phénotypique est un prérequis à l'efficacité des techniques, bien qu'ils n'en soient pas un témoin direct.
- La dispersion des moustiques lâchés est, entre autres, conditionnée par la méthode de lâcher et la densité des dispositifs utilisés. Dans certaines études, les interruptions de lâchers, notamment dues à des facteurs externes (e.g. conflits locaux, contraintes logistiques, cyclones, etc.), ont été identifiées comme des facteurs d'échec (Gesto *et al.*, 2021b). Les experts encouragent donc l'utilisation de dispositifs de lâchers permettant d'assurer des lâchers réguliers, la compétitivité des moustiques lâchés, ainsi que leur bonne dispersion et de s'en assurer tout au long des expérimentations en accord avec les recommandations de l'AIEA/OMS (OMS-AIEA 2020).
- Pour la TIS, et encore plus pour la TII, la qualité du sexage est cruciale pour éviter les échecs et les risques liés aux femelles résiduelles relâchées accidentellement. Malgré le développement de méthodes automatisées ayant permis d'atteindre des taux de contamination d'une femelle pour 900 millions de mâles (Crawford *et al.* 2020), la plupart des méthodes de sexage restent imparfaites (Kittayapong *et al.* 2019). Ainsi les experts recommandent d'effectuer une vérification manuelle du taux de femelles résiduelles avant les lâchers, comme cela est généralement déjà fait. À la connaissance des experts, aucune donnée disponible ne leur permet de se prononcer avec certitude quant au seuil de femelles résiduelles acceptable.
- Le ratio mâles stériles et/ou transinfectés avec *Wolbachia* : mâles sauvages est un paramètre identifié comme important par les experts. Les ratios utilisés sont de valeurs variables d'une étude à une autre. Le choix du ratio à atteindre sur le terrain résulte en général d'essais réalisés en laboratoire ou en conditions semi-naturelles. Son calcul nécessite la connaissance approximative de la densité de la population sauvage.
- Concernant le choix de la dose d'irradiation ou de la souche de *Wolbachia*, celui-ci varie fortement d'un essai à un autre et il est difficile d'identifier des configurations communes. Ces choix doivent être adaptés au contexte entomologique (espèce ciblée, profil d'infection par *Wolbachia* de la population cible), aux objectifs visés (réduction des populations, propagation d'une interférence avec le pathogène) et au contexte météorologique (température, humidité).
Par exemple, la souche wMel n'est utilisée que dans le cadre de la technique de remplacement, alors que la souche wAlbB peut être utilisée aussi bien dans le cadre de la technique de remplacement que de la TII. Dans le cadre de la TII, *Ae. albopictus* étant naturellement porteur de wAlbA et wAlbB, la souche wPip est systématiquement utilisée pour induire des accouplements stériles grâce à l'incompatibilité cytoplasmique induite par cette souche. Étant donné que toutes les études portant sur la technique de remplacement n'ont été faites que sur *Ae. aegypti*, cette souche (wPip) n'a jamais été utilisée dans le cadre de cette technique. Les experts soulignent que le choix du traitement (dose d'irradiation ou souche de *Wolbachia*) est également un compromis entre efficacité visée (stérilisation, IC, IP) et survie des moustiques.

Des études en laboratoire sont nécessaires pour affiner les protocoles (études dosimétriques pour définir la dose d'irradiation en fonction des couples espèce-irradiateur selon les lignes directrices de l'AIEA (FAO/IAEA *et al.* 2020a), capacité d'une souche de

Wolbachia à induire une incompatibilité cytoplasmique ou une interférence avec le pathogène, étude du coût métabolique d'un traitement pour les moustiques...).

- L'adaptation génétique des moustiques lâchés aux populations locales, notamment leur résistance aux insecticides utilisés dans la zone, est déterminante.



anses

CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr