

Facteurs entomologiques d'émergence de Chikungunya et d'arboviroses humaines à La Réunion

ANR 06 SEST 14 – 2006, ENTOMOCHIK



Didier FONTENILLE ¹ didier.fontenille@ird.fr
Hélène DELATTE ^{1,2} helene.delatte@cirad.fr
Anna Bella FAILLOUX ³ afaillou@pasteur.fr
Yves DUMONT ⁴ yves.dumont@cirad.fr
Frédéric CHIROLEU ² frederic.chiroleu@cirad.fr
Jean Sébastien DEHECQ ⁵ Jean-sebastien.dehecq@ars.sante.fr
Julien THIRIA ⁵ Julien.thiria@ars.sante.fr
Leila BAGNY ^{1,2} leila.bagny@cirad.fr
Sébastien BOYER ^{1,6} sebastien.boyer@ird.fr
Marie VAZEILLE ³ vazeille@pasteur.fr
Paul REITER ³ paul.reiter@pasteur.fr
Renaud LACROIX ³ renaud.lacroix@gmail.com
Sarah MOUTAILLER ³ Sara.moutailler@anses.fr
Christophe PAUPY ¹ Christophe.Paupy@ird.fr
Cécile BRENGUES ¹ cecile.brengues@ird.fr
Geoffrey GIMONNEAU ¹ geoffrey.gimonneau@gmail.com
Serge QUILICCI ² serge.quilici@cirad.fr
Bernard REYNAUD ² bernard.reynaud@cirad.fr

1 : IRD, MIVEGEC (UM1-CNRS 5290-IRD 224), IRD, BP 64501 34394 Montpellier Cedex 5

2 : CIRAD, UMR PVBMT, 3P, 7, Chemin de l'IRAT, 97410 Saint Pierre, La Réunion

3 : Institut Pasteur, 25-28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15

4 : IREMIA, Univ. de la Réunion, adresse actuelle : CIRAD, UMR AMAP, TA A51 / PS2, 34398 Montpellier)

5 : ARS, service de lutte antivectorielle Délégation de l'île de La Réunion, 2bis avenue Georges Brassens - CS 60050, 97408 Saint-Denis cedex 9

6 : CRVOI, 2 rue Maxime Rivière, 97490 Sainte Clotilde Cedex, La Réunion

Objectifs

Le programme de recherche EntomoCHIK a été proposé suite à l'émergence du virus Chikungunya dans l'Océan Indien, et particulièrement à l'île de La Réunion. Le projet avait pour objectifs d'étudier la biologie et la génétique des vecteurs, essentiellement *Aedes albopictus*, d'explorer les relations virus-vecteur et de spatialiser et modéliser le risque entomologique de survenues d'arboviroses transmises par les moustiques du genre *Aedes* à la Réunion.

Situation du sujet

A la fin de l'année 2004, le virus Chikungunya (CHIKV) a émergé dans plusieurs îles du sud-ouest de l'Océan Indien (SOOI), tout d'abord aux Comores, puis en 2005-2006 à la Réunion, Mayotte, Maurice, les Seychelles, Madagascar ainsi qu'en Inde. On considère que 270 000 personnes ont été contaminées par le virus rien que sur l'île de la Réunion. Outre l'ampleur sans précédent de cette épidémie, des formes cliniques sévères (méningo-encéphalites, encéphalopathies ou hépatites fulminantes) ont pour la première fois été décrites pour cette maladie qui n'était jusqu'alors connue que pour causer un syndrome « dengue-like » d'évolution généralement bénigne se manifestant par une fièvre, un rash cutané et des arthralgies persistantes. Le caractère explosif de l'épidémie réunionnaise ainsi que la morbidité et la mortalité associées ont plongé le département

dans une crise sanitaire aux répercussions socio-économiques majeures d'autant qu'aucun vaccin ou traitement étiologique spécifique n'était disponible. D'importantes mesures dirigées contre les moustiques suspectés d'assurer la transmission ont été mises en place sur l'île de la Réunion afin d'endiguer l'épidémie. Cette crise et le succès modéré de la lutte antivectorielle avait mis en exergue le manque dramatique de connaissances concernant les modalités de la transmission vectorielle du virus Chikungunya et la biologie des vecteurs, éléments incontournables pour la compréhension de l'épidémiologie, et la mise en place de mesure de prévention des épidémies et de lutte antivectorielle.

Le virus Chikungunya a été isolé pour la première fois en Tanzanie en 1952. Cet arbovirus originaire d'Afrique se maintient au sein d'un cycle forestier faisant intervenir des primates et des moustiques selvatiques du sous-genre *Stegomyia* et *Diceromyia*. Lorsque le virus CHIK touche l'homme, la transmission semble adopter un mode de transmission faisant intervenir principalement *Aedes aegypti*, un moustique hautement anthropophile et parfaitement adapté à l'environnement urbain. Avant l'épidémie de la Réunion quelques données faisaient état du rôle potentiel d'un autre moustique, *Aedes albopictus*, dans la transmission du virus Chikungunya.

Aedes albopictus (Skuse, 1894) est un moustique originaire des forêts d'Asie du Sud-Est. Sans qu'on puisse dater le phénomène, ce moustique s'est progressivement adapté à l'environnement humain et a initié une expansion mondiale. Son expansion géographique, dont les prémices remontent probablement aux épisodes de colonisation humaine vers le sous-continent Indien, les îles de l'Océan Indien et Madagascar, s'est réellement amplifiée au 20^{ème} siècle en lien avec la modernisation et l'intensification des échanges commerciaux. Le meilleur exemple de ce phénomène est le transport intercontinental de pneus usagés qui constituent d'excellents gîtes larvaires dans lesquels les œufs peuvent subsister pendant plusieurs semaines à l'état quiescent. *Aedes albopictus* est maintenant présent sur tous les continents [3,12].

Matériels et méthodes

Le projet a été découpé en 4 volets permettant de couvrir l'ensemble des champs de la transmission vectorielle : biologie des populations de vecteurs ; phylogéographie et génétique des populations d'*Ae. albopictus* ; compétence vectorielle et relations virus-vecteur ; et modélisation de l'aléa entomologique.

La typologie et la productivité des gîtes larvaires ont été étudiées par des méthodes standards de prospection sur le terrain en milieux naturels et anthropisés, en saisons sèche et en saison des pluies dans deux régions de l'île de la Réunion. Les densités d'adultes d'*Ae. albopictus* ont été estimées à l'aide de pièges à moustiques et par captures sous doubles moustiquaires. Le comportement de repos (endo/exophagie, endo/exophilie) a été étudié par des prospections à l'intérieur et à l'extérieur des maisons. Les préférences trophiques ont été étudiées par des tests de choix d'hôtes vertébrés vis-à-vis de l'homme, et de 11 autres espèces animales fréquentes sur l'île. La durée du cycle trophogonique, la longévité et la fécondité ont été étudiées en laboratoire, en conditions contrôlées à différentes températures, et sur le terrain. La dispersion et la survie sur le terrain ont été étudiées en milieu urbain et semi urbain par des expériences de « marquages – lâchers – recaptures ».

Les populations issues de plusieurs localités de la Réunion et du sud-ouest de l'Océan Indien ont été comparées. L'analyse phylogénétique s'est appuyée sur le polymorphisme génétique de marqueurs mitochondriaux (COI, ND5). La structure génétique des populations d'*Ae. albopictus* à la Réunion a été étudiée, à l'aide de 8 marqueurs microsatellites, dont certains nouveaux développés pour cette étude. Les populations ont été sélectionnées en fonction de trois critères bio-écologiques : (1) populations sylvatiques vs populations domestiques ; (2) localisation géographique, (3) saison et nature des gîtes.

Le niveau de compétence vectorielle de plusieurs populations de la Réunion et de Mayotte a été estimé vis-à-vis de deux génotypes viraux du virus Chikungunya : (1) le virus du phylogroupe Est-Centre-Sud Africain portant une alanine en position 226 de la protéine d'enveloppe E1 introduit à

La Réunion en 2004-2005 (E1-226A), et (2) le virus ayant émergé en 2006 portant une valine en position 226 (E1-226V). La compétence vectorielle a été évaluée en réalisant des infections expérimentales puis détection du virus par immunofluorescence indirecte sur squash de tête et/ou RT-PCR., selon un protocole classique, en laboratoire P3 à l'Institut Pasteur. L'impact de l'infection virale sur des traits de vie d'*Ae. albopictus* a été également évalué. La transmission verticale expérimentale a été étudiée en réalisant des recherches de virus chez la descendance de femelles d'*Ae. albopictus* infectées. Des co-infections CHIK-DEN ont été réalisées afin d'estimer si un même vecteur pouvait transmettre simultanément les deux virus et s'il existe une éventuelle compétition entre virus.

Des modèles mathématiques de types SEIR ont été développés à des échelles « locale », au niveau du village ou du quartier, et « régionale », au niveau de l'île. Ces modèles prennent en compte les variables des populations de vecteurs obtenues dans les autres volets du programme (dynamique larvaire, taux de fécondité, durée du cycle de développement, température de développement, compétence vectorielle, taux de transmission, etc.). La dynamique des populations et la dispersion des vecteurs ont été modélisées selon différentes approches, stochastiques ou déterministes.

Principaux résultats scientifiques

Contrairement à *Ae. aegypti* qui est présent dans de très rares sites à la Réunion, *Ae. albopictus* est très abondant dans tous les biotopes à une altitude inférieure à 1200 m. Les femelles pondent des œufs dans des gîtes aussi variés que les creux de rochers et les trous d'arbres, les tiges de bambous coupées, et dans des environnements anthropisés à l'aisselle de feuilles de plantes dans les jardins, dans des soucoupes sous les pots de fleurs, dans des bidons, dans les vases de fleurs dans les cimetières, dans des pneus abandonnés, etc. [2] (figure 1).



Figure 1 : types de gîtes de développement larvaire d'*Aedes albopictus* à la Réunion

Des études expérimentales ont montré que la température de développement optimale des larves se situe entre 20°C et 35°C, avec un optimum à 30°C et un minimum théorique de 10,4°C. Entre 20°C et 30°C, la durée de développement larvaire varie entre 8,8 et 15 jours et la survie est supérieure à 70%. Les femelles adultes montrent un pic d'agressivité en début et en fin de journée.

Elles piquent préférentiellement à l'extérieur, mais sont capable de se gorger dans les maisons. Au laboratoire, la survie des adultes, mâles et femelles, est longue et dépend de la température : la moitié des femelles survivent 32 jours à 30°C, et 29 j. à 25°C [4] (figure 2).

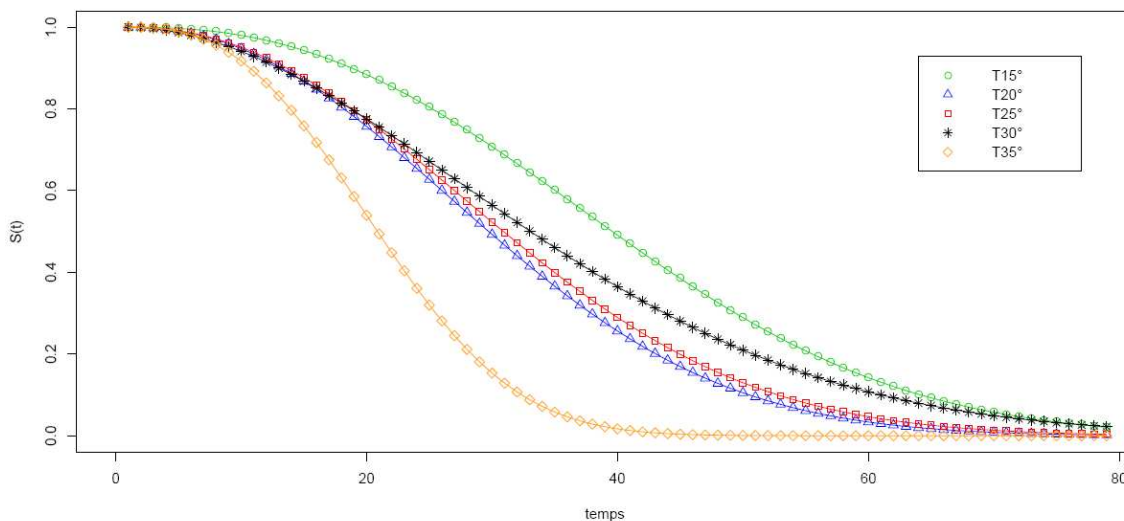


Figure 2 : Taux de survie des femelles d'*Aedes albopictus* à des températures de 15, 20, 25, 30 et 35°C (modèle de Weibull)

La fécondité est également particulièrement élevée à des températures entre 25 et 30°C avec respectivement 65 et 74 œufs par ponte tous les 3 à 4 jours [4]. Des études de lâcher-recaptures ont montré que les femelles se dispersaient peu en milieu urbain, en particulier en saison sèche, avec des distances inférieures à 80 m. [9,10]. A la Réunion *Ae. albopictus* est majoritairement anthropophile. Des expériences de préférences trophiques démontrent que si les femelles mises à jeuner étaient capables de se nourrir sur une grande variété de vertébrés, y compris des oiseaux et reptiles, des tests de choix montrent que cette espèce préfère l'homme par rapport au bœuf, au chien, au poulet et à la chèvre, vertébrés tous présents à la Réunion [5] (figure 3).

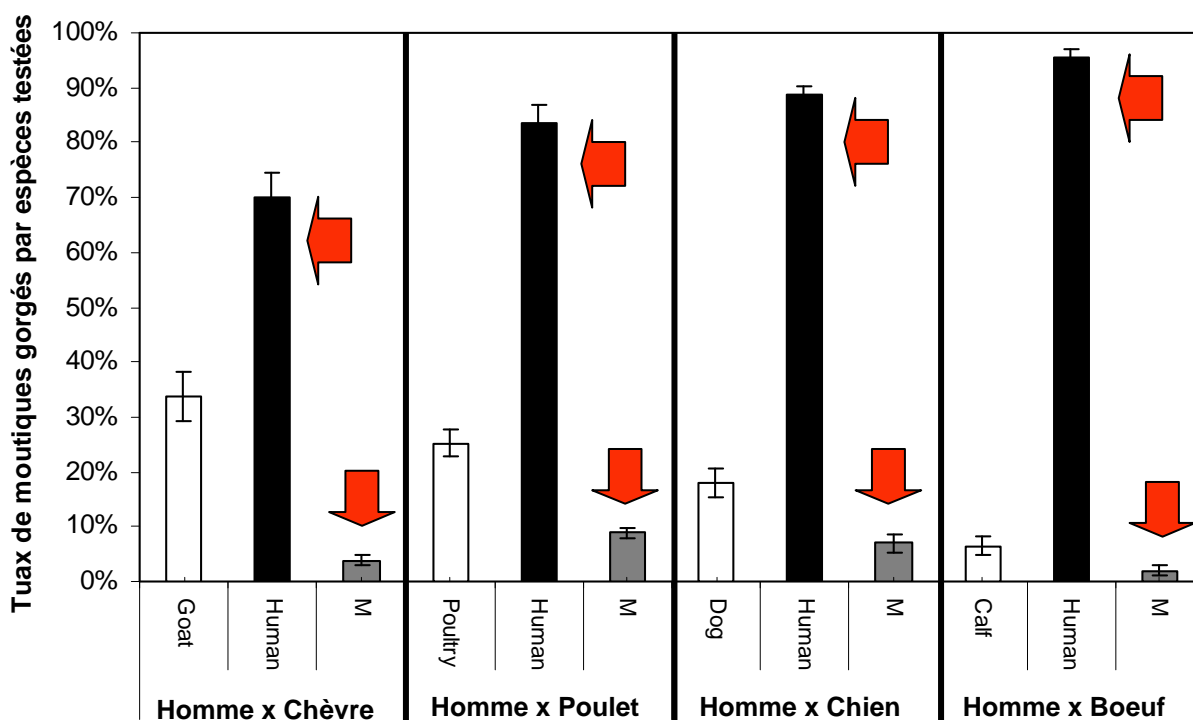


Figure 3 : test de choix d'hôte pour les préférences alimentaires des femelles d'*Aedes albopictus*

L'installation d'*Ae. albopictus* dans les îles du SOOI remonte à plusieurs siècles. Cette espèce a tiré profit des épisodes migratoires de populations humaines en provenance d'Asie du sud-est. Cependant, Mayotte et la côte ouest de Madagascar ont été colonisées seulement dans les années 1990 par ce vecteur. Ces observations suggèrent plusieurs vagues d'invasion, une population mieux adaptée aux nouvelles conditions environnementales remplaçant la précédente, ou colonisant de nouveaux territoires. Nos données de phylogéographie, par des analyses de séquences d'ADN mitochondrial CO1, semblent étayer cette hypothèse. Cette nouvelle vague de colonisation dans le SOOI se fait également au dépend d'un autre vecteur, *Ae. aegypti*, dont les populations sont actuellement en régression en raison de la compétition défavorable avec *Ae. albopictus* [1]. Cette expansion d'*Ae. albopictus* a des conséquences épidémiologiques importantes. Comme observé à la Réunion en 2005 et 2006, *Ae. albopictus* est un excellent vecteur du virus Chikungunya, dont des génotypes adaptés à ce moustique ont été sélectionnés. *Aedes albopictus* a, en particulier, permis la sélection d'un nouveau variant E1-226V permettant une meilleure dissémination du virus chez le moustique avec des taux supérieurs à 90%, quelles que soient les populations de la Réunion et de Mayotte [11,13] (Figure 4). Par ailleurs, il a été observé, au laboratoire, que le variant E1-226V pouvait être présent dans les glandes salivaires dès le 2^{ème} jour après infection et que des co-infections CHIKV/DENV étaient possibles [6,15]. En revanche, la transmission verticale du virus CHIK de la femelle d'*Ae. albopictus* à sa descendance, qui avait été suspectée suite à l'étude de prélèvements de larves sur le terrain pendant l'épidémie de 2006, n'a pas pu être démontrée en laboratoire [14]. Par ailleurs, *Ae. albopictus* une fois infecté mourrait en moyenne 8 jours plus tôt que les femelles non infectées. Cet effet de l'infection sur la survie témoigne certainement qu'une mauvaise adaptation entre le nouveau variant E1-226V et le nouveau vecteur [11].

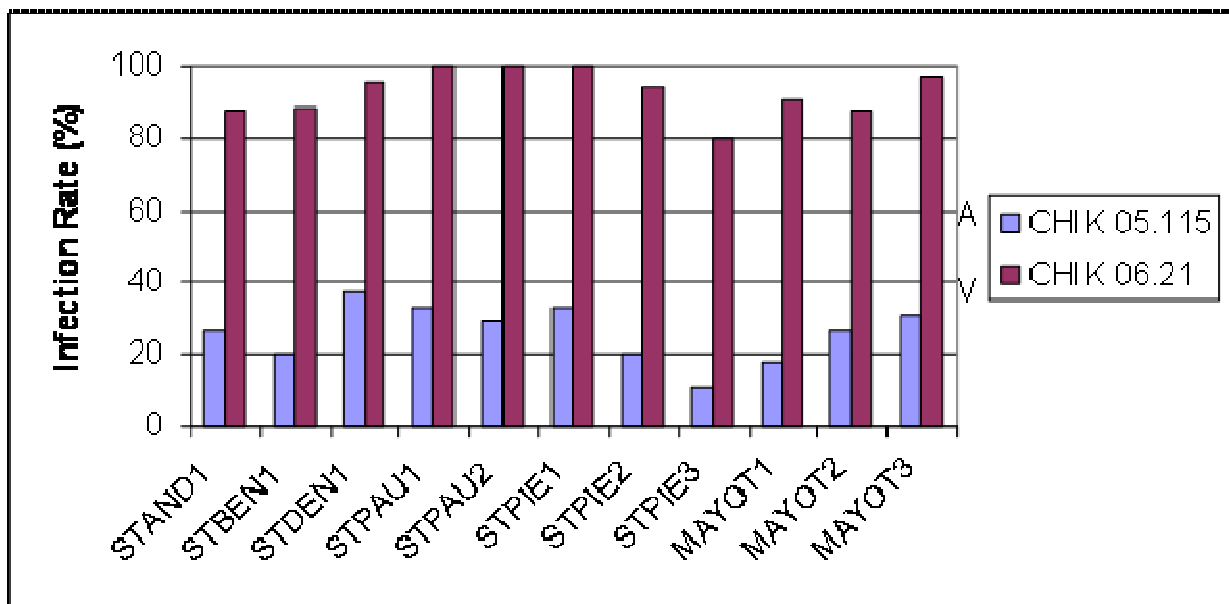


Figure 4 : taux d'infection de différentes colonies d'*Aedes albopictus* de la Réunion et de Mayotte, vis-à-vis de deux souches du virus Chikungunya

Un modèle mathématique a été développé et étudié [7], ce qui a permis d'obtenir le taux de reproduction de base (R_0). A l'aide des données biologiques obtenues, des simulations numériques ont été réalisées afin de comprendre l'évolution du nombre de personnes infectées en 2005 et 2006, d'estimer le taux de reproduction de base (R_0) du virus dans différents environnements réunionnais, et, de manière plus opérationnelle, d'estimer l'efficacité de la lutte antivectorielle par des méthodes insecticide classiques [8]. Les simulations ont très bien rendu compte de l'hétérogénéité spatiale de la transmission du virus et du rôle fondamental de la sélection du

variant E1-226V dans l'augmentation du taux de reproduction de base (R_0) du virus en 2006. Le modèle montre également qu'une lutte par destruction de gîtes larvaires, même incomplète, permet de diminuer la transmission vectorielle, et que cette lutte est d'autant plus efficace qu'elle est réalisée régulièrement et couplée à d'autres méthodes [8].

Les faits marquants, les retombées prévisibles et les perspectives de valorisation

Les participants à ce projet ANR SEST considèrent que cette étude a été un succès, non seulement parce qu'elle a permis la publication de plus de 15 articles dans des revues internationales, la présentation de plus de 20 communications, dont de nombreuses conférences invitées, et la formation de plusieurs étudiants (2 thèses, 3 masters) mais aussi par son côté interdisciplinaire structurant. Ce projet a réuni entomologistes, généticiens, virologistes, mathématiciens, opérateurs et décideurs de santé publique, et a collaboré avec des projets ANR parallèles en sciences vétérinaires (AnimalCHIK), en sciences humaines et sociales (Anthropo-MTV) et en écologie bactérienne (ChikVendoM).

Le projet entomoCHIK a apporté des connaissances essentielles à la compréhension de l'épidémie de Chikungunya dans l'Océan Indien, et le modèle « générique » développé, dont la valeur des paramètres a été obtenue par le projet, rend bien compte de la dynamique des cas dans différentes villes de la Réunion. Ce modèle a été appliqué à la lutte antivectorielle en collaboration avec le service de lutte antivectorielle de l'ARS Océan Indien et peut être un outil d'aide à la décision. Le modèle permet de quantifier l'effort de contrôle à réaliser sur les stades larvaires et adultes des vecteurs en fonction de la force d'infection et du bénéfice épidémiologique espéré.

Par ailleurs, les connaissances obtenues sur la biologie des vecteurs ont pu être réinvesties pour l'évaluation du risque de survenue de foyers de dengue et de Chikungunya dans le sud de la France métropolitaine, où *Ae. albopictus* est en expansion.

Une retombée majeure du projet EntomoCHIK a été l'initiation d'un programme de recherche interdisciplinaire sur l'évaluation de la technique TIS (Technique de l'insecte stérile) comme stratégie de lutte antivectorielle alternative aux méthodes actuelles. Se basant sur les résultats du projet entomoCHIK, un projet a été proposé au ministère de la Santé et au Conseil Régional de l'île de la Réunion. Pour le moment, seul le ministère de la Santé finance cette étude avec le soutien de l'IRD, du Cirad, de l'Université de la Réunion, de l'ARS Océan Indien, et de l'AIEA (Agence Internationale de l'Energie Atomique).

Principales publications obtenues

1. Bagny L, Delatte H, Quilici S, Fontenille D. 2009. Progressive decrease in *Aedes aegypti* distribution in Reunion Island since the 1900s J Med Entomol. 2009 Nov;46(6):1541-5
2. Delatte H, Dehecq J, Thiria J, Domerg C, Paupy C, Fontenille D, 2008. Geographic distribution and developmental sites of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) during a Chikungunya epidemic event. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 8(1):25-34.
3. Delatte H, Paupy C, Dehecq J, Thiria J, Failloux AB, Fontenille D 2008. *Aedes albopictus*, vecteur de Chikungunya et Dengue à La Réunion: biologie et contrôle, Parasite, 15 : 3-13.
4. Delatte H., Gimonneau G., Triboire A. et Fontenille D .2009. Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. Journal of Medical Entomology, 46 (1) : 33-41
5. Delatte, H, Desvars, A, Bouétard, A, Bord, S, Gimonneau, G, Vourc'h G, Fontenille D, 2009. Blood feeding behaviour of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya on La Reunion. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, in press. Jul 9. [Epub ahead of print]
6. Dubrulle M., Mousson L., Moutailler S., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2009. Chikungunya virus and *Aedes* mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. PLoS One. 2009 Jun 12;4(6):e5895
7. Dumont Y., Chiroleu F. et Domerg C. 2008. On a temporal model for the Chikungunya disease: modelling, theory and numerics, Mathematical Biosciences, 213(1):80-91
8. Dumont Y. and Chiroleu F. 2010. Vector Control for the Chikungunya Disease. Mathematical Biosciences and Engineering, 7(2):315-345;
9. Lacroix R, Delatte H, Hue T, Dehecq, JS, Reiter P. 2009. Adaptation of the BG-Sentinel trap to capture male and female *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), Med Vet Ent, 2009, 23 (2), p. 160-162.
10. Lacroix R, Delatte H, Hue T, Reiter P. 2009. Dispersal, and survival and population size of male and female *Aedes albopictus* on Réunion Island., J Med Ent, Sep;46(5):1117-24
11. Martin E., Moutailler S., Madec Y. and Failloux A.-B. 2010. Differential responses of the mosquito *Aedes albopictus* from the Indian Ocean region to two chikungunya isolates. BMC Ecology. 12;10:8.
12. Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. Microbes Infect. 2009 Dec;11(14-15):1177-85..
13. Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, Thiria J, Dehecq J, Fontenille D, Schuffenecker I, Despres P, Failloux A, 2008. Two Chikungunya Isolates from the Outbreak of La Reunion (Indian Ocean) Exhibit Different Patterns of Infection in the Mosquito, *Aedes albopictus*. PLoS One, 2, 11 : e1168
14. Vazeille M., Mousson L. and A.-B. Failloux. 2009. Failure to demonstrate experimental vertical transmission of the epidemic strain of Chikungunya virus in *Aedes albopictus* from La Réunion Island, Indian Ocean. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009 Jul;104(4):632-5
15. Vazeille M., Mousson L., Martin E. and Failloux A.-B. 2010. Orally Co-infected *Aedes albopictus* from La Reunion Island, Indian Ocean, can deliver both dengue and chikungunya infectious viral particles in their saliva. PLoS Neglected Tropical Diseases : 4(6):e706.