

Année Universitaire 2017 - 2018

MÉMOIRE

Pour l'obtention du Diplôme de Master International en
Entomologie Médicale et Vétérinaire

Numéro d'Ordre
007 / 2018

Présenté par

Melle LAROCHE Lison

**ÉVALUATION AU LABORATOIRE DES EFFETS
DU PYRIPROXYFÈNE SUR *GLOSSINA PALPALIS*
GAMBIENSIS EN VUE DE SON UTILISATION
DANS LE CADRE DE L'APPROCHE « BOOSTED
SIT »**

Soutenu publiquement
le 13 ou 14 Juin 2018

Composition du Jury

M. KADJO Kouamé Alphonse – Professeur Titulaire – Président – UAO

M. YAPI Yapi Grégoire MC – Maître de Recherche – Directeur de Mémoire – UAO

Mme RAVEL Sophie – Chargée de Recherche – Encadreur Technique - IRD

M. RAYAISSE Jean-Baptiste – Maître de Recherche, HDR – Rapporteur – CIRDES

AVANT-PROPOS

Je tiens en premier lieu à remercier Sophie RAVEL, chercheur à l'UMR 177 IRD-CIRAD Intertryp, pour m'avoir encadrée et conseillée tout au long de mon stage jusqu'à la rédaction de ce mémoire de master et appris à manipuler les glossines. Merci également de m'avoir permis de rencontrer toute l'équipe très accueillante d'Intertryp.

Un grand merci à Thierry BALDET, chercheur entomologiste médical à l'UMR ASTRE au CIRAD, sans qui je n'aurais pu réaliser le parcours que j'ai effectué, de mon premier stage de master au second en passant par la formation du MIE. Merci de m'avoir conseillée, guidée et aidée à obtenir ce que je souhaitais réaliser. Je te remercie du temps que tu as pris pour moi, de ton dynamisme et ta bonne humeur qui m'ont motivée tout au long de mes travaux.

Merci également à Jérémy BOUYER, directeur de recherches et vétérinaire entomologiste à l'UMR ASTRE au CIRAD, de m'avoir accueillie dans l'équipe du projet ERC REVOLINC deux années de suite et également de m'avoir permis de partir suivre la formation du MIE en Côte d'Ivoire et au Burkina Faso. Je te remercie de m'avoir transmis cette passion pour les glossines.

Pour toute l'aide et le soutien physique et moral tout au long de la formation intense du MIE, je tiens à remercier Florence FOURNET, coordinatrice du MIE et chercheur en entomologie médicale au sein de l'UMR MIVEGEC à l'IRD.

J'adresse également toute ma gratitude au personnel du CEMV, Monsieur le directeur, Professeur KADJO Kouamé Alphonse ; Monsieur le directeur adjoint et chef du département de formation et des stages, Docteur YAPI Yapi Grégoire ; Monsieur le chef du département de la recherche, Docteur TIA Emmanuel ; ainsi que toute l'équipe du CEMV qui a accepté ma candidature à ce master très enrichissant.

Je remercie Docteur RAYAISSE Jean-Baptiste, Maître de Recherche en entomologie médicale et vétérinaire et HDR au CIRDES, de s'être acquitté de la délicate tâche de rapporteur sur mon étude. Merci infiniment pour les conseils et corrections que vous m'avez apportés afin de rédiger mon mémoire.

Au-delà de ce stage, je souhaite remercier l'ensemble des professeurs, docteurs et encadrants du MIE, qui m'ont transmis un grand nombre de connaissances en entomologie médicale et vétérinaire. Je suis reconnaissante envers les doctorants, ingénieurs et techniciens qui sont intervenus dans la formation du MIE et qui m'ont beaucoup appris au laboratoire et sur le terrain.

Aussi je souhaite remercier Renaud LANCELOT, directeur adjoint à l'UMR ASTRE du CIRAD et vétérinaire épidémiologiste, pour son aide précieuse en analyses de données statistiques. Merci pour avoir pris le temps de m'expliquer et de me guider dans mes analyses de résultats.

J'adresse mes plus sincères remerciements à toute l'équipe du Vectopôle de l'IRD, équipe très accueillante et dynamique, avec qui travailler tous les jours était un plaisir. Un clin d'œil à Marie, Nini, Beths, David, Louis et Margaux, toujours très enthousiastes au laboratoire.

Je n'oublie évidemment pas mes collègues de master, avec qui j'ai suivi toute la formation du MIE au CEMV de Bouaké ; Oussou, Drigo, Edwige, Zamblé, Kadi, Jacques, Karifa et Dansy, merci de m'avoir intégrée parmi vous et merci à chacun de m'avoir fait découvrir votre pays et votre culture, ce fut une aventure très enrichissante.

Enfin, je tiens à remercier mes chers collègues de bureau à l'IRD et amis, Emmanuelle, Max, Charlotte, Roxanne, Léopaul, Justine, Marie, Fanni et bien d'autres. Votre convivialité, votre motivation, votre empathie, inaltérables, m'ont beaucoup aidée dans les moments les plus compliqués du stage.

SOMMAIRE

Liste des abréviations et sigles	V
Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	VII
Liste des annexes	VII
Introduction.....	1
Généralités	3
1. Matériel et méthodes.....	8
1.1 Matériel biologique.....	8
1.2 Matériel technique.....	9
1.3 Protocole expérimental	13
1.3.1 Test de calibrage	13
1.3.2 Tests expérimentaux.....	13
1.3.2.1 Impact sur la survie des glossines et rémanence du pyriproxyfène.....	13
1.3.2.2 Transfert du pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle.....	14
1.3.2.3 Impact du pyriproxyfène sur la fécondité des femelles.....	15
1.3.3 Analyses statistiques	17
2. Résultats.....	18
2.1 Test de calibrage	18
2.1.1 Survie des mâles stériles	18
2.1.2 Rémanence du pyriproxyfène sur les mâles stériles	18
2.2 Tests expérimentaux.....	20
2.2.1 Impact sur la survie et rémanence du pyriproxyfène	20
2.2.1.1 Survie des mâles stériles traités.....	20
2.2.1.2 Rémanence du pyriproxyfène.....	20
2.2.2 Transfert du pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle	22
2.2.2.1 Quantité de pyriproxyfène transférée lors de l'accouplement.....	22
2.2.2.2 Quantité de PP transférée en fonction de la durée d'accouplement	24

2.2.2.3	Quantité de pyriproxifène transférée lors d'un simple contact.....	24
2.2.3	Impact du pyriproxifène sur la fécondité des femelles	26
2.2.3.1	Taux de survie des femelles	26
2.2.3.2	Fécondité des femelles	26
3.	Discussion	28
	Calibrage du traitement au pyriproxifène	28
	Taux de survie des glossines traitées et rémanence du pyriproxifène	29
	Transfert du pyriproxifène du mâle stérile à la femelle.....	29
	Impact du pyriproxifène sur la fécondité des femelles.....	31
4.	Conclusion	32

RÉSUMÉ

Liste des abréviations et sigles

AIEA	Agence Internationale de l'Énergie Atomique
CIRAD	Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CIRDES	Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide
ERC	<i>European Research Council</i> (Conseil européen de la recherche)
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Chromatographie liquide à haute performance)
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
MIE	Master International en Entomologie
MIVEGEC	Maladie Infectieuses et Vecteurs : Écologie, Génétique, Évolution et Contrôle
MTN	Maladies Tropicales Négligées
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PP	Pyriproxyfène
REVOLINC	<i>Revolutionizing Insect Control</i> (Révolution du contrôle des insectes)
TAA	Trypanosomose Animale Africaine
THA	Trypanosomose Humaine Africaine
TIS	Technique de l'Insecte Stérile (<i>SIT : Sterile Insect Technique</i>)

Liste des figures

- Figure 1** : Stockage en étuve des lots de glossines en cage Roubaud. En haut les glossines non traitées, en bas les glossines traitées à la poudre F15+PP..... 10
- Figure 2** : Système d'alimentation des glossines. (A) Cages Roubaud contenant les glossines déposées sur (B) la plaque contenant le sang de mouton et la membrane en silicone. (C) Glossine gorgée de sang..... 10
- Figure 3** : Imprégnation des glossines avec la poudre F15+PP (40%). (A) Pesée de 35mg de poudre à la balance de précision. (B) Mâles stériles endormis roulés dans la poudre F15+PP fluorescente..... 12
- Figure 4** : Extraction du PP (ma) sous une hotte chimique avec une solution d'hexane-fénoxy-carbe pour un dosage ultérieur par HPLC..... 12
- Figure 5** : Survie des mâles stériles non traités (lot 1), traités avec 35 mg de poudre sans PP (lot 2) et traités avec différentes quantités de poudre contenant 40% de PP (lots 3, 4, 5)..... 19
- Figure 6** : Rémanence du PP (ma) sur les mâles stériles traités à différentes doses de poudre F15+PP, à J0 (immédiatement après imprégnation) et à J15 (15 jours après imprégnation) pour n = 10 glossines / temps..... 19
- Figure 7** : Survie des mâles stériles témoins (lot 1), traités avec 35 mg de poudre F15 sans PP (lot 2) et traités avec 35 mg de poudre contenant 40% de PP (lots 3 à 7)..... 21
- Figure 8** : Rémanence du PP sur les mâles stériles de *G. p. gambiensis* traités avec 35 mg de F15+PP (40%), au cours du temps, pour n = 10 glossines / temps..... 21
- Figure 9** : Quantités moyennes de PP (ma) présentes sur les mâles stériles traités non accouplés des lot 2 et 3, 3h et 24h après imprégnation (n=5 glossines / temps)..... 23
- Figure 10** : Quantité de PP (ma) transférée aux femelles lors de l'accouplement avec un mâle stérile traité (3h et 24h auparavant) en fonction de la durée de l'accouplement..... 25
- Figure 11** : Quantité de pyriproxifène par femelle déjà inséminée en fonction du nombre de contacts sans accouplement ou de la durée de l'accouplement..... 25
- Figure 12** : Taux de survie des femelles de *G. p. gambiensis* accouplées avec des mâles de différentes catégories (fertiles, stériles, stériles traités au PP) à J0. En bleu les courbes de survie des femelles accouplées à des mâles stériles traités au PP..... 27
- Figure 13** : Nombre de pupes de *G. p. gambiensis* par femelle initiale produites pendant 45 jours par des femelles accouplées à des mâles fertiles, stériles et/ou stériles traités au PP..... 27

Liste des tableaux

Tableau I : Différentes associations de couples de femelles et de mâles de *G. p. gambiensis* et leurs effectifs par lot.....16

Tableau II : Quantité moyenne de PP (ma) présente sur les mâles stériles traités des lots 2 et 3, 3h et 24h après imprégnation, avant et après accouplement (ϕ^7) et sur les femelles en fin d'accouplement.....23

Liste des annexes

Annexe A : Cycle de développement d'une glossine. (Inspiré de J. Janelle, 2004. Source photographie : J. Janelle CIRAD ; B. Tchicaya CIRAD.

Annexe B : Quantité de PP (ma) reçue par femelle après différents nombres de contacts sans accouplement avec un mâle stérile traité 3h avant.

Annexe C : Représentation des forces attractives entre le pyriproxifène de la formulation F15+PP et la glossine lors de l'imprégnation. (Inspiré de Bouyer J., 2017).

Introduction

La glossine est le vecteur principal du parasite responsable des trypanosomoses (Junichi *et al.*, 2014). Sur le continent africain, cet insecte joue un rôle dans la transmission de la trypanosomose humaine africaine (THA), ou maladie du sommeil, et de la trypanosomose animale africaine (TAA) également nommée Nagana. Le parasite, de la famille des Trypanosomatidae, est transmis biologiquement par les glossines mais peut également être transmis mécaniquement par d'autres insectes piqueurs comme les tabanides (Desquesnes *et al.*, 2009). C'est un protozoaire flagellé sanguicole exoerythrocytaire vivant dans le sang, la lymphe ou le liquide céphalo-rachidien de son hôte (Zinga Koumba *et al.*, 2018). Pour être transmis, le trypanosome doit être ingéré par une glossine lors d'un repas sanguin chez un hôte vertébré infecté et s'être développé dans l'organisme de l'insecte vecteur (Solano, 1998). Après avoir pris sa forme infectante l'agent, pathogène peut être transmis à un autre hôte lorsque la glossine piquera de nouveau (Magez et Radwanska, 2009). Par ailleurs, les maladies provoquées par les Trypanosomatidae appartiennent au groupe des maladies tropicales négligées (MTN), sévissant dans les zones de pauvreté extrême (Jannin *et al.*, 2003). Les pays d'Afrique subsaharienne subissent un impact considérable des MTN sur la santé publique et le développement économique (Zinga Koumba *et al.*, 2018).

La THA entraîne des impacts considérables en matière de morbidité et mortalité dans les populations humaines d'Afrique subsaharienne. Les populations les plus touchées par la THA et donc les plus exposées aux piqûres de glossines, sont les populations rurales qui dépendent de l'agriculture, de la pêche ou de la chasse (OMS, 2017). *Glossina palpalis gambiense* est le vecteur majeur de cette maladie et est responsable de la persistance de bon nombre de foyers résiduels en zone de forêt et de savane (Solano *et al.*, 2010). Responsable d'au moins 97% des cas de THA, *Trypanosoma brucei gambiense* est le parasite le plus virulent (responsable de la forme chronique) dans 24 pays d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale. Dans moins de 3% des cas, c'est *Trypanosoma brucei rhodesiense*, présent en Afrique orientale et australe, qui est responsable de la forme aiguë de la THA (Fevre *et al.*, 2008). Les premières épidémies de THA ont eu lieu dans les années 1890 en Ouganda et dans le bassin du Congo. Au cours du XXème siècle, d'autres pays d'Afrique ont ensuite été touchés par de grandes épidémies causant plusieurs centaines de milliers de morts. En 2015 moins de 3000 cas de THA ont été recensés en Afrique (Büsher *et al.*, 2017). Cette forte diminution est le résultat d'un important travail de lutte antivectorielle réalisé depuis les années 1920, mais également du diagnostic, de l'isolement et du traitement des malades (OMS, 2015). Cependant, il n'existe

encore aucun vaccin contre la THA et les traitements curatifs sont rares, coûteux et difficiles d'accès pour les populations vulnérables exposées (Duvallet *et al.*, 2017).

En Afrique, la TAA a un impact considérable sur le développement socioéconomique des zones rurales touchées. Elle est présente dans tous les pays africains où vivent les glossines vectrices, telles que les glossines des groupes *morsitans* et *palpalis* (Dyer *et al.*, 2008). En affectant des espèces domestiques (bovins, caprins, ovins et porcins), la Nagana freine la production animale et restreint la disponibilité d'un grand nombre de ressources alimentaires (Solano, 1998; Touré et Mortelmans, 1990). Les trypanosomes responsables sont pour la plupart du groupe *Vivax* et du groupe *Congolense* (Awukew *et al.*, 2017). Malgré les millions de doses de trypanocides administrées, près de 3 millions de têtes de bétail meurent chaque année de la TAA. Les pertes agricoles annuelles directes et indirectes, imputées à cette maladie, sont estimées à plus de 4 milliards de dollars US (Duvallet *et al.*, 2017). De plus, beaucoup de bovidés sauvages infectés par les trypanosomes ne souffrent pas de maladie clinique grave et deviennent ainsi un important réservoir d'infection. La présence de glossines sur le territoire africain condamne l'accès à des millions de kilomètres carrés de terres fertiles et riches en ressources (Murray et Gray, 1984).

Ainsi, pour limiter l'impact des trypanosomoses en Afrique il est nécessaire d'interrompre le cycle de transmission des trypanosomes en réduisant le contact « hôte-vecteur ». Le contrôle des populations de glossines vectrices est donc primordial.

Notre étude s'inscrit dans le cadre du projet REVOLINC, visant à renforcer (« booster ») une méthode de lutte antivectorielle basée sur la technique de l'insecte stérile pour une potentielle application sur trois modèles d'insectes : la mouche du fruit (*Ceratitidis capitata*) dans le domaine de l'agriculture, le moustique (*Aedes albopictus*) dans le domaine de la santé publique et la glossine (*Glossina palpalis gambiensis*) dans le domaine de la santé publique humaine et animale. Nous nous sommes concentrés sur l'étude au laboratoire du vecteur principal de trypanosomes en Afrique, la glossine.

Généralités

La glossine, ou mouche tsé-tsé, est un insecte de la famille des Glossinidae et du genre *Glossina*. Ce diptère brachycère cyclorraphe vit exclusivement sur le continent africain dans différents écotypes allant du sud du Sahara jusqu'au nord de l'Afrique du Sud (Itard, 1986). Les glossines occupent une superficie de près de dix millions de kilomètres carrés, s'étendant de part et d'autre de l'équateur (Troncy *et al.*, 1981). Elles sont limitées dans leur distribution par des températures trop hautes au nord et trop basses au sud de l'Afrique, mais également par un déficit hygrométrique important (Solano, 1998). En fonction de leur habitat, on retrouve des espèces de glossines forestières, savanicoles et riveraines. L'écoclimat normal des glossines est celui des zones tropicales boisées avec plus de 600mm de pluie par an. Pour les espèces de rivière et de forêt, l'optimum hygrométrique est de 65 à 85% d'humidité et l'optimum thermique se situe autour de 25°C (Duvallet *et al.*, 2017). Les glossines sont divisées en trois sous-genres sur la base de critères morphologiques et écologiques : *Nemorhina* (groupe *palpalis*), *Glossina* (groupe *morsitans*) et *Austenina* (groupe *fusca*). Les groupes *palpalis* et *morsitans* sont constitués de glossines riveraines et savanicoles respectivement. On compte aujourd'hui 31 espèces et sous-espèces du genre *Glossina*, parmi lesquelles la sous-espèce *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank (1949), du groupe *palpalis*, est notre modèle d'étude. Cette dernière est une glossine riveraine que l'on retrouve dans des habitats constitués de forêts humides, mares, mangroves ou de végétations riveraines de cours d'eau en zone de savane d'Afrique de l'Ouest (Touré, 1974). Il existe également des populations péri-domestiques de *G. p. gambiensis* qui colonisent des habitats anthropisés tels que les vergers ou les plantations de caféiers, cacaoyers, manguiers, bananiers (Dagogno *et al.*, 1985).

Chez toutes les espèces du genre *Glossina*, les deux sexes sont hématoiphages, contrairement à d'autres vecteurs comme les moustiques chez lesquels seule la femelle réalise un repas de sang. L'alimentation sanguine permet aux glossines d'acquérir les ressources énergétiques nécessaires à leur survie et à leur reproduction (Kabayo et Langley, 1985). L'adaptation des pièces buccales à la piqûre est une des caractéristiques des glossines (Cuisance, 1995). Leur proboscis est composé de trois pièces impaires : le labre, l'hypopharynx et le labium, et d'une paire de palpes maxillaires. Lors d'un repas sanguin, la glossine ne fait pénétrer dans le tégument du vertébré que son labre et son hypopharynx (Duvallet *et al.*, 2017). En laboratoire, les glossines peuvent se nourrir avec du sang de mouton ou de bœuf par exemple, à une température proche de la température corporelle de leurs hôtes ($\approx 37^\circ\text{C}$), à travers une membrane dont les caractéristiques physiques rappellent celles du tissu cutané

(Pagot *et al.*, 1973). Par ailleurs, c'est au cours du comportement d'alimentation que cet insecte vecteur peut prélever des trypanosomes (Solano, 1998).

Chez les glossines, un dimorphisme sexuel permet de séparer les mâles des femelles à l'œil nu. D'une part, le mâle est de plus petite taille que la femelle, d'autre part ce dernier possède une paire d'hecters situés sous l'abdomen au niveau du 5^{ème} sternite : ces structures ont un rôle dans la fixation de la femelle lors de l'accouplement (Cuisance, 1995; Sané *et al.*, 2000). La femelle n'en possède pas, en revanche les femelles pares présentent deux petites callosités copulatrices sur la face ventrale (Challier, 1968).

Une des caractéristiques principales des glossines est leur mode de reproduction proche de celui des mammifères : la femelle a un appareil reproducteur adapté à la viviparité adénotrophique (Cuisance, 1995). Elle permet le développement complet de la larve dans son utérus en la nourrissant à l'aide de sécrétions des glandes lactifères (Itard *et al.*, 2003). L'appareil génital de la femelle est composé de deux ovaires dissymétriques, d'une paire de spermathèques positionnées à l'extrémité d'un canal et d'un utérus extensible recouvert par les glandes lactifères (Cuisance, 1995). La première ovulation de la femelle se produit quelques jours après l'accouplement. Trois jours après la fécondation et la prise d'un repas de sang par la femelle, l'œuf embryonné donne une larve de premier stade. Cette dernière va se transformer en larve de stade II en 1,5 jours, de couleur transparente avec l'apparition de structures respiratoires de couleur claire : les lobes polypneustiques. Trois jours après, la femelle accouche d'une larve de stade III, mobile, de couleur blanche avec les lobes polypneustiques de couleur foncée. Après sa première larve formée une vingtaine de jours après l'accouplement, la femelle produira en moyenne une pupa tous les dix jours au cours de sa vie. La larve une fois expulsée de la femelle, s'enfouit dans le sol pour éviter la dessiccation et échapper aux prédateurs (Itard, 1983). À environ 8cm de profondeur, la larve va s'immobiliser et réaliser une dernière mue la transformant en pupa (Itard *et al.*, 2003). En effet, les glossines font partie du groupe biologique des insectes pupipares (Glasgow, 1961). En fonction des conditions climatiques du milieu extérieur et de l'espèce, la pupaison dure entre 20 et 80 jours, et en moyenne 30 jours à 25°C et 80% d'humidité au laboratoire (Itard, 1970). L'imago émerge en perforant le puparium de façon circulaire (insecte cyclorraphe) à l'aide des contractions du ptilinium, organe situé à l'avant de sa tête (Jobling, 1933). Les femelles émergent plus tôt que les mâles (Gruvel, 1975). Le cycle est très long (Annexe A), ce qui rend l'élevage de cet insecte assez complexe (Itard et Bauer, 1984). Par la suite, ces jeunes mouches ténérales vont chercher à se reproduire. En principe, les femelles s'accouplent 3-4 jours après leur émergence et les mâles sont matures sexuellement à l'âge de 6-7 jours (Abila *et al.*, 2003). Généralement, les femelles ne

s'accouplent qu'une fois dans leur vie, cependant certains mâles continuent à harceler les femelles déjà inséminées (Itard, 1986). Ce comportement de harcèlement a un impact sur la survie des mâles mais également sur celle des femelles (Langley et Clutton-Brock, 1997). L'insémination des femelles glossines se fait plus aisément après la prise du premier repas de sang (Challier, 1968). Sur une durée de vie moyenne de 100 à 150 jours en laboratoire, une femelle fertile donnera entre 8 et 13 larves. Or dans la nature, où sa vie est beaucoup plus courte, la femelle n'engendrera que 5 à 7 descendants. Ainsi, le taux de reproduction de cet insecte est très bas (Cuisance, 1995).

En raison de sa grande compétence vectorielle pour les trypanosomes, la glossine est très préoccupante pour les populations touchées par la TAA et la THA (Geiger *et al.*, 2006). Le premier moyen de contrôle de ce vecteur a été la lutte chimique par épandage d'insecticide, soit en hélicoptère, soit à plus petite échelle en utilisant des pulvérisateurs à dos (Laveissière et Challier, 1979). Cette méthode a considérablement réduit certaines populations de glossines mais a eu un impact négatif sur d'autres espèces non ciblées comme les pollinisateurs (Tasei, 1996). En revanche, aucune résistance aux insecticides n'a été à ce jour mise en évidence chez la glossine. La lutte physique par piégeage, plus respectueuse de l'environnement a montré son intérêt notamment contre les populations de glossines riveraines (Rayaisse, 2011). En outre, l'imprégnation du tissu constituant les pièges de couleur bleue, teinte attractive pour la glossine, avec des insecticides rémanents tels que les pyréthriinoïdes permet d'améliorer l'efficacité de ces outils de contrôle (Laveissière et Couret, 1981; Green, 1986) .

Par ailleurs, la lutte génétique basée sur le lâcher massif de mâles stérilisés par irradiation en laboratoire a montré son intérêt pour contrôler les glossines (Dame et Schmidt, 1970). Cette dernière méthode, appelée Technique de l'Insecte Stérile (TIS), a fait ses preuves en 1994 sur l'île de Zanzibar (Tanzanie) où elle a permis d'éradiquer *Glossina austeni*, espèce vectrice de trypanosomes, ce qui a conduit au développement de l'élevage (Vreysen *et al.*, 2000, 2014). Pour réaliser cette méthode de lutte, des insectes mâles sont stérilisés par irradiation aux rayons gamma en laboratoire puis relâchés dans une population sauvage de glossines, par voie aérienne ou terrestre, en très grande quantité (Langley *et al.*, 1974 ; Cuisance *et al.*, 1984). L'irradiation provoque des mutations aléatoires au niveau des chromosomes sexuels, entraînant la stérilité (Curtis, 1968). Les mâles, ainsi stérilisés, entrent en compétition pour l'accouplement avec leurs homologues sauvages fertiles, ce qui va diminuer la fécondité de la population et aboutir à son effondrement (Cuisance *et al.*, 1978). Une femelle accouplée à un mâle stérilisé aura tendance à expulser l'embryon mort directement après arrêt du développement embryonnaire et blocage des ovaires (Van der Vloedt et Barnor, 1984). La TIS est d'autant plus

efficace que la population sauvage est isolée et est préalablement réduite en densité par piégeage ou écrans imprégnés d'insecticide par exemple (Dame et Schmidt, 1970). Une dizaine de mâles stériles pour un mâle sauvage compenserait la faible compétitivité des mâles stériles comparée aux mâles sauvages (Politzar et Cuisance, 1984). Néanmoins, dans le cadre d'une lutte antivectorielle, le lâcher d'insectes stériles est efficace à condition que les mâles stériles aient une capacité de vol, une survie et une compétitivité relativement similaires à leurs homologues sauvages (Seck *et al.*, 2015).

Toutefois, la TIS se heurte à de nombreuses contraintes techniques et logistiques, notamment lorsqu'il s'agit de traiter des populations de glossines sur de grandes superficies comme en Afrique continentale (Politzar et Cuisance, 1984). C'est pourquoi une nouvelle méthode de contrôle intitulée « Boosted SIT » ou « TIS renforcée » a été proposée. Elle combine la technique de l'insecte stérile et l'auto-dissémination d'un biocide par l'insecte vecteur (Bouyer et Lefrançois, 2014). Le principe de l'auto-dissémination d'un biocide est de permettre le transfert horizontal de ce dernier entre deux insectes de la même espèce, par exemple du mâle à la femelle par le biais de leur accouplement (Wang *et al.*, 2014). Ici le biocide est un analogue de l'hormone juvénile, le pyriproxifène (PP), qui agit en imitant l'action de l'hormone juvénile de l'insecte (Sullivan et Goh, 2008). Le PP permet de bloquer le développement au stade pupal de la glossine, si sa rémanence est supérieure à la durée de pupaison, et de diminuer ainsi la fécondité de la femelle entraînant par la suite une réduction de la population de vecteurs (Langley *et al.*, 1988). Chez le moustique, le PP inhibe jusqu'à 95% le taux d'émergence des pupes (Sihuincha *et al.*, 2005). Ce biocide n'a pas d'effet mutagène ou toxique sur les mammifères aux doses recommandées par l'OMS puisqu'il cible une voie métabolique spécifique aux insectes (OMS, 2009). Le PP n'a pas d'impact sur la survie des glossines traitées (Langley *et al.*, 1990). Il est utilisé contre les insectes nuisibles d'intérêt en santé publique (mouches domestiques, cafards), les insectes ravageurs en agriculture (pucerons, aleurode) et les insectes vecteurs de maladies (moustiques, glossines) (Sullivan et Goh, 2008). De plus, aucune résistance des glossines à ce biocide n'est connue à ce jour.

La méthode « Boosted SIT » consistera à lâcher des glossines mâles stérilisés par irradiation et contaminés par le PP au sein de populations de glossines sauvages. Ainsi, les mâles vont non seulement stériliser les femelles sauvages vierges, mais également les femelles déjà inséminées. En effet, les femelles déjà inséminées qui refusent généralement un autre accouplement, pourraient recevoir du PP au cours de tentatives d'accouplement de la part des mâles (harcèlement).

La technique de contamination des mâles stériles au PP représente un point important de cette nouvelle approche. Des études expérimentales utilisant une formulation liquide F8 contenant 40% de PP ont démontré qu'un transfert de PP s'effectue de l'insecte mâle stérile traité à la femelle lors de l'accouplement chez *Glossina palpalis gambiensis* (Laroche, 2017). Néanmoins la quantité de PP transférée était faible et non compatible avec la quantité pouvant impacter la fécondité de la femelle (Langley *et al.*, 1990). En effet, une dose de 100 ng de PP reçue par le mâle stérile après traitement serait suffisante pour stériliser complètement la femelle glossine avec laquelle il s'accouple si le taux de transfert approche 10%, ce qui correspond à une quantité de 10 ng de PP transférée à la femelle (Langley *et al.*, 1990).

Le traitement des mâles stériles se fera ici par imprégnation de poudre contenant 40% de PP. En effet, le PP présent dans la formulation liquide F8, précédemment citée, est possiblement absorbé à l'intérieur du corps du mâle stérile traité et n'est donc plus disponible pour le transfert à la femelle. Cette absorption du PP de l'ordre de 99% 3 jours après le traitement, a été décrite chez un autre modèle d'insecte, le parasitoïde *Hyposoter didymator* (Schneider *et al.*, 2007). C'est pourquoi, notre choix s'est porté sur une nouvelle formulation en poudre F15 susceptible de mieux fixer le PP à la surface externe du corps du mâle. Nous supposons que le PP est plus facilement transféré à la femelle lors de l'accouplement lorsqu'il est situé sur la partie externe du corps du mâle. De plus, il est possible qu'une quantité de PP, présente sur la femelle, soit déposée sur la larve lors de l'accouchement. Ainsi, le biocide jouerait un rôle dans l'inhibition de l'éclosion de la puppe et de la formation de l'adulte (Ishaaya *et al.*, 1994).

Cette méthode encore jamais testée permettrait de traiter au PP des mâles stériles de glossines au moment de leur lâcher aérien par aéronefs ou par drones (Mubarqui *et al.*, 2014 ; Bouyer, 2018). Le projet a pour objectif final d'éliminer une population isolée de glossines riveraines présente dans les Niayes du Sénégal mais également dans d'autres contextes similaires en Afrique tropicale ou sur de plus grandes échelles. Cette population a été préalablement étudiée afin d'évaluer le risque épidémiologique et de mettre au point les lâchers de mâles stériles sur les glossines sauvages.

Objectif général

Étudier la dynamique de transfert du PP d'un mâle stérile à une femelle *Glossina palpalis gambiensis* lors de l'accouplement et de son impact sur la fécondité des femelles.

Objectifs spécifiques

1. Déterminer la quantité de PP présente sur les mâles stériles à l'issue de l'imprégnation et son impact sur la survie de ces mâles
2. Déterminer la rémanence du PP sur les mâles stériles ainsi que la survie de ces glossines
3. Déterminer la quantité de PP présent sur des femelles vierges et des femelles déjà inséminées après accouplement ou par simple contact avec des mâles stériles imprégnés de PP
4. Déterminer la fécondité des femelles après accouplement avec des mâles stériles imprégnés de PP comparé à celle des femelles accouplées avec des mâles fertiles témoins

Problématique

Quelle est la dynamique de transfert du PP d'un mâle stérile à la femelle lors de l'accouplement chez *Glossina palpalis gambiensis* et quel est l'impact de ce transfert sur la fécondité des femelles ?

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel biologique

Les expériences de cette étude sont réalisées sur le modèle *G. p. gambiensis*, provenant d'une souche collectée au Burkina Faso et élevée en insectarium à l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) à Vienne (Autriche). Les mâles stériles sont irradiés à l'AIEA au stade pupal par des rayons gamma, à des doses comprises entre 8000 et 15 000 rads diminuant la fertilité de 95% (Itard, 1968). Après avoir effectué une commande de pupes de *G. p. gambiensis* à l'AIEA, le matériel biologique est transporté à froid puis réceptionné à l'insectarium du CIRAD Baillarguet de Montpellier. L'émergence des mâles stériles a lieu dans les deux jours suivant l'ouverture du colis. Un petit nombre de femelles peuvent également émerger des lots de mâles stériles (1/4), c'est pourquoi nous procédons à un tri par sexe, réalisé manuellement à l'aide de tubes en verre, sans endormir les glossines au froid. En ce qui concerne la fourniture de mâles et de femelles fertiles (non irradiés), les pupes sont également

reçues de l'AIEA et la date de leur émergence peut être déterminée et choisie à l'avance. Après le tri, les mâles et les femelles sont séparés par lot de 50 en cage Roubaud (13x8x5cm).

1.2 Matériel technique

Stockage

Les glossines sont transportées en boîte isotherme jusqu'à l'insectarium de l'IRD, où elles sont stockées dans de petites (13x8x5cm) ou en grandes cages Roubaud (27x17x17cm) dans une étuve (Fig. 1). Cette étuve reste stabilisée à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, une hygrométrie de $80\% \pm 5\%$ et une photopériode de 12h de jour et 12h de nuit. Les cages contenant les glossines traitées au PP sont situées dans les étages inférieurs de l'étuve et celles qui n'ont pas été traitées sont disposées au-dessus afin de ne pas être contaminées par le biocide.

Alimentation

Les glossines sont alimentées trois fois par semaine tout au long de l'expérience, avec du sang de mouton à l'aide d'un dispositif constitué d'une membrane en silicone (1-2mm) et d'une plaque chauffante. Pour une alimentation optimale des glossines, la température du sang doit être d'environ $37,2^{\circ}\text{C}$. La température à la surface de la membrane en silicone est constamment vérifiée à l'aide d'un thermomètre. La pièce dans laquelle se déroule cette manipulation est maintenue aux mêmes températures et hygrométries que l'étuve de stockage. Environ 5mL de sang sont déposés sur une petite plaque préalablement chauffée à $37,2^{\circ}\text{C}$ sur la plaque chauffante. La membrane est délicatement posée sur le sang de façon à chasser les bulles d'air (Fig. 2B). Par la suite, la cage contenant les 50 glossines est mise en contact avec la membrane en silicone (Fig. 2A). Trois systèmes de plaques associées aux membranes sont utilisés au cours des expériences. Un premier système permet d'alimenter les lots témoins, un second les lots témoins ayant reçu de la poudre sans PP et un dernier qui permet d'alimenter les lots traités à la poudre contenant du PP. Une plaque et une membrane de plus grande taille sont utilisées pour alimenter les glossines stockées en grande cage (27x17x17cm). Les glossines se gorgent pendant une dizaine de minutes dans l'obscurité, en piquant à travers les mailles de la cage et la membrane à l'aide de leur proboscis. Les glossines gorgées sont dénombrées afin de calculer le taux de gorgement dans chaque cage (Fig. 2C). Les systèmes de plaques et membranes en silicone sont lavés abondamment à l'eau puis autoclavés pendant 40 minutes à 121°C à la fin de chaque manipulation.



Figure 1 : Stockage en étuve des lots de glossines en cage Roubaud. En haut les glossines non traitées, en bas les glossines traitées à la poudre F15+PP.

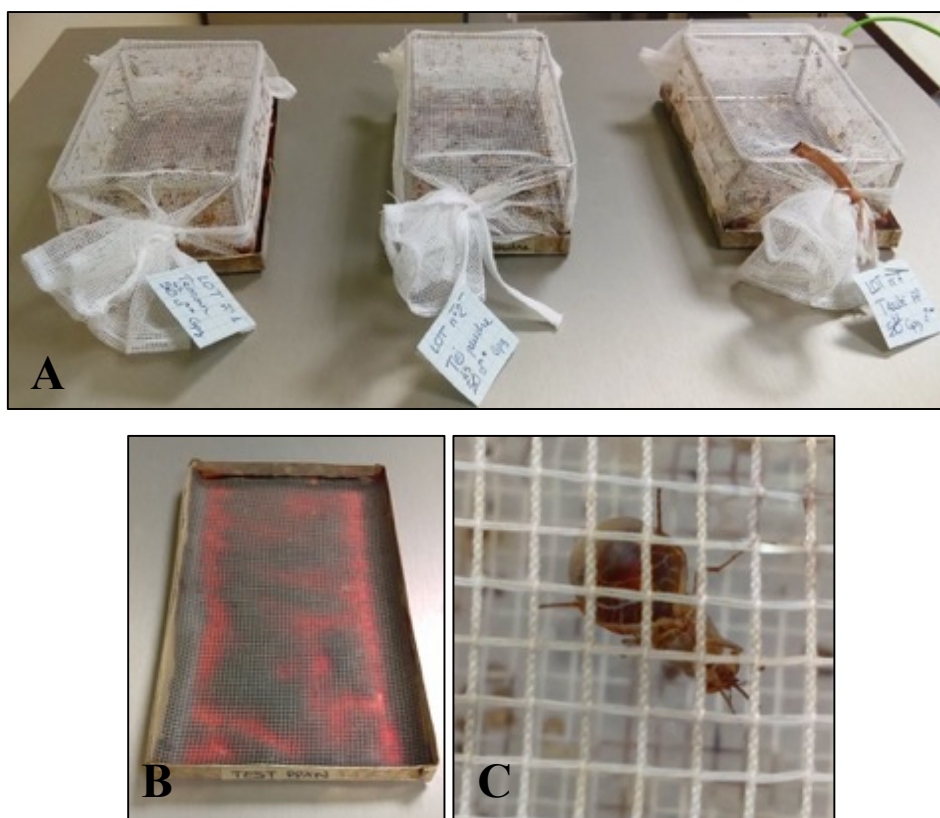


Figure 2 : Système d'alimentation des glossines. (A) Cages Roubaud contenant les glossines déposées sur (B) la plaque contenant le sang de mouton et la membrane en silicone. (C) Glossine gorgée de sang.

Imprégnation

Une poudre sans PP est utilisée pour imprégner les glossines du lot témoin, la formulation F15 (F15), ayant les mêmes caractéristiques qu'une poudre fluorescente de marquage (Tibayrenc *et al.*, 1971). Les divers adjuvants de cette poudre, conçue par la société 3F Innovation, ne nous ont pas été communiqués. La même poudre, également fluorescente, contenant 40 % de pyriproxifène (F15+PP), est utilisée pour imprégner les glossines des lots expérimentaux. La fluorescence des poudres permet de vérifier l'efficacité et l'homogénéité de l'imprégnation. La composition des deux poudres est similaire à l'exception de la présence du biocide dans la F15+PP et d'une faible différence de densité et granulométrie afférant à la présence du PP. En effet, la poudre F15+PP présente une granulométrie supérieure à la poudre F15 témoin, ce qui lui confère une propriété de fixation légèrement différente sur les glossines.

Afin de réaliser l'imprégnation des glossines, la quantité de poudre nécessaire est pesée puis placée dans un pot à urine de 140mL, préalablement réfrigéré à 7°C pendant 20-30min (Fig. 3A). Sous une hotte chimique, le pot est agité jusqu'à ce que la poudre soit répartie uniformément sur les parois. Les glossines en cage sont endormies par le froid sur de la glace durant trois minutes puis introduites dans le pot de 140mL (Fig. 3B). Pendant 25 secondes, le pot est roulé sur la glace pilée en faisant un tour complet à chaque fois. Après avoir réalisé cette manipulation, l'homogénéité du dépôt de poudre par glossine et entre les glossines est vérifiée par observation de la fluorescence sous une loupe binoculaire à l'aide d'une lampe à rayons ultra-violets.

Dosage

Le dosage du PP ainsi déposé sur la surface externe des glossines est réalisé par chromatographie liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) au laboratoire de mesures physiques de l'Université des Sciences de Montpellier. Avant cela, il est nécessaire de réaliser l'extraction du PP sous une hotte chimique avec une solution d'hexane-fénoxy-carbe ($C = 100 \text{ ng / mL}$). Pour cela, les glossines sont placées individuellement dans des fioles de 4mL avec 1mL d'hexane-fénoxy-carbe (Fig. 4). Pendant une heure, les fioles sont agitées toutes les 15 minutes. Les glossines sont ensuite extraites des fioles délicatement à l'aide de pinces fines puis conservées individuellement en tube Eppendorf au congélateur à -20°C pour un éventuel dosage ultérieur du PP intra-glossine traitée.

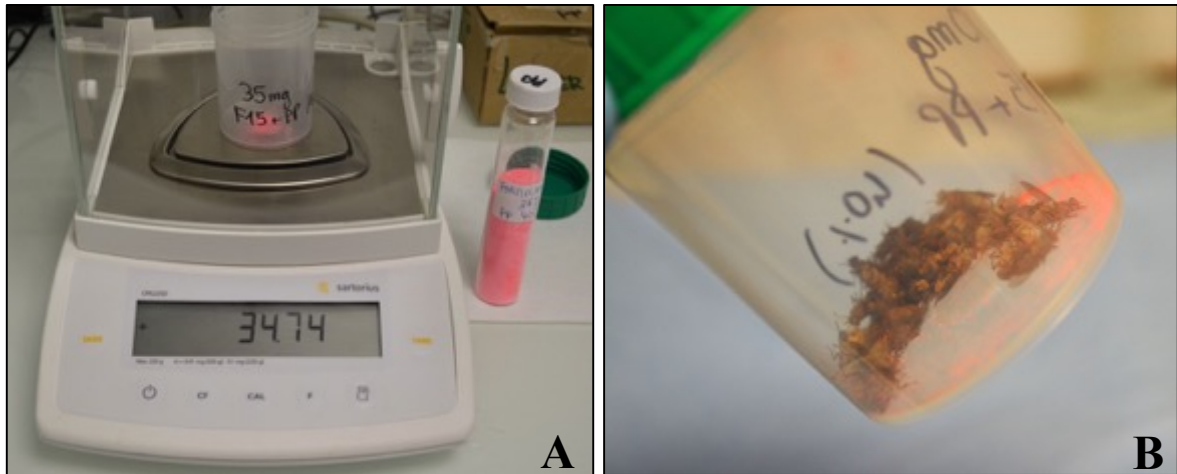


Figure 3 : Imprégnation des glossines avec la poudre F15+PP (40%). (A) Pesée de 35 mg de poudre à la balance de précision. (B) Mâles stériles endormis roulés dans la poudre F15+PP fluorescente.

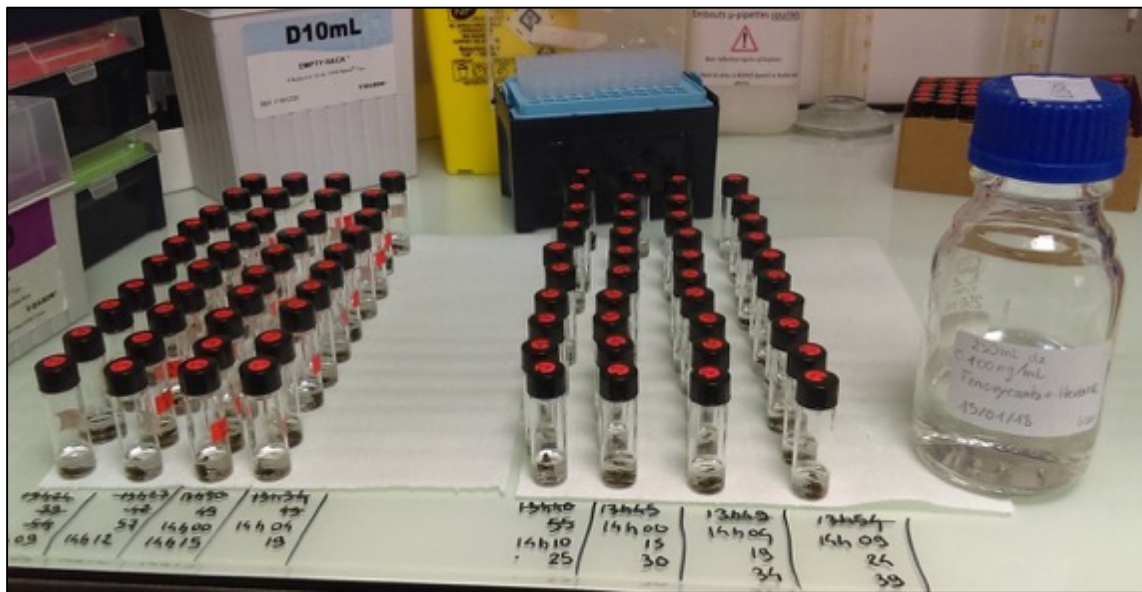


Figure 4 : Extraction du PP (ma) sous une hotte chimique avec une solution d'hexane-fénoxy-carbe pour un dosage ultérieur par HPLC.

1.3 Protocole expérimental

1.3.1 Test de calibrage

Lors de cette expérience, les deux poudres F15 et F15+PP sont utilisées. Cette manipulation a pour objectif de déterminer la dose de matière active (ma) de PP présente sur les glossines après imprégnation avec différentes quantités de poudre F15+PP et l'impact de ces doses différentes de poudres F15+PP sur la survie des glossines traitées. La quantité de poudre donnant le compromis idéal entre la meilleure quantité de PP (ma) sur glossine et la meilleure survie sera sélectionnée pour les expériences suivantes.

Cinq lots de 50 glossines sont utilisés lors de cette expérience, soit un total de 250 mâles stériles *G. p. gambiensis*. Le lot n°1 témoin subit les mêmes manipulations d'endormissement que tous les autres lots sans être imprégné de poudre. Les glossines du lot 2 sont imprégnées de 35 mg de poudre F15 sans PP. Celles des lots 3, 4 et 5 sont imprégnées de 3,5 mg, 17,5 mg et 35 mg de poudre F15+PP respectivement. Immédiatement après imprégnation et 15 jours après, 5 glossines sont extraites et supprimées des lots 1 et 2 et 10 glossines des lots 3 à 5, soit un total de 80 glossines supprimées au congélateur à -20°C puis mises en fioles pour dosage par HPLC de la quantité de PP (ma). Le reste des glossines est stocké en étuve pour un suivi quotidien de la mortalité pendant deux semaines, excepté les week-ends.

1.3.2 Tests expérimentaux

Une série de trois expériences consécutives est réalisée. Le lancement d'une expérience dépend des résultats de la précédente.

1.3.2.1 Impact sur la survie des glossines et rémanence du pyriproxyfène

L'objectif de cette expérience est de déterminer la rémanence du PP (ma) sur les mâles stériles de *G. p. gambiensis* et d'évaluer la survie des glossines traitées comparées aux glossines témoins (mâles stériles non traités). Sept lots de 50 glossines sont utilisés lors de cette expérience, soit un total de 350 mâles stériles. Le lot 1 témoin subit les mêmes manipulations que tous les autres lots sans être imprégné de poudre. Les glossines du lot 2 sont imprégnées de 35 mg de poudre F15 sans PP. Celles des lots 3 à 7 sont imprégnées de 35 mg de poudre F15+PP. Après imprégnation, les glossines sont stockées en étuve jusqu'à la fin de la manipulation. Un suivi quotidien de la mortalité est effectué pendant 21 jours, excepté les week-ends. Afin d'évaluer la rémanence du biocide, deux glossines sont éliminées de chaque lot traité

à différents temps après imprégnation (15min, 3h, 6h, 24h, 72h, 4j, 6j, 8j et 10j) pour dosage du PP par HPLC, soit un total de 10 glossines par temps.

1.3.2.2 Transfert du pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle

L'objectif de cette expérience est de déterminer la quantité de PP (ma) transférée du mâle stérile de *G. p. gambiensis* traité à la femelle lors de l'accouplement. Les accouplements sont réalisés à deux temps différents (3h et 24h) après imprégnation des mâles stériles avec 35 mg de poudre F15+PP, dans une pièce où les conditions de température et d'hygrométrie sont identiques à celles de l'étuve de stockage. Deux lots de 15 mâles stériles traités (lots 2 et 3) et un lot de 15 mâles stériles témoins sont accouplés à des femelles 3h après imprégnation des mâles. De la même façon, deux lots de 15 mâles stériles traités (lots 2 et 3) et un lot de 15 mâles stériles témoins sont accouplés à des femelles 24h après imprégnation des mâles. Pour chaque couple, un mâle âgé de 6-7 jours est placé avec une femelle âgée de 3-4 jours dans un gobelet en carton de petite taille afin d'augmenter la fréquence de contact. Chaque gobelet est refermé par un tulle à grosses mailles, laissant passer la lumière. La durée de l'accouplement est mesurée pour chaque couple. Dès la fin de l'accouplement, le mâle et la femelle sont tous deux supprimés pour un dosage individuel du PP (ma). Par ailleurs, 10 mâles stériles non accouplés sont également supprimés 3h et 24h après imprégnation pour doser le PP (ma) présent et avoir une idée de la quantité moyenne de PP (ma) présente sur le mâle sans accouplement.

Une seconde expérience est réalisée afin de mettre en évidence le transfert de PP d'un mâle stérile traité ayant eu un simple contact avec une femelle déjà inséminée (sans accouplement). Pour ce faire, un lot de 50 mâles stériles (âgés de 6-7 jours) est traité avec 35 mg de poudre F15+PP 3h avant la mise en gobelet individuellement avec des femelles déjà inséminées pendant 3 jours par des mâles fertiles avec un ratio de 1 mâle pour 3 femelles à l'insectarium du CIRAD Baillarguet. Trois heures après imprégnation, un mâle est transféré dans un gobelet de petite taille contenant une femelle déjà inséminée. Les accouplements et simples contacts sont observés et notés durant une heure puis les mâles et femelles sont supprimés pour un dosage ultérieur du PP (ma) présent sur leur corps. Si passé une heure, des couples se sont formés, la durée de leur accouplement est mesurée et ils sont supprimés une fois séparés, pour dosage du PP (ma).

1.3.2.3 Impact du pyriproxifène sur la fécondité des femelles

L'objectif de cette expérience est d'évaluer l'impact du PP sur la fécondité des femelles de *G. p. gambiensis* après accouplement avec des mâles fertiles, des mâles stériles ou des mâles stériles traités au PP (Tab. I). Un total de 50 femelles par lot sont accouplés avec 50 mâles en grande cage (27x17x17cm), avec un sexe ratio de 1 (1 mâle / 1 femelle), contrairement aux conditions d'élevage de glossines où le sexe ratio est de 1:3 ou 1:4, afin de s'assurer de l'accouplement du plus grand nombre de femelles. Les mâles sont âgés de 6-7 jours et les femelles de 3-4 jours.

Après avoir transféré les mâles avec les femelles, les glossines sont stockées en étuve à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ et $80 \pm 5\%$ d'hygrométrie. Les lots 1 et 2 constituent des témoins de fécondité maximale (témoin positif) et de fécondité minimale (témoin négatif) respectivement. Sachant qu'une femelle accouplée à un mâle stérilisé voit sa fécondité diminuer de 95%, et non de 100% (Itard, 1968) le lot 3 nous indiquera si le PP a un impact sur les pupes possiblement produites par une de ces femelles. Le lot 4 nous permettra de déterminer si une quantité de mâles stériles, lâchés dans une population cible, en nombre égal à la quantité de mâles sauvages fertiles de la population, aura un impact sur la fécondité des femelles sauvages. De même pour le lot 5, avec l'impact supplémentaire potentiel du PP. Les mâles fertiles des lots 6 et 7 sont retirés après 24h pour laisser place à 50 mâles stériles pour le lot 6 et 50 mâles stériles traités au PP pour le lot 7. Ces deux derniers lots permettront de vérifier si l'accouplement potentiel avec un mâle stérile, ou un mâle stérile traité au PP, peut impacter la fécondité de femelles préalablement inséminées par des mâles fertiles.

Cinq jours après le début des accouplements, tous les mâles sont retirés des cages afin de limiter l'effet de leur harcèlement sur les femelles. Les femelles sont ensuite transférées par lot en cage Roubaud de plus petit format (13x8x5cm). Un suivi de la mortalité des femelles est réalisé quotidiennement, excepté les weekends. La fécondité et la fertilité des femelles est mesurée à partir du nombre moyen de pupes produites par femelle initiale en 45 jours et du taux d'émergence de ces pupes. Les pupes produites par les femelles passent au travers des mailles des cages et sont récupérées dans des récipients placés sous chaque cage. Elles sont ensuite stockées dans l'étuve, jusqu'à émergence, par lot dans de petits tubes de Borel en verre recouvert d'un tulle. Le taux d'éclosion des pupes et la viabilité des glossines ténérales sont évalués dès le début des émergences (en moyenne 30 jours après la première larviposition).

Tableau I : Différentes associations de couples de femelles et de mâles de *G. p. gambiensis* et leurs effectifs par lot.

		Mâles (50 par lot)								
Femelles (50 par lot)	Lot	1	2	3	4		5		6	7
	Effectif	50	50	50	25	25	25	25	50	50
	Catégorie	fertile	stérile	stérile + PP	fertile	stérile	fertile	stérile + PP	fertile	fertile
	<i>H+24 : remplacement des mâles dans les lots 6 et 7</i>									
	Effectif								50	50
	Catégorie								stérile	stérile + PP

1.3.3 Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées avec les logiciels Rstudio version 1.1.447 - © 2009-2018 et Microsoft Excel version 15.20 © - 2016. Pour chaque test, le seuil de signification statistique est fixé à 5% ($p\text{-value} < 0,05$). La normalité est testée via un test de Shapiro et l'homoscédasticité via un test de Fisher Snedecor suivant les données à analyser.

Les analyses de survie sont réalisées avec le package « survival » du logiciel Rstudio. Les fonctions de survie des glossines traitées au PP et non traitées sont comparées avec le test semi-paramétrique du modèle de Cox. Habituellement, le test non paramétrique du log des rangs est utilisé pour tester une différence significative de survie entre deux lots (Alberti *et al.*, 2005). Cependant, ce test n'est pas applicable si les courbes de survie se croisent, ce qui est le cas pour nos résultats. C'est pourquoi nous utilisons le modèle de Cox qui repose sur la notion de risques proportionnels. Ce modèle permet de quantifier l'impact de la différence significative de survie entre deux lots en faisant appel au risque instantané de décès (Meschi, 2006). Ce test a pour hypothèse nulle (H_0) qu'il n'y a pas de différence entre la survie des glossines traitées et celle des glossines témoins.

Afin de comparer les moyennes de deux échantillons indépendants ne suivant pas une distribution normale, le test non paramétrique de Wilcoxon Mann-Whitney est utilisé (Neuhäuser, 2011). Il permet de tester l'hypothèse selon laquelle la distribution des données est la même dans les deux groupes. Dans notre étude, nous posons l' H_0 selon laquelle il n'y a pas de différence significative entre la distribution des données de deux échantillons analysés.

Dans le but de mettre en évidence une relation entre deux séries d'observations ne suivant pas une loi normale, nous calculons le coefficient « tau » de Kendall (Shieh, 1998). Plus spécifiquement, ce coefficient mesure la corrélation de rang entre deux variables x et y . Ensuite, un test non paramétrique de corrélation de Kendall peut être réalisé pour déterminer si la valeur du coefficient est significative ou non (H_0 : il n'y a pas de corrélation entre les deux variables).

Pour déterminer l'effet d'un facteur sur plus de deux échantillons indépendants ne suivant pas la distribution d'une loi normale, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis est utilisé (McKight et Najab, 2010). Ce test permet de vérifier l'hypothèse nulle sous laquelle les distributions de données sont identiques, c'est-à-dire de vérifier si un facteur influe sur les variables.

2. Résultats

2.1 Test de calibrage

2.1.1 Survie des mâles stériles

Le taux de survie des glossines de tous les lots se stabilise à partir de J4, puis diminue de J8 à J14 (Fig. 5). Le taux de survie du lot 5 traité avec la plus grande dose de PP, soit 35mg, n'est pas significativement différent de celui du lot 1 témoin (test de Cox : p-value $0.57 > 0.05$) et ne descend pas en dessous de 50% à la fin de l'expérience, 15 jours après traitement (Fig. 5). Il n'apparaît pas de différence significative entre les taux de survie des lots traités aux différentes doses de poudre F15+PP (test de Cox : p-value $0.89 > 0.05$). Cependant, le lot 2, dont les glossines ont été imprégnées de poudre F15 sans PP, montre une forte chute du taux de survie passant de 100% à environ 20% en trois jours (Fig. 5).

2.1.2 Rémanence du pyriproxifène sur les mâles stériles

La figure 6 met en évidence une relation dose-effet. En effet, plus la quantité de poudre F15+PP appliquée sur les glossines est grande, plus la dose de PP (ma) reçue par insecte est importante. La dose de PP (ma) la plus grande à J0 est retrouvée sur les glossines imprégnées de 35 mg de poudre F15+PP. Un mâle stérile présent dans un lot de 50 glossines imprégnées de 35 mg de poudre F15+PP présente en moyenne à J0 $433,4 \pm 108,3$ ng de PP (ma) et à J15, $38,1 \pm 18,8$ ng. La rémanence du PP (ma) est faible, on retrouve, à J15, moins de 10% des quantités initiales de biocide appliquées sur les glossines des lots traités avec 3,5 mg et 35 mg de poudre F15+PP. À J15, il ne reste plus que 16% de la quantité initiale de PP (ma) sur les glossines traitées avec 17,5 mg de poudre F15+PP. En se basant sur ces résultats, nous avons choisi d'utiliser la plus forte dose, soit 35 mg de PP (40%), pour traiter les glossines toute la suite des expérimentations.

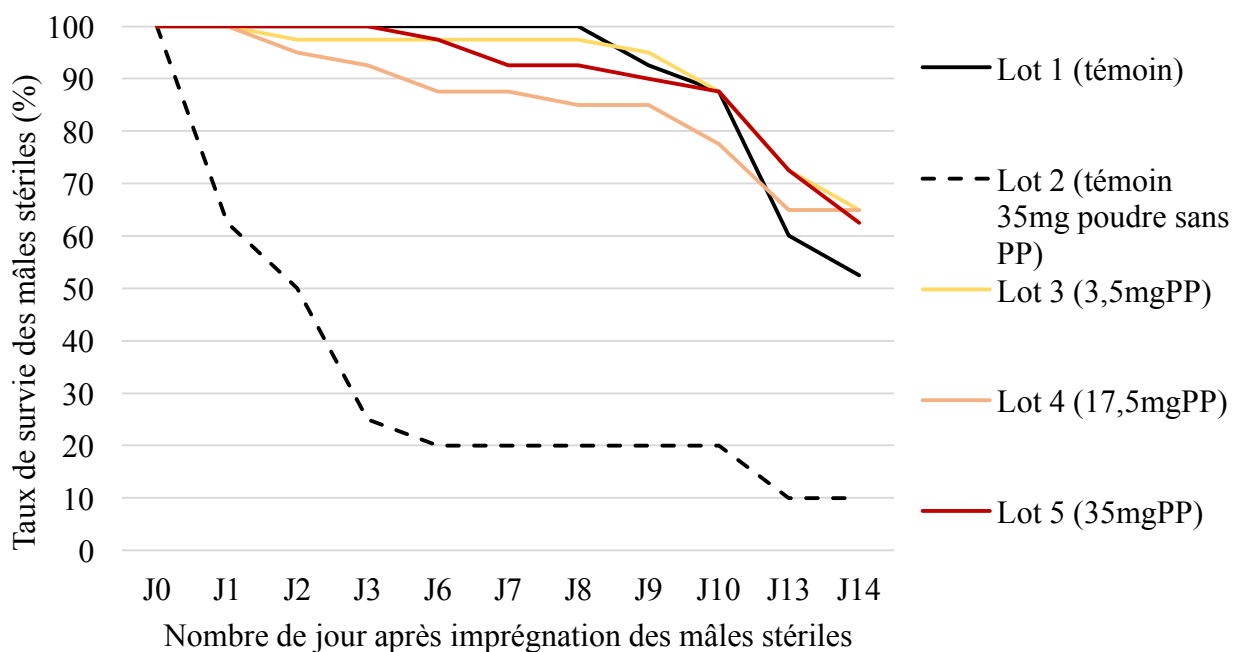


Figure 5 : Survie des mâles stériles non traités (lot 1), traités avec 35 mg de poudre sans PP (lot 2) et traités avec différentes quantités de poudre contenant 40% de PP (lots 3, 4, 5)

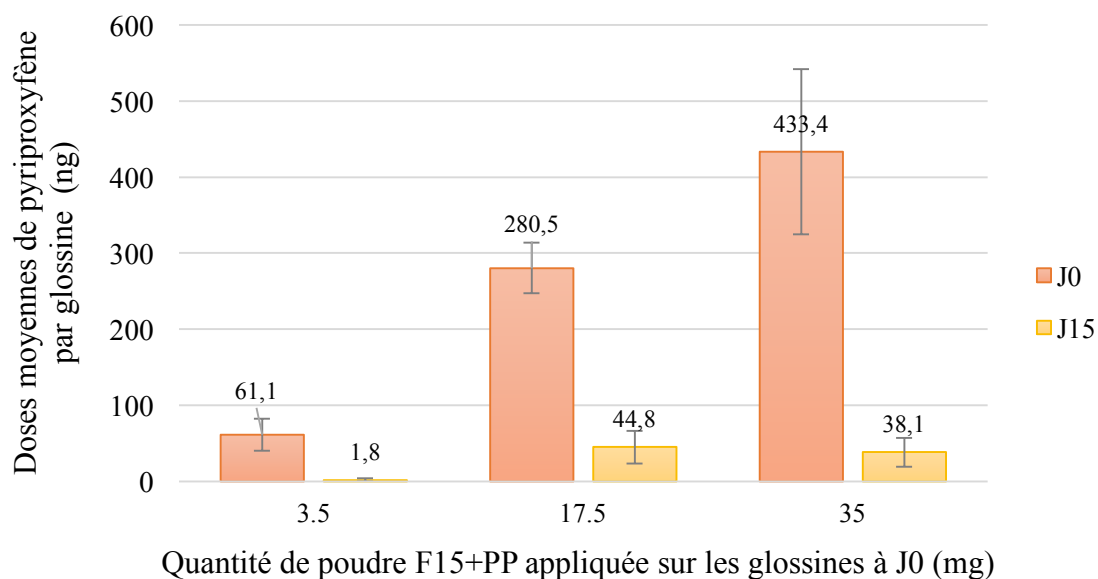


Figure 6 : Rémanence du PP (ma) sur les mâles stériles traités à différentes doses de poudre F15+PP, à J0 (immédiatement après imprégnation) et à J15 (15 jours après imprégnation) pour n = 10 glossines / temps.

2.2 Tests expérimentaux

2.2.1 Impact sur la survie et rémanence du pyriproxifène

2.2.1.1 Survie des mâles stériles traités

Le taux de survie des mâles stériles traités au PP (35 mg), des lots 3 à 7, reste stable les trois premiers jours de l'expérience puis diminue légèrement jusqu'à la fin de l'expérience, 21 jours après traitement, ne descendant pas en dessous de 75 % de survie (Fig. 7). Le taux de survie des mâles stériles témoins évolue de façon similaire que celui des lots traités au PP les 10 premiers jours, puis diminue en dessous de 65 % du 10^{ème} au 21^{ème} jour de l'expérience (Fig. 7). Il n'y a pas de différence significative entre le taux de mortalité des glossines des lots traités et celui des glossines du lot témoin (test de Cox : $p\text{-value } 0.55 > 0.05$).

Le taux de survie du lot 2, témoin traité avec 35 mg de poudre sans PP, chute rapidement 24h après imprégnation des mâles stériles en passant de 100 % à moins de 25 %. Il se stabilise par la suite autour de 20 % puis atteint 15 % à la fin de l'expérience, 21 jours après traitement (Fig. 7). La survie des mâles stériles du lot 2 est très différente de celle des mâles stériles du lot témoin et des lots traités au PP.

2.2.1.2 Rémanence du pyriproxifène

La quantité de PP décroît de manière exponentielle (Fig. 8). La quantité moyenne de PP (ma) par glossine passe d'environ $1\ 000 \pm 500$ ng à moins de la moitié de cette quantité en seulement 3h. Après 24h la dose moyenne de PP (ma) se stabilise autour de 100 ng jusqu'à une dizaine de jours après imprégnation des mâles stériles (Fig. 8). La perte « naturelle » moyenne de PP sur les mâles est estimée à 63% et 88%, 3h et 24h après imprégnation respectivement.

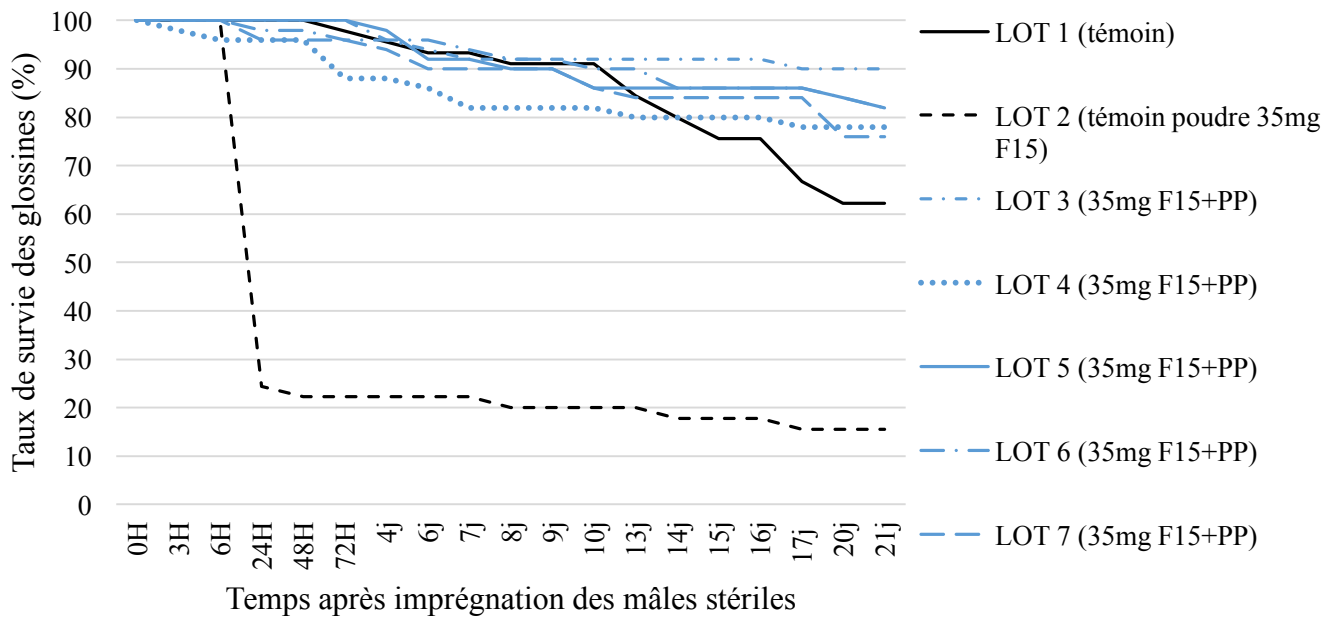


Figure 7 : Survie des mâles stériles de *G. p. gambiensis* témoins (lot 1), traités avec 35 mg de poudre F15 sans PP (lot 2) et traités avec 35 mg de poudre contenant 40% de PP (lots 3 à 7).

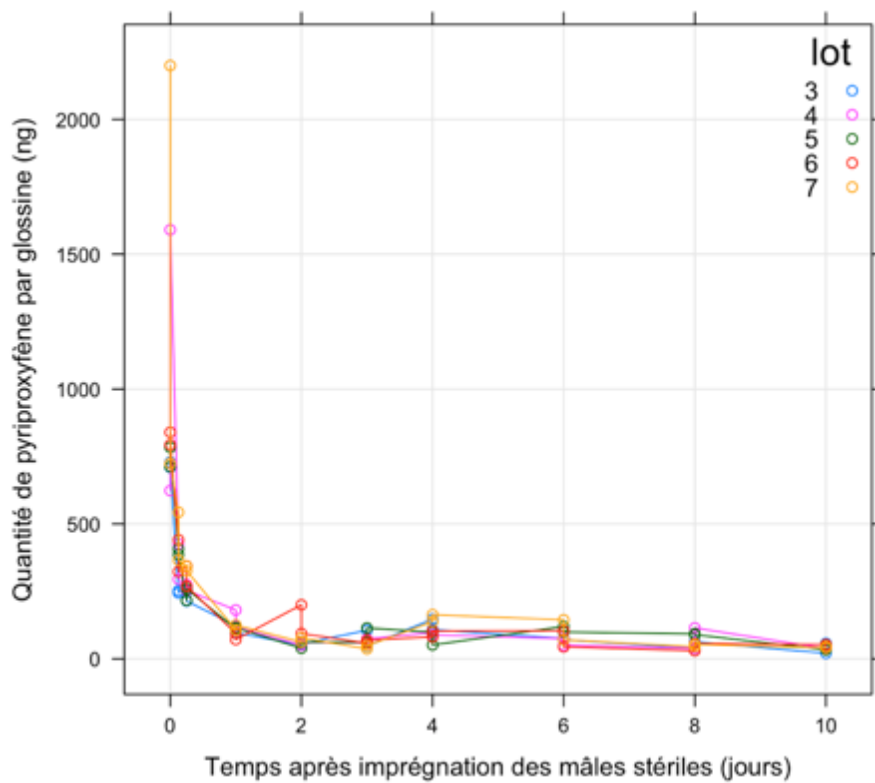


Figure 8 : Rémanence du PP sur les mâles stériles de *G. p. gambiensis* traités avec 35 mg de F15+PP (40%), au cours du temps, pour n =10 glossines / temps.

2.2.2 Transfert du pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle

Les résultats de la rémanence du PP sur les mâles stériles nous ont conduits au choix d'accoupler les mâles stériles traités avec 35 mg de poudre F15+PP (40%) avec des femelles, 3h et 24h après imprégnation.

2.2.2.1 *Quantité de pyriproxyfène transférée lors de l'accouplement*

Les mâles stériles non accouplés du lot 2 présentent en moyenne 830 ± 200 ng de PP (ma) et 700 ± 650 ng de PP (ma) 3h et 24h après imprégnation respectivement (Fig. 9). Cependant l'écart type des quantités de PP (ma) du lot 2 à 24h est très important, les valeurs étant très hétérogènes avec certaines atteignant plus de 1 000 ng. Les mâles stériles non accouplés du lot 3 ont en moyenne 890 ± 140 ng de PP (ma) et 300 ± 110 ng de PP (ma) 3h et 24h après imprégnation, respectivement (Fig. 9). Les quantités de PP (ma) sur les mâles stériles du lot 3 diminuent de 3h à 24h après imprégnation. On estime donc une perte moyenne de PP de 66 % de 3h à 24h, pour les individus du lot 3 ayant des données plus homogènes que le lot 2.

La totalité des 60 femelles se sont accouplées aux mâles stériles traités au PP au cours de cette expérience. Les quantités moyennes de PP (ma) présentes sur les mâles stériles accouplés, 3h et 24h après imprégnation, sont respectivement de $365,5 \pm 133,8$ ng et $218,1 \pm 73,6$ ng (Tab. II). Nous avons observé une différence significative entre la quantité de PP (ma) présente sur les mâles stériles accouplés, que ce soit 3h et 24h après leur imprégnation. C'est-à-dire qu'il y a un effet significatif du facteur « temps après imprégnation » sur la quantité de PP (ma) présente sur les mâles après accouplement (test Wilcoxon : $p\text{-value} = 6.1467e-08 < 0.05$). Les mâles stériles perdent en moyenne 57 % (3h après imprégnation) et 75% (24h après imprégnation) de leur quantité initiale de PP (ma) suite au contact avec les femelles dans le gobelet. La perte du PP (ma) due à l'accouplement avec la femelle est quasiment similaire à la perte naturelle du PP (ma) par les mâles (voir 2.2.1.2).

Les femelles ont reçu en moyenne $49,2 \pm 11,7$ ng de PP (ma), 3h après imprégnation des mâles stériles. Celles qui ont été accouplées à des mâles stériles traités, 24h après leur imprégnation, ont reçu en moyenne $50,2 \pm 6,7$ ng de PP (ma) (Tab. II). Il n'y a pas de différence significative entre la quantité de PP (ma) reçue par femelle accouplée à un mâle traité 3h ou 24h avant. C'est-à-dire qu'il n'y a pas d'effet significatif du facteur « temps après imprégnation » sur la quantité de PP (ma) reçue par femelle (test Wilcoxon : $p\text{-value} = 0.3285 > 0.05$).

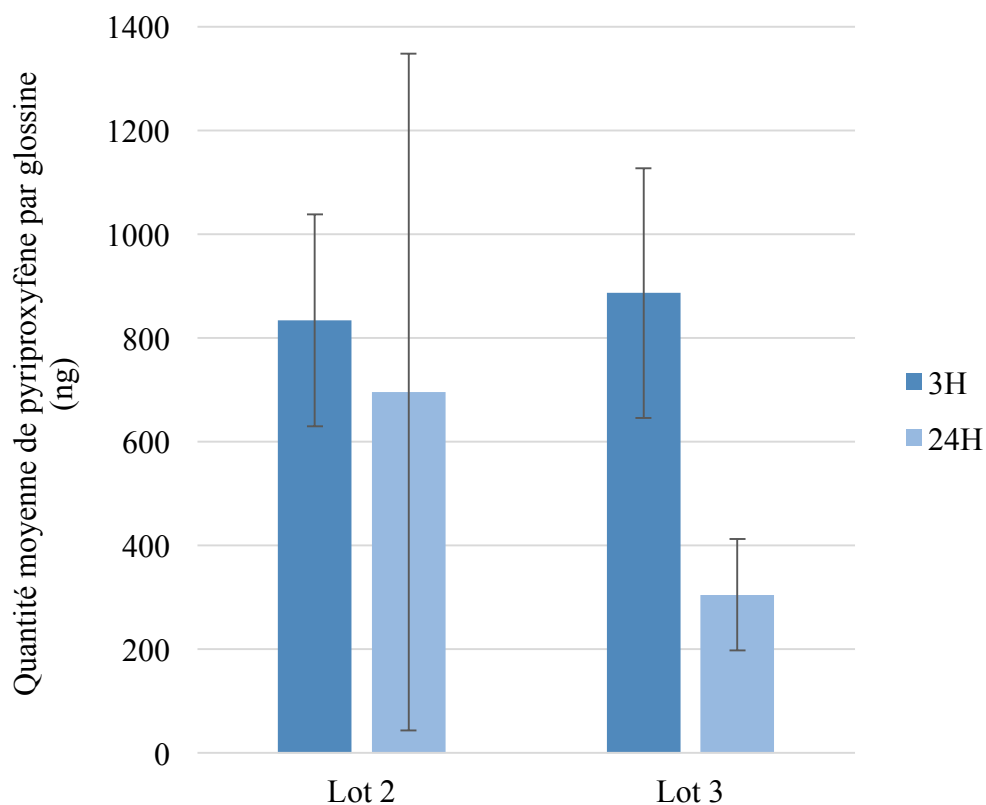


Figure 9 : Quantités moyennes de PP (ma) présentes sur les mâles stériles traités non accouplés des lot 2 et 3, 3h et 24h après imprégnation (n=5 glossines / temps).

Tableau II : Quantité moyenne de PP (ma) présente sur les mâles stériles traités des lots 2 et 3, 3h et 24h après imprégnation, avant et après accouplement (♂) et sur les femelles en fin d'accouplement.

			Quantité moyenne de PP (ng)	Écart type (ng)
3H	♂	Avant ♂	859.9 (n=10)	± 222.5
		Après ♂	365.5 (n=30)	± 133.8
	♀		49.2 (n=30)	± 11.7
24H	♂	Avant ♂	500.1 (n=10)	± 379.6
		Après ♂	218.1 (n=30)	± 73.6
	♀		50.2 (n=30)	± 6.7

2.2.2.2 Quantité de PP transférée en fonction de la durée d'accouplement

D'une part, la droite linéaire représentant la tendance de la quantité de PP moyenne présente par femelle accouplée à un mâle stérile traité 3h auparavant montre que la quantité de PP (ma) reste constante quel que soit la durée de l'accouplement (Fig. 10). En outre, le coefficient de corrélation de Kendall entre les variables « durée d'accouplement » et « quantité de PP (ma) par femelle accouplée à un mâle stérile traité 3h auparavant » est négatif, $\tau = - 0.0117$. Cependant, le test de Kendall démontre que la corrélation entre ces deux variables n'est pas significative, pour les femelles accouplées à des mâles stériles traités 3h auparavant ($p\text{-value} = 0.9287 > 0.05$).

D'autre part, la droite linéaire représentant la tendance de la quantité de PP moyenne présente par femelle accouplée à un mâle stérile traité 24h auparavant semble indiquer un léger effet de la durée d'accouplement sur la quantité de PP (ma) par femelle (Fig. 10). Le coefficient de corrélation de Kendall entre les deux variables est positif, $\tau = 0.1761$. Cependant, le test de Kendall démontre que la corrélation entre ces deux variables n'est pas significative, pour les femelles accouplées à des mâles stériles traités 24h auparavant ($p\text{-value} = 0.1746 > 0.05$).

2.2.2.3 Quantité de pyriproxyfène transférée lors d'un simple contact

Sur la totalité des 30 couples, seules deux femelles déjà inséminées par des mâles fertiles ont accepté un second accouplement avec un mâle stérile traité au PP : une de ces femelles s'est accouplée pendant 30 minutes et a reçu 42,78 ng de PP (ma) et l'autre pendant 10 minutes de plus et a reçu 71,45 ng de PP (ma) (Fig. 11). La plupart des femelles ayant refusé l'accouplement avec un mâle stérile traité ont cependant subi différents nombres de contacts : 1, 2, 3 et 11. Quatre femelles n'ont eu aucun contact avec un de ces mâles et ont reçu en moyenne $1,35 \pm 0,54$ ng de PP (ma). Onze femelles ont réalisé un seul contact, neuf femelles ont réalisé deux contacts, trois femelles ont réalisé trois contacts et une femelle a réalisé 11 contacts, le tout sans réussite d'accouplements, qui ont résulté respectivement en une quantité moyenne de $15,35 \pm 12,49$ ng, $17,82 \pm 11,68$ ng, $17,65 \pm 7,16$ ng et 18,26 ng de PP (ma) par femelle (Fig. 11). D'après le test non paramétrique de Kruskal-Wallis, il y a un effet significatif du facteur « nombre de contacts » sur la quantité de PP (ma) présente par femelle ($p\text{-value} = 0.032 < 0.05$). Les femelles ne reçoivent pas la même dose de biocide selon le nombre de contacts sans accouplement (Fig. 11). Il semblerait qu'un nombre de contacts plus important entre un mâle stérile traité et une femelle entraîne une augmentation de la quantité moyenne de PP (ma) présente sur la femelle (Annexe B).

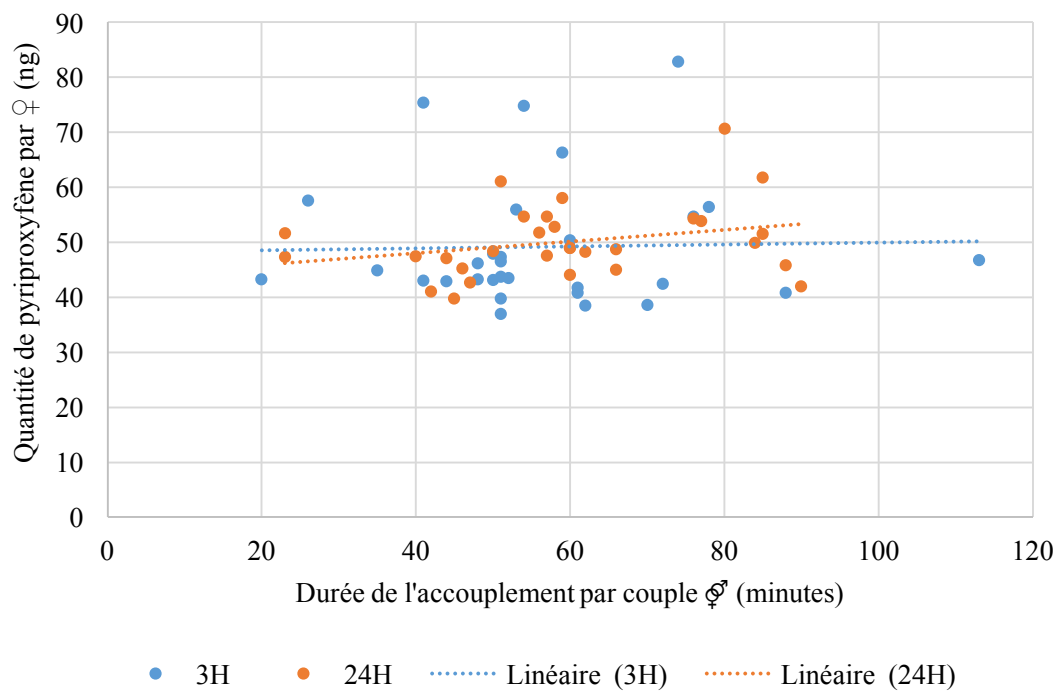


Figure 10 : Quantité de PP (ma) transférée aux femelles lors de l'accouplement avec un mâle stérile traité (3h et 24h auparavant) en fonction de la durée de l'accouplement.

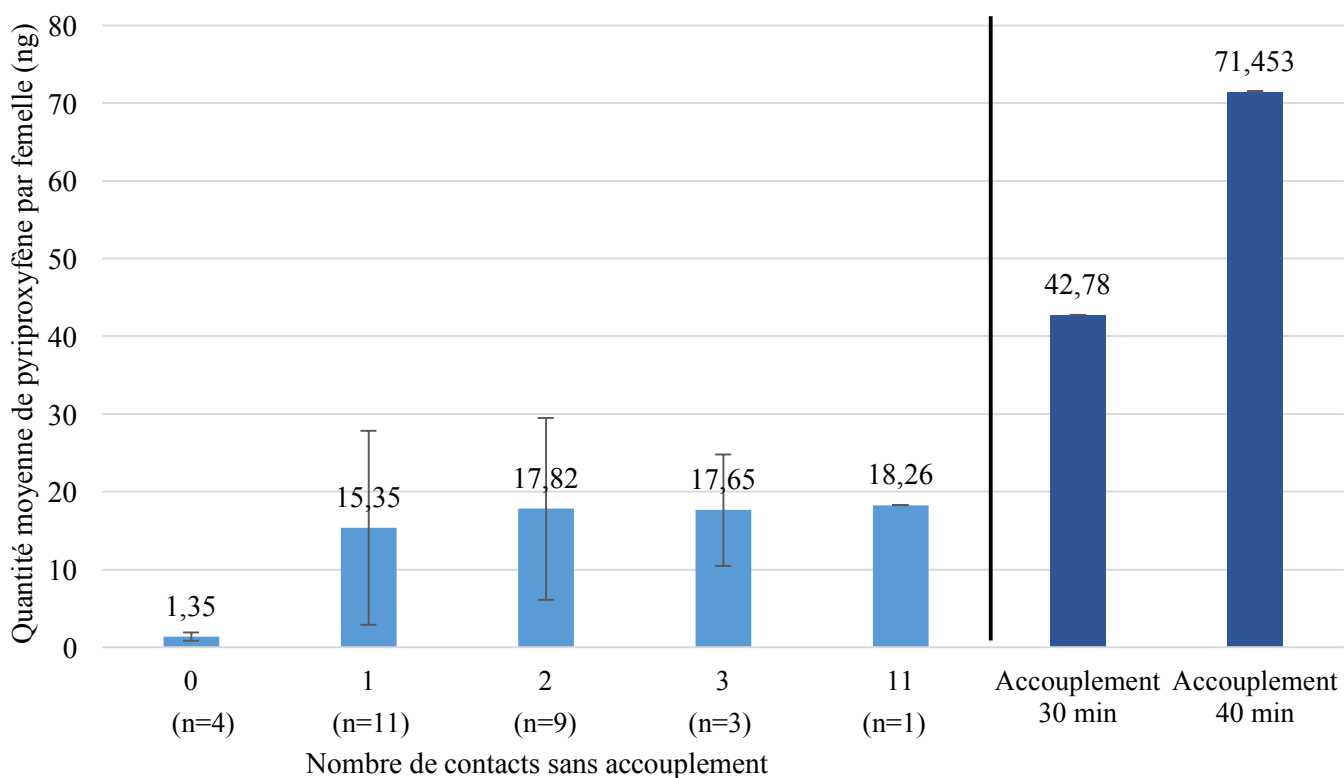


Figure 11 : Quantité de pyriproxyfène par femelle déjà inséminée en fonction du nombre de contacts sans accouplement ou de la durée de l'accouplement

2.2.3 Impact du pyriproxyfène sur la fécondité des femelles

2.2.3.1 Taux de survie des femelles

La survie des femelles est très affectée au début de l'expérience avec 50% des femelles des lots 2, 4, 5 et 6 décédées à J5 (Fig. 12). Des accouplements et tentatives d'accouplements ont été observés jusqu'au retrait des mâles des cages à J+5. Après le retrait des mâles, le taux de survie des femelles se stabilise autour de 20% pour les lots 4, 5 et 6, autour de 40% pour les lots 1, 2 et 7 et autour de 50% pour le lot 3. Nous n'avons pas observé de différence significative entre les taux de survie des femelles accouplées à des mâles stériles traités au PP et ceux des femelles accouplées à des mâles stériles non traités (test de Cox : $p\text{-value} = 0.5449 > 0.05$), de J0 à J45.

2.2.3.2 Fécondité des femelles

Au cours de cette expérience, les femelles de tous les lots ont accouché de larves. Les pupes ont été récoltées pendant 45 jours après la première larviposition. Au cours de l'expérimentation, un total de 13 avortons ont été expulsé prématurément par les femelles de *G. p. gambiensis* (trois dans le lot 1, un dans le lot 2, quatre dans le lot 3, un dans le lot 4, deux dans le lot 5, deux dans le lot 6, aucun dans le lot 7). Dans le lot 1 de femelles accouplées à des mâles fertiles, nous comptons 2,65 pupes par femelle initiale (Fig. 13). Pour le lot 2, contenant les femelles accouplées à des mâles stériles, nous notons un total de 3,52 pupes par femelle initiale. On observe qu'il y a plus de pupes produites par des femelles accouplées à des mâles stériles que par des femelles accouplées à des mâles fertiles. Les femelles du lot 3, accouplées à des mâles stériles traités avec du PP, ont produit 2,77 pupes par femelle initiale. Les femelles du lot 4, accouplées avec des mâles fertiles et/ou des mâles stériles, ont produit 2,83 pupes par femelle initiale. Dans le lot 5, les femelles accouplées à des mâles fertiles et/ou des mâles stériles traités au PP ont produit 2,85 pupes par femelle initiale. Les femelles du lot 6, accouplées avec des mâles fertiles puis 24h plus tard avec des mâles stériles, ont produit 2,43 pupes par femelle initiale. Enfin, dans le lot 7 de femelles accouplées avec des mâles fertiles puis 24h plus tard avec des mâles stériles traités au PP, il y a 2,38 pupes par femelle initiale (Fig. 13). C'est donc dans ce dernier lot 7 qu'il y a le moins de pupes par femelle initiale et dans le lot 2 qu'il y en a le plus. Aucune différence significative n'existe entre le nombre de pupes par femelle initiale des femelles accouplées avec un mâle stérile ou avec un mâle stérile traité au PP (test Wilcoxon : $p\text{-value} = 0.7124 > 0.05$).

Cette expérience est actuellement en cours, les glossines devant émerger après la période de pupaison qui est en moyenne de 30 jours à 25°C.

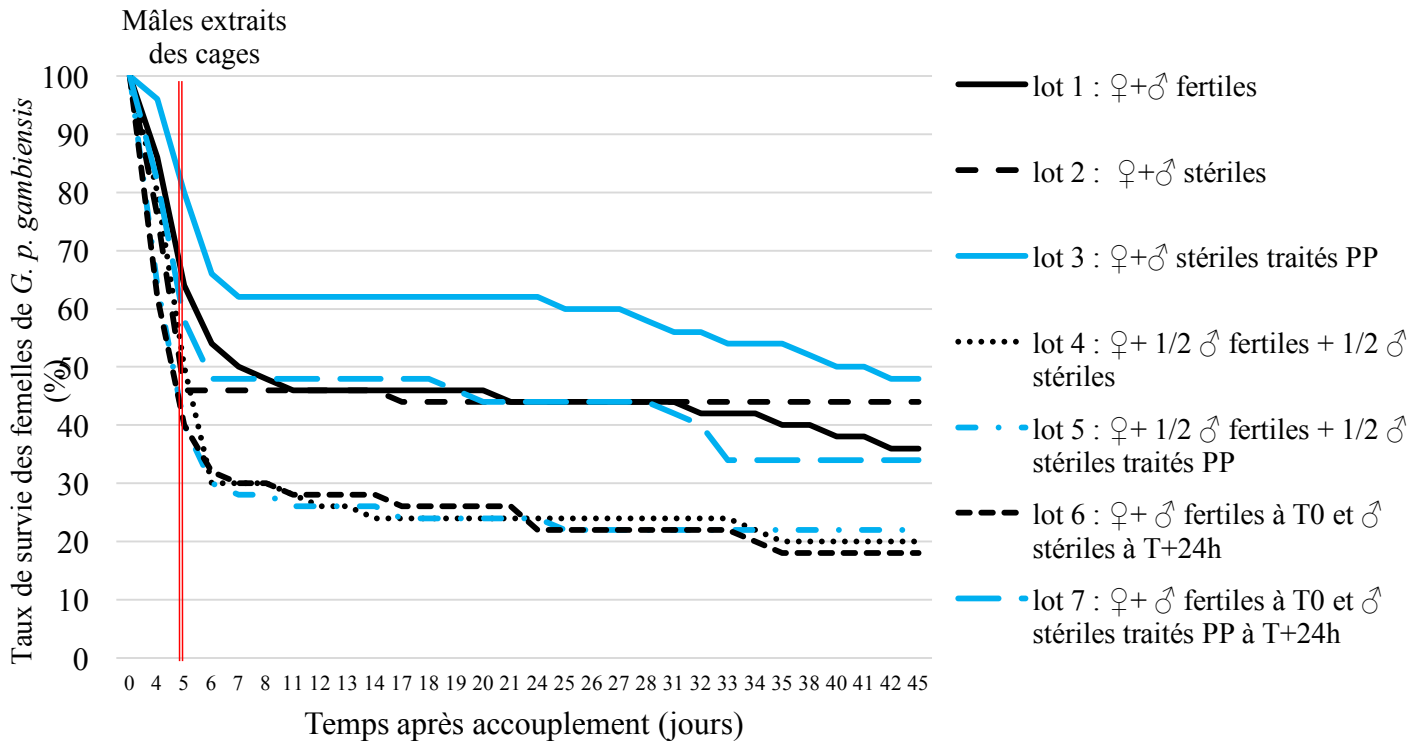


Figure 12 : Taux de survie des femelles de *G. p. gambiensis* accouplées avec des mâles de différentes catégories (fertiles, stériles, stériles traités au PP) à J0. En bleu les courbes de survie des femelles accouplées à des mâles stériles traités au PP.

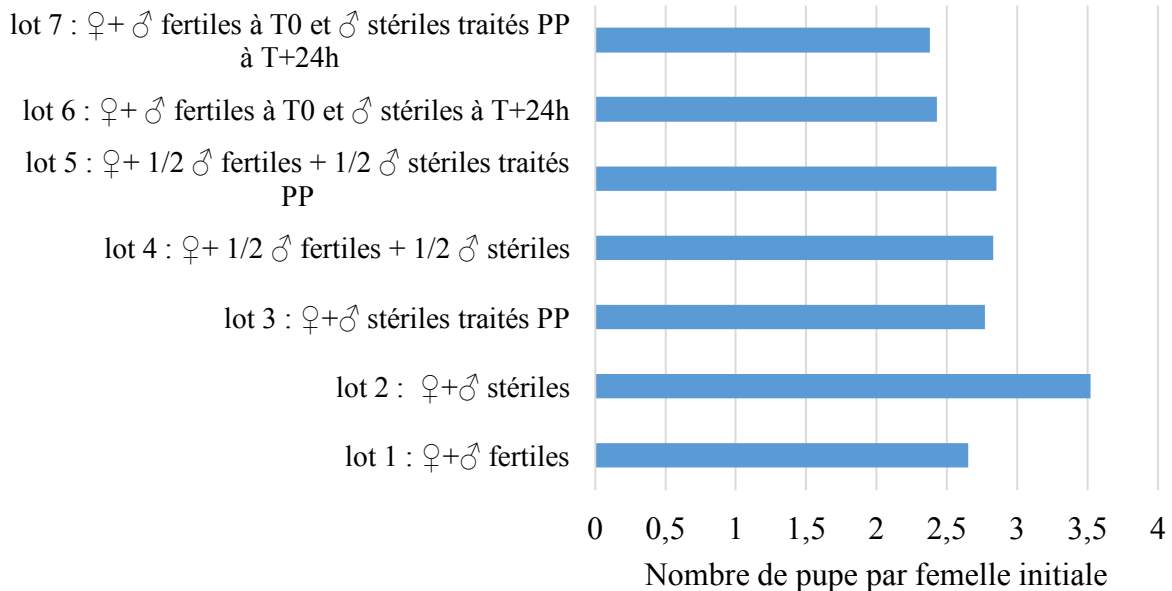


Figure 13 : Nombre de pupes de *G. p. gambiensis* par femelle initiale produites pendant 45 jours par des femelles accouplées à des mâles fertiles, stériles et/ou stériles traités au PP.

3. Discussion

Calibrage du traitement au pyriproxifène

Nous avons observé que la survie des mâles stériles sur deux semaines n'est pas affectée par l'imprégnation avec la poudre F15+PP, et ceci quelle que soit la quantité de poudre F15+PP utilisée : 3,5 mg, 17,5 mg ou 35 mg. Néanmoins, il semble que la poudre F15 sans PP, seule, ait un effet létal sur les glossines dans les premiers jours suivant l'imprégnation. Cet évènement a également été observé chez l'espèce *Aedes albopictus* lors des mêmes expérimentations au laboratoire (communication personnelle V. Le Goff). La poudre F15 de plus faible granulométrie que la poudre F15 + PP (les cristaux de PP sont de tailles supérieures à la poudre), pourrait obstruer les stigmates respiratoires des glossines et entraîner leur mort (Verhulst *et al.*, 2013). Nous avons observé que les mâles stériles traités, par la poudre F15 avec ou sans PP, ont tendance à faire plus de toilettage que les mâles stériles n'ayant reçu aucun traitement. Ainsi, les glossines survivantes dans ce lot à la fin de l'expérience ont probablement réussi à éliminer les grains de la poudre en se nettoyant.

De plus, nos résultats montrent que le PP (ma) présente une faible rémanence sur les glossines. Il est possible que les glossines se débarrassent de la poudre contenant le PP (ma) par leur activité de toilettage, que la poudre se détache des glossines traitées au cours du temps, ou qu'une partie du PP pénètre à l'intérieur de leur corps, comme cela a été montré sur le modèle *Hyposoter didymator* (Schneider *et al.*, 2007). En outre, la rémanence de la molécule de PP elle-même, sans interactions avec la glossine, varie en fonction des conditions environnantes (température, humidité, pH, rayonnement UV, micro-organismes, etc.) et du milieu dans lequel la molécule se trouve (H Arthur *et al.*, 2009). La demi-vie du PP varie également en fonction du milieu, par exemple elle est de 3 à 10 jours dans la terre et de 15 à 10 jours sur les plantations (Sullivan et Goh, 2008).

Les glossines possèdent sur leur cuticule une couche cireuse protectrice du tégument qui peut faciliter la pénétration du biocide hydrophobe dans leur corps (Tanguy, 2017). C'est pourquoi il serait intéressant de réaliser un dosage de PP intra-insecte afin de déterminer la quantité de produit pouvant pénétrer à l'intérieur du corps des mâles stériles et de chercher si le PP interne peut être transmis lors de l'accouplement. Afin d'obtenir un transfert optimal de PP (ma) du mâle à la femelle lors de l'accouplement, la dose de poudre F15+PP la plus importante (35 mg), n'ayant aucun impact sur la survie des glossines, a été utilisée pour toutes les imprégnations ultérieures.

Taux de survie des glossines traitées et rémanence du pyriproxyfène

Nous avons confirmé que la survie des mâles stériles, sur trois semaines cette fois, n'est pas affectée par l'imprégnation avec la poudre F15+PP. Néanmoins, tout comme dans le test de calibrage, le traitement avec la poudre F15 sans PP entraîne un fort taux de mortalité des glossines. Le PP (ma) présente une faible rémanence sur les glossines, tout en se maintenant à la quantité moyenne de 100 ng par individu entre 24 heures et 10 jours après imprégnation. Une étude précédente a estimé qu'une dose d'environ 100 ng de PP (ma) présente sur le mâle stérile de *Glossina morsitans morsitans* après traitement est suffisante pour stériliser complètement la femelle avec laquelle il s'accouple si le taux de transfert approche des 10%, soit 10 ng de PP présent sur la femelle (Langley *et al.*, 1990). D'autre part, les mâles stériles relâchés dans la nature ont une durée de vie efficace de 10 jours, c'est-à-dire qu'ils restent compétitifs pour s'accoupler avec des femelles sauvages (Seck *et al.*, 2015). Nos résultats indiquant une rémanence pendant 10 jours de 100ng de PP sur des mâles traités sont tout à fait prometteurs d'un point de vue opérationnel.

Afin de déterminer la quantité de PP (ma) transférée du mâle stérile imprégné à la femelle, nous avons réalisé des accouplements individuels (1 mâle + 1 femelle) et ce, 3h et 24h après imprégnation des mâles stériles avec la poudre F15+PP. Le choix de ces deux temps repose sur le fait que sur le terrain les mâles stériles lâchés n'ont pas la possibilité de s'accoupler avec des femelles sauvages immédiatement après leur imprégnation mais à partir de quelques heures après. Ces quelques heures, estimées à environ 3h, représentent les temps d'imprégnation, de conditionnement et de transport des mâles stériles jusqu'aux points de lâcher (Seck *et al.*, 2015). De plus, nous savons qu'à 3h et 24h il reste en moyenne 300 ng et 100 ng de PP, respectivement, sur chaque mâle stérile, quantité suffisante d'après Langley *et al.* (1990) pour la stérilisation de la femelle avec un transfert de 10%.

Transfert du pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle

Nos résultats indiquent que la quantité moyenne de PP présente sur les femelles après accouplement est de 50 ng, que l'accouplement ait eu lieu 3h ou 24h après imprégnation des mâles et que cette quantité est indépendante de la durée d'accouplement. Cette dose moyenne est largement supérieure aux 10ng suffisant à stériliser les femelles glossines d'après Langley *et al.* (1990). Ainsi, même si les mâles stériles traités avec la F15+PP, lors d'un lâcher pour une campagne de « Boosted SIT », mettent jusqu'à 24h pour trouver et s'accoupler avec une femelle, la dose de PP transférée à la femelle sera efficace pour contrôler la population. Lors d'expériences similaires antérieures, utilisant une formulation liquide de PP (F8+PP, 40%) sur

les mâles stériles de *G. p. gambiensis*, la quantité moyenne de PP (ma) présente sur une femelle après accouplement était de seulement 4 ng, 24h après pulvérisation des mâles. La formulation liquide F8 avait également une très faible rémanence : il restait moins de 20 ng de PP (ma) par mâle stérile 24h après traitement (Laroche, 2017). La quantité plus importante de PP transférée aux femelles avec la formulation en poudre F15+PP peut s'expliquer par une meilleure adhérence (de par les propriétés de la formulation) et une concentration plus élevée (de par les activités de toilettage des mâles stériles) de la poudre à des zones plus propices au transfert. En outre, les glossines n'ont pas toutes la même taille et la même répartition de charges électrostatiques sur leur corps (De La Rocque *et al.*, 2002). Étant chargées positivement elles attirent les charges négatives présentes dans la formulation F15+PP (Annexe C). De plus, s'il y a présence de PP (poudre) au niveau des forficules de l'appareil génital du mâle, des particules de poudre peuvent entrer dans l'appareil génital de la femelle lors de l'accouplement. Par ailleurs, nous avons observé que les mâles ont tendance, quelques minutes avant la fin de l'accouplement, à réaliser des mouvements circulaires avec leurs pattes postérieures sur l'abdomen de leur partenaire. Ces mouvements ont probablement lieu pendant le transport du spermatophore de l'appareil génital du mâle jusqu'au canal des spermathèques de la femelle (Pollock, 1970). Ils pourraient, de par leur fréquence et leur durée, faciliter le transfert de PP à la femelle. D'autre part, une molécule active sous sa forme solide (cristaux) présente généralement une sensibilité plus faible aux conditions environnantes que sous sa forme liquide ou dispersée dans un milieu solvant (eau ou solvant organique) (Zyss, 2013). À température ambiante, le PP est sous forme solide (température de fusion de 47°C), cette forme est très stable ce qui permet de le stocker plus longtemps que lorsqu'il est sous forme liquide (Sullivan et Goh, 2008). Ainsi, le choix et le développement d'une nouvelle formulation de PP sous forme de poudre s'est révélé judicieux et ces résultats de transfert obtenus avec utilisation de la poudre F15+PP laissent présager une bonne efficacité biologique.

Le fait qu'un transfert de PP s'opère lorsqu'un mâle stérile tente sans réussir de s'accoupler avec une femelle, c'est-à-dire lorsqu'il effectue un simple contact, est très intéressant pour l'application de la « Boosted SIT ». En effet, en plus de cibler des femelles vierges les mâles peuvent, par leur comportement de harcèlement, cibler également les femelles déjà inséminées par d'autres mâles sauvages (Langley et Clutton-Brock, 1997). Généralement, la femelle refuse l'accouplement lorsqu'elle a déjà réussi à s'accoupler une fois et s'accouple rarement au-delà d'une semaine après son émergence. Cependant, comme nous l'avons montré ici, certaines femelles déjà inséminées peuvent accepter un second accouplement. Ce comportement permettrait aux mâles stériles lâchés d'entraîner une diminution de la fécondité de la population ; leur sperme stérile étant aussi compétitif que le sperme d'un mâle fertile

(Curtis, 1968). D'après nos résultats, un seul contact, sans accouplement, suffirait pour que la femelle reçoive plus de 10 ng de PP (ma). En outre, nos résultats montrent que plus le mâle tente de s'accoupler avec la femelle par harcèlement, plus il va lui transmettre de PP. Ce résultat est intéressant, de par le comportement très fréquent de harcèlement chez les mâles glossines, pour une application de la « Boosted SIT » à grande échelle. Il demanderait à être confirmé lors de nos futures expérimentations menées en conditions semi-expérimentales, voire sur le terrain.

Impact du pyriproxifène sur la fécondité des femelles

Les femelles de *G. p. gambiensis*, en contact continu avec des mâles dans les grandes cages Roubaud (27x17x17cm) pendant cinq jours, ont subi une importante chute de leur taux de survie. La stabilisation de leur taux de survie après le retrait des mâles démontre que ces derniers sont responsables de cet événement. En effet, comme expliqué précédemment, chez les glossines, les mâles ont un comportement agressif de harcèlement des femelles dans le but de s'accoupler. Ce comportement affecte aussi bien la survie du mâle que la survie de la femelle. Lorsque le mâle essaie de s'accoupler avec la femelle, celle-ci le repousse en vibrant des ailes et en abaissant son abdomen (Langley et Clutton-Brock, 1997). Ces efforts, fournis par la femelle, entraînent des coûts en terme de longévité. En outre, le sexe ratio dans chaque cage était de 1, pour augmenter le succès d'accouplement, ce qui est relativement élevé comparé aux sexe ratio de 1:3 ou 1:4 présent dans les élevages de glossines, et risque d'augmenter l'impact du harcèlement des mâles sur la survie des femelles. Par ailleurs, le PP n'affecte pas la survie des femelles lors de notre expérience.

La présence de pupes dans tous les lots de femelles, y compris au sein du lot de femelles accouplées à des mâles stériles, nous a amenés à nous interroger sur la réelle stérilité de ces derniers. En effet, lors de la stérilisation des glossines au stade pupal, les rayons gamma entraînent des mutations létales dominantes dans les chromosomes sexuels (Langley *et al.*, 1974). Chez une femelle accouplée à un mâle stérile, le développement de la plupart des œufs fécondés par les spermatozoïdes stériles est inhibé par des processus lytiques. Ainsi, les œufs non développés sont expulsés de l'utérus de la femelle quelques jours après la fécondation (Matolin, 1982). Les femelles accouplées à des mâles stériles devraient donc avoir un faible taux de larviposition. Or, d'après nos résultats, sur une période de 45 jours, il y a plus de deux pupes par femelle initiale dans les lots de femelles accouplées à des mâles stériles, résultats similaires aux lots témoins de femelles accouplées avec des mâles fertiles. Nous avons donc contacté l'AIEA, qui nous avait fourni ces mâles stériles, pour leur faire part de nos résultats et après vérification ils nous ont informé qu'une erreur s'était produite et que le lot de mâles

supposés stériles n'avait en réalité pas été irradié. C'est pourquoi, dès lors, nous nous focaliserons sur l'effet du PP sur la seule fertilité des glossines, soit l'impact de ce biocide sur le taux d'émergence des pupes.

Un certain nombre d'avortons sont présents dans la plupart des lots de femelles lors de cette expérience, cependant ce nombre n'est pas différent du nombre d'avortons produits dans un élevage sain de glossines en insectarium (Rapport insectarium CIRAD, 2013). En effet, le PP agit au niveau de la pupaison, c'est-à-dire du développement de la glossine dans le puparium (Langley *et al.*, 1990). Nous nous attendons donc à observer des taux d'émergence de pupes provenant de femelles accouplées à des mâles traités au PP beaucoup plus faibles que ceux des pupes provenant de femelles accouplées à des mâles non traités. Le seuil critique du taux d'émergence des glossines d'élevage est estimé à 85 %, en deçà l'élevage est considéré en productivité non satisfaisante (Itard et Bauer, 1984). Le faible pourcentage de glossines pouvant émerger des lots traités au PP va probablement entraîner la présence de mouches ténérales déformées ou ayant des difficultés à voler.

D'après Langley *et al.* (1990), les trois premières pupes produites par une femelle ayant reçu au moins 10 ng de PP sont toutes non viables. Cela suggère que la capacité de reproduction des femelles sauvages, accouplées avec des mâles stériles traités au PP et ayant reçu au moins 10 ng de PP, est totalement perturbée. Nous nous attendons ainsi à observer, pour au moins les trois premières pupes de femelles ayant reçu du PP, une descendance non viable. Cette hypothèse sera vérifiée à l'issue de notre expérimentation toujours en cours à ce jour.

4. Conclusion

Lors de cette évaluation au laboratoire des effets du PP chez *G. p. gambiensis*, nous avons donc montré que le PP n'a pas d'impact significatif sur la survie des mâles stériles et que ce biocide persiste peu sur les glossines au cours du temps. Toutefois, il reste suffisamment de PP sur les glossines 24h après imprégnation, laps de temps durant lequel les mâles stériles peuvent encore transmettre une dose théoriquement suffisante de PP à la femelle lors de l'accouplement pour avoir un impact sur la fécondité de la population. De plus, nous avons montré qu'un transfert horizontal de PP s'opère d'un mâle stérile à une femelle lors de l'accouplement, mais également lors d'un simple contact. Ainsi, la nouvelle formulation en poudre (F15) s'est révélée plus efficace en terme de transfert de PP que l'ancienne formulation liquide utilisée précédemment (F8). En effet, au vue de ces résultats, l'approche « Boosted SIT » mise en application à grande échelle pourra cibler concomitamment dans une population sauvage, les femelles vierges (action de la TIS) et les femelles déjà inséminées (action du PP).

Néanmoins, nous n'avons pas encore obtenu tous les résultats de nos expérimentations quant à l'impact du PP sur la fertilité des femelles de *G. p. gambiensis*. Il serait intéressant de réitérer cette dernière expérience avec des mâles stériles, dont l'irradiation a bien été effectuée.

Pour que la « Boosted SIT » ait un impact sur les populations locales de vecteurs, il est nécessaire de tester également en conditions expérimentales puis sur le terrain la compétitivité des mâles stériles traités au PP vis-à-vis des mâles sauvages, notamment en terme de capacité de vol et de comportement d'accouplement. Cela nous permettrait de déterminer la proportion de mâles stériles traités au PP à lâcher par rapport à la population de mâles sauvages pour que cette méthode soit efficace. Le ratio « mâle stérile PP : mâle sauvage » dépendant aussi de la taille et de la dynamique des populations et du contexte climatique et environnemental.

L'utilisation de mâles stériles comme convoyeurs spécifiques pour contaminer les femelles avec du PP, combinée à la compétitivité sexuelle avec les mâles sauvages, correspond à une stratégie intégrée en elle-même (Bouyer et Lefrançois, 2014). Dans le cas où la population de glossines développerait une résistance au PP, le transfert de sperme stérile empêcherait la propagation de la résistance. De plus, l'efficacité de la TIS augmente avec la réduction de la population, en raison d'une augmentation du rapport mâles stériles / mâles sauvages, qui pousse la population à l'éradication. Une autre application possible de ce principe est la contamination spécifique des femelles sauvages à l'aide de micro-organismes connus pour contrôler les glossines, tels que des densovirus, des champignons ou des bactéries entomopathogènes (Kaaya et Darji, 1989 ; Maniania, 2002).

Aussi, l'approche « Boosted SIT », comme la TIS, n'est pas moins coûteuse qu'une méthode de lutte classique, telle que la lutte physique qui nécessite l'utilisation de pièges classiques ou de pièges imprégnés de pyréthrianoïdes de synthèse (Laveissière et Challier, 1979). Elle demande beaucoup d'efforts et de ressources quant à l'élevage et l'irradiation des mâles. Cependant elle pourrait être plus efficace et spécifique, en raison du couplage de la TIS avec l'auto-dissémination d'un biocide. Enfin, cette nouvelle approche permet d'éviter les contraintes d'implantation et d'entretien que l'on retrouve dans la lutte physique contre les glossines (De La Rocque et Cuisance, 2005). La TIS ayant montré son efficacité à l'échelle insulaire ou sur des populations isolées, nous pensons que l'approche « Boosted SIT » pourrait être déployée à une échelle plus importante si elle s'avère efficace en conditions opérationnelles.

BIBLIOGRAPHIE

- Abila, P.P., Kiendrebeogo, M., Mutika, G.N., Parker, A.G., Robinson, A.S., 2003. The effect of age on the mating competitiveness of male *Glossina fuscipes fuscipes* and *Glossina palpalis palpalis*. *J. Insect Sci.* **3**, 13.
- Alberti, C., Timsit, J.-F., Chevret, S., 2005. Analyse de survie : filetest du Logrank. *Rev Mal Respir* **22**, 829–832.
- Awukew, A., Terefe, G., Demisie, T., Eshetu, E., 2017. Immune Responses to Animal Trypanosomiasis: A. *J. Sci. Innov. Res.* **6**, 142–150.
- Bouyer, J., 2018. Mosquito-packed drones ready to join fight against Zika and other deadly diseases – UN agency UN News. URL: <https://news.un.org/en/story/2018/04/1007672>
- Bouyer, J., Lefrançois, T., 2014. Boosting the sterile insect technique to control mosquitoes. *Trends Parasitol.* **30**, 271–273.
- Büscher, P., Cecchi, G., Jamonneau, V., Priotto, G., 2017. Human African trypanosomiasis. *The Lancet.* **390**, 2397-2409.
- Challier, A., 1968. Etude de la présence des cicatrices copulatrices, du degré d'insémination et de leurs variations saisonnières chez les femelles de *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank en zone de savane soudanienne (Haute-Volta). *Cahier ORSTOM. Sér. Ent. Med.* **6**, 55-68.
- Cuisance, D., 1995. Les grandes endémies parasitaires à transmission vectorielle. Glossines et trypanosomes. Département de l'élevage et de médecine vétérinaire, CIRAD-EMVT. Document de Master International sur les Maladies Parasitaire Tropicales, Université de Valencia.
- Cuisance, D., Politzar, H., Clair, M., Sellin, E., Tazé, Y., 1978. Impact des lâchers de mâles stériles sur les niveaux de deux populations sauvages de *Glossina palpalis gambiensis* en Haute-Volta (sources de la Volta Noire). *Rev. Méd. Vét. Pays Trop.* **31**, 315–328.
- Cuisance, D., Politzar, H., Clair, M., Sellin, E., Taze, Y., Bourdoiseau, G., Fevrier, J., 1980. Programme for the control of *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplanck by the sterile-male technique in Upper Volta. A study of operational parameters. *Isot. Radiat. Res. Anim. Dis. Their Vectors.* 249-264.
- Cuisance D., Politzar H., Tamboura I., Merot P., Lamarque G., 1984. Répartition des glossines dans la zone pastorale d'accueil de Sidéradougou, Burkina Faso. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* **37**, 99-113.
- Curtis, C.F., 1968. Radiation sterilization and the effect of multiple mating of females in *Glossina austeni*. *J. Insect Physiol.* **14**, 1365–1380.
- Dagogno, M., Lohuirignon, K., Gouteux, J.-P., 1985. Comportement alimentaire des populations péri-domestiques de *Glossina palpalis* (Robineau-Desvoidy) et de *Glossina tachinoides* (Westwood) du domaine guinéen de Côte d'Ivoire. *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie.* **23**, 3-8.

- Dame, D.A., Schmidt, C.H., 1970. The Sterile-Male Technique Against Tsetse Flies, *Glossina Spp. Bull. Entomol. Soc. Am.* **16**, 24–30.
- De La Rocque, S., Geoffroy, B., Michel, J.F., Borne, F., Solano, P., Meunier, J.Y., Cuisance, D., 2002. Les ailes de glossines, une carte d'identité de l'insecte ? *Parasite*. **9**, 275–281.
- Desquesnes, M., Biteau-Coroller, F., Bouyer, J., Dia, M.L., Foil, L., 2009. Development of a mathematical model for mechanical transmission of trypanosomes and other pathogens of cattle transmitted by tabanids. *Int. J. Parasitol.* **39**, 333–346.
- Duvallet, G., Fontenille, D., Robert, V., 2017. Entomologie médicale et vétérinaire, Quae IRD. ed.
- Dyer, N., Lawton, S., Ravel, S., Choi, K., Lehane, M., Robinson, A., Okedi, L., Hall, M., Solano, P., Donnelly, M., 2008. Molecular phylogenetics of tsetse flies (Diptera: Glossinidae) based on mitochondrial (COI, 16S, ND2) and nuclear ribosomal DNA sequences, with an emphasis on the palpalis group. *Mol. Phylogenet. Evol.* **49**, 227–239.
- Fevre, E.M., Wissmann, B. v, Welburn, S.C., Lutumba, P., 2008. The burden of human African trypanosomiasis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2**, e333.
- Geiger, A., Ravel, S., Mateille, T., Janelle, J., Patrel, D., Cuny, G., Frutos, R., 2006. Vector Competence of *Glossina palpalis gambiensis* for *Trypanosoma brucei s.l.* and Genetic Diversity of the Symbiont *Sodalis glossinidius*. *Mol. Biol. Evol.* **24**, 102–109.
- Glasgow, J.P., 1961. Selection for Size in Tsetse Flies. *J. Anim. Ecol.* **30**, 87–94.
- Green, C.H., 1986. Effects of colours and synthetic odours on the attraction of *Glossina pallidipes* and *G. morsitans morsitans* to traps and screens. *Physiol. Entomol.* **11**, 411–421.
- Gruvel, J., 1975. Données générales sur l'écologie de *Glossina tachinoides* (Westwood, 1850), dans la Réserve de Kalamaloué: vallée du bas-Chari. *Rev. El. Méd Vét. Pays Trop.* **28**, 27–40.
- H Arthur, F., Siwei, L., Baige, Z., W Phillips, T., 2009. Residual efficacy of pyriproxyfen and hydroprene applied to wood, metal and concrete for control of stored-product insects. *Pest Manag. Sci.* **65**, 791–797.
- Ishaaya, I., De Cock, A., Degheele, D., 1994. Pyriproxyfen, a Potent Suppressor of Egg Hatch and Adult Formation of the Greenhouse Whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* **87**, 1185–1189.
- Itard, J., 1986. Les glossines ou mouches tsé-tsé. Étude et synthèses de l'IEMTV **15**
- Itard, J., 1983. Les glossines. Publication ENS/III.99. Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. *Division de l'Enseignement, Maisons-Alfort, France.*
- Itard, J., 1970. L'appareil reproducteur mâle des glossines (Diptera-muscidae). Les étapes de sa formation chez la puppe la spermatogénèse. *Rev. Ele Méd Vét. Pays Trop.* **23**, 57–81.
- Itard, J., 1968. Stérilisation des mâles de *Glossina tachinoides* West. par irradiation aux rayons

gamma. *Rev. Ele Méd Vét. Pays Trop.* **21**, 479–491.

Itard, J., Bauer, B., 1984. Elevages de glossines. Synthèse. *Rev. Ele Méd Vét. Pays Trop.* **37**, 143–175.

Itard, J., Cuisance, D., Tacher, G., 2003. Trypanosomoses : historique - répartition géographique. In : Lefèvre Pierre-Charles, Blancou Jean, Chermette René. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. 1607-1615

Jannin, J., Simarro, P.P., Louis, F.J., 2003. Le concept de maladie négligée. *Méd. Trop.* **63**, 219–221.

Jobling, B., 1933. A Revision of the Structure of the Head, Mouth-part and Salivary Glands of *Glossina palpalis* Rob.-Desv. *Parasitology* **24**, 449-490.

Junichi, W., Masahira, H., Berriman, M., Lehane, M., 2014. Genome Sequence of the Tsetse Fly (*Glossina morsitans*): Vector of African Trypanosomiasis. *Science* **344**(6182), 376–380.

Kaaya, G.P., Darji, N., 1989. Mortality in adult tsetse, *Glossina morsitans morsitans*, caused by entomopathogenic bacteria. *J. Invertebr. Pathol.* **54**, 32–38.

Kabayo, J.P., Langley, P.A., 1985. The nutritional importance of dietary blood components for reproduction in the tsetse fly, *Glossina morsitans*. *J. Insect Physiol.* **31**, 619–624.

Langley, P.A., Clutton-Brock, T., 1997. Persistent courtship reduces male and female longevity in captive tsetse flies *Glossina morsitans morsitans* Westwood (Diptera: Glossinidae) | *Behavioral Ecology*. **8**, 392-395.

Langley, P.A., Curtis, C.F., Brady, J., 1974. The Viability, Fertility and Behaviour of Tsetse Flies (*Glossina morsitans*) Sterilized by Irradiation Under Various Conditions. *Entomol. Exp. Appl.* **17**, 97–111.

Langley, P.A., Felton, T., Oouchi, H., 1988. Juvenile hormone mimics as effective sterilants for the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans*. *Med. Vet. Entomol.* **2**, 29–35.

Langley, P.A., Felton, T., Stafford, K., Oouchp, H., 1990. Formulation of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, for tsetse control. *Med. Vet. Entomol.* **4**, 127–133.

Laroche, L., 2017. Renforcer l'impact de la technique de l'insecte stérile chez les glossines, étude du transfert de pyriproxyfène du mâle stérile à la femelle en conditions expérimentales (Master 1). Université de Montpellier.

Laveissière, C., Challier, A., 1979. Importance des études écologiques pour la lutte contre les glossines : perspectives d'avenir, in : La lutte contre les insectes en milieu tropical : deuxième partie. *Santé humaine et animale. Chambre de Commerce et d'Industrie de Marseille.* **2**, 1041-1045.

Laveissière, C., Couret, D., 1981. Essai de lutte contre les glossines riveraines à l'aide d'écrans imprégnés d'insecticide en zone de savane humide. 5. Note de synthèse. *Cahiers ORSTOM (Entomologie médicale et Parasitologie)* **19**, 49–54.

Magez, S., Radwanska, M., 2009. African trypanosomiasis and antibodies: implications for

vaccination, therapy and diagnosis. *Future Microbiol.* **4**, 1075–1087.

Maniania, N.K., 2002. A Low-cost Contamination Device for Infecting Adult Tsetse Flies, *Glossina spp.*, with the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* in the Field. *Biocontrol Sci. Technol.* **12**, 59–66.

Matolin, S., Van der Vloedt, A.M.V., 1982. Changes in the egg of the tsetse fly, *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Glossinidae), after fertilization by sperm of gamma-irradiated males. *Proc. Symp. on sterile insect technique and radiation in insect control*, IAEA-SM-255/31, Neuherberg. 29 June-3 July 1981, 155-168.

McKight, P.E., Najab, J., 2010. Kruskal-Wallis Test, in: *The Corsini Encyclopedia of Psychology*. American Cancer Society, pp. 1–1.

Meschi, P.-X., 2006. Réseaux inter-organisationnels et survie des alliances. *Rev. Fr. Gest.* **164**, 33–53.

Mubarqui, R.L., Perez, R.C., Kladt, R.A., Lopez, J.L.Z., Parker, A., Seck, M.T., Sall, B., Bouyer, J., 2014. The Smart Aerial Release Machine, a Universal System for Applying the Sterile Insect Technique. *PLoS One.* **9**, e103077.

Murray, M., Gray, A.R., 1984. The current situation on animal trypanosomiasis in Africa. *Prev. Vet. Med.* **2**, 23–30.

Neuhäuser, M., 2011. Wilcoxon–Mann–Whitney Test, in: *International Encyclopedia of Statistical Science*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1656–1658.

OMS, 2015. Trypanosomiase Humaine Africaine Lutte et Surveillance. *World Health Organization*.

OMS, 2009. Pyriproxyfen in drinking-water : background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. *World Health Organization*.

Pagot, J., Itard, J., Chomat, M., 1973. Une membrane synthétique utilisée pour la nourriture artificielle des Glossines (Diptera-Muscidae). *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* **26**, 43–53.

Politzar, H., Cuisance, D., 1984. An integrated campaign against riverine tsetse, *Glossina palpalis gambiensis* and *Glossina tachinoides* by trapping, and the release of sterile males. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **5**, 439–442.

Pollock, J.N., 1970. Sperm Transfer by Spermatophores in *Glossina austeni* Newstead. *Nature* **225**, 1063–1064.

Rayaisse, J.-B., 2011. Development of tools to control Palpalis group tsetse flies in West Africa. Doctoral dissertation, Neuchâtel University.

Sané, B., Solano, P., Garcia, A., Fournet, F., Laveissière, C., 2000. Variations intraspécifiques de la taille des ailes et du thorax chez *Glossina palpalis palpalis* (Robineau-Desvoidy, 1830) en zone forestière de Côte d'Ivoire. *Rev. Ele. Méd. Vét. Pays Trop.* **53**, 245–248.

Schneider, M., Smagghe, G., Pineda, S., Vinuela, E., 2007. The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): pharmacokinetics

approach. *Ecotoxicology* **17**(3), 181.

Seck, M.T., Pagabeleguem, S., Bassene, M.D., Fall, A.G., Diouf, T.A.R., Sall, B., Vreysen, M.J.B., Rayaissé, J.-B., Takac, P., Sidibé, I., Parker, A.G., Mutika, G.N., Bouyer, J., Gimonneau, G., 2015. Quality of Sterile Male Tsetse after Long Distance Transport as Chilled, Irradiated Pupae. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **9**, e0004229.

Shieh, G.S., 1998. A weighted Kendall's tau statistic. *Stat. Probab. Lett.* **39**, 17–24.

Sihuincha, M., Zamora-perea, E., Orellana-rios, W., Stancil, J.D., López-sifuentes, V., Vidal-oré, C., Devine, G.J., 2005. Potential Use of Pyriproxyfen for Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Perú. *J. Med. Entomol.* **42**, 620–630.

Solano, P., 1998. Implications épidémiologiques de la variabilité génétique des populations de glossines. Cas de *Glossina palpalis* en Afrique de l'Ouest. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier.

Solano, P., Kaba, D., Ravel, S., Dyer, N.A., Sall, B., Vreysen, M.J.B., Seck, M.T., Darbyshir, H., Gardes, L., Donnelly, M.J., De Meeûs, T., Bouyer, J., 2010. Population genetics as a tool to select tsetse control strategies: suppression or eradication of *Glossina palpalis gambiensis* in the Niayes of Senegal. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **4**, e692.

Sullivan, J., Goh, K., 2008. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. *Calif. Environ. Prot. Agency Dep. Pestic. Regul.* **33**, 339–350.

Tanguy, J., 2017. Les Insectes : Morphologie, Anatomie, Développement post-embryonnaire, Diversité, Importance agronomique. Document de classe préparatoire.

Tasei, J.-N., 1996. Impact des pesticides sur les Abeilles et les autres pollinisateurs. *Courr. Environ. INRA.* **29**, 9–18.

Tibayrenc, R., Itard, J., Cuisance, D., 1971. Marquage des glossines par des poudres fluorescentes. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* **24**, 277–286.

Touré, S., 1974. Note sur quelques particularités dans l'habitat de *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank, 1949 (Diptera, Glossinidae) observées au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* **27**, 81–94.

Touré, S.M., Mortelmans, J., 1990. Impact of African animal trypanosomosis. *Bull. Séances Académie R. Sci. O.-m.* **36**, 239–257.

Troncy, P.M., Itard, J., Morel, P.-C., 1981. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.

Van der Vloedt, A.M.V., Barnor, H., 1984. Effects of ionizing radiation on tsetse biology. Their relevance to entomological monitoring during integrated control programmes using the sterile insect technique. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **5**, 431–437.

Verhulst, N.O., Loonen, J.A., Takken, W., 2013. Advances in methods for colour marking of mosquitoes. *Parasit. Vectors.* **6**, 7.

Vreysen, M.J.B., Saleh, K., Mramba, F., Parker, A., Feldmann, U., Dyck, V.A., Msangi, A.,

Bouyer, J., 2014. Sterile Insects to Enhance Agricultural Development: The Case of Sustainable Tsetse Eradication on Unguja Island, Zanzibar, Using an Area-Wide Integrated Pest Management Approach. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8**, e2857.

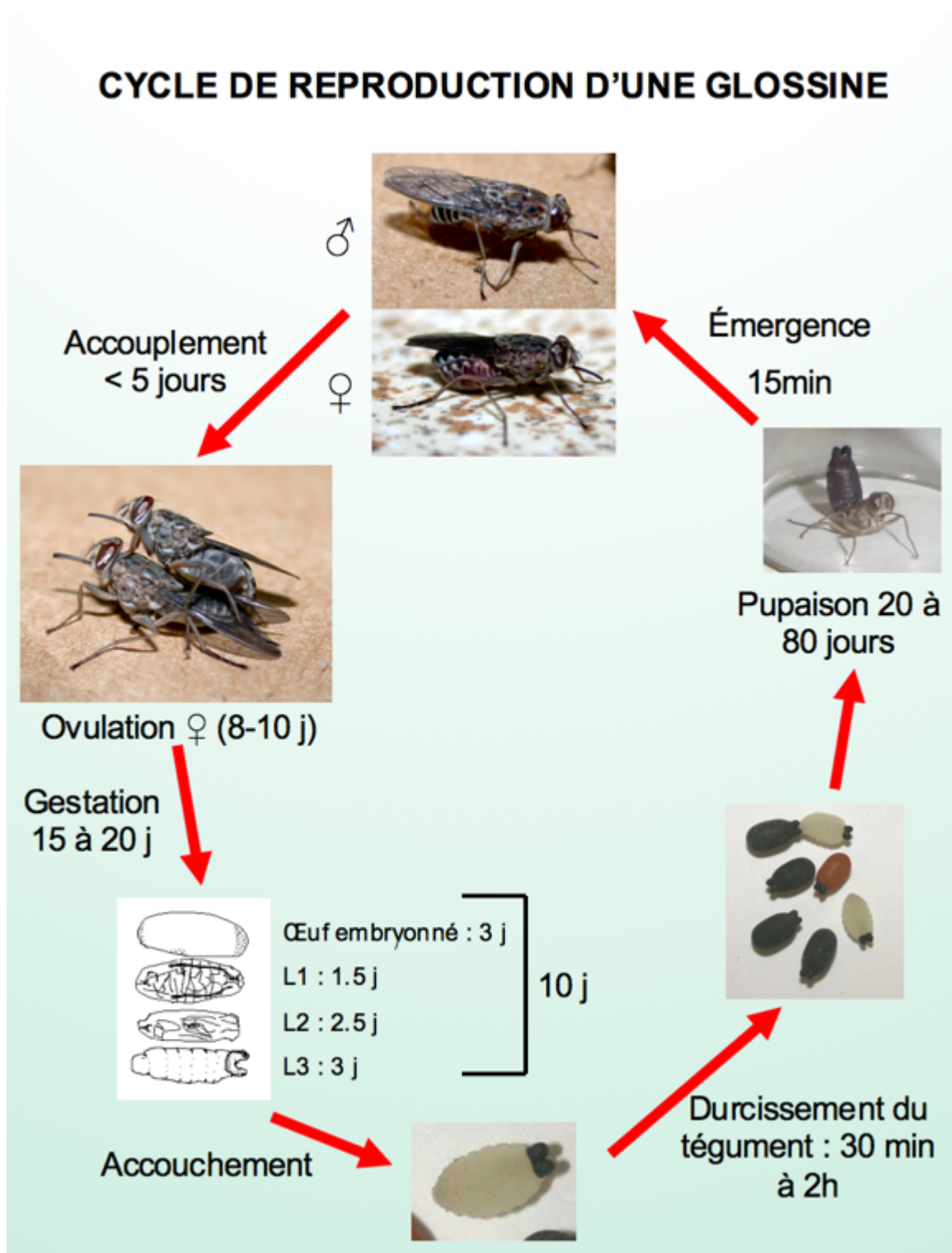
Vreysen, M.J.B., Saleh, K.M., Ali, M.Y., Abdulla, A.M., Zhu, Z.-R., Juma, K.G., Dyck, V.A., Msangi, A.R., Mkonyi, P.A., Feldmann, H.U., 2000. *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) Eradicated on the Island of Unguja, Zanzibar, Using the Sterile Insect Technique. *J. Econ. Entomol.* **93**, 123–135.

Wang, Y., Suman, D.S., Bertrand, J., Dong, L., Gaugler, R., 2014. Dual-treatment autodissemination station with enhanced transfer of an insect growth regulator to mosquito oviposition sites. *Pest Manag. Sci.* **70**, 1299–1304.

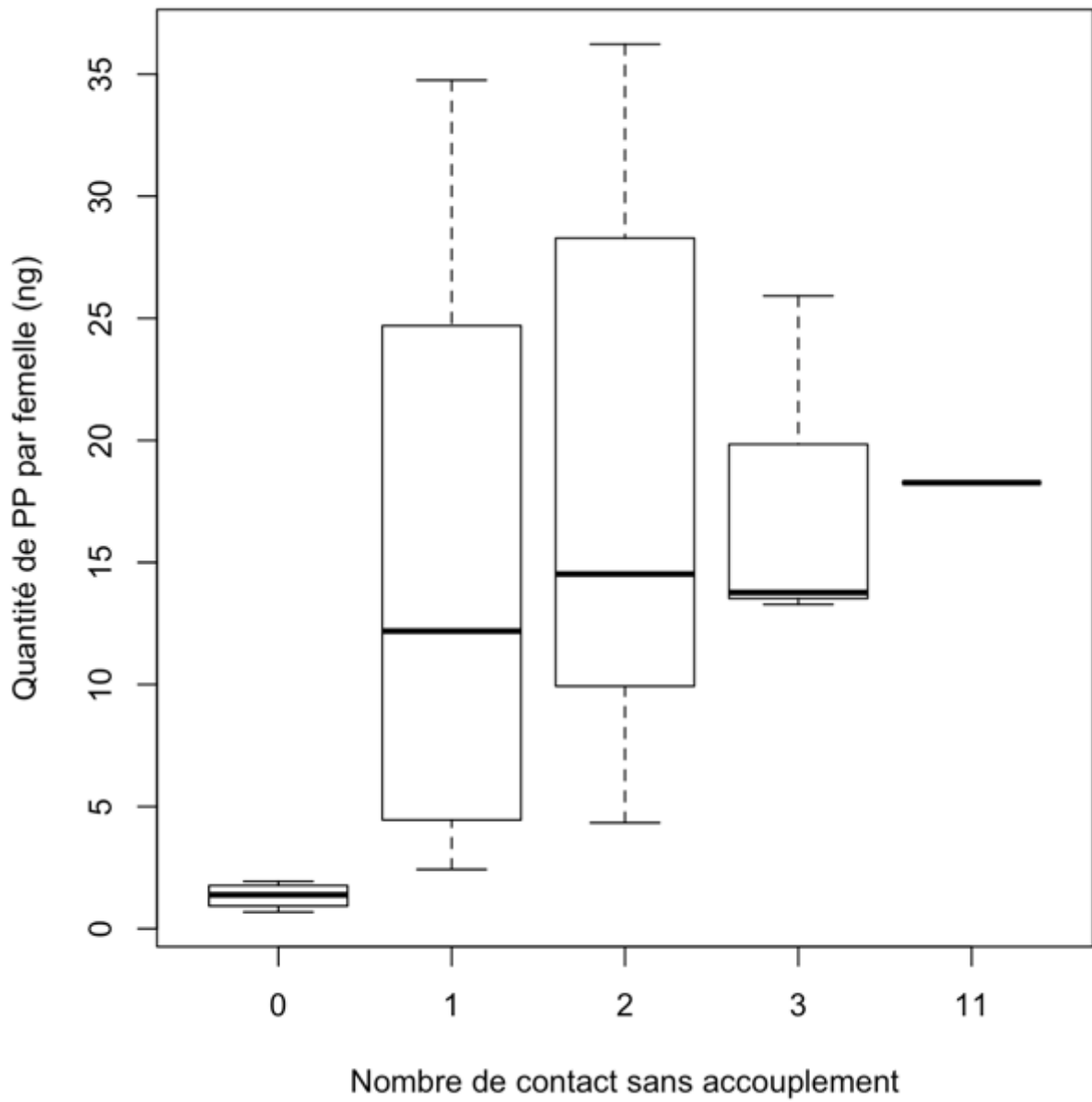
Zinga Koumba, C.R., Mounioko, F., Koumba, A.A., Julien Zahouli BI Zahouli, Maroundou, A.P., Acapovi-Yao, G., M'Batchi, B., Mavoungou, J.F., 2018. Évaluation de la composition spécifique des glossines, vectrices de la Trypanosomose Humaine Africaine, dans la région de Ndendé au sud du Gabon. *J. Appl. Biosc.* **123**, 12363-12370.

Zyss, J., 2013. Molecular Nonlinear Optics: Materials, Physics, and Devices. *Academic Press*.

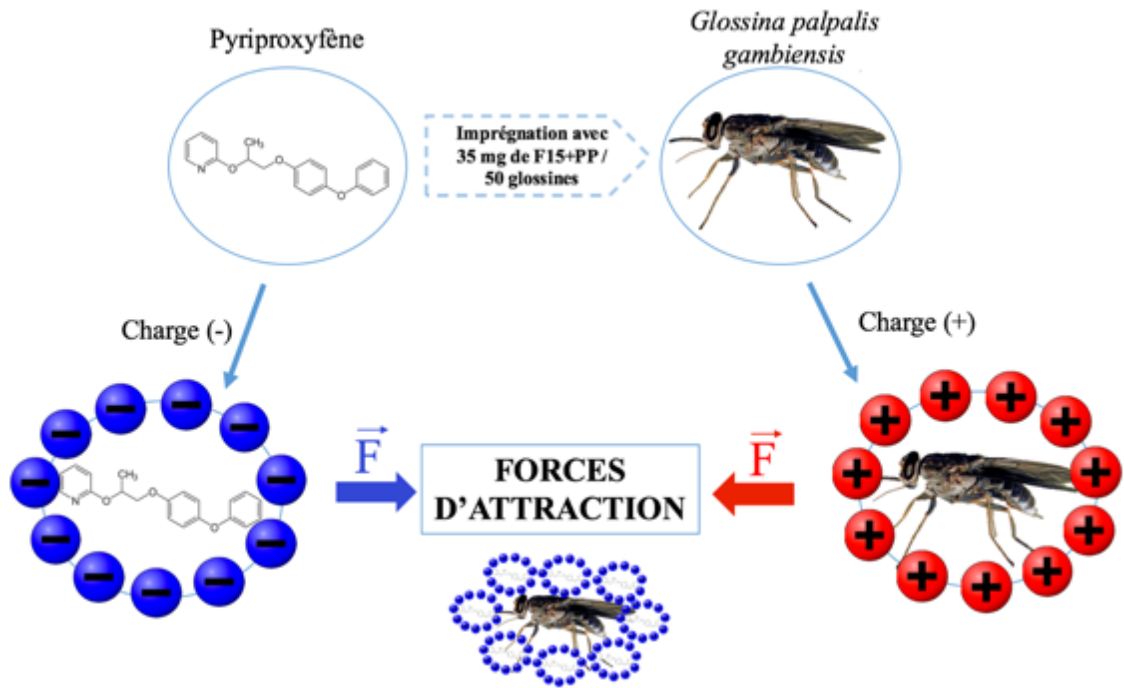
ANNEXES



Annexe A : Cycle de développement d'une glossine. Inspiré de J. Janelle, 2004. Source photographie : J. Janelle CIRAD ; B. Tchicaya CIRAD.



Annexe B : Quantité de PP (ma) reçue par femelle après différents nombres de contacts sans accouplement avec un mâle stérile traité 3h avant.



Annexe C : Représentation des forces attractives entre le pyriproxyfène de la formulation F15+PP et la glossine lors de l'imprégnation. (Inspiré de Bouyer J., 2017).

RÉSUMÉ

La glossine, ou mouche tsé-tsé, est un diptère hématophage africain vecteur principal de trypanosomes provoquant chez différents mammifères une pathologie à l'issue généralement fatale en l'absence de traitement. Afin de réduire l'impact de l'espèce *Glossina palpalis gambiensis* sur les populations africaines, il est nécessaire de passer par un contrôle spécifique du vecteur. Une méthode de lutte antivectorielle a déjà fait ses preuves sur une population insulaire de glossines, la Technique de l'Insecte Stérile (TIS). Une nouvelle approche, combinant la TIS à l'auto-dissémination du pyriproxifène (PP), a été proposée pour contrôler des populations du vecteur à grande échelle, la *Boosted SIT*. Nos travaux visent à déterminer la dynamique de transfert du PP d'un mâle stérile à une femelle ainsi que l'impact du PP sur la fécondité des femelles. Pour cela, nous mettons au point une méthode de traitement des mâles stériles par imprégnation avec une poudre contenant 40 % de PP. Nos résultats montrent que le PP n'a pas d'impact significatif sur la survie des mâles stériles traités. Cependant la perte de 50% de PP initial par mâle stérile traité, en 3h, indique la faible rémanence de ce biocide sur les glossines. De plus, nous montrons qu'un transfert horizontal du PP s'opère d'un mâle stérile traité à une femelle. Lors de l'accouplement, la femelle reçoit en moyenne 50 ng de PP et lors d'un simple contact elle reçoit plus de 10 ng de PP. Une dernière expérience en cours vise à évaluer l'impact du PP sur la fécondité des femelles. Ces premiers résultats laissent envisager l'application à grande échelle de l'approche *Boosted SIT* contre les glossines vectrices de trypanosomes en Afrique tropicale.

Mots-clés : *Glossina palpalis gambiensis*, Boosted SIT, pyriproxifène, survie, rémanence, transfert, fécondité

ABSTRACT

Glossina, or tsetse fly, is an African hematophagous dipteran, main vector of trypanosome can cause on some mammals a pathology, which, when carried without treatment, generally leads to a fatal outcome. To reduce the impact of the specie *Glossina palpalis gambiensis* on African's populations, it is necessary to realize a specific vector control. A vector control method, the Sterile Insect Technique (SIT), has already been proven successful when it was conducted on an island population of tsetse flies. A new approach, named Boosted SIT, combining SIT with self-dissemination of pyriproxifen (PP) has been proposed to large-scale vector population control. Our work aims it to determine the PP transfer dynamic from a sterile male to a female during mating, as well as the impact of PP on female fertility. For this purpose, we are developing treatment method of sterile males by impregnating them with a powder containing 40 % of PP. The results show that PP has no impact on the sterile male survival. However, the loss of 50 % of initial PP in 3h indicates the low remanence of PP on sterile male. In addition, we show that a horizontal transfer is carried out from sterile treated male to female. During mating, female receives on average 50 ng of PP and during a single contact it receives more than 10 ng of PP. We are also currently trying to assess the PP impact on the females' fertility. These first results suggest the large-scale application of the Boosted SIT approach against glossina's vector in tropical Africa.

Key words: *Glossina palpalis gambiensis*, Boosted SIT, pyriproxifen, survival, remanence, transfer, fertility