

Master Gestion Intégrée des Zoonoses et Maladies Animales Tropicales

Année 2024-2025



Rôle des moustiques dans l'émergence du virus Oropouche (OROV) : distribution, traits biologiques et potentiel vectoriel de deux espèces de moustiques en Guyane :

*Culex portesi* et *Coquillettidia venezuelensis* (Diptera : Culicidae)



Rapport de stage

Réalisé au sein l'Unité d'Entomologie Médicale de l'Institut Pasteur de la  
Guyane

Sous la direction de **Jean-Bernard DUCHEMIN**

Présenté par **Morgane PEREIRA DE OLIVEIRA**

Le 21/08/2025

# Résumé

Le virus Oropouche (OROV), Orthobunyavirus découvert en 1955, a connu une émergence épidémique majeure en 2024 avec plus de 25 000 cas confirmés dans treize pays des Amériques. La Guyane française, hotspot de biodiversité abritant 242 espèces de moustiques et plus de 30 arbovirus, constitue un territoire critique pour l'étude des mécanismes d'émergence virale. Cette étude vise à évaluer le potentiel vectoriel de *Coquillettidia venezuelensis* pour OROV et de caractériser la distribution spatiotemporelle de *Coquillettidia venezuelensis* et *Cx. Portesi*.

L'analyse de 4 021 sessions de piégeage (2009-2025) révèle une hétérogénéité spatiale marquée : *Cq. venezuelensis* domine en forêts primaires (2 920 captures/session) tandis que *Cx. portesi* privilégie les zones ouvertes. Un paradoxe saisonnier émerge avec des pics d'abondance durant la saison sèche (juillet-novembre), identifiant des fenêtres de risque épidémique contre-intuitives.

L'infection expérimentale de *Cq. venezuelensis* (n=107) démontre une compétence vectorielle limitée pour OROV : taux d'infection maximal de 12,2% à 7 jours post-infection, dissémination décroissante (24,4% à 4,8%) mais absence totale de transmission salivaire. Cette barrière salivaire efficace limite son rôle vectoriel, contrastant avec l'efficacité de *Culicoides paraensis* (>80%).

Ces résultats orientent les stratégies de surveillance vers une approche spatiotemporelle intégrée, privilégiant les interfaces forêt-habitat anthropisé durant juillet-novembre. Dans le contexte d'émergence mondiale d'OROV, cette recherche contribue à l'anticipation des risques arboviraux face aux pressions anthropiques sur les écosystèmes amazoniens, s'inscrivant dans la démarche One Health du projet AMAZED.

**Mots Clefs** : Emergence virale ; Cycle de transmission ; Compétence vectorielle ; One Health ; Oropouche ; *Coquillettidia venezuelensis* ; *Culex. portesi*

## Summary

Oropouche virus (OROV), an Orthobunyavirus discovered in 1955, experienced a major epidemic emergence in 2024 with over 25,000 confirmed cases across thirteen countries in the Americas. French Guiana, a biodiversity hotspot hosting 242 mosquito species and more than 30 arboviruses, is a critical territory for investigating mechanisms of viral emergence. This study aims to assess the vector potential of *Coquillettidia venezuelensis* for OROV and to characterize the spatiotemporal distribution of *Coquillettidia venezuelensis* and *Cx. portesi*.

Analysis of 4,021 trapping sessions (2009–2025) reveals pronounced spatial heterogeneity: *Cq. venezuelensis* predominates in primary forests (2,920 captures/session) while *Cx. portesi* favors open areas. A seasonal paradox was observed, with abundance peaks during the dry season (July–November), identifying counterintuitive epidemic risk windows.

Experimental infection of *Cq. venezuelensis* (n=107) demonstrated limited vector competence for OROV: a maximum infection rate of 12.2% at 7 days post-infection, declining viral dissemination (24.4% to 4.8%), but complete absence of salivary transmission. This effective salivary barrier restricts its vector role, contrasting with the high efficiency of *Culicoides paraensis* (>80%).

These findings refocus surveillance strategies toward an integrated spatiotemporal approach, emphasizing forest–human habitat interfaces during July–November. In the context of global OROV emergence, this research supports anticipation of arboviral risks in response to anthropogenic pressures on Amazonian ecosystems, aligning with the One Health vision of the AMAZED project.

**Key words** : Viral emergence; Transmission cycle ; Vector competence; One Health ; Oropouche; *Coquillettidia venezuelensis*; *Culex portesi*

# Sommaire

|   |    |
|---|----|
| Résumé .....  | 2  |
| Summary .....   | 3  |
| Listes des Figures .....  | 6  |
| Liste des tables .....  | 7  |
| Liste des abréviations .....  | 8  |
| Introduction .....  | 9  |
| I. Les arboviroses dans le monde : enjeux et contexte .....   | 9  |
| 1) Définition/classification et importance en santé publique .....                                    | 9  |
| 2) Facteurs d'émergence et de ré-émergence virale.....  | 9  |
| 3) Importance des moustiques comme vecteurs.....  | 9  |
| II. Émergence d'arbovirus en Amérique du Sud et expansion récente.....                                | 10 |
| 1) Épidémies d'arbovirus majeures : modèles d'amplification explosive.....                            | 10 |
| 2) Arbovirus négligés : une diversité méconnue .....  | 10 |
| 3) Le virus Oropouche : paradigme de l'émergence des bunyavirus.....                                  | 11 |
| III. Les moustiques : principaux vecteurs d'arbovirus.....  | 11 |
| 1) Définitions, classification et biologie générale .....   | 11 |
| 2) Importance en épidémiologie.....   | 12 |
| 3) Traits d'histoire de vie influençant la transmission .....   | 12 |
| 4) La Guyane Française : écosystème forestier à haut risque .....                                     | 13 |
| IV. Le virus Oropouche .....  | 14 |
| 1) Structure virale et organisation génomique .....   | 15 |
| 2) Manifestations cliniques et diagnostic différentiel .....  | 15 |
| 3) Cycle de transmission du virus Oropouche.....  | 16 |
| 4) Émergence d'OROV en Guyane française : l'épidémie de Saül (2020) .....                             | 18 |
| 5) Vecteurs suspectés ou confirmés ailleurs .....   | 18 |
| 7) Candidats potentiels en Guyane : <i>Coquillettidia venezuelensis</i> et <i>Culex portesi</i> ..... | 19 |
| V. Compétence vectorielle, capacité vectorielle et risque d'émergence.....                            | 20 |
| 1) Définition de la compétence vectorielle.....   | 20 |
| 2) Définition de la capacité vectorielle.....   | 20 |
| 3) Lien avec le risque d'émergence virale en Guyane ?.....  | 21 |
| Problématique et objectifs du stage.....  | 22 |
| Matériel et Méthodes.....   | 23 |

|      |  |    |
|------|--|----|
| I.   | Etude de la distribution spatiale et de la dynamique saisonnière des populations de <i>Culex portesi</i> et <i>Coquilletidia venezuelensis</i> ..... | 23 |
| 1)   | Recueil des données ; Sites d'études, sources, et projets .....  | 23 |
| 2)   | Création et homogénéisation d'une base de données .....  | 24 |
| 3)   | Analyse des données de piégeage de moustiques en Guyane française.....   | 24 |
| II.  | Etude des traits d'histoires de vie de <i>Culex portesi</i> et <i>Coquilletidia venezuelensis</i> .....  | 25 |
| 1)   | Collection des moustiques : méthodes et déroulement d'une session de captures aux pièges CDC avec carboglace et sites de capture .....               | 25 |
| 2)   | Mesure de paramètres écologiques et élevage .....  | 27 |
| III. | Infection expérimentale et Compétence vectorielle sur <i>Coquilletidia venezuelensis</i> avec le virus Oropouche .....                               | 29 |
| 1)   | Conditionnement des adultes pour entrer dans le P3 .....   | 29 |
| 2)   | Pendant le P3 (gorgement, dissection/salivation etc..).....  | 29 |
| 3)   | Après le P3 (extraction ARN ; rt-qPCR).....  | 30 |
|      | Résultats .....  | 31 |
| I.   | Analyse spatio-temporelle rétrospective .....  | 31 |
| 1)   | Analyse descriptive .....  | 31 |
| 2)   | Cartographie du risque spatio-temporelle .....   | 34 |
| II.  | Données de terrain.....  | 35 |
| 1)   | Piégeage La Levée .....  | 35 |
| III. | Paramètres écologiques et élevages .....   | 38 |
| 1)   | Elevage de <i>Culex portesi</i> .....  | 38 |
| 2)   | Traits biologiques de <i>Culex portesi</i> et <i>Coquilletidia venezuelensis</i> .....   | 40 |
| IV.  | Infection expérimentale et compétence vectorielle .....  | 41 |
|      | Discussion .....   | 43 |
|      | Conclusion.....  | 44 |
|      | Glossaire.....   | 45 |
|      | Bibliographie.....   | 46 |
|      | Annexes.....   | 51 |

# Listes des Figures

Figure 1 : Distribution géographique des cas d'Oropouche cumulés en Amérique du Sud en 2024

*Carte épidémiologique montrant la répartition des cas confirmés d'OROV dans 13 pays des Amériques. Source : Pan American Health Organization 2024* ..... 10

Figure 2 : Carte de la Guyane française

*Localisation géographique et contexte territorial de la Guyane française au sein du bouclier des Guyanes* ..... 12

Figure 3 : Structure virale et organisation génomique du virus Oropouche

*Schéma détaillé de la structure du virion OROV montrant les segments génomiques L, M et S. Source : Romero-Alvarez et al., 2017* ..... 13

Figure 4 : Manifestations cliniques et progression de l'infection par OROV

*Chronologie des symptômes et évolution biphasique de la fièvre d'Oropouche. Source : Srivastava et al., 2025* ..... 14

Figure 5 : Cycles de transmission du virus Oropouche

*Représentation schématique des cycles sylvatique et urbain d'OROV, vecteurs et réservoirs impliqués. Source : Romero-Alvarez et al., 2017* ..... 15

Figure 6 : Méthodologie de construction de la base de données entomologiques

*Cheminement de compilation et d'harmonisation des données de piégeage pour l'analyse spatiotemporelle* ..... 21

Figure 7 : Site expérimental de piégeage de La Levée

*(A) Vue aérienne des différents biotopes, (B) Disposition spatiale des six pièges CDC, (C) Exemple d'installation de piège lumineux avec carboglace* ..... 24

Figure 8 : Efficacité comparative des méthodes de piégeage

*Indices de capture (moustiques/piège-nuit) pour Cx. portesi et Cq. venezuelensis selon 28 types de pièges testés* ..... 30

Figure 9 : Saisonnalité des captures de moustiques vecteurs en Guyane française

*Moyennes mensuelles des captures montrant les pics paradoxaux durant la saison sèche (juillet-novembre)* ..... 31

Figure 10 : Heatmap spatio-temporelle des captures

*Distribution des densités de moustiques dans les 12 localités les plus échantillonnées (2009-2025)* ..... 32

Figure 11 : Évolution temporelle des captures par commune

*Dynamique des populations de Cx. portesi et Cq. venezuelensis dans les 8 communes principales* ..... 32

|   |    |
|---|----|
| Figure 12 : Distribution géographique et biotopes associés<br><i>Cartographie des occurrences de Cq. venezuelensis et Cx. portesi superposée aux couches de biotopes guyanais</i> ..... | 33 |
| Figure 13 : Mortalité de Culex portesi selon les biotopes de piégeage<br><i>Taux de mortalité par emplacement de piège au cours des sessions de capture à La Levée</i> .....            | 34 |
| Figure 14 : Mortalité de Coquillettidia venezuelensis selon les biotopes<br><i>Analyse comparative de la survie post-capture entre les différents habitats échantillonnés</i> .....     | 35 |
| Figure 15 : Distribution des captures entre biotopes<br><i>Répartition différentielle des deux espèces cibles selon les types d'habitats à La Levée</i> .....                           | 35 |
| Figure 16 : Courbe de survie larvaire de Culex portesi<br><i>Évolution de la mortalité durant le développement larvaire montrant la criticité du stade L4</i> .....                     | 36 |
| Figure 17 : Cycle de vie complet de Culex portesi<br><i>Documentation photographique et temporelle de tous les stades de développement. Protocole adapté de Takashi (1968)</i> .....    | 37 |
| Figure 18 : Profils temporels de gorgement<br><i>Évolution des taux de prise alimentaire chez Cx. portesi et Cq. venezuelensis selon l'horaire</i> .....                                | 38 |
| Figure 19 : Activité comportementale circadienne de Cx. portesi<br><i>Enregistrement continu sur 24h comparé aux données historiques de Degallier (1971)</i> .....                      | 39 |
| Figure 20 : Compétence vectorielle de Cq. venezuelensis pour OROV<br><i>Taux d'infection, dissémination et transmission aux jours 7, 14 et 21 post-infection expérimentale</i> .....    | 40 |

## Liste des tables

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1 : Résultats des sessions de captures et d'identification des piégeages menés sur le site de La Levée..... | 35 |
| Tableau 2 : Récapitulatif des résultats de taux d'infection, dissémination et transmission d'OROV pour Cove.....    | 41 |

# Liste des abréviations

ARN : Acide ribonucléique

ATP : Adénosine triphosphate

CHIKV : Virus du chikungunya (Chikungunya virus)

COVE : *Coquillettidia venezuelensis* (abréviation d'espèce)

Cq. : *Coquillettidia* (genre de moustique)

Ct : Cycle threshold (seuil de cycles)

Cx. : *Culex* (genre de moustique)

DENV : Virus de la dengue (Dengue virus)

DR : Taux de dissémination (Dissemination Rate)

IPG : Institut Pasteur de la Guyane

IR : Taux d'infection (Infection Rate)

JPI : Jours Post-Infection

LSB3 : Laboratoire de Sécurité Biologique niveau 3

MAYV : Virus Mayaro (Mayaro virus)

OROV : Virus Oropouche (Oropouche virus)

PBS : Tampon phosphate salin (Phosphate Buffered Saline)

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction)

PSM : Poste de sécurité microbiologique

RT-qPCR : Transcription inverse - PCR quantitative

SVF<sub>d</sub> : Sérum de veau foetal décomplémenté

TCID<sub>50</sub> : Dose infectieuse 50% sur culture tissulaire

TONV : Virus Tonate (Tonate virus)

TR : Taux de transmission (Transmission Rate)

VE : Efficacité vectorielle (Vector Efficiency)

VEE : Encéphalite équine vénézuélienne (Venezuelan equine encephalitis)

WGS84 : World Geodetic System 1984

WNV : Virus West Nile (West Nile virus)

qPCR : PCR quantitative en temps réel

# Introduction

## I. Les arboviroses dans le monde : enjeux et contexte

### 1) Définition/classification et importance en santé publique

Les arboviroses désignent l'ensemble des infections causées par des virus transmis biologiquement entre un vertébré sensible et un arthropode hématophage, principalement les moustiques, mais aussi les tiques, phlébotomes ou cératopogonidés. Ces pathogènes circulent dans la nature via des cycles complexes impliquant des animaux réservoirs (souvent des espèces sauvages) et des insectes vecteurs qui assurent leur dissémination entre hôtes vertébrés. Près de 537 espèces d'arbovirus sont actuellement recensées au sein des familles Flaviviridae, Togaviridae, Reoviridae, Rhabdoviridae ainsi que dans l'ordre des Bunyavirales, dont plus de 150 sont reconnues comme pathogènes pour l'être humain. **(Silva, 2017)** Au cours des quatre dernières décennies, les arboviroses sont devenues un enjeu majeur de santé mondiale. Cette importance croissante résulte à la fois de la résurgence d'agents bien établis comme le virus West Nile (WNV), la dengue (DENV) ou le chikungunya (CHIKV), mais aussi de l'émergence soudaine de nouveaux virus d'importance sanitaire, comme le virus Zika. **(Musso et al., 2022)**

### 2) Facteurs d'émergence et de ré-émergence virale

#### a) *Changements environnementaux et pressions anthropiques*

Ces dernières décennies, nos écosystèmes font face à de fortes pressions anthropiques qui modifient profondément la dynamique des cycles arboviraux. La déforestation rapide, l'expansion urbaine désordonnée et la conversion des terres pour l'agriculture augmentent les interfaces homme-vecteur-pathogène. En Amazonie, par exemple, le morcellement forestier multiplie les zones de contact entre populations humaines et cycles zoonotiques, précipitant de nouveaux événements de spillover. Cette forêt tropicale, hotspot mondial de biodiversité, subit la plus forte perte annuelle de couverture végétale parmi les régions tropicales, modifiant profondément les aires de répartition des moustiques vecteurs. **(Sciancalepore et al., 2022)** Un exemple concret de cette dynamique est illustré par la construction de la route Belém-Brasília en 1958. S'étendant à travers les États du Pará, Maranhão, Tocantins et Goiás, cette infrastructure a nécessité le défrichage de vastes zones forestières et l'altération des cours d'eau. Deux années seulement après sa construction, le virus Oropouche (OROV) fut isolé chez un paresseux et dans des pools de moustiques *Ochlerotatus serratus* dans les zones bordant ce chantier, démontrant l'impact direct des modifications environnementales sur l'émergence virale **(Pinherio et al., 1962)**

### 3) Importance des moustiques comme vecteurs

Dans la nature, les arbovirus circulent en cycles sylvestres maintenus par transmission biologique entre hôtes vertébrés (rongeurs, oiseaux, primates non humains) et hôtes invertébrés (moustiques, phlébotomes, cératopogonidés, simulies). Certains arbovirus évoluent vers des cycles urbains lorsque des hôtes infectés (primates ou humains) migrent des zones forestières vers les agglomérations où vivent des espèces vectrices adaptées au milieu anthropisé, pouvant

alors déclencher des épidémies. Les arbovirus les plus importants pour la santé humaine sont principalement transmis par des moustiques des genres *Aedes* et *Culex*. (Silva, 2017) Sur les 3 726 espèces de moustiques (famille Culicidae, ordre Diptera) formellement reconnues à l'échelle mondiale, moins de 400 sont connues comme vectrices de pathogènes (virus, bactéries ou parasites). (Guidez et al., 2024).

Le processus de transmission vectorielle débute lorsque le moustique femelle ingère des particules virales durant son repas sanguin sur un hôte infecté. Ces virus se lient à des récepteurs spécifiques de l'intestin moyen, se répliquent dans les cellules épithéliales intestinales, puis sont libérés dans l'hémocœle où ils peuvent infecter divers organes, notamment les ovaires et le corps gras. Ils atteignent finalement les glandes salivaires, permettant l'infection d'autres hôtes lors des repas sanguins suivants. Cette période d'incubation extrinsèque, entre l'acquisition du virus et la capacité de transmission, dure généralement de 8 à 14 jours. (Silva, 2017) En outre, l'expansion mondiale de vecteurs invasifs, expose des populations jusqu'alors non concernées à de nouveaux risques arboviraux. Les arbovirus possèdent également une grande plasticité écologique, leur permettant de s'adapter à de nouveaux vecteurs ou de basculer de cycles sylvatiques vers des cycles urbains, comme observé avec la dengue et le Zika (Musso et al., 2022)

## II. Émergence d'arbovirus en Amérique du Sud et expansion récente

### 1) Épidémies d'arbovirus majeures : modèles d'amplification explosive

L'Amérique du Sud distingue traditionnellement les arbovirus urbains (dengue, chikungunya, Zika) circulant principalement via *Aedes aegypti*, des arbovirus ruraux (Mayaro, fièvre jaune, Oropouche, encéphalite équine vénézuélienne) maintenus dans des cycles sylvatiques. (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014 ; SERRA et al., 2016)

### 2) Arbovirus négligés : une diversité méconnue

Parallèlement aux épidémies médiatisées, de nombreux arbovirus émergent dans une relative indifférence. Cette sous-estimation épidémiologique résulte de la similitude symptomatique avec la dengue, associée au manque de capacités diagnostiques en zones rurales amazoniennes. Le virus Mayaro (MAYV), Alphavirus découvert à Trinidad en 1954, provoque des arthralgies chroniques similaires au Chikungunya. Les études révèlent des taux de séroprévalence de 21% à 72% dans les populations amazoniennes, avec un  $R_0$  estimé entre 1,1 et 2,9. (Mackay et al., 2016) Les Orthobunyavirus du complexe Guama représentent l'un des groupes les plus diversifiés d'Amérique du Sud. Une revue exhaustive au Brésil a identifié des dizaines d'espèces appartenant à plusieurs sérogroupes, dont au moins treize associées à des infections humaines, témoignant des lacunes considérables dans la surveillance épidémiologique amazonienne.

### 3) Le virus Oropouche : paradigme de l'émergence des bunyavirus

Le virus Oropouche (OROV), illustre parfaitement la problématique des arbovirus négligés en voie d'urbanisation. Responsable historiquement de plus de 500 000 cas estimés en Amérique du Sud, OROV a connu une explosion épidémique sans précédent en 2023-2024. L'année 2024 constitue un tournant épidémiologique majeur. En Amérique latine, plus de 25 000 cas ont été confirmés par RT-PCR dans 13 pays entre 2024 et début 2025. Durant les 52 semaines de 2024, 16 129 cas furent rapportés, tandis qu'en seulement 19 semaines de 2025, 9 967 cas supplémentaires ont été enregistrés (61,8% du total 2024). Cinq décès ont été rapportés (4 en 2024, 1 en 2025), représentant un taux de létalité de 0,02%, significativement inférieur à celui de la dengue (0,12%). (Srivastava et al., 2025) Au-delà de l'Amérique du Sud, OROV a franchi les frontières avec des cas d'importation confirmés dans 13 pays : États-Unis (109 cas), Europe (30 cas en Espagne, Italie, Allemagne) et Canada (3 cas). La circulation locale à Cuba représente le premier établissement documenté hors du continent sud-américain. (Figure 1) (Srivastava et al., 2025)

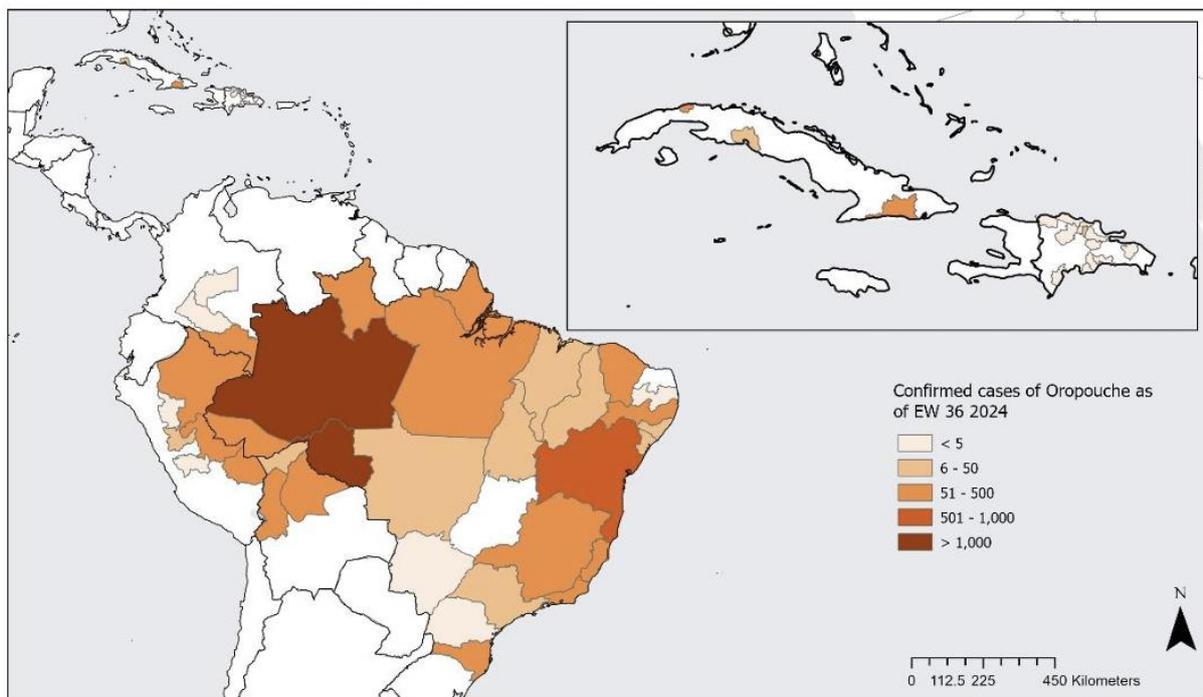


Figure 1 : Distribution géographique de cas d'Oropouche cumulé en Amérique du Sud en 2024. Pan American Health Organization 2024

## III. Les moustiques : principaux vecteurs d'arbovirus

### 1) Définitions, classification et biologie générale

Les moustiques (Diptera : Culicidae) constituent une famille d'insectes diptères de petite taille, mesurant généralement entre 3 et 6 mm de longueur. Cette famille se subdivise en trois sous-familles : les Anophelinae, les Culicinae et les Toxorhynchitinae, seules les deux premières présentant une importance médicale. La sous-famille des Culicinae regroupe 109 genres et plus de 3 067 espèces, tandis que les Anophelinae comptent 488 espèces réparties dans 3 genres : *Anopheles*, *Chagasia* et *Bironella*. (Silva, 2017)

Parmi les genres les plus diversifiés, *Culex Linnaeus* occupe une position particulière avec plus de 768 espèces valides décrites dans le monde, ce qui en fait l'un des genres les plus riches de la famille. Cette diversité taxonomique s'accompagne d'une complexité morphologique notable : l'identification spécifique des *Culex* repose principalement sur l'examen minutieux des génitalia mâles disséqués, rendant particulièrement difficile l'identification des femelles et des stades immatures lors des études entomologiques. **(Talaga et al., 2025)**

## 2) Importance en épidémiologie

Le genre *Culex* revêt une importance épidémiologique majeure en tant que vecteur d'agents pathogènes humains. Une enquête décennale menée à Trinidad a révélé que les moustiques du genre *Culex* étaient responsables de 320 isollements viraux sur un total de 473, soit 68% des isolats. En Guyane française, pas moins de quinze arbovirus ont été détectés parmi les espèces du genre *Culex*, illustrant leur rôle vectoriel central dans cette région. **(Talaga et al., 2025)**

## 3) Traits d'histoire de vie influençant la transmission

### a) Définition des traits biologiques

Chez les moustiques vecteurs, les traits d'histoire de vie déterminent directement leur capacité à acquérir, maintenir et transmettre les agents pathogènes, conditionnant ainsi leur compétence vectorielle et leur rôle épidémiologique.

**Cycle de vie complexe :** Le cycle vital des moustiques implique deux phases distinctes aux contraintes écologiques différentes. La phase aquatique, dédiée à la croissance, détermine l'essentiel de la biomasse de l'individu. Les larves filtrent les particules organiques et micro-organismes présents dans leur milieu aquatique, bien que certaines espèces aient développé des modes nutritionnels alternatifs (raclage, broyage, prédation). Cette phase comprend quatre stades larvaires successifs séparés par des mues, suivis d'une nymphose puis de l'émergence de l'adulte. **(Talaga 2016)**

**Phase reproductrice et dispersion :** La phase terrestre est consacrée à la reproduction et à la dispersion. L'ovogenèse nécessite généralement un repas sanguin préalable, établissant le lien épidémiologique critique entre le vecteur et l'hôte vertébré. Les femelles déposent ensuite leurs œufs individuellement ou en groupes dans ou à proximité des points d'eau, assurant la continuité du cycle. **(Talaga 2016)**

**Longévité et préférences trophiques :** La durée de vie des adultes conditionne directement les possibilités de transmission, un agent pathogène nécessitant un délai d'incubation extrinsèque avant d'être transmissible. Les préférences d'hôtes des femelles (ornithophilie, mammophilie, anthropophilie) déterminent les cycles de transmission et les risques épidémiologiques. **(Talaga 2016)**

#### 4) La Guyane Française : écosystème forestier à haut risque

##### a) Contexte géographique et climatique

La Guyane française, département d'outre-mer situé en Amérique du Sud entre 2°5'24"N et 5°50'60"N, constitue un territoire unique de 83 534 km<sup>2</sup> au sein du bouclier des Guyanes. (Figure 2) (de Thoisy et al., 2021)

Le territoire présente une dichotomie marquée entre la bande côtière atlantique, mosaïque de mangroves, marécages, savanes et forêts où se concentrent 90% des 290 000 habitants, et l'intérieur forestier qui couvre plus de 90% de la superficie totale. (Hansen et al., 2013)

Le climat équatorial humide se caractérise par des précipitations abondantes (3 000 mm/an en moyenne) et des températures stables oscillant entre 22°C et 32°C. La rythmicité pluviométrique distingue une saison sèche principale (mi-juillet à mi-novembre) et une petite saison sèche autour de mars, créant des conditions environnementales particulièrement favorables au développement et à la diversification des arthropodes vecteurs. (Peel et al., 2007)

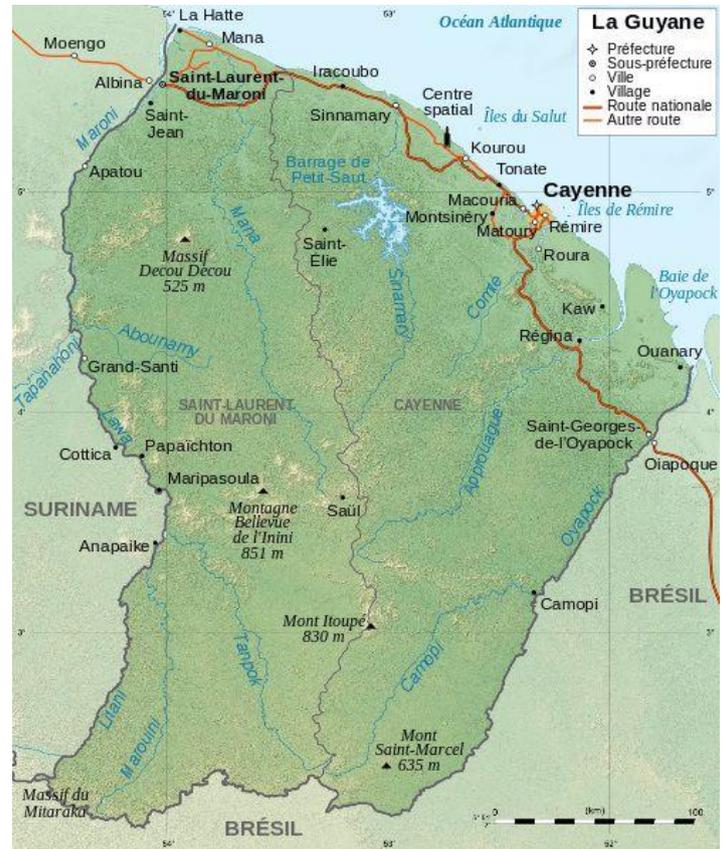


Figure 2 : Carte de la Guyane Française

##### b) Diversité exceptionnelle des moustiques vecteurs

###### Richesse spécifique et endémisme

La Guyane française constitue l'un des hotspots mondiaux de diversité culicidienne en termes de densité spécifique et d'endémisme (Foley et al., 2007). Avec 242 espèces de moustiques répertoriées et classifiées en 22 genres, ce territoire abrite une des plus importantes diversités relatives de Culicidae au monde (Talaga et al., 2015).

###### Le genre *Culex* : complexité taxonomique et importance vectorielle

Le genre *Culex* représente près de la moitié de la diversité culicidienne guyanaise avec 104 espèces décrites, reflétant sa diversité mondiale de plus de 788 espèces validées (Harbach, 2020). Cette richesse taxonomique s'accompagne d'une complexité morphologique remarquable, la plupart des espèces n'étant différenciables que par l'examen des génitalia mâles disséqués (Talaga et al., 2021).

Les sous-genres *Culex sensu stricto* et *Melanoconion* dominent la faune guyanaise. Le sous-genre *Melanoconion* revêt une importance particulière dans l'écologie des arbovirus sylvestres. *Culex portesi* apparaît comme l'espèce clé, vecteur naturel suspect des virus du complexe de

l'encéphalite équine vénézuélienne (Tonate, Mucambo) et de nombreux Bunyavirus (Guama, Oriboca, Murutucu). **(Costa et al., 2023)**

#### Distribution écologique et stratification des habitats

La distribution des moustiques vecteurs en Guyane française suit une stratification écologique complexe déterminée par les gradients d'anthropisation et les types d'habitats. Les mangroves littorales hébergent des communautés spécialisées dominées par *Culex portesi* et les espèces halophiles. Les savanes inondables constituent l'habitat privilégié de *Coquillettidia venezuelensis*, vecteur potentiel du virus Oropouche. **(Talaga, 2016)**

L'expansion urbaine favorise l'établissement d'*Aedes aegypti*, vecteur majeur des arboviroses émergentes (Dengue, Chikungunya, Zika), tout en créant des zones de transition propices aux échanges entre cycles sylvestres et urbains.

#### c) Les arbovirus en Guyane : hotspot d'émergence et de circulation

##### Diversité et circulation des arbovirus

La Guyane française présente une circulation exceptionnellement riche d'arbovirus.

Elle abrite plusieurs arbovirus endémiques maintenus dans des cycles sylvatiques complexes. Le virus Mayaro (MAYV), Alphavirus proche du Chikungunya, présente une séroprévalence variant de 1% à Cayenne à 23,5% dans les communes isolées du Haut-Oyapock et du Haut-Maroni. **(Talarmin et al., 1998)**

Le virus Tonate (TONV), appartenant au complexe de l'encéphalite équine vénézuélienne, circule de façon enzoïtique avec une séroprévalence de 11,9% dans la population générale. Transmis principalement par *Culex portesi*, il peut provoquer des atteintes respiratoires spécifiques et constitue un diagnostic différentiel important des syndromes fébriles en zone forestière. **(Bonifay et al., 2023)**

Le virus Oropouche (OROV), Orthobunyavirus transmis par *Culicoides paraensis*, a provoqué un cluster de 58 cas dans la commune de Saül en août-septembre 2020, illustrant sa capacité d'émergence épidémique en milieu isolé. **(Gaillet et al., 2021)**

## IV. Le virus Oropouche

Le virus Oropouche (OROV) est un arbovirus émergent appartenant au genre Orthobunyavirus de la famille Peribunyaviridae (ordre Bunyavirales), transmis principalement à l'homme par les piqûres de moucheron du genre *Culicoides paraensis*. Cette maladie zoonotique émergente cause la fièvre d'Oropouche, une pathologie fébrile aiguë présentant des symptômes similaires à la dengue.

Découvert en 1955 chez un travailleur forestier de 24 ans dans le village de Vega de Oropouche, près de la ville de Sangre Grande à Trinidad-et-Tobago, le virus tire son nom de la rivière Oropouche locale. Le patient présentait alors fièvre, lombalgie et toux, symptômes qui se résolurent spontanément en 3 jours. Cinq ans plus tard, le virus fut isolé de moustiques

*Coquillettidia venezuelensis* collectés à environ 50 kilomètres du site initial, dans la forêt de Bush Bush. (Anderson et al., 1961)

Depuis sa découverte, l'OROV a été responsable de plus de 30 épidémies touchant plus d'un demi-million de personnes, principalement dans la région amazonienne d'Amérique du Sud et Centrale. (Sakkas et al., 2018)

## 1) Structure virale et organisation génomique

### a) Caractéristiques structurales du virus

L'OROV appartient au groupe sérologiques Simbu qui comprend 25 virus répartis en sept complexes et deux sous-clades phylogénétiques : Manzanilla et Oropouche (sous-clade A), Simbu, Akabane, Sathuperi, Shamonda et Shuni (sous-clade B). Cette classification révèle une diversité génétique importante attribuée à leur large distribution géographique, sous-tendue par des variations du segment M dues à des réassortiments ou à l'adaptation à différents environnements. (Sakkas et al., 2018)

Le virion d'OROV est sphérique, enveloppé, avec un diamètre variant de 80 à 120 nm. Il présente un génome ARN simple brin à polarité négative, segmenté en trois fragments : Large (L, ~6852 nucléotides), Moyen (M, ~4385 nucléotides) et Petit (S, ~946 nucléotides), entourés d'une nucléocapside hélicoïdale. Cette structure tripartite est caractéristique du genre Orthobunyavirus, le plus grand genre de virus ARN avec plus de 170 virus nommés correspondant à 18 sérogroupes et 48 complexes d'espèces. (Figure 3) (Bai et al., 2025)

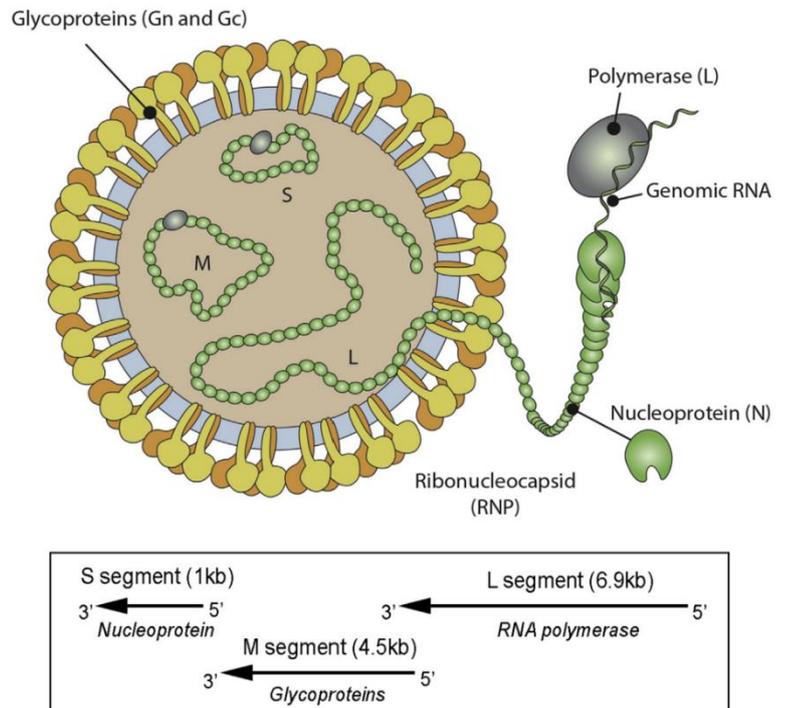


Figure 3 : Schéma de la structure du virus Oropouche. (Romero alvarez et al., 2017)

## 2) Manifestations cliniques et diagnostic différentiel

### a) Symptomatologie et évolution clinique

Après une période d'incubation de 4 à 8 jours suivant la piqûre d'un moucheron ou moustique infecté, le virus se réplique initialement dans les cellules locales (cellules endothéliales, épithéliales et macrophages), puis pénètre dans la circulation sanguine, provoquant une virémie et manifestant les symptômes d'OROV. La maladie se présente typiquement par un début brutal avec fièvre élevée (~39°C), céphalées intenses (généralement localisées à la nuque), photophobie, myalgies, arthralgies et, dans certains cas, éruption cutanée. Des symptômes moins fréquents incluent nausées, vomissements, diarrhée et manifestations hémorragiques (pétéchies, épistaxis, saignements gingivaux). (Srivastava et al., 2025)

L'infection évolue généralement en deux phases : une phase aiguë durant 2 à 4 jours, suivie d'une rémission, puis un retour des symptômes après 7 à 10 jours. La plupart des patients récupèrent sans complications dans les 2 à 3 semaines, bien que des myalgies chroniques et une asthénie persistant jusqu'à un mois aient été documentées. (Figure 4) (Srivastava et al., 2025)

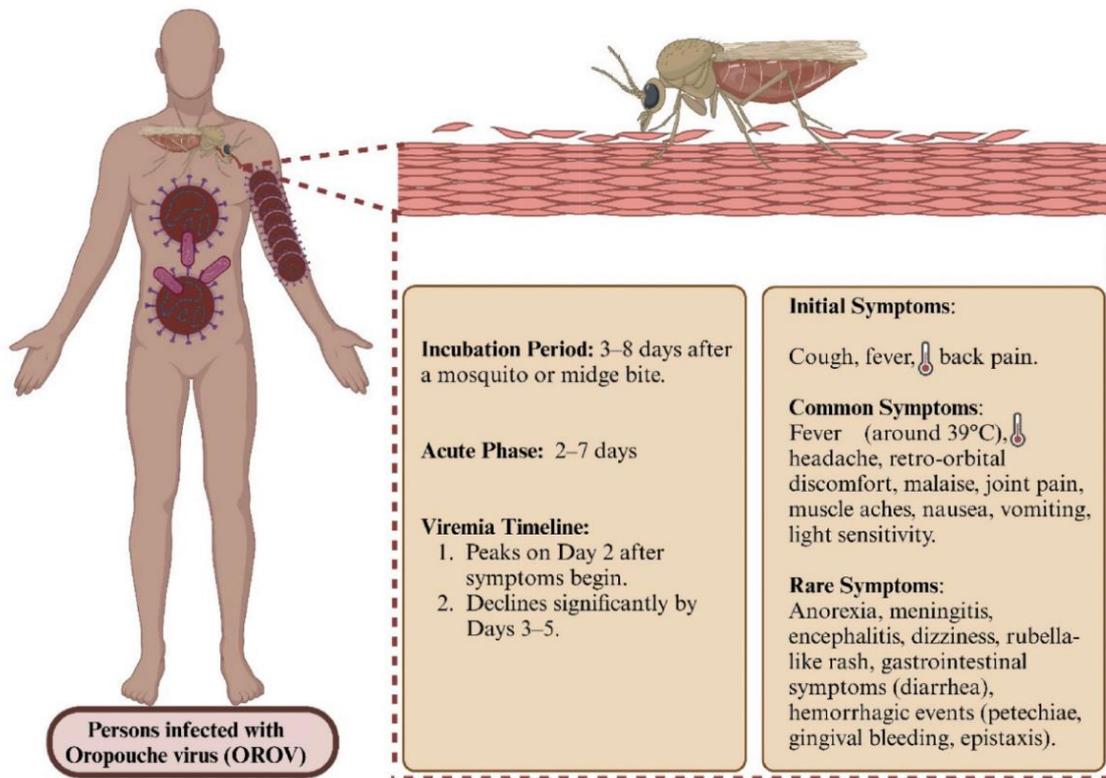


Figure 4 : Manifestations clinique et progression de la maladie suite à une infection par le virus OROV. (Srivastava et al., 2025)

### 3) Cycle de transmission du virus Oropouche

Le virus Oropouche maintient sa circulation dans la nature à travers deux cycles de transmission distincts : le cycle sylvatique et le cycle urbain, impliquant différents vecteurs arthropodes et réservoirs vertébrés. (Figure 5)

#### a) Cycle urbain et vecteurs principaux

Dans le cycle urbain, *Culicoides paraensis* constitue le vecteur principal d'OROV, démontrant une compétence vectorielle exceptionnelle avec des taux d'infection dépassant 80% lors d'études expérimentales *in vivo*. Cette espèce de cératopogonidé, communément appelée "yenyen", présente des caractéristiques biologiques optimales pour la transmission virale : un cycle de vie court de 20 à 30 jours, des habitudes diurnes avec des pics d'activité en fin d'après-midi, et une préférence pour les environnements humides riches en matière organique en décomposition. (Romero-Alvarez & Escobar, 2018 ; Bai et al., 2025)

L'incrimination vectorielle de *C. paraensis* repose sur des preuves expérimentales solides : Pinheiro et collaborateurs ont démontré que cette espèce peut transmettre OROV à des hamsters 6 à 12 jours après un repas sanguin sur patients virémiques, avec un seuil de transmission

d'environ  $5,3 \log_{10}$  SMLD<sub>50</sub>/mL. Cette efficacité de transmission à partir de faibles charges virales sanguines confirme son rôle prépondérant dans les épidémies urbaines affectant parfois plus de 100 000 patients. (Sakkas et al., 2018)

Concernant les moustiques, *Culex quinquefasciatus* présente une compétence vectorielle limitée avec un blocage digestif marqué, nécessitant des charges virales très élevées ( $\geq 9,5 \log_{10}$  SMLD<sub>50</sub>/mL) pour assurer la transmission. *Aedes aegypti* et *A. albopictus* montrent également des taux d'infection faibles (<20%) sans transmission efficace. En revanche, les données sur *Coquillettidia venezuelensis* restent quasi inexistantes malgré des isolements viraux sur le terrain. (Silva, 2017 ; Bai et al., 2025)

#### b) Cycle sylvatique et réservoirs naturels

Le cycle sylvatique implique des réservoirs mammifères incluant les primates non-humains (*Alouatta caraya*, *Sapajus apella*, *Callithrix penicillata*), les paresseux à trois doigts (*Bradypus tridactylus*), et diverses espèces aviaires des familles Fringillidae, Thraupidae et Columbidae. Les vecteurs sylvatiques comprennent principalement *Ochlerotatus serratus* et *Cq. venezuelensis*, qui maintiennent la circulation virale entre animaux sauvages dans les écosystèmes forestiers (Sciancalepore et al., 2022 ; Bai et al., 2025). L'interface entre cycles sylvatique et urbain s'effectue par l'intermédiaire d'humains virémiques ayant fréquenté les zones forestières, introduisant ainsi le virus dans les environnements périurbains où *C. paraensis* assure sa propagation. Cette dynamique de transmission est favorisée par la déforestation, les changements d'usage des sols, et l'urbanisation non planifiée qui augmentent les contacts entre populations humaines, vecteurs et réservoirs naturels. (Srivastava et al., 2025)

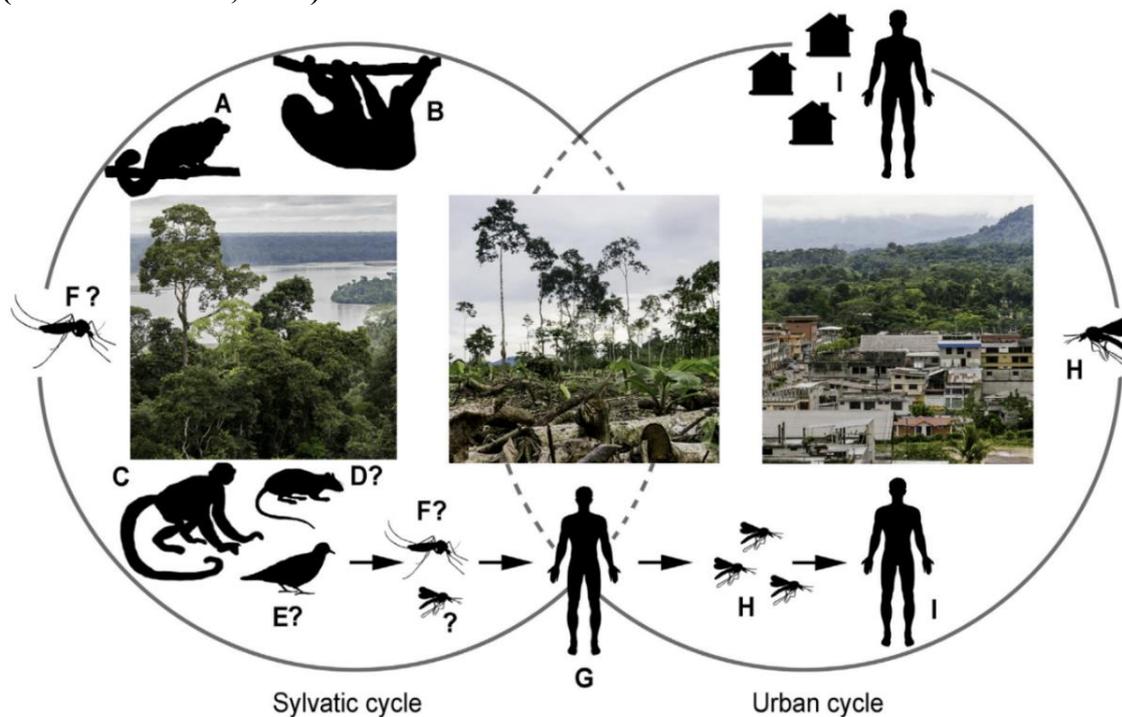


Figure 5: Cycle de vie urbain et sylvatique du virus Oropouche. (Romero alvarez et al., 2017) F correspond aux vecteurs sylvatiques potentiels d'OROV comme *Aedes serratus* ou *Coquillettidia venezuelensis*

#### 4) Émergence d'OROV en Guyane française : l'épidémie de Saül (2020)

##### a) Contexte épidémiologique

En août-septembre 2020, le village isolé de Saül en Guyane française a connu la première épidémie documentée d'OROV dans ce territoire français d'outre-mer. Cette émergence virale s'est produite dans un contexte de circulation simultanée de COVID-19 et de dengue, compliquant initialement le diagnostic différentiel.

Saül, communauté de 95 habitants permanents située au cœur de la forêt amazonienne et accessible uniquement par voie aérienne, présente des caractéristiques écologiques favorables à la circulation d'OROV : couverture forestière à 95%, climat tropical humide, et présence des vecteurs et réservoirs naturels du virus. L'isolement géographique du village a paradoxalement facilité l'investigation épidémiologique en limitant les déplacements de population durant la pandémie de COVID-19 (**Gaillet et al., 2021**).

##### b) Caractéristiques de l'épidémie

L'épidémie a débuté le 11 août 2020 avec un patient de 55 ans présentant un syndrome dengue-like avec composante méningée, mais dont les tests rapides dengue étaient négatifs. Entre le 22 août et le 7 septembre, 15 cas supplémentaires ont été signalés, conduisant à une investigation systématique débutée le 16 septembre. Au total, 41 des 95 résidents (43,2%) ont développé un syndrome dengue-like, avec un taux d'attaque réel estimé à 61,1% en incluant les cas n'ayant pas consulté. Parmi les 28 patients testés, 23 (82,1%) ont été confirmés positifs pour OROV. (**Gaillet et al., 2021**).

##### c) Investigation entomologique et contrôle vectoriel

L'investigation entomologique menée du 30 septembre au 2 octobre a permis la capture de 254 moustiques, dont 242 *Culex quinquefasciatus* (95%) et 31 Culicoides, avec seulement un exemplaire de *C. paraensis* collecté en intérieur. Cette faible capture de *C. paraensis* pourrait s'expliquer par des facteurs saisonniers, l'efficacité des pièges ou par le timing tardif de l'investigation par rapport au pic épidémique. La prédominance de *Cx. quinquefasciatus* dans les captures suggère néanmoins le rôle potentiel de cette espèce dans cette épidémie, malgré sa compétence vectorielle limitée (**Gaillet et al., 2021**).

#### 5) Vecteurs suspectés ou confirmés ailleurs

##### a) Vecteurs connus : *Culicoides paraensis*

Dans le cycle urbain, *C. paraensis* constitue le vecteur principal d'OROV. Bien que le taux d'isolement viral soit faible durant les épidémies, son implication vectorielle est établie par des études de transmission expérimentale où l'espèce a transmis OROV à des hamsters cinq jours ou plus après s'être nourrie sur le sang de patients virémiques (**Sick et al., 2019**).

##### b) Vecteurs suspectés : moustiques

Outre *C. paraensis*, plusieurs espèces de moustiques hématophages ont été associées à OROV, incluant *Culex quinquefasciatus*, *Coquillettidia venezuelensis* et *Aedes serratus* (**Sakkas et al., 2018**).

Le rôle vectoriel de *Cx. quinquefasciatus* demeure controversé. Cette espèce constitue l'un des moustiques les plus répandus dans les zones tropicales et subtropicales, se nourrissant sur animaux et humains en environnement urbain principalement (**Sakkas et al., 2018**). Bien que le virus soit fréquemment détecté chez cette espèce durant les épidémies, les expériences de transmission en laboratoire ont démontré son inefficacité vectorielle (**Sick et al., 2019**). Les études de compétence vectorielle pré-2024 ont montré que les moustiques, incluant *Culex* spp., présentent des taux d'infection constamment inférieurs à 20% et une capacité de transmission limitée comparativement aux *Culicoides* (**Gallichotte et al., 2025**).

L'isolement viral de l'OROV chez *Cq. venezuelensis* a été réalisé pour la première fois en 1961 en Trinidad, lors d'un épisode épidémique, confirmant son potentiel en tant que vecteur naturel. La présence du virus dans cette espèce, associée à son comportement biologique, sa forte densité en milieu sylvestre et sa tendance à piquer à la fois la nuit et le jour selon les contextes, souligne son potentiel rôle dans la circulation enzootique du virus (**Srivastava et al., 2025**).

## 7) Candidats potentiels en Guyane : *Coquillettidia venezuelensis* et *Culex portesi*

### a) Vecteurs d'intérêts et leur distribution territoriale

En Guyane française, une espèce émerge comme candidat potentiel pour la transmission d'OROV en milieu forestier: *Coquillettidia venezuelensis*. L'espèce *Culex portesi* est, elle, très suspecte d'être associée à la transmission d'autres Orthobunyavirus, tels qu'Oriboca. Ces deux espèces présentent des écologies distinctes reflétant la diversité des habitats guyanais.

*Cq. venezuelensis* est particulièrement abondante dans les marais temporaires de la savane côtière. Traditionnellement, cette espèce était considérée comme dépendante de la végétation aquatique, ses larves s'ancrant aux racines de plantes submergées.

*Cx. portesi*, appartenant au sous-genre *Melanoconion*, occupe une niche écologique différente, colonisant préférentiellement les creux d'arbres et les bordures de criques forestières (**Sirivanakarn & Dégallier, 1981**). Cette espèce sylvatique présente une importance épidémiologique très suspectée dans la transmission d'arbovirus du complexe VEE en Guyane française (**Dégallier et al., 1978**).

### b) Écologie vectorielle et lacunes dans les connaissances

#### Préférences trophiques et comportement alimentaire

Les études de préférences trophiques menées sur le littoral Guyanais révèlent une forte préférence des moustiques *Culicinae* pour les mammifères (88%), suivis des oiseaux (7%), squamates (3%) et amphibiens (2%) (**Guidez et al., 2024**). Cette préférence mammalophile, particulièrement marquée chez les espèces du genre *Culex* représentant 59% des spécimens analysés, suggère un potentiel de transmission zoonotique accrue.

#### Cycles d'activité

Les données historiques indiquent que *Cx. portesi* présente une activité principalement nocturne, avec plus de 75% des captures sur appât humain réalisées entre 18h et 7h, montrant une activité accrue au crépuscule et parfois avant l'aube (**Dégallier et al., 1978**). *Cq.*

*venezuelensis* suit un rythme similaire mais présente la particularité d'une proportion importante de piqûres diurnes (30-40%), élargissant ainsi la fenêtre temporelle de transmission potentielle.

L'écologie de ces vecteurs potentiels demeure insuffisamment documentée, notamment leurs préférences de sites de reproduction, leurs cycles gonotrophiques et leurs relations avec la diversité des hôtes vertébrés guyanais. Autres les problèmes éthiques de la capture sur appât humain, ces lacunes constituent un verrou scientifique majeur pour l'évaluation du risque de transmission d'OROV en Guyane française, justifiant pleinement le développement de programmes de recherche ciblés sur ces espèces candidates.

## V. Compétence vectorielle, capacité vectorielle et risque d'émergence

### 1) Définition de la compétence vectorielle

La compétence vectorielle se définit comme le potentiel intrinsèque d'une espèce d'arthropode hématophage à acquérir, maintenir, amplifier et transmettre un agent pathogène à un hôte vertébré. Pour les arbovirus, ce processus implique trois étapes séquentielles critiques : l'infection, la dissémination et la transmission. (Yoosuf et al., 2025)

L'**infection** correspond à la capacité du virus à franchir la barrière intestinale après l'ingestion d'un repas de sang infectieux. Le taux d'infection (IR) se calcule comme le nombre de vecteurs présentant une infection systémique rapporté au nombre total de vecteurs ayant pris un repas infectieux. (Files et al, 2022)

La **dissémination** représente la capacité du virus à sortir de l'intestin moyen pour coloniser d'autres tissus, notamment la carcasse et les glandes salivaires, via l'hémolymphe. Cette étape implique le franchissement de la barrière basale de l'épithélium intestinal.

La **transmission** constitue l'étape finale où le virus, présent dans les glandes salivaires, est inoculé à un nouvel hôte lors du repas sanguin suivant. Le taux de transmission (TR) correspond au nombre de vecteurs présentant des particules virales viables dans leur salive rapportée au nombre de vecteurs infectés. Cette dernière étape peut être évaluée par des essais de salivation forcée, méthode standardisée permettant d'analyser de nombreux individus sans recours à l'expérimentation animale. (Files et al, 2022)

### 2) Définition de la capacité vectorielle

La capacité vectorielle va au-delà de la compétence vectorielle en intégrant les paramètres écologiques et comportementaux dans des conditions naturelles. Elle se définit par l'équation :  $C = ma^2p^n / -\ln(p)$ , où  $m$  représente la densité de vecteurs par hôte,  $a$  la fréquence de piqûre,  $p$  la probabilité de survie quotidienne du vecteur et  $n$  la durée d'incubation extrinsèque du pathogène. Cette mesure intègre donc non seulement la capacité biologique du vecteur à transmettre l'agent pathogène, mais également son abondance, sa longévité, ses préférences trophiques et la fréquence de ses contacts avec les hôtes. (Sakkas et al., 2018).

### 3) Lien avec le risque d'émergence virale en Guyane ?

#### a) *Potentiel vectoriel de *Coquilletidia venezuelensis* pour le virus Oropouche (OROV)*

Malgré plus de 500 000 cas rapportés depuis sa découverte en 1955 et l'épidémie majeure de 2024 avec plus de 10 000 cas dans les Amériques, les connaissances sur la compétence vectorielle d'OROV restent remarquablement limitées. Une revue systématique récente révèle que seulement sept études expérimentales de compétence vectorielle ont été publiées entre 1954 et 2024, soulignant la négligence chronique dont a fait l'objet ce virus. **(Yoosuf et al., 2025)**

Pourtant, les isollements historiques d'OROV chez diverses espèces de moustiques au Brésil et à Trinidad, notamment *Culex quinquefasciatus*, *Aedes serratus* et *Coquillettidia venezuelensis*, bien que les taux de détection soient restés très faibles (~0,01%), restent à investiguer. **(Yoosuf et al., 2025)**

En Guyane française, l'émergence d'OROV dans le village isolé de Saül en 2020, avec un taux d'attaque de 61%, a démontré le potentiel épidémique du virus dans cette région. L'abondance de *Culex quinquefasciatus* capturés lors de l'investigation entomologique suggère un rôle possible de cette espèce, bien que sa faible compétence vectorielle démontrée expérimentalement soulève des questions sur les mécanismes de transmission impliqués. Une étude récente a d'ailleurs testé la compétence vectorielle de *Culex quinquefasciatus* pour le virus Oropouche, sans grand succès. Il en va ainsi de confirmer ou non la compétence vectorielle de candidats historiques pour Oropouche, comme *Coquillettidia venezuelensis*. **(Silva 2017)**

#### b) *Traits biologiques de *Culex portesi* et son potentiel vectoriel pour d'autres Orthobunyavirus*

*Culex portesi* démontre un comportement anthropophile marqué et une capacité de piqûre sur l'homme, caractéristiques essentielles pour la transmission d'arbovirus. Cependant, ce moustique sylvatique restent mal connu. Mieux connaître son cycle, sa survie en laboratoire et ses paramètres écologiques nous permettrait de mieux définir son potentiel de vecteurs pour les Orthobunyavirus. Nous nous sommes donc focalisés sur l'étude des traits biologiques de *Culex portesi* ainsi que sa distribution spatiale en Guyane Française. **(A.Guidez et al., 2024)**

## Problématique et objectifs du stage

Le virus Oropouche (OROV), bunyavirus découvert en 1955, a connu une explosion épidémique sans précédent en 2024 avec plus de 25 000 cas confirmés dans 13 pays et une extension géographique inédite vers l'Europe et l'Amérique du Nord. La Guyane française, premier territoire français touché lors de l'épidémie de Saül en 2020 (taux d'attaque de 61%), constitue un hotspot critique avec 242 espèces de moustiques et la circulation de plus de 30 arbovirus distincts.

Malgré cette émergence alarmante, les connaissances sur la transmission d'OROV demeurent lacunaires : seulement sept études de compétence vectorielle ont été publiées en 70 ans. Si *Culicoides paraensis* est reconnu comme vecteur principal urbain, le rôle des moustiques reste débattu. En Guyane, deux espèces émergent comme candidats vectoriels majeurs d'arboviroses : *Coquillettidia venezuelensis* (impliquée historiquement à Trinidad en 1961) et *Culex portesi* (vecteur très suspecté des virus Tonate et d'Orthobunyavirus). L'absence de données sur leur compétence vectorielle et leur distribution spatiale constitue un verrou scientifique critique pour l'évaluation du risque d'émergence en Guyane française.

Nos travaux s'inscrivent dans le cadre du projet AMAZED, avec pour objectifs :

- Cartographier la répartition de *Cq. Venezuelensis* et *Cx. portesi* par unité de piègeage et identifier les déterminants environnementaux de leur présence/abondance.
- Évaluer le potentiel vectoriel de *Coquillettidia venezuelensis* pour la transmission du virus Oropouche en Guyane française en déterminant les taux d'infection, de dissémination et d'expectoration
- Documenter les paramètres biologiques influençant la capacité vectorielle (longévité, taux de gorgements, comportements) de *Cq. Venezuelensis* et *Cx. Portesi*.

Ce stage s'inscrit dans une stratégie de sécurité sanitaire amazonienne face aux arbovirus émergents. Les résultats contribueront à orienter la surveillance entomologique en Guyane, anticiper l'expansion d'OROV et développer des outils prédictifs transposables à d'autres écosystèmes tropicaux confrontés à l'émergence de pathogènes négligés.

# Matériel et Méthodes

## I. Etude de la distribution spatiale et de la dynamique saisonnière des populations de *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*

L'analyse de la distribution spatiotemporelle des espèces cibles s'articule autour de trois étapes principales : (1) le recueil et la compilation des données entomologiques existantes, (2) l'harmonisation et la standardisation de la base de données, et (3) l'analyse statistique et cartographique des patrons de distribution. (Figure 6)

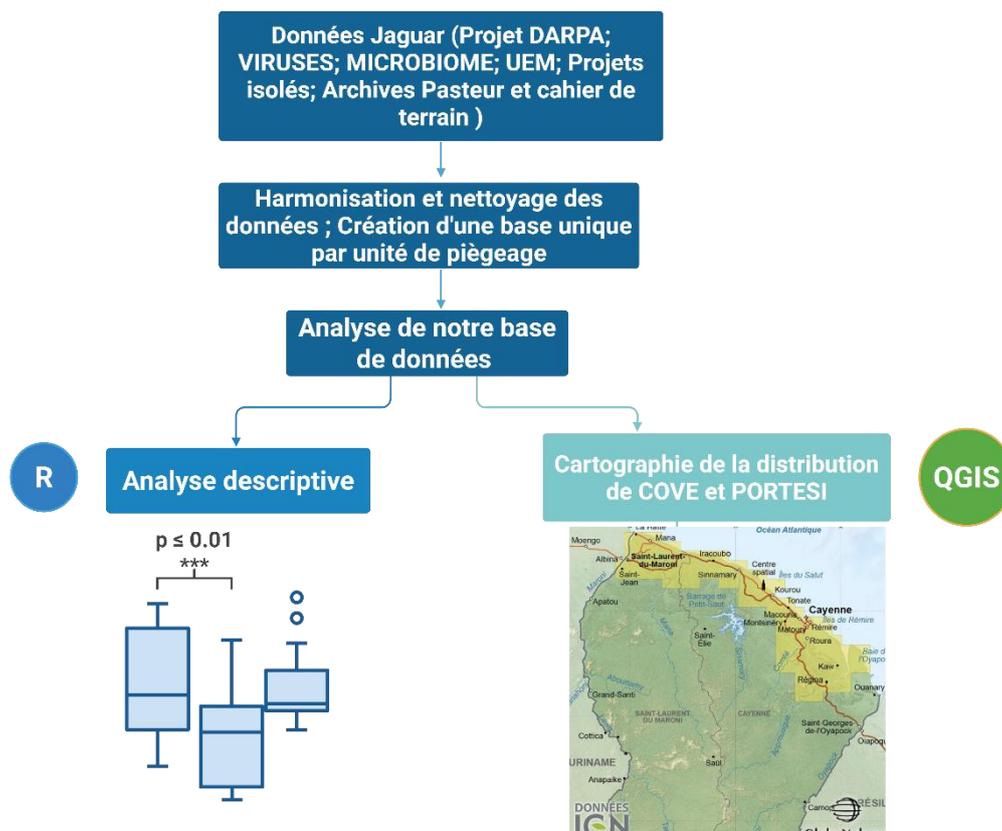


Figure 6 : Cheminement de la construction de la base de données en vue d'appréhender la distribution de nos deux espèces cibles sur le littoral Guyanais

### 1) Recueil des données ; Sites d'études, sources, et projets

Les données entomologiques proviennent de projets antérieurs menés ou d'archives de l'Institut Pasteur de la Guyane, ainsi que de collectes menées durant ce stage. La zone d'étude couvre l'ensemble du territoire guyanais, principalement le littoral, avec 22 communes échantillonnées. La base de données compile les résultats de multiple projets entomologiques (VIRUSES, DARPA, MICROBIOME, Base UEM, cahiers de terrain, archives et petits projets divers) couvrant la période 1971-1973 et 2009-2025.

Les habitats échantillonnés incluent neuf macro-biotopes : forêt primaire, forêt secondaire, lisière forestière pour les milieux forestiers ; savane et abattis pour les milieux ouverts ; habitations/périphérie pour les milieux anthropisés ; plage et marais pour les milieux humides.

Les méthodes de capture comprennent 27 types de pièges standardisés : pièges lumineux CDC, pièges appâts humains, BG-Sentinel, Mosquito Magnet, et sites larvaires naturels ou artificiels.

## 2) Création et homogénéisation d'une base de données

L'objectif est de compiler et d'harmoniser des données hétérogènes, selon un protocole standardisé sous R version 4.0.3 (R Core Team, 2020). Le processus comprend : (1) importation et pré-harmonisation des fichiers Excel, (2) suppression des doublons et nettoyage des variables, (3) normalisation des nomenclatures taxonomiques, (4) standardisation des coordonnées GPS au format décimal WGS84, (5) harmonisation des dates et horaires de piégeage.

La base consolidée "grand\_tableau" structure les données par unité de piégeage (session de capture), avec une ligne par événement de collecte. Le but étant d'avoir par ligne une unité de piégeage et le maximum de variables lui correspondant, comme l'heure, le biotope, le type de piège, la date, la localité, les espèces et le nombre d'individus par espèce capturé etc. Au final, on obtient un total de 4021 sessions de piégeage, 131,186 spécimens de *Cq. venezuelensis* et 63,899 de *Cx. portesi*, avec une diversité taxonomique de plus ou moins 200 espèces de moustiques.

## 3) Analyse des données de piégeage de moustiques en Guyane française

### *Partie 1) Analyses statistiques descriptives de notre jeu de données*

#### Efficacité comparative des pièges

L'efficacité vectorielle est quantifiée par l'indice de capture (Trap Index) :  $TI = \text{nombre total de moustiques capturés} \div (\text{nombre de pièges} \times \text{nombre de nuits})$ . Les distributions d'abondance sont comparées par barplots.

#### Saisonnalité

Les variations temporelles sont analysées par moyennes mensuelles pondérées par l'effort de piégeage.

#### Suivi spatio-temporel des piégeages sur les communes :

On analyse par commune/transect avec géoréférencement, on regarde alors l'évolution des densités de moustiques par session de capture pour chaque commune.

### *Partie 2) Carte de distribution et biotope associés*

La cartographie utilise le système de coordonnées WGS84 avec correction des formats GPS hétérogènes. Les couches de base incluent les limites communales de Guyane française et la classification des biotopes. Les points de piégeage sont géoréférencés avec attribution d'intensité proportionnelle aux abondances standardisées.

## II. Etude des traits d'histoires de vie de *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*

### 1) Collection des moustiques : méthodes et déroulement d'une session de captures aux pièges CDC avec carboglace et sites de capture

Dans cette étude, deux espèces de moustiques ont été utilisées, *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*. Ces deux espèces forestières étant peu étudiées et fragiles, il n'existe pas de lignées établies en laboratoire. Le défi était donc de capturer notre matériel biologique directement sur le terrain, en forêt amazonienne.

Le but était de capturer suffisamment d'individus de chaque espèce afin de pouvoir :

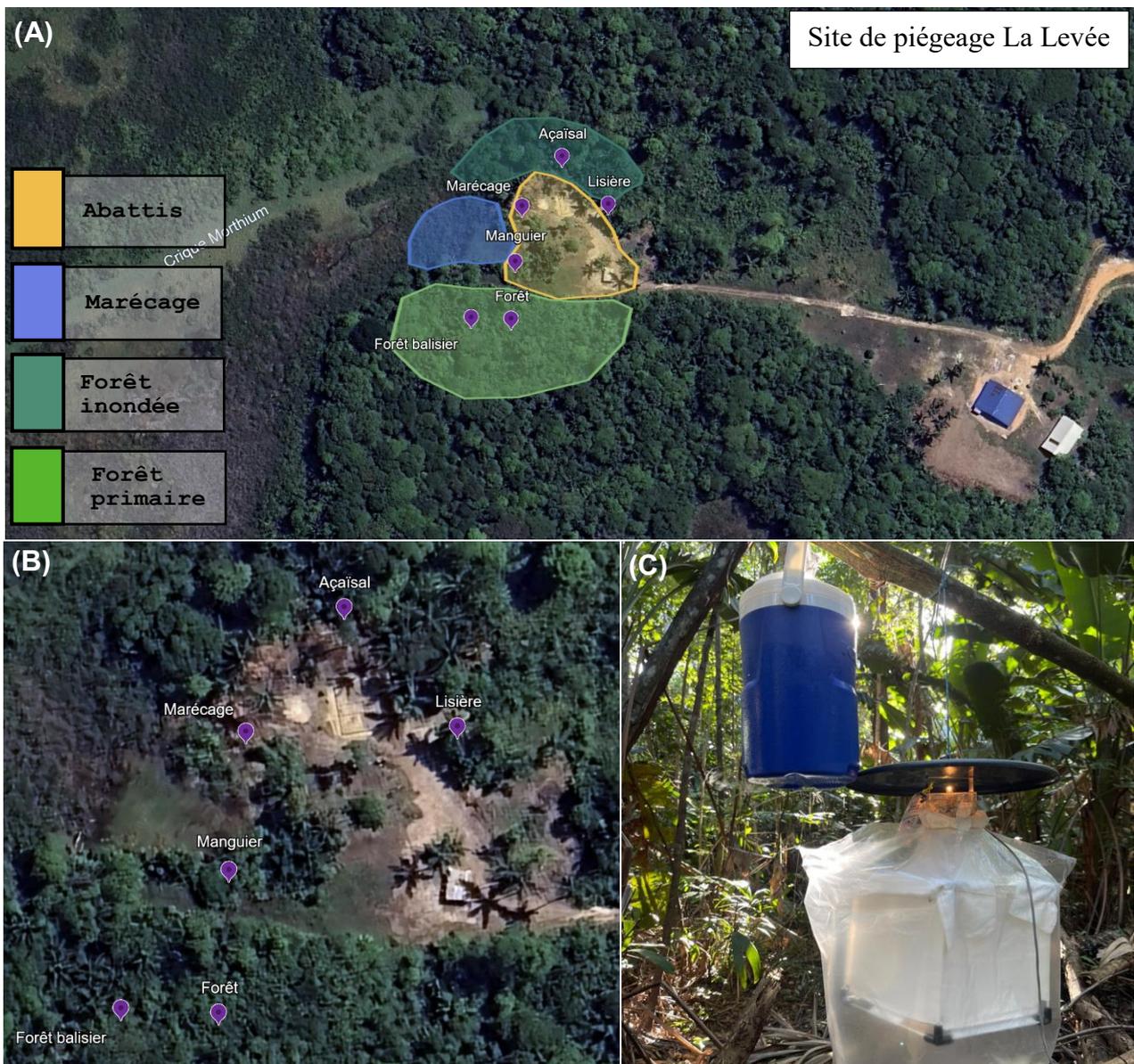
- 1) Mesurer des paramètres écologiques sur les F0 *portesi* et *cove* en laboratoire. On définit comme F0 les moustiques provenant de populations sauvages.
- 2) Produire une génération F1 de *Culex portesi* en se basant sur le protocole d'élevage de Takashi (Protocole d'élevage de *Culex portesi* datant de 1968) en essayant d'améliorer le protocole d'élevage, le but étant de mieux connaître l'écologie de ce moustique.
- 3) Capturer des *Cq. Venezuelensis* afin de pouvoir mener à bien nos infections expérimentales avec OROV.

Pour ce faire, il a fallu choisir un site de piégeage où l'on savait la présence de nos deux vecteurs abondants. Le site de La Levée à Matoury a été choisi, situé sur le littoral dans l'île de Cayenne, proche de la rivière du Mahury. La zone a connu une urbanisation rapide au cours des dernières années, elle présente un bon exemple de rapprochements des habitations sur les milieux naturels.

La zone de piégeage de la Levée est un abattis typique guyanais entouré de forêt primaire. Cette zone d'environ 300m<sup>2</sup> couvre différents biotopes de la région côtière de Guyane Française, avec d'un côté la forêt amazonienne et de l'autre un milieu urbain, parfait pour notre étude. Sur la période de février à juillet, 4 sessions de capture ont été menées, sur deux nuits d'affilées (de 17h à 7h) à chaque session. Six pièges lumineux de type CDC accompagné de carboglace ont été installés en six points différents, espacés de minimum 30 mètres les uns des autres, le but étant d'avoir des milieux différents pour notre étude et de maximiser les captures. Les pièges furent placés strictement aux mêmes emplacements au fil des quatre sessions.

Ces pièges sont dotés d'une lumière, attirant les insectes dans le cône d'aspiration produit par un ventilateur situé en dessous (l'ensemble est alimenté par quatre piles d'1,5 volts). Selon leur taille, les insectes entraînés par le courant d'air traversent ou non une grille, ce qui permet un premier tri des insectes collectés. Les insectes sont recueillis dans un filet posé le soir et relevé le matin. (Figure 7)

Les pièges sont relevés tôt le matin et placés dans de grandes glacières avec des serviettes humides pour limiter la mortalité des moustiques durant le voyage. Ils sont ensuite rentrés en laboratoire, les moustiques sont alors aspirés dans des pots.



Ils sont ensuite endormis/anesthésiés par le froid (filets ou pots de capture laissés quelques minutes dans un congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$  (tubes plongés dans la glace pilée). Nous pouvons alors les triés et identifiés par espèces, sous loupe binoculaire, sur la base de critères morphologiques à l'aide des clés de détermination disponibles pour les moustiques néotropicaux ou de Guyane. (Voir Annexe 1) On conditionne nos deux espèces cibles en insectarium. Les moustiques collectés sont maintenus vivants à température ambiante et proche d'une source d'humidité (serviette mouillée sur la cage, point d'eau).

Les moustiques qui ne survivent pas jusqu'au moment du tri seront tout de même conservés à -20°C pour être identifiés et comptés par la suite, dans le but de calculer le taux de mortalité de nos pièges ainsi que l'abondance de nos espèces cibles.

Sur les 4 séances de captures, c'est un total de 18 pièges qui ont été triés. Par la suite, les non survivants seront eux aussi triés, représentant un total de 1922 moustiques triés sur la période de stage. Nous avons maintenant notre matériel biologique : Des populations sauvages F0 de *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*. Une partie de ces moustiques (tous les *Cx. Portesi* et une partie des *Cq.venezuelensis*) resteront en insectarium afin que nous puissions mesurer les paramètres écologiques d'intérêt, ainsi que débuter l'élevage de *Culex portesi*. L'autre partie des *Cq.venezuelensis* seront conditionnés et emmenés dans le LSB3 du Vectopôle afin d'y mener l'expérience d'infection expérimentale avec le virus Oropouche.

## 2) Mesure de paramètres écologiques et élevage

### a) Conditions d'élevage (la cage et densité de pop, la température, le sucrose, l'humidité)

La première session de capture ayant eu lieu le 08/02/2025 à La Levée, un total de 1482 femelles *Culex portesi* ont été mises en deux cages de 754 et 728 individus au sein de l'insectarium. Les conditions étaient une température constante de 28°C et une humidité relative maintenue entre 70 et 80%. Le cycle jour/nuit était réglé sur 12h de lumière suivie de 12h d'obscurité. Un pondoir (50% eau distillée, 50% eau macérée de bambou) ainsi que du sucrose à 10% étaient mis à disposition dans la cage et changés tous les deux jours. Un pot en terre/argile à l'envers avec deux trous restait posé sur le pondoir afin de garder l'humidité et éviter la dessiccation des femelles. Des serviettes placées sur la cage avec chaque bout trempant dans de l'eau étaient aussi utilisées en source d'humidité additionnelle.

Les femelles *Cx. portesi*, après des repas de sang ayant servi à mieux appréhender leur taux de gorgement, ont pondus des radeaux d'œufs au sein des pondoirs mis à disposition. Les œufs sont alors déposés dans des bacs en plastique contenant 1L d'eau du robinet filtrée, 1L d'eau macérée de bambou, à une température d'environ 25°C. Les larves étaient élevées à une densité maximale de 200 individus par bac pour prévenir la concurrence alimentaire et optimiser le développement. Les pas de temps attendus et de nourrissage ont été mis en Annexe (Voir Annexe 2)

Après émergence, les adultes F1 étaient transférés dans des cages entomologiques.

### b) Durée de développement des stades immatures de *Culex portesi*

Les larves de *Cx.portesi* dans les bacs ont pu être observées tout au long de leur développement. Ainsi, chaque bac contenait des larves émergées à un même pas de temps, permettant de suivre leurs différentes phases larvaires ainsi que les pas de temps entre le stade de larve au stade de puppe, et du stade de puppe au stade d'adultes. Les larves ont également été comptées de leur J0 à leur stade nymphal afin d'établir une courbe de survie, et ainsi identifier les phases larvaires critiques.

### Durée de développement des stades immatures

Le suivi du développement larvaire s'effectue par observation quotidienne des cohortes depuis l'éclosion (J0) jusqu'à l'émergence des adultes. Les stades larvaires (L1 à L4) et nymphaux sont identifiés morphologiquement selon les critères établis par Sirivanakarn & Dégallier (1981).

### Taux de survie larvaire

La mortalité larvaire est évaluée quotidiennement par comptage des individus morts et vivants dans chaque bac. Le taux de survie global correspond au rapport entre le nombre de pupes obtenues et le nombre initial de larves L1.

Une fois les larves passées au stade de pupes, on calcule le taux d'émergence (% de pupes ayant données des adultes).

### c) Traits biologiques des moustiques F0 *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*

#### Taux de gorgement

Les femelles F1 et F0 sont maintenues à jeun pendant 24h avant le premier repas sanguin. Le gorgement s'effectue sur sang de bœuf présenté dans des capsules Hemotek® de 3 ml auquel on a ajouté de l'ATP pour stimuler l'appétence, à 37°C pendant 45 minutes. Seules les femelles complètement gorgées (abdomen distendu) sont retenues pour l'analyse.

Au total, ce sont 240 moustiques qui ont été mis dans 24 pots de 10 femelles de chaque espèce à chaque fois. Les moustiques ont été placés une semaine à l'avance en chambre climatique en cycle inversé. Trois horaires ont été testés : de 10h30 à 11h correspondant au crépuscule (18h30-19h) ; de 13h30 à 14h correspondant à 21h30-22h ; et enfin de 17h30 à 18h10 correspondant à 1h30-2h du matin.

#### Comportements

Le but ici est de connaître le taux horaire moyen d'agressivité des femelles *Cx portesi* en conditions de laboratoire. Nous pourrions ainsi comparer avec les résultats obtenus par Dégallier sur le terrain en 1971. Le test se fait via l'installation d'une caméra prenant des clichés toute les 5 minutes dans une cage entomologique contenant 30 individus (femelles et mâles) avec au centre de la cage un sucrose. Un événement correspondra soit au vol/déplacement d'un moustique dans la cage, soit à l'alimentation sur le bâtonnet de sucrose. Les photos sont ensuite analysées une à une.

#### Survie des adultes

La longévité des adultes est mesurée en maintenant les individus dans des cages d'élevage (30×30×30 cm) avec accès permanent à une solution sucrée 10%. La mortalité est enregistrée quotidiennement jusqu'à extinction complète des cohortes.

### III. Infection expérimentale et Compétence vectorielle sur *Coquilletidia venezuelensis* avec le virus Oropouche

L'évaluation de la compétence vectorielle de *Coquilletidia venezuelensis* pour le virus Oropouche (OROV) s'articule autour de trois phases expérimentales :

(1) le conditionnement et la préparation des moustiques adultes ; (2) l'infection expérimentale par gorgement artificiel en laboratoire de sécurité biologique niveau 3 (LSB3) ; (3) l'analyse post-infection par salivation forcée et dissection.

#### 1) Conditionnement des adultes pour entrer dans le P3

Les moustiques *Coquilletidia venezuelensis* proviennent des collectes de terrain effectué sur le site de la Levée, décrite dans la partie II. Il s'agit donc de populations de moustiques sylvatiques sauvages F0. Le but étant de rentrer au sein du LSB3 et d'infecter les femelles *Cq.venezuelensis* le plus rapidement possible après leur arrivée en insectarium, afin d'éviter une trop forte mortalité.

##### a) Sélection et préparation des femelles

Les femelles F0 sont sélectionnées par tri morphologique sous anesthésie au froid (4°C). Environ 60-70 femelles sont transférées par groupe dans des boîtes de gorgement à piston et maintenues à jeun (sans sucrose) pendant un peu moins de 24 heures avant l'infection pour stimuler la prise alimentaire.

#### 2) Pendant le P3 (gorgement, dissection/salivation etc..)

##### a) Souche virale OROV

La souche OROV utilisée (issue du laboratoire de virologie de l'IPG, souche provenant de l'épidémie de Saül en 2020) est conservée à -80°C. Le titre viral du stock est déterminé par la méthode des unités infectieuses sur culture cellulaire (TCID<sub>50</sub>). La concentration finale du repas infectant est ajustée à 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, correspondant aux charges virémiques observées chez les patients.

##### b) Préparation du repas infectant

Le repas infectant est préparé sous poste de sécurité microbiologique (PSM) dans le LSB3 selon le protocole standardisé : Du sang de lapin frais lavé en PBS 1X (jour même) ; 1 mL d'OROV dilué à 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (suspension virale) ; (Phagostimulant) 30 µL d'ATP 10<sup>-3</sup> M. Le tout mis dans 3 mL par capsule Hemotek

##### c) Infection par système Hemotek

Le gorgement s'effectue avec le système Hemotek (SP6W1-3, Hemotek Ltd) équipé de membranes synthétiques pré-découpées. Les capsules sont maintenues à 37°C et placées sur les boîtes à piston contenant les moustiques pendant 45 minutes maximum. Après gorgement, les moustiques sont anesthésiés à 4°C pour le tri des femelles gorgées.

##### d) Tri post-gorgement et incubation

Les moustiques gorgés sont sélectionnés sous anesthésie froide, comptés et transférés dans des boîtes d'incubation en carton avec accès à une solution sucrée 10%. L'incubation s'effectue en

chambre climatique (28°C, 80% HR, photopériode 12h:12h) pour des durées de 7, 14 et 21 jours post-infection (jpi). A ce moment on sépare quelques femelles que l'on dissèque directement : témoin positif J0. (Voir en **Annexe 3** les photos correspondantes aux étapes 2c) et 2d))

#### *e) Analyse de la compétence vectorielle*

##### Salivation forcée

À 7, 14 et 21 jpi, les moustiques sont anesthésiés et leurs pattes/ailes retirées pour induire le stress de salivation. Le proboscis est inséré dans un cône à filtre de 20 µL contenant 5 µL de sérum de veau fœtal décomplémenté (SVFd). La salivation s'effectue pendant 30 minutes maximum à température ambiante. (Voir **Annexe 3**)

##### Dissection et prélèvements

Après salivation, chaque moustique subit une dissection complète sous loupe binoculaire :

- Intestin moyen : prélèvement par ouverture abdominale
- Carcasse (Ailes et pattes arrachées) : conservation comme échantillon

Tous les échantillons sont conservés à -80°C dans des microtubes contenant 20-300 µL de PBS selon l'organe.

Les échantillons de salives, intestins et carcasses sont ensuite lysés en vue de la réalisation de qRT-PCR pour la détection et la quantification des ARN viraux.

### 3) Après le P3 (extraction ARN ; rt-qPCR)

#### *a) Préparation des échantillons*

Les échantillons (salive, intestins moyens, carcasse) sont traités selon le protocole QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) adapté aux échantillons entomologiques. Les midguts et carcasses des moustiques sont préalablement broyées mécaniquement dans des tubes à billes. Après centrifugation (5000 rpm, 5 min, 4°C), le surnageant est récupéré pour l'extraction.

Les protocoles d'extraction ARN et de détection par RT-qPCR temps réel sont détaillés en **Annexe 4**.

#### *b) Interprétation des résultats et calcul des indices vectoriels*

##### Critères de positivité

Un échantillon est considéré positif pour OROV si son Cycle threshold (Ct)  $\leq 37,5$  pour le gène cible et qu'il y a absence d'amplification dans les témoins négatifs.

##### Calcul des indices de compétence vectorielle

Les paramètres de compétence vectorielle sont calculés pour chaque temps post-infection (7, 14 et 21 jours) selon les formules standardisées :

Taux d'infection (IR) = (Nombre de moustiques avec intestin moyen positif / Nombre total de moustiques gorgés)  $\times 100$

Taux de dissémination (DR) = (Nombre de moustiques avec carcasse positive / Nombre de moustiques avec intestin moyen positif) × 100

Transmission (Efficacité vectorielle globale (VE)) = (Nombre de moustiques avec salive positive / Nombre total de moustiques gorgés) × 100

### Comparaisons des taux vectoriels

Les différences de taux d'infection, de dissémination et de transmission entre temps post-infection sont analysées par test exact de Fisher. Le seuil de significativité est fixé à  $p \leq 0,05$ . Toutes les analyses sont réalisées sous R version 4.0.3.

## Résultats

### I. Analyse spatio-temporelle rétrospective

#### 1) Analyse descriptive

##### 1.1) Efficacité comparative des types de pièges

Les résultats révèlent des différences substantielles d'efficacité entre les 28 types de pièges testés, avec des patrons spécifiques selon l'espèce et le stade ciblé (adultes ou larves). Le piège lumineux associé à la carboglace (diffusion de CO<sub>2</sub>) présente la plus haute performance vectorielle avec des indices de piégeage exceptionnels : 153 captures/piège-nuit pour *Cx. portesi* et 142 pour *Cq. venezuelensis*, démontrant une très bonne efficacité de l'association CDC + Carboglace pour ces vecteurs hématophages. (Figure 8)

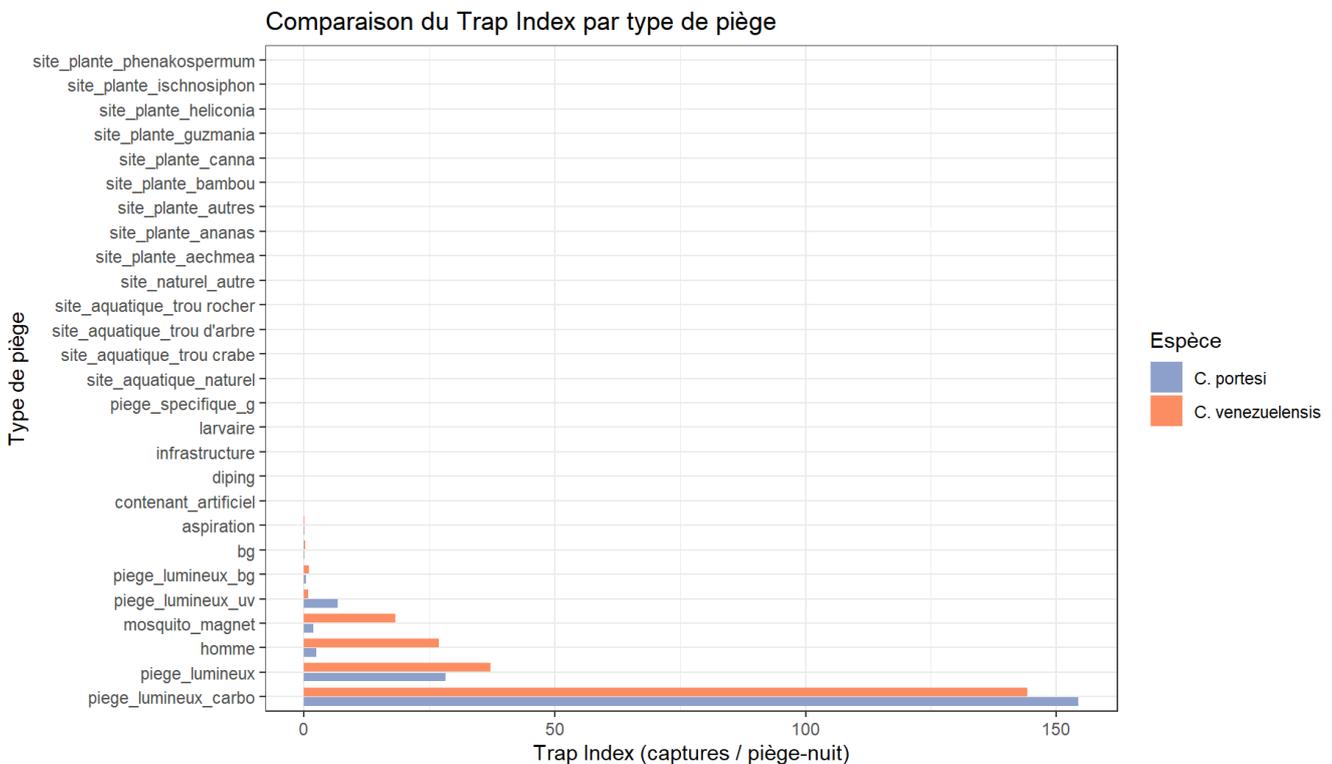


Figure 8 : Comparaison des taux de captures selon les types de pièges

On remarque que *Cq. venezuelensis* présente systématiquement des indices de capture supérieurs à *Cx. portesi* pour la plupart des méthodes, suggérant soit une densité populationnelle plus élevée, soit une réactivité différentielle aux attractants utilisés.

#### Test de Kruskal-Wallis :

- *Cx. portesi* :  $H = 89.729$ ,  $p < 0.001$  ; *Cq. venezuelensis* :  $H = 140.043$ ,  $p < 0.001$   
Le piège lumineux + carboglace est significativement plus efficace que tous les autres pièges

#### 1.2) Interprétation de l'analyse saisonnière de *Cq. venezuelensis* et *Cx. portesi*

L'analyse de 16 années de surveillance vectorielle (2009-2025,  $n=3,894$  sessions) révèle une dominance contre-intuitive de la grande saison sèche pour les deux espèces en Guyane française. Les pics d'abondance surviennent paradoxalement en juillet (160 captures/session pour *Cq. venezuelensis*) et novembre (74,4 captures/session pour *Cx. portesi*), s'expliquant par la concentration des gîtes larvaires durant la réduction hydrique, l'optimisation du développement par les températures stables (25-30°C) et la réduction du lessivage larvaire. (Figure 9)

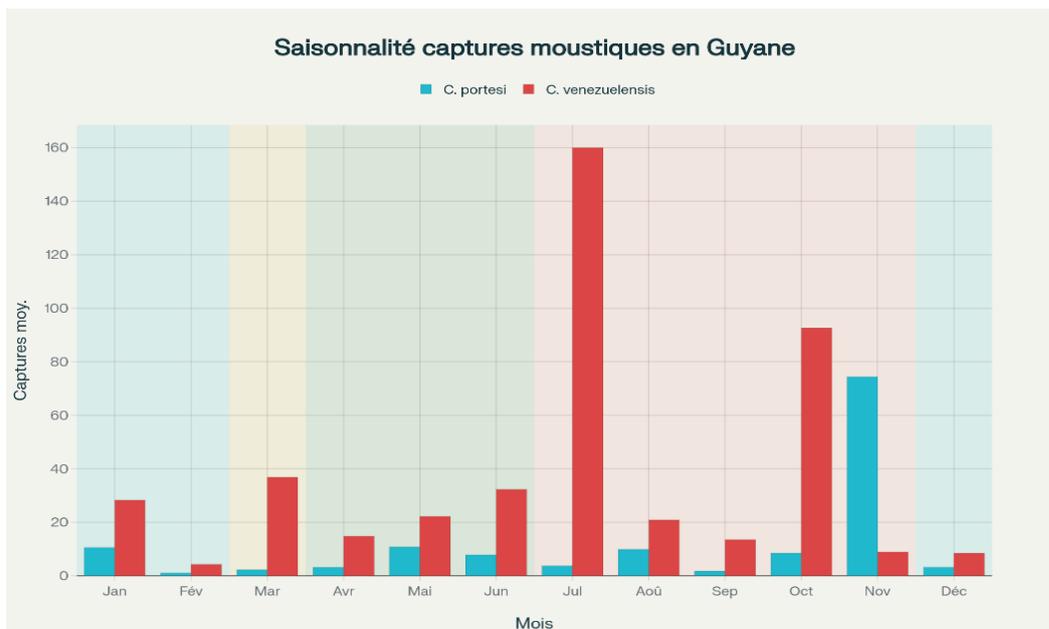


Figure 9 : Saisonnalité des captures de moustiques vecteurs en Guyane française - Les pics de *C. venezuelensis* en juillet (160 captures/session) et octobre (92.6) et de *C. portesi* en novembre (74.4) correspondent à la grande saison sèche

Ces patterns identifient des fenêtres de transmission optimales durant juillet-novembre (>50 captures/session), convergent avec les observations historiques de Degallier sur les cycles épizootiques guyanais, et préconisent une intensification de surveillance durant la grande saison sèche plutôt qu'en période humide.

Cette dominance paradoxale souligne l'importance de réviser les stratégies de lutte vectorielle traditionnelles basées sur l'association classique saison des pluies-pullulation, au profit d'une approche adaptée aux spécificités écologiques tropicales où la stabilité environnementale de saison sèche favorise l'abondance vectorielle.

### 1.3) Interprétation du suivi de la présence *Cq. venezuelensis* et *Cx. portesi* au sein des communes au fil du temps

L'analyse de 3,894 sessions de piégeage couvrant 22 communes guyanaises entre 2009-2025 révèle une hétérogénéité spatiale marquée dans la distribution des populations de *Cq. venezuelensis* et *Cx. Portesi*. On peut visualiser les captures réalisées au fil des ans via une heat map spatio-temporelle pour les 12 communes les plus piégées (Figure 10) :

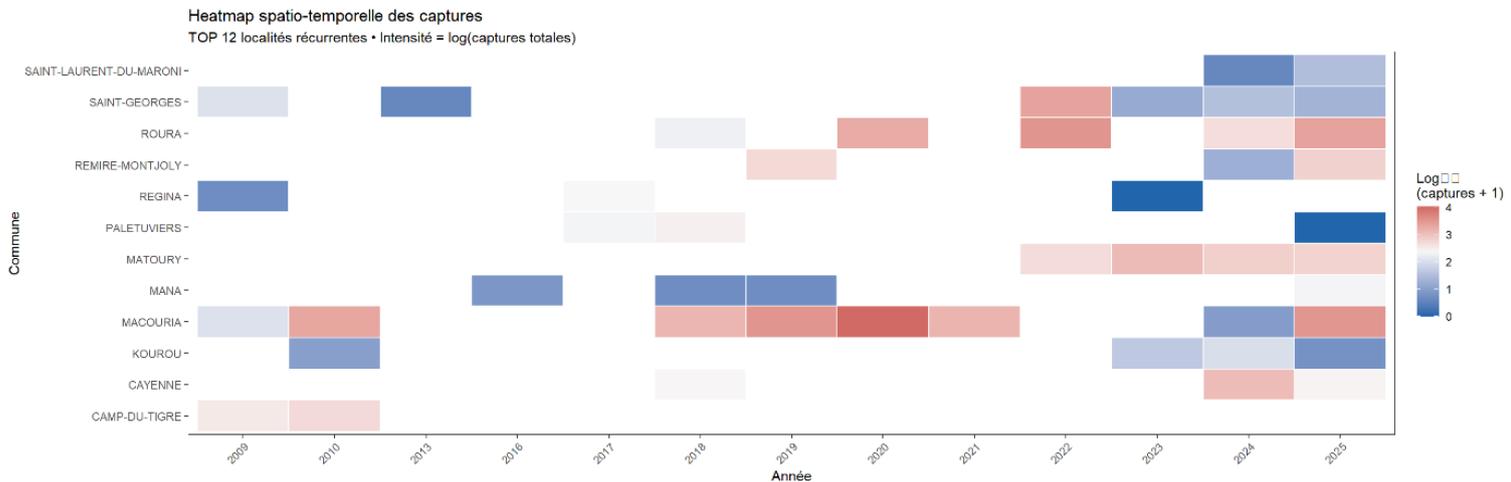


Figure 10 : Heatmap spatio-temporelle des 12 localités les plus piégées.

La surveillance identifie trois hotspots majeurs (Iracoubo, Ouanary, Roura) présentant des densités exceptionnelles ( $\geq 100$  captures/session), avec *Cq. venezuelensis* dominant généralement les captures, atteignant 377 captures/session à Iracoubo.

Ainsi, seize localités apparaissent sur au moins deux années ; huit d'entre elles concentrent la majorité des sessions. Ces chiffres tiennent compte de l'effort (captures moyennes par session), ce qui permet de comparer équitablement des communes très piégées (Cayenne, Macouria) à des sites moins visités (Iracoubo, Ouanary). (Figure 11)

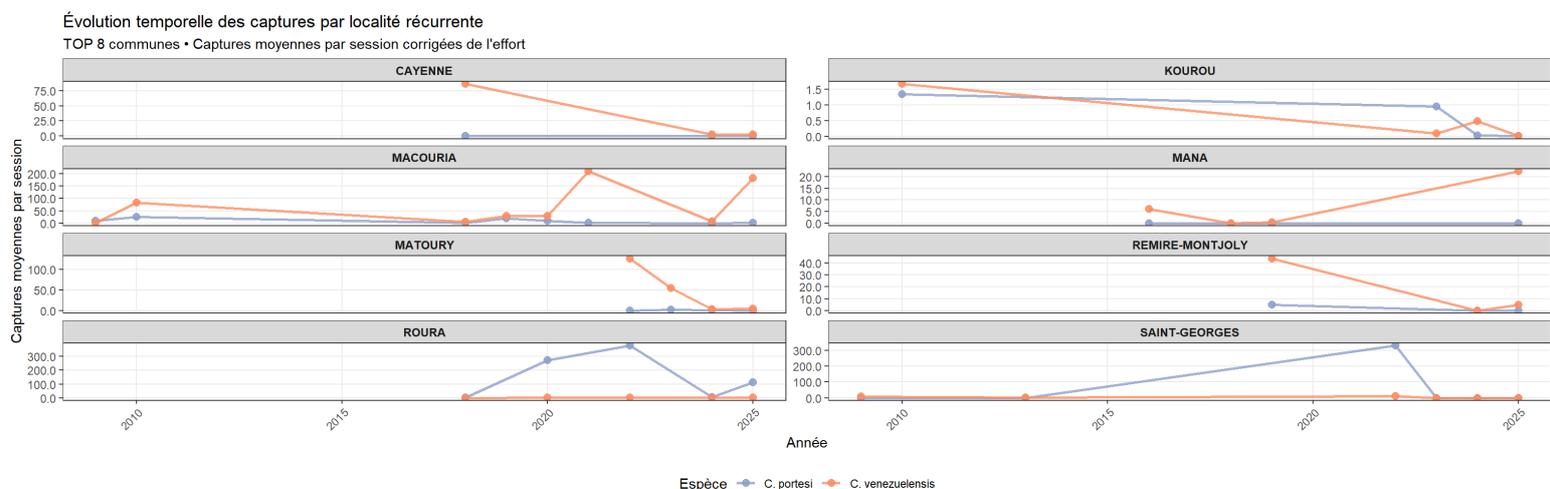


Figure 11 : Evolution temporelle des captures de nos deux espèces de moustiques pour les 8 communes les plus piégées

## 2) Cartographie du risque spatio-temporelle

### Partie 2) Carte de distribution et biotope associés

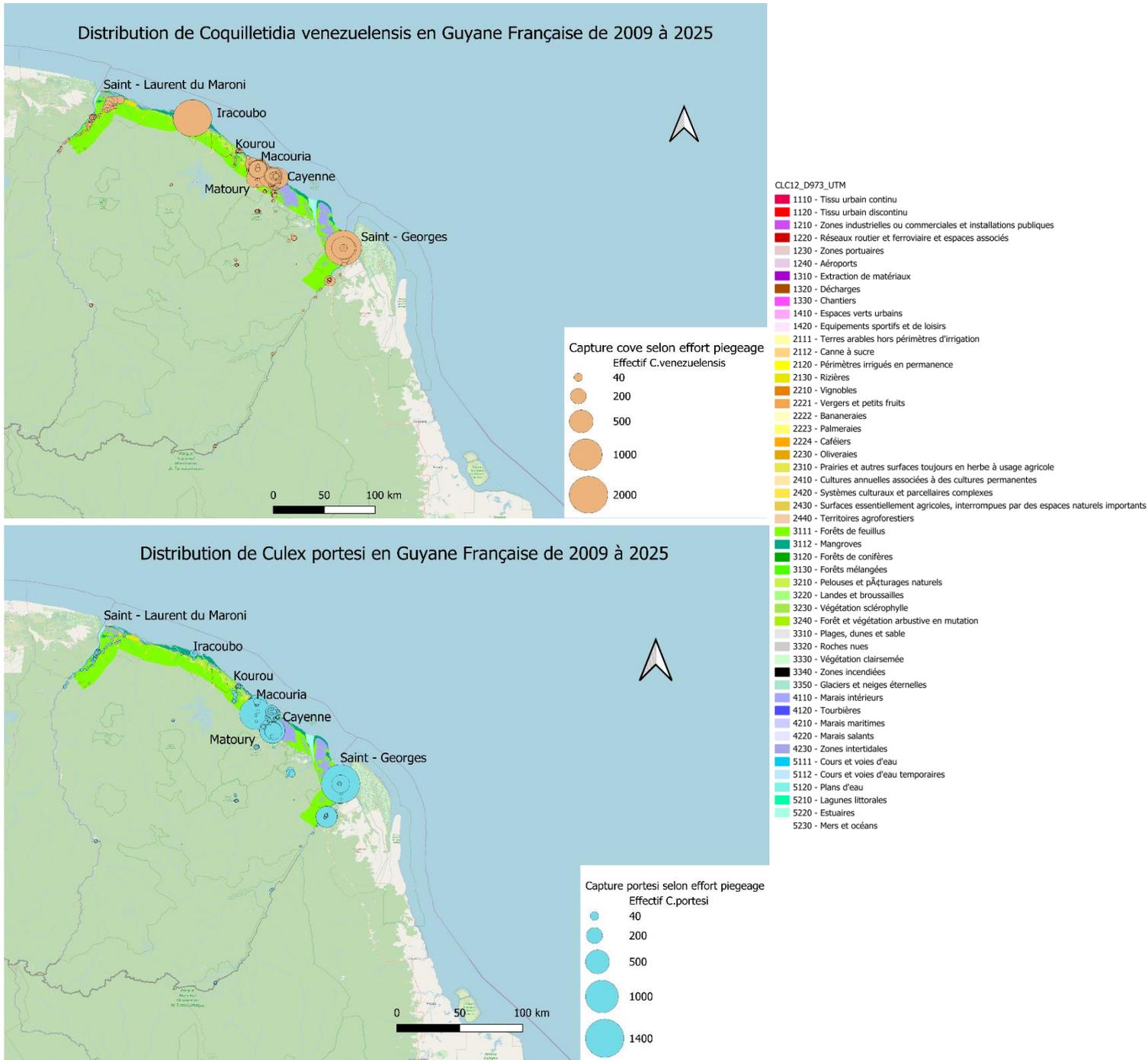


Figure 12 : Distribution de *Coquilletidia venezuelensis* et de *Culex portesi* en Guyane Française ; Couche des biotopes correspondants

L'ensemble de 4 021 unités de piégeages sont représentées sur ces deux cartes, l'une avec les occurrences de *Coquilletidia venezuelensis*, l'autre avec celles de *Culex portesi*. (Figure 12) Ces points ont pu être superposés à la cartographie des différents biotopes du littoral guyanais. On observe que les répartitions ne sont pas tout à fait les mêmes selon les localités

Table de correspondance pour les principaux biotopes :

| <i>Biotope original</i> | <i>Biotope homogénéisé</i> |
|-------------------------|----------------------------|
| 3111 ; 3130 ; 3120      | Forêt                      |
| 2310 ; 3220 ; 3240      | Lisière                    |
| 4110 ; 4210 ; 4220      | Marais                     |
| 3330                    | Forêt sèche                |
| 1110 ; 1120 ;           | Habitation / périphérie    |
| 3310 ; 3320             | Plage                      |
| 3220                    | Savane                     |
| 3111                    | Forêt primaire             |
| 2111 ; 2222 ; 2223      | Anthropique autodésigné    |
| NA                      | Inconnu                    |

Tous les biotopes n'ont pas été pris en compte, seules les plus importants ont été mis dans le tableau. L'analyse, fondée sur 9 catégories homogénéisées de biotope, révèle des différences entre habitats pour les deux espèces cibles. Les taux sont systématiquement corrigés par l'effort de piégeage (captures moyennes par session). (Voir **Annexe 5**)

On observe que les densités les plus fortes s'observent en forêt primaire (plus de 2,900 *Cq. venezuelensis* et 1,400 *Cx. portesi* par session) : ces écotypes semblent être des habitats de pullulation majeurs. Les forêts secondaires et lisières restent très propices, mais les densités chutent fortement en milieux humanisés (habitation, village). Marais et plages affichent des taux intermédiaires, tandis que savane et abattis sont peu productifs en moustiques cibles, sauf exception ponctuelle (*portesi* dans certains abattis).

*Cq. venezuelensis* et *Cx. portesi* montrent une **préférence pour la forêt primaire**.

## II. Données de terrain

### 1) Piégeage La Levée

Tableau 1: Résultats des sessions de captures et d'identification des piépages menés sur le site de La Levée

| Sessions de captures                      | Total         | Piège 1 - Lisière |             |            | Piège 2 - Açaïsal |            |             | Piège 3 - Marécage |            |            |
|---|---------------|-------------------|-------------|------------|-------------------|------------|-------------|--------------------|------------|------------|
|   |               | Session 1         | Session 2   | Session 3  | Session 1         | Session 2  | Session 3   | Session 1          | Session 2  | Session 3  |
| <i>Culex portesi</i> vivant               | 1027          | 0                 | 2           | 188        | 15                | 74         | 215         | 0                  | 12         | 77         |
| <i>Culex portesi</i> mort                 | 1603          | 5                 | 238         | 129        | 277               | 93         | 154         | 25                 | 6          | 12         |
| <i>Coquilletidia venezuelensis</i> vivant | 2389          | 31                | 93          | 168        | 70                | 333        | 256         | 46                 | 133        | 195        |
| <i>Coquilletidia venezuelensis</i> mort   | 3857          | 281               | 514         | 107        | 183               | 159        | 230         | 134                | 13         | 80         |
| Autres moustiques                         | 3046          | 15                | 360         | 312        | 243               | 250        | 195         | 128                | 124        | 83         |
| <b>Total</b>                              | <b>11 922</b> | <b>332</b>        | <b>1207</b> | <b>904</b> | <b>788</b>        | <b>909</b> | <b>1050</b> | <b>333</b>         | <b>288</b> | <b>447</b> |

|  | Piège 4 - Manguiers |            |            | Piège 5 - Forêt |            |            | Piège 6 - Forêt balisier |            |            |
|--|---------------------|------------|------------|-----------------|------------|------------|--------------------------|------------|------------|
|  | Session 1           | Session 2  | Session 3  | Session 1       | Session 2  | Session 3  | Session 1                | Session 2  | Session 3  |
|  | 1                   | 0          | 161        | 0               | 6          | 156        | 0                        | 19         | 101        |
|  | 64                  | 140        | 40         | 83              | 166        | 29         | 18                       | 80         | 44         |
|  | 58                  | 25         | 180        | 107             | 92         | 196        | 26                       | 75         | 305        |
|  | 263                 | 266        | 66         | 503             | 393        | 107        | 265                      | 136        | 157        |
|  | 84                  | 204        | 141        | 267             | 214        | 76         | 252                      | 18         | 80         |
|  | <b>470</b>          | <b>635</b> | <b>588</b> | <b>960</b>      | <b>871</b> | <b>564</b> | <b>561</b>               | <b>328</b> | <b>687</b> |

La table 1 récapitule les résultats de 3 sessions de captures sur les 4 effectuées à La Levée. La session 1 s'étant déroulée le 19 et 20/03/2025 ; la session 2 le 23 et 24/04/2025 et la session 3 le 03 et 04/07/2025, en période de saison des pluies.

Sur les deux nuits de captures, seuls les filets des premières nuits ont été identifiés, étant donné la quantité d'insectes. C'est donc un total de 18 unités de piégeages qui ont été identifiées pour les espèces *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*, pour un total de 11 922 individus traités. À partir de ces premières données, on estime le taux de mortalité par piège afin de voir l'impact du biotope sur la survie des deux espèces. (Figure 13 et 14)

**Taux de mortalité de *Culex portesi* selon le piège au fil des sessions de captures**

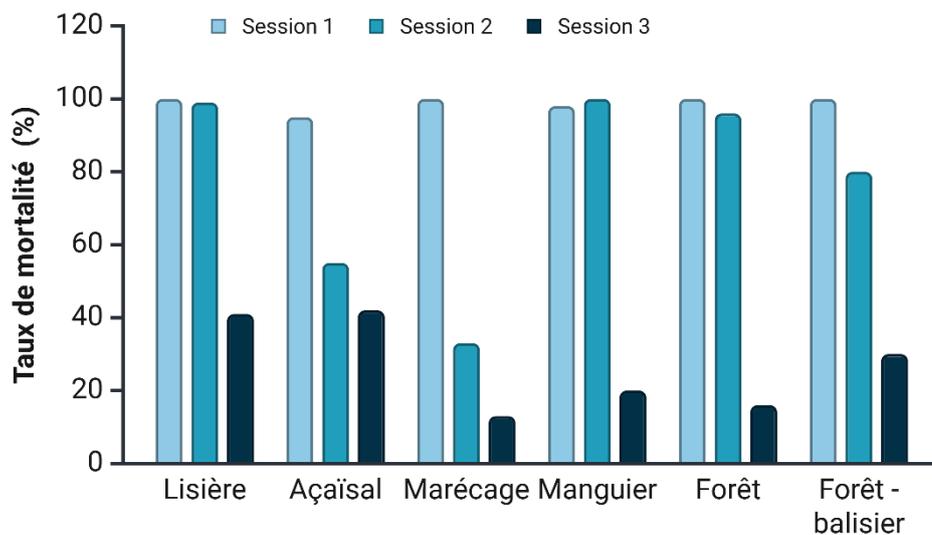


Figure 13 : Taux de mortalité de *Culex portesi* selon l'emplacement du piège au fil des sessions de captures

On effectue une ANOVA pour comparer les taux de mortalité selon les différents pièges. On obtient un seuil de significativité  $\alpha = 0.05$ , et une p-value de 0.951, indiquant qu'il n'y a pas de différence significative entre les pièges. A priori, les facteurs environnementaux associés aux différents habitats (lisière forestière, zones humides, etc.) n'impactent pas différenciellement la survie de *Culex portesi*.

De même que pour *Culex portesi*, l'analyse comparative des taux de mortalité de *Coquilletidia venezuelensis* entre les différents biotopes de piégeage ne révèle aucune différence significative (ANOVA :  $F = 0,575$ ,  $p = 0,719$ ). Cette absence de significativité est confirmée par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis ( $\chi^2 = 4,137$ ,  $ddl = 5$ ,  $p = 0,530$ ).

## Taux de mortalité de *Coquilletidia venezuelensis* selon le piège au fil des sessions de captures

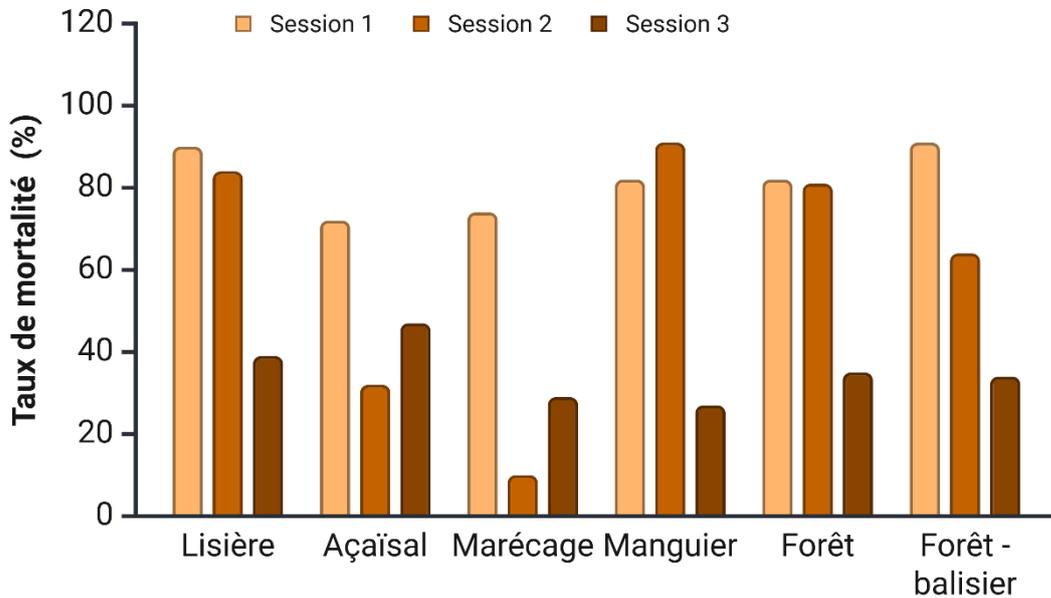


Figure 14 : Taux de mortalité de *Coquilletidia venezuelensis* selon l'emplacement du piège au fil des sessions de captures

On peut également estimer le nombre de captures de chaque espèce selon le biotope.

L'analyse de la distribution des captures entre les différents biotopes révèle une hétérogénéité significative dans la répartition spatiale des deux espèces étudiées (test du  $\chi^2$  :  $\chi^2 = 235,27$ , ddl = 5,  $p < 2,2 \times 10^{-16}$ ).

Les résidus standardisés mettent en évidence des associations significatives espèce-biotop distinctes (seuil |2|). *Culex portesi* présente une sur-représentation dans les zones d'Açaisal (résidu = +12,0) et, dans une moindre mesure, en lisière forestière (résidu = +2,4) et près du manguier (résidu = +2,1). À l'inverse, *Culex portesi* semble moins présent dans les biotopes humides de marécage (résidu = -7,2), ainsi que les zones forestières (résidus respectifs de -6,0 et -6,8). (Figure 15)

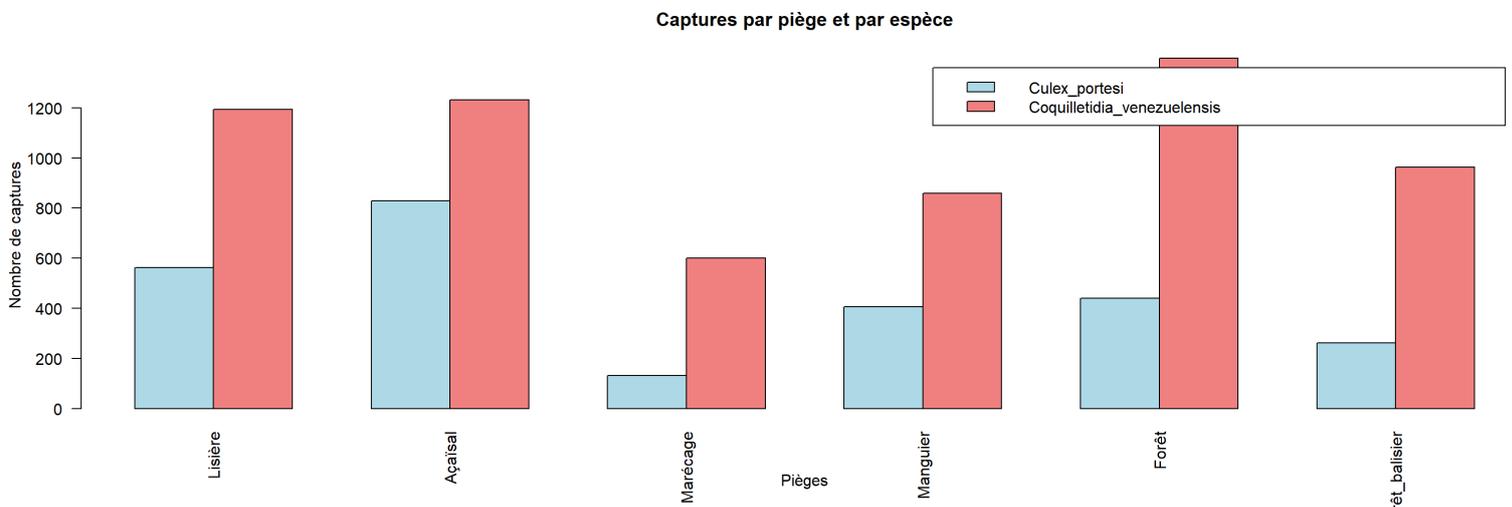


Figure 15 : Distribution des captures des deux espèces cibles entre les différents biotopes toutes sessions confondues

*Coquilletidia venezuelensis* adopte un patron de distribution inverse, avec une forte préférence pour les biotopes forestiers (forêt : résidu = +6,0 ; forêt balisier : résidu = +6,8) et les zones de marécage (+7,2), et semble moins présent dans l'Açaïsal (résidu = -12,0).

La composition relative des captures par biotope confirme cette ségrégation spatiale. L'Açaïsal présente la **plus forte proportion de *Cx. portesi*** (40,2% des captures), contrastant avec les zones de marécage où cette espèce ne représente que 18,0% des captures. Les biotopes forestiers sont dominés par *Cq. venezuelensis*, qui constitue 76,1% à 82,0% des captures selon les sites.

Les ratios *Cx. portesi*/*Cq. venezuelensis* varient significativement entre biotopes, de 0,220 en marécage à 0,673 en Açaïsal, reflétant des **exigences écologiques sensibles** entre les deux espèces. Cette distribution différentielle suggère une spécialisation, *Cx. portesi* privilégiant les zones plus ouvertes et anthropisées, tandis que *Cq. venezuelensis* colonise préférentiellement les habitats forestiers humides.

### III. Paramètres écologiques et élevages

#### 1) Elevage de *Culex portesi*

Une série de 6 pontes d'œufs par les 1482 femelles F0 de La Levée, correspondant à 6 bacs de larves a des pas de temps différents a été réalisé. Au total, 620 larves ayant atteint le stade L4 ont été comptabilisées, atteignant ce stade 14 à 16 jours à partir de l'éclosion des œufs (J0). C'est à ce dernier stade qu'une très forte mortalité larvaire a été observée. Ainsi, sur nos 620 larves, seules 143, donc 23,06% sont passées au stade de pupes, le reste des larves n'ayant pas survécu. Sur ces 143 pupes, 129 ont émerger au stade adulte, soit 90,2% du totale de pupes.

Leur durée de vie va jusqu'à 47 jours à la suite de leur émergence.

Un bac a été particulièrement suivi et le comptage des larves a été fait au fil de leur développement. On obtient ainsi une courbe matérialisant le taux de survie des larves de *Culex portesi* (Figure 16)

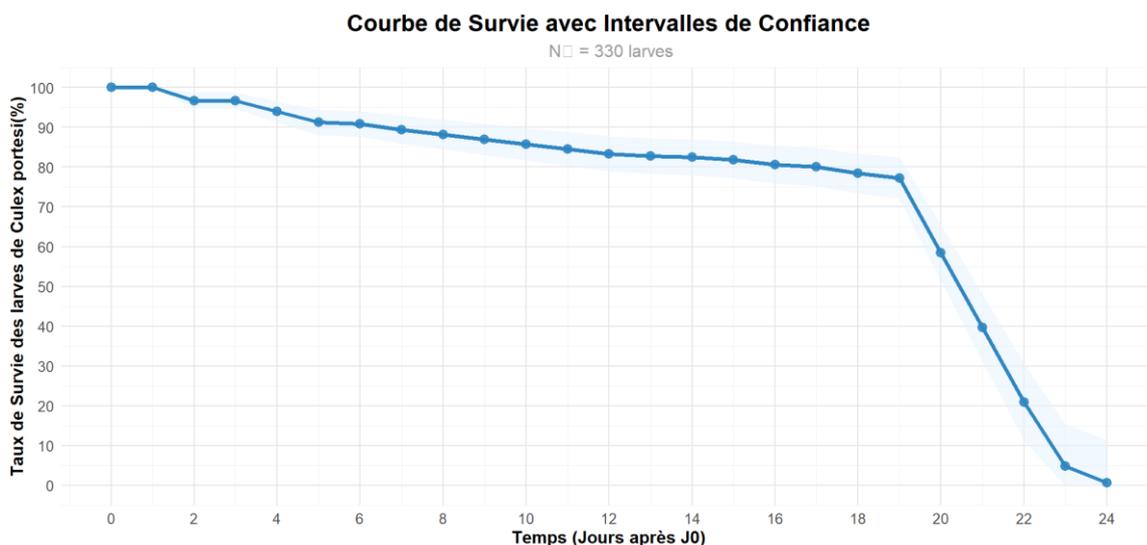


Figure 16 : Taux de survie des larves de *Culex portesi* (%)

On observe une mortalité soudaine au dernier stade larvaire. Ces conditions d'élevage standard utilisées ne permettent pas un développement larvaire optimal de *Culex portesi*, sur ces 330 larves L1 de départ, seules 9 sont passées au stade de pupes, le reste ayant atteint le stade L4 n'ayant pas survécu.

A partir de ces observations, des pas de temps ont pu être calculé. Des photos au microscope pour chaque stade larvaire, ainsi que les pupes, œufs et adultes ont pu être réalisées, dans ce cadre, afin de produire la figure résumée suivante. (Figure 17)

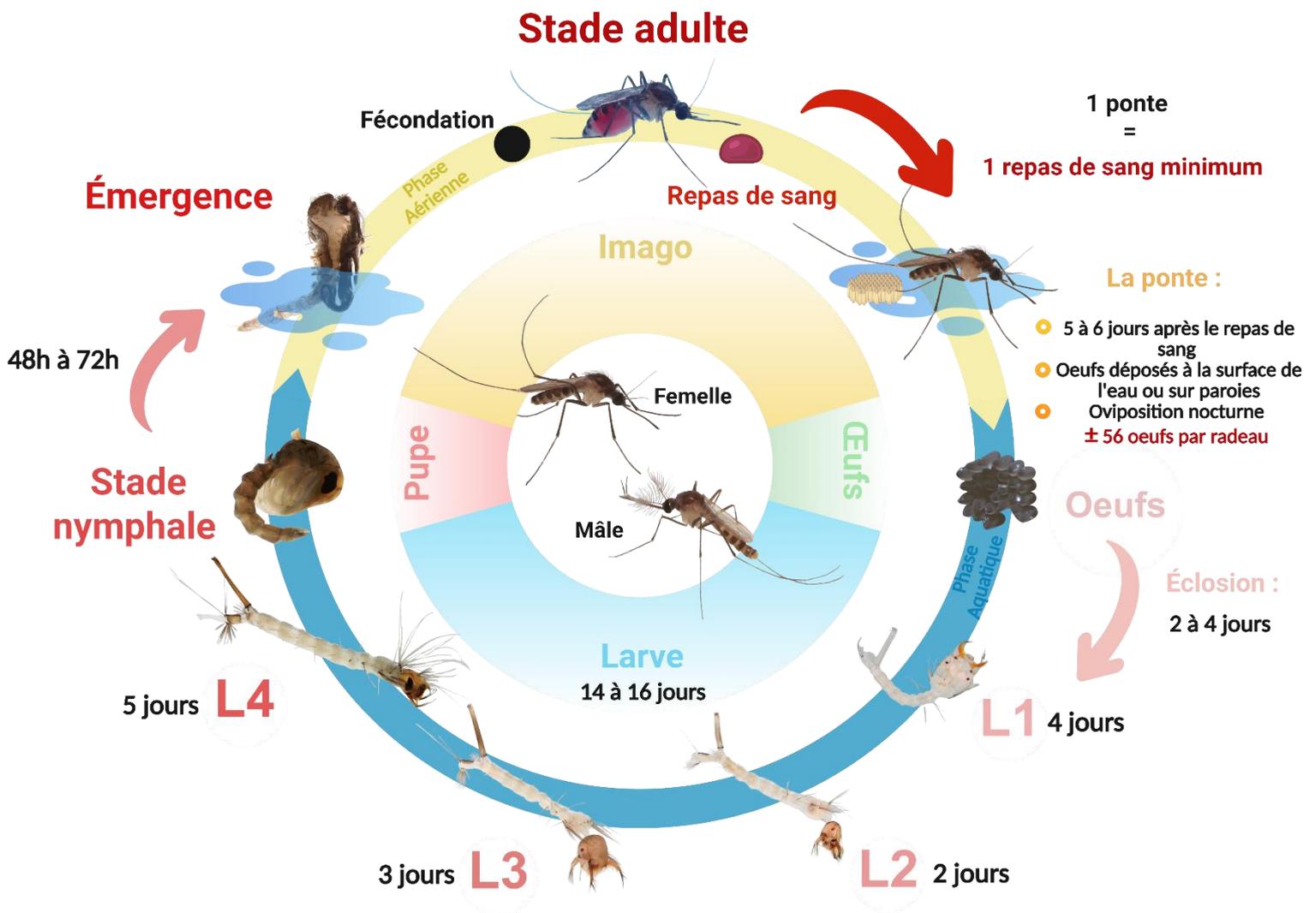


Figure 17 : Cycle de vie de *Culex portesi*. Données et photos réalisées au sein de l'UEM, protocole d'élevage de Takashi

## 2) Traits biologiques de *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*

En parallèle de l'élevage de *Culex portesi*, des tests ont été fait sur adultes *Culex portesi* et *Coquilletidia venezuelensis*. Mieux appréhender certains traits biologiques des adultes permettront par la suite de mieux ciblé nos piégeages et optimisé les infections expérimentales en LSB3. (Figure 18)

### a) Taux de gorgement

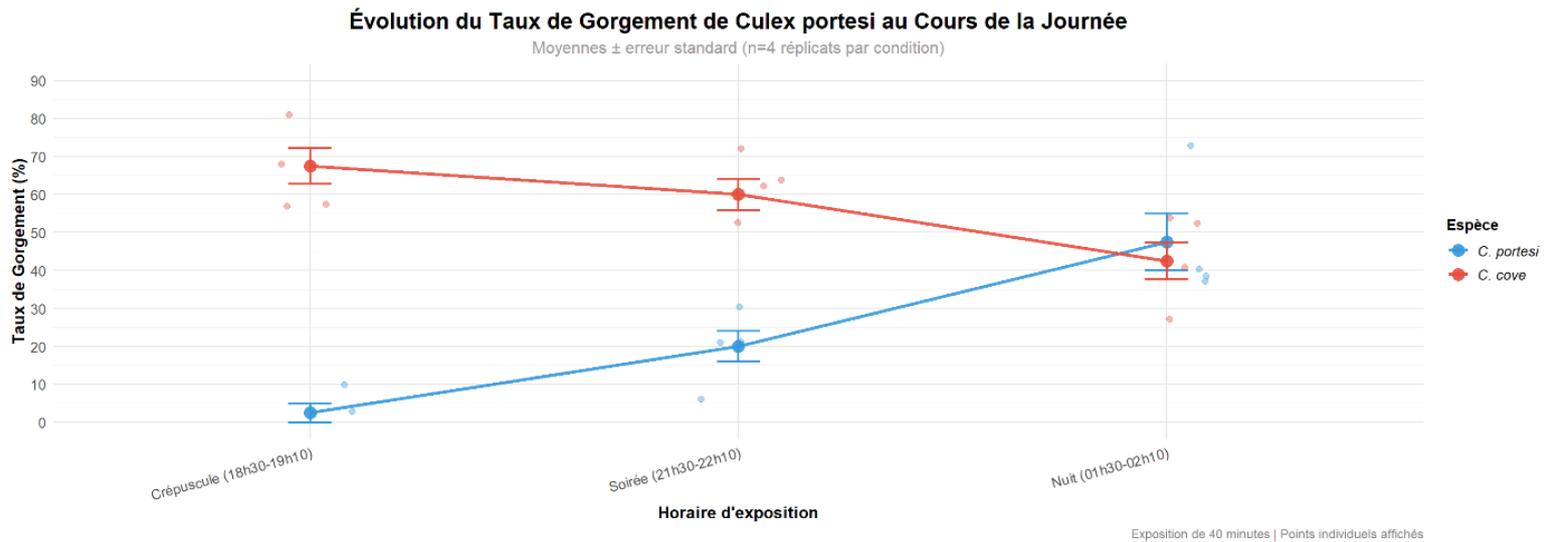


Figure 18 : Evolution du taux de gorgement de *Culex portesi* au cours de la journée

L'analyse des taux de gorgement révèle des différences comportementales marquées entre les deux espèces. Les données montrent que *Cx portesi* présente un profil d'activité hématophage strictement crépusculo-nocturne avec une progression croissante de 2,5% au crépuscule vers 47,5% en pleine nuit, tandis que *Cq venezuelensis* maintient un taux élevé et relativement stable oscillant entre 67,5% au crépuscule et 42,5% durant la période nocturne.

L'ANOVA à deux facteurs confirme la significativité de l'effet espèce ( $p = 1,21 \times 10^{-7}$ ) et révèle une interaction hautement significative entre l'espèce et l'horaire ( $p = 4,17 \times 10^{-6}$ ), indiquant que les réponses temporelles des deux espèces sont statistiquement distinctes.

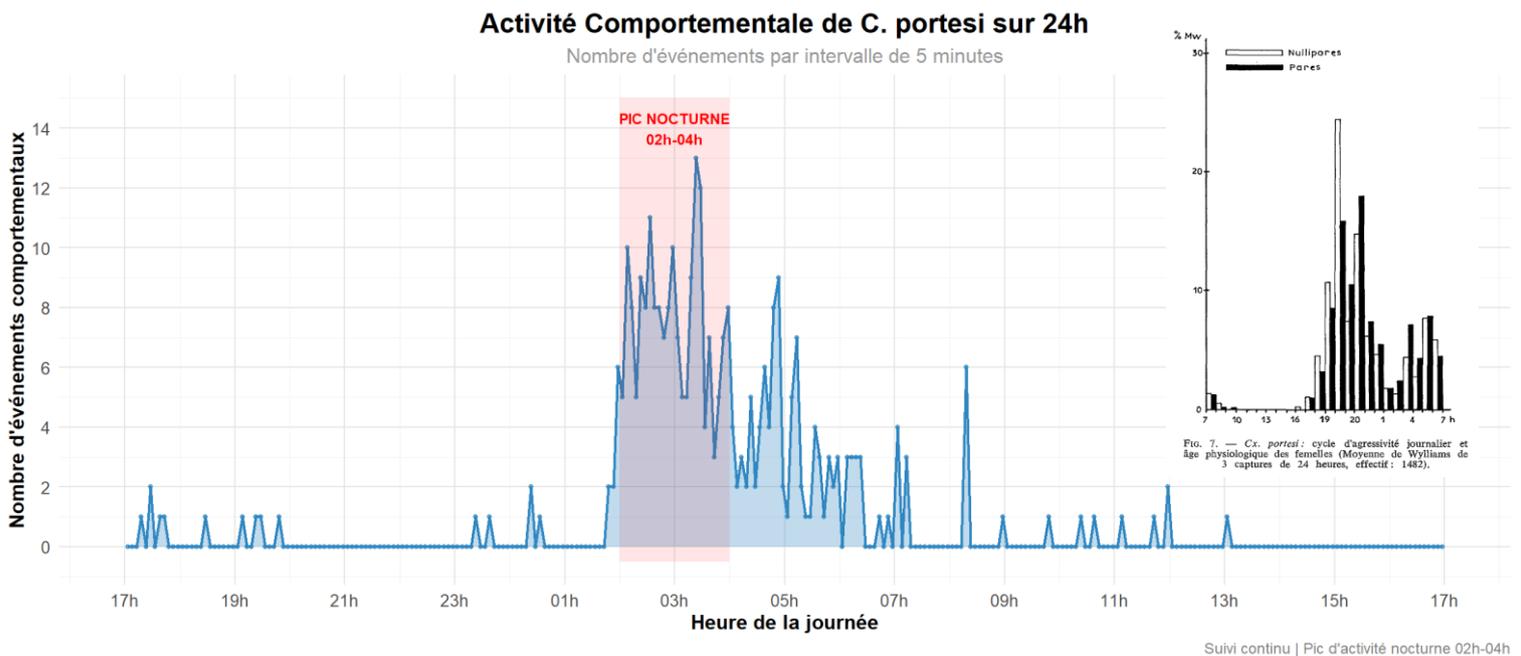
### b) Comportement de *Culex portesi* sur 24h

L'enregistrement continu sur 288 intervalles de 5 minutes, de 17h03 à 16h58 du jour suivant, a permis de quantifier 327 événements comportementaux totaux, démontrant une distribution temporelle hautement hétérogène. L'analyse temporelle met en évidence quatre phases distinctes dans le cycle comportemental :

L'activité crépusculaire (17h-20h) présente une fréquence événementielle sporadique avec 9 événements répartis de manière irrégulière, suggérant une phase de transition vers l'état d'activité nocturne. La période de quiescence comportementale s'étend de 20h à 01h30,

caractérisée par une quasi-absence d'activité avec seulement 4 événements enregistrés sur l'ensemble de cette fenêtre temporelle de 5h30.

La phase d'activité maximale s'établit entre 01h48 et 06h58, concentrant l'essentiel de l'activité comportementale avec un pic absolu de 13 événements observé à 03h23, confirmant le caractère strictement nocturne de l'espèce. C'est résultats semblent concordés avec ceux de Degallier, bien que le pic d'agressivité semble être atteint un peu plus loin dans la nuit pour nous. (Figure 19)



#### IV. Infection expérimentale et compétence vectorielle

On rappelle qu'on a pour points temporels : J7, J14, J21 (jours post-infection), trois types d'échantillons : MID (intestin moyen), CAR (carcasse), SAL (salive) et que le seuil de positivité est fixé à :  $Ct \leq 37,5$ . 148 Cove se sont gorgées sur les 400 femelles entrée en P3. Au total 4 plaques de PCR ont été analysé, avec un total de 107 moustiques disséquer

On obtient les résultats suivants :

Tableau 3 : Récapitulatif des résultats de taux d'infection, dissémination et transmission d'OROV pour Cove

| Temps | Total | Infection (MID+) | Dissémination (CAR+) | Transmission (SAL+) |
|-------|-------|------------------|----------------------|---------------------|
| J7    | 41    | 5 (12,2%)        | 10 (24,4%)           | 0 (0%)              |

| Temps | Total | Infection (MID+) | Dissémination (CAR+) | Transmission (SAL+) |
|-------|-------|------------------|----------------------|---------------------|
| J14   | 45    | 0 (0%)           | 4 (8,9%)             | 0 (0%)              |
| J21   | 21    | 0 (0%)           | 1 (4,8%)             | 0 (0%)              |

On obtient les résultats suivants :

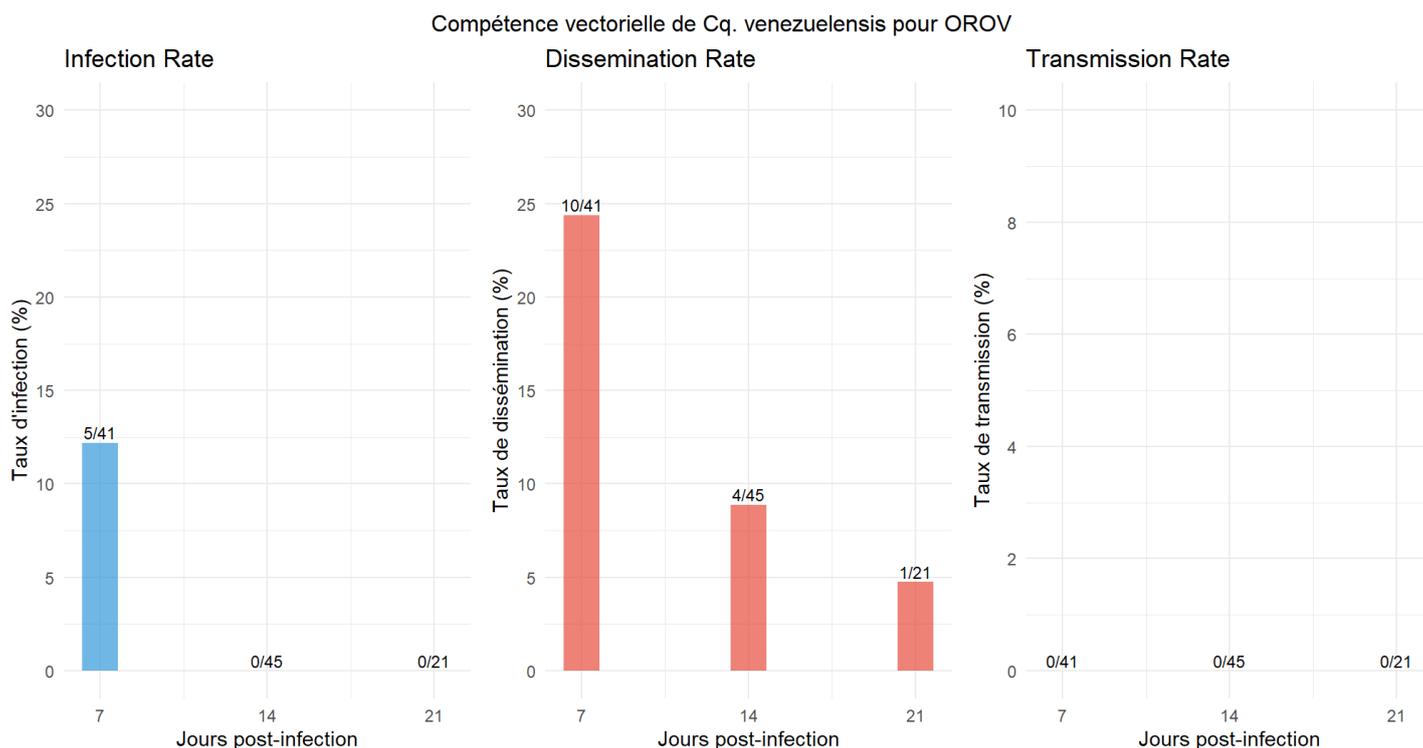


Figure 20 : Compétence vectorielle de *Cq. venezuelensis* pour OROV

L'analyse de la compétence vectorielle de *Cq. venezuelensis* révèle une cinétique d'infection particulière avec un taux d'infection maximal à 7 jpi (12,2%, n=5/41), suivi d'une disparition complète de l'infection intestinale aux temps ultérieurs. (Figure 20)

La dissémination virale vers les tissus secondaires suit un profil décroissant de 24,4% à J7 vers 4,8% à J21, suggérant une capacité limitée de maintien de l'infection systémique. Aucune transmission via la salive n'a été détectée sur l'ensemble des temps étudiés (0/21 échantillons), indiquant une barrière salivaire efficace chez cette espèce.

La compétence vectorielle de *Cq. venezuelensis* semble limitée pour OROV, on observe d'ailleurs un déclin significatif de l'infection entre J7 et J14 ( $p = 0.022$ ) (test exact de Fisher).

# Discussion

## Distribution spatiotemporelle et implications épidémiologiques

Nos résultats révèlent une **hétérogénéité spatiale marquée** dans la distribution de *Coquillettidia venezuelensis* et *Culex portesi* en Guyane française, confirmant l'existence de niches écologiques distinctes pour ces vecteurs potentiels d'arbovirus. La dominance de *Cq. venezuelensis* en milieux forestiers humides (76-82% des captures) contraste avec la préférence de *Cx. portesi* pour les zones plus ouvertes comme l'Açaïsal comme vue sur nos données de collectes (40,2% des captures), cohérente avec les observations historiques de Dégallier et al. (1978) qui décrivaient déjà *C. portesi* comme une espèce de lisière.

Le **paradoxe saisonnier** observé, avec des pics d'abondance durant la grande saison sèche (juillet-novembre) plutôt qu'en saison des pluies, remet en question les stratégies de surveillance vectorielle traditionnelles. Cette dynamique s'explique probablement par la concentration des gîtes larvaires et l'optimisation du développement à des températures stables (25-30°C), phénomène également documenté par Talaga (2016) pour d'autres Culicidae guyanais. Ces fenêtres temporelles d'abondance maximale (>50 captures/session) identifient des **périodes de risque accru** pour la transmission d'arbovirus sylvatiques.

## Compétence vectorielle de *Coquillettidia venezuelensis* pour OROV

Nos expériences d'infection expérimentale démontrent une **compétence vectorielle limitée** de *Cq. venezuelensis* pour OROV, avec un taux d'infection maximal de 12,2% à J7 mais une **absence totale de transmission salivaire**. Ces résultats contrastent avec l'efficacité exceptionnelle de *Culicoides paraensis* (>80% d'infection) rapportée par Gallichotte et al. (2025), confirmant ce dernier comme vecteur principal urbain d'OROV. On peut également se poser la question de l'utilisation de F0 sauvages, plutôt qu'une lignée F1 standardisé de laboratoire. Dans le cas de *Coquillettidia venezuelensis* cela est très compliqué, car l'élevage nous est rendue impossible de part la respiration via des racines de plantes des larves de Cove.

La **cinétique d'infection décroissante** (12,2% à J7 → 0% à J14-J21) suggère une réponse immunitaire efficace chez *Cq. venezuelensis*, potentiellement médiée par les voies Dicer-2/Vago décrites chez les Culicidae (Paradkar et al., 2012). Cette **barrière salivaire** constitue un mécanisme de défense majeur limitant la capacité de transmission, phénomène également observé pour *Culex quinquefasciatus* dans les études pré-2024 (Pinheiro et al., 1981).

## Défis de l'élevage et implications méthodologiques

L'**échec partiel de l'élevage de *C. portesi*** (23% de survie larvaire, mortalité critique au stade L4) souligne les difficultés inhérentes au maintien d'espèces sylvatiques en laboratoire. Ces résultats appellent à l'**optimisation des protocoles d'élevage**, particulièrement pour les espèces forestières amazoniennes dont la biologie reste mal connue.

## Contexte épidémiologique et enjeux de santé publique

L'**émergence explosive d'OROV en 2024** (>25 000 cas confirmés dans 13 pays) confirme le potentiel pandémique de cet Orthobunyavirus négligé (Srivastava et al., 2025). En Guyane

française, l'épidémie de Saül (2020) avec un taux d'attaque de 61% illustre la vulnérabilité des populations isolées face aux arbovirus sylvatiques émergents (Gaillet et al., 2021). Nos données sur la distribution des vecteurs potentiels apportent des **éléments cruciaux pour la surveillance épidémiologique** et l'anticipation de futurs épisodes de spillover.

Par ailleurs la **prédominance de *Cq. venezuelensis* dans les hotspots identifiés** (Iracoubo, Ouanary, Roura) nécessite un renforcement de la surveillance entomologique dans ces zones, particulièrement durant les pics d'abondance de juillet-novembre. L'interface forêt-milieu anthropisé constitue une **zone critique** où peuvent s'établir des ponts épidémiologiques entre cycles sylvatiques et urbains, comme documenté pour d'autres arbovirus amazoniens (de Thoisy et al., 2021).

### Limites de l'étude

Cette étude présente plusieurs limitations. L'**hétérogénéité des données historiques** (1971-2025) et la variabilité des méthodes de piégeage limitent la robustesse des analyses temporelles. Il serait également intéressant de tester la **compétence vectorielle de *Cx. Portesi*** pour certains Orthobunyavirus endémiques Guyanais, cette espèce étant historiquement associée à la transmission du complexe VEE en Guyane (Dégallier et al., 1978). Enfin, les **faibles effectifs en infection expérimentale** (n=107 moustiques) appellent à la prudence dans l'interprétation des résultats de compétence vectorielle. Un répliquât du protocole d'infection expérimental est en cours à l'heure d'écriture de ce rapport, et prendra en compte les J3 et J5 post infection, ouvrant de nouvelles perspectives dans le cas où Oropouche aurait une réplication rapide (comme les flavivirus par exemple). Des cultures cellulaires sur nos échantillons salivaires pourraient également confirmer ou infirmer nos résultats.

## Conclusion

Cette étude apporte les **premières données exhaustives** sur la distribution spatiotemporelle de *Coquillettidia venezuelensis* et *Culex portesi* en Guyane française, révélant des patterns écologiques complexes et des fenêtres de risque vectoriel inattendues durant la saison sèche. Bien que la compétence vectorielle limitée de *Cq. venezuelensis* pour OROV nuance son rôle dans la transmission, la **forte densité de cette espèce en milieux forestiers** maintient un potentiel de spillover vers les communautés humaines.

Dans le contexte d'**émergence mondiale d'OROV**, ces résultats orientent les stratégies de surveillance vers une approche spatiotemporelle intégrée, privilégiant les interfaces forêt-habitat anthropisé durant juillet-novembre. L'**optimisation des protocoles d'élevage** des espèces sylvatiques et l'évaluation de la compétence vectorielle de *Cx. portesi* constituent des priorités pour compléter notre compréhension des cycles de transmission amazoniens.

Cette recherche s'inscrit dans la stratégie **One Health** du projet AMAZED, contribuant à l'anticipation des risques arboviraux face aux pressions anthropiques croissantes sur les écosystèmes amazoniens. Les outils prédictifs développés sont **transposables à d'autres hotspots tropicaux** confrontés à l'émergence de pathogènes négligés, renforçant la préparation face aux futures émergences virales.

# Glossaire

**Anthropophilie** : Préférence comportementale d'un arthropode hématophage pour l'homme comme hôte de repas sanguin

**Arbovirus** : Virus transmis par des arthropodes hématophages (Arthropod-Borne Virus)

**Biotope** : Milieu de vie défini par des caractéristiques physiques et chimiques homogènes

**Capacité vectorielle** : Mesure de l'efficacité d'une population de vecteurs à transmettre un pathogène dans des conditions naturelles, intégrant les paramètres écologiques et comportementaux

**Compétence vectorielle** : Aptitude intrinsèque d'une espèce de vecteur à acquérir, maintenir et transmettre un agent pathogène lors d'études expérimentales contrôlées

**Cycle gonotrophique** : Cycle reproductif des femelles de moustiques comprenant la recherche d'hôte, le repas sanguin, la maturation des œufs et la ponte

**Dissémination** : Capacité du virus à sortir de l'intestin moyen pour infecter d'autres tissus via l'hémolymphe, franchissant la barrière basale de l'épithélium intestinal

**Émergence** : Apparition ou réapparition d'un agent pathogène dans une population, souvent associée à des changements environnementaux ou sociétaux

**Incubation extrinsèque** : Période entre l'acquisition du pathogène par le vecteur lors du repas sanguin et sa capacité à le transmettre, généralement de 8 à 14 jours pour les arbovirus

**One Health** : Approche intégrative reconnaissant l'interconnexion entre santé humaine, animale et environnementale dans la gestion des maladies infectieuses

**Ornithophilie** : Préférence comportementale d'un arthropode hématophage pour les oiseaux comme source de repas sanguin

**Spillover** : Transmission d'un agent pathogène d'une espèce réservoir naturelle vers une nouvelle espèce hôte, souvent l'homme

**Vecteur** : Arthropode hématophage capable d'acquérir, maintenir et transmettre un agent pathogène entre hôtes vertébrés

**Zoonose** : Maladie infectieuse naturellement transmissible entre animaux vertébrés et humains, directement ou par l'intermédiaire d'un vecteur

## Bibliographie

Alencar, J., Pacheco, J. B., Correa, F. F., Silva, J. S., & Guimarães, A. É. (2011). New report on the bionomics of *Coquillettidia venezuelensis* in temporary breeding sites (Diptera: Culicidae). *\*Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical\**, 44(2), 247-248.

Anderson, C.R., Spence, L., Downs, W.G., & Aitken, T.H. (1961). Oropouche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. *\*American Journal of Tropical Medicine and Hygiene\**, 10, 574-578.

Bai, F., Denyoh, P.M.D., Urquhart, C., Shrestha, S., & Yee, D.A. (2025). A Comprehensive Review of the Neglected and Emerging Oropouche Virus. *\*Viruses\**, 17(3), 439.

Bailly, S., Rousset, D., Fritzell, C., Hozé, N., Ben Achour, S., Berthelot, L., Enfissi, A., Vanhomwegen, J., Salje, H., Fernandes-Pellerin, S., Saout, M., Lavergne, A., Manuguerra, J. C., Carod, J. F., Djossou, F., Cauchemez, S., & Flamand, C. (2021). Spatial distribution and burden of emerging arboviruses in French Guiana. *\*Viruses\**, 13(7), 1299.

Bonifay, T., Le Turnier, P., Epelboin, Y., Carvalho, L., De Thoisy, B., Djossou, F., Duchemin, J. B., Dussart, P., Enfissi, A., Lavergne, A., Mutricy, R., Nacher, M., Rabier, S., Talaga, S., Talarmin, A., Rousset, D., & Epelboin, L. (2023). Review on main arboviruses circulating on French Guiana, an ultra-peripheral European region in South America. *\*Viruses\**, 15(6), 1268.

Costa, M. M., Guidez, A., Briolant, S., Talaga, S., Issaly, J., Naroua, H., Carinci, R., Gaborit, P., Lavergne, A., Dusfour, I., Duchemin, J. B., & Almeras, L. (2023). Identification of Neotropical *Culex* mosquitoes by MALDI-TOF MS profiling. *\*Tropical Medicine and Infectious Disease\**, 8(3), 168.

de Thoisy, B., Duron, O., Epelboin, L., Musset, L., Quénel, P., Roche, B., Binetruy, F., Briolant, S., Carvalho, L., Chavy, A., Coupié, P., Demar, M., Douine, M., Dusfour, I., Epelboin, Y., Flamand, C., Franc, A., Ginouvès, M., Gourbière, S., Houël, E., Kocher, A., Lavergne, A., Le Turnier, P., Mathieu, L., Murienne, J., Nacher, M., Pelleau, S., Prévot, G., Rousset, D., Roux, E., Schaub, R., Talaga, S., Thill, P., Tirera, S., & Guégan, J. F. (2021). Ecology, evolution, and epidemiology of zoonotic and vector-borne infectious diseases in French Guiana: Transdisciplinarity does matter to tackle new emerging threats. *\*Infection, Genetics and Evolution\**, 93, 104916.

Dégallier, N., Digoutte, J. P., & Pajot, F. X. (1978). Épidémiologie de deux arbovirus du complexe VEE en Guyane Française : données préliminaires sur les relations virus-vecteurs. *\*Cahiers ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie\**, 16(3), 209-221.

Dusfour, I., Carinci, R., Gaborit, P., Issaly, J., & Girod, R. (2010). Evaluation of four methods for collecting malaria vectors in French Guiana. *\*Journal of Economic Entomology\**, 103(3), 973-976.

Files, M.A., Hansen, C.A., Herrera, V.C., et al. (2022). Baseline mapping of Oropouche virology, epidemiology, therapeutics, and vaccine research and development. *\*NPJ Vaccines\**, 7, 38.

Foley, D. H., Rueda, L. M., & Wilkerson, R. C. (2007). Insight into global mosquito biogeography from country species records. *\*Journal of Medical Entomology\**, 44(4), 554-567.

Gaillet, M., Pichard, C., Restrepo, J., Lavergne, A., Perez, L., Enfissi, A., Abboud, P., Lambert, Y., Ma, L., Monot, M., Dussart, P., & Matheus, S. (2021). Outbreak of Oropouche virus in French Guiana. *\*Emerging Infectious Diseases\**, 27(10), 2711-2714.

Gallichotte, E.N., Ebel, G.D., & Carlson, C.J. (2025). Vector competence for Oropouche virus: A systematic review of pre-2024 experiments. *\*PLoS Neglected Tropical Diseases\**, 19(4), e0013014.

Guidez, A., Tirera, S., Talaga, S., Lacour, G., Carinci, R., Darcissac, E., Donato, D., Gaborit, P., Clervil, E., Epelboin, Y., de Thoisy, B., Dusfour, I., Duchemin, J.-B., & Lavergne, A. (2024). Mosquito Feeding Habits in Coastal French Guiana: Mammals in the Crosshairs? *\*Insects\**, 15(9), 718.

Hansen, M. C., Potapov, P. V., Moore, R., Hancher, M., Turubanova, S. A., Tyukavina, A., Thau, D., Stehman, S. V., Goetz, S. J., Loveland, T. R., Kommareddy, A., Egorov, A., Chini, L., Justice, C. O., & Townshend, J. R. G. (2013). High-resolution global maps of 21st-century forest cover change. *\*Science\**, 342(6160), 850-853.

Harbach, R. E. (2020). Mosquito taxonomic inventory. Walter Reed Biosystematics Unit, Smithsonian Institution.

Heitmann, A., Jansen, S., Lühken, R., Leggewie, M., Schmidt-Chanasit, J., & Tannich, E. (2018). Forced Salivation As a Method to Analyze Vector Competence of Mosquitoes. *\*Journal of Visualized Experiments\**, 138, e57980.

Henry, R., & Murphy, F.A. (2018). Etymologia: Oropouche virus. *\*Emerging Infectious Diseases\**, 24(5), 937.

Kramer, L.D., & Ciota, A.T. (2015). Dissecting vectorial capacity for mosquito-borne viruses. *\*Current Opinion in Virology\**, 15, 112-118.

Mackay, I.M., & Arden, K.E. (2016). Mayaro virus: a forest virus primed for a trip to the city? *\*Microbes and Infection\**, 18(12), 724-734.

Musso, D., Rousset, D., & Peyrefitte, C. (2022). Special Issue "Endemic Arboviruses". *\*Viruses\**, 14(3), 645.

NAPOLEÃO-PEGO, P., et al. (2014). Mayaro Virus Disease. *\*Journal of Human Virology & Retrovirology\**, 1(3), 1-11.

Peel, M. C., Finlayson, B. L., & McMahon, T. A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *\*Hydrology and Earth System Sciences\**, 11(5), 1633-1644.

Pinheiro F.P., Pinheiro M., Bensabeth G., Causey O.R., Shope R. Epidemia de vírus Oropouche em Belém. *Rev. Do Serviço Espec. De Saúde Pública*. 1962 ;12:13–23

Romero-Alvarez, D., & Escobar, L.E. (2018). Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. *\*Microbes and Infection\**, 20(3), 135-146.

Sakkas, H., Bozidis, P., Franks, A., & Papadopoulou, C. (2018). Oropouche Fever: A Review. *\*Viruses\**, 10(4), 175.

Schwartz, D.A. (2025). Novel Reassortants of Oropouche Virus (OROV) Are Causing Maternal–Fetal Infection During Pregnancy, Stillbirth, Congenital Microcephaly and Malformation Syndromes. *\*Genes\**, 16(1), 87.

Sciancalepore, S., Schneider, M.C., Kim, J., Galan, D.I., & Riviere-Cinnamond, A. (2022). Presence and Multi-Species Spatial Distribution of Oropouche Virus in Brazil within the One Health Framework. *\*Tropical Medicine and Infectious Disease\**, 7(6), 111.

SERRA, O.P., et al. (2016). Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. *\*Memórias do Instituto Oswaldo Cruz\**, 111, 0-0.

Sick, F., Beer, M., Kampen, H., & Wernike, K. (2019). Culicoides biting midges—Underestimated vectors for arboviruses of public health and veterinary importance. *\*Viruses\**, 11(4), 376.

Silva, J.W.P. (2017). Aspectos ecológicos de vetores putativos do vírus Mayaro e vírus Oropouche em estratificação vertical e horizontal em ambientes florestais e antropizados em uma comunidade rural no Amazonas. [Thèse de Master]. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ.

Sirivanakarn, S., & Dégallier, N. (1981). Redescription of *Culex* (*Melanoconion*) *portesi* Sénevet & Abonnenc, 1941, with notes on synonymy (Diptera: Culicidae). *\*Mosquito Systematics\**, 13(2), 153-171.

Srivastava, S., Sah, R., Babu, M.R., Sharma, D., Sharma, D., Kumar, S., ... & Rodriguez-Morales, A.J. (2025). The emergence of oropouche fever: A potential new threat? *\*New Microbes and New Infections\**, 65, 101596.

Talaga, S. (2016). Écologie, diversité et évolution des moustiques (Diptera: Culicidae) de Guyane française : implications dans l'invasion biologique du moustique *Aedes aegypti* (L.). Thèse de doctorat, Université de Guyane.

Talaga, S., Dejean, A., Carinci, R., Gaborit, P., Dusfour, I., & Girod, R. (2015). Updated checklist of the mosquitoes (Diptera: Culicidae) of French Guiana. *\*Journal of Medical Entomology\**, 52(4), 770-782.

Talaga, S., Duchemin, J. B., Girod, R., & Dusfour, I. (2021). The *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) of French Guiana: A comprehensive review with the description of three new species. *\*Journal of Medical Entomology\**, 58(1), 1-40.

Talaga S, Guidez A, de Thoisy B, Lavergne A, Carinci R, Gaborit P, et al. (2025) A DNA barcode library for *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) of South America with the description of two cryptic species of subgenus *Melanoconion*. *PLoS ONE* 20(2): e0310571.

Talarmin, A., Chandler, L. J., Kazanji, M., de Thoisy, B., Debon, P., Lelarge, J., Labeau, B., Bourreau, E., Vié, J. C., Shope, R. E., & Sarthou, J. L. (1998). Mayaro virus fever in French Guiana: Isolation, identification, and seroprevalence. *\*American Journal of Tropical Medicine and Hygiene\**, 59(3), 452-456.

TAKAHASHI, Laboratory rearing of *C. portesi*, *Mosq News*, 1968, 28(1): 82-87

Yoosuf, B.T., Gaidhane, A.M., Vadia, N., et al. (2025). Epidemiology, transmission dynamics, treatment strategies, and future perspectives on Oropouche virus. *\*Diagnostic Microbiology and Infectious Disease\**, 113, 116882.

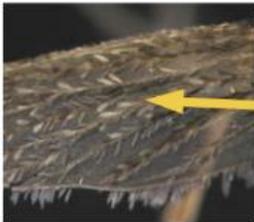
# Annexes

## Annexe 1 : Clefs de détermination global du genre *Culex* et *Coquilletidia*

### COQUILLETIDIA

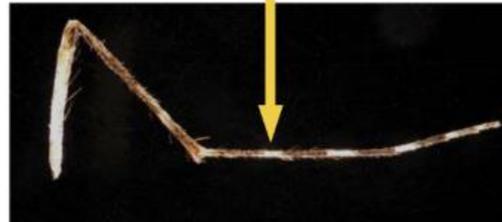


no prespiracular or postspiracular setae



wing scales large, speckled light and dark

1st tarsal segment has median pale ring



---

### CULEX



antenna about the same size as the proboscis

no prespiracular or postspiracular setae



legs dark, no bands

**Annexe 2** : Protocole de nourrissage et pas de temps des larves de *Culex portesi* (Inspiré du protocole de Takashi)

D'après l'article de Takashi, on s'attendait aux pas de temps suivant :

Œufs -> 1 à 5 jours

Larves phase I -> 4 jours

Phase II -> 2 j

Phase III -> 3 j

Phase IV -> 5 j

Pupe/ Nymphé -> 3 jours

Total = 15 jours (2 semaines) sous forme de larve puis l'émergence (long pour un moustique mais cycle continue car a priori pas de dessiccation possible des œufs).

En suivant ces pas de temps supposés, on a le pas de temps de nourrissage des larves suivant (tablette de levure)

J+5 après éclosion œufs : 1/2 tablet de levures

J+7 : 1/2 tablet de levures

J+9 : 1/2 tablet de levures

J+11 : 1 tablet entière + 500ml d'eau

J+13 : 1/2 tablet

J+15 : / SI toujours bcp de larves

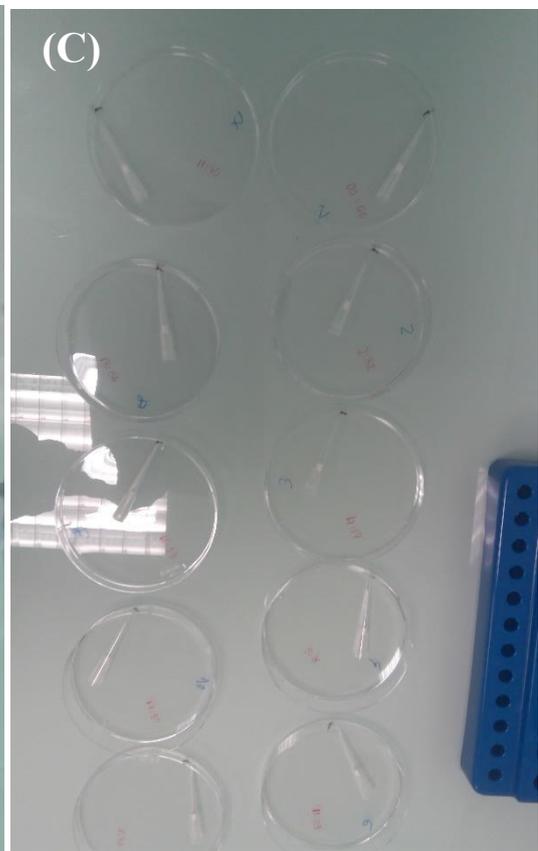
NB : Trop de nourriture pollue l'eau et tue les larves. Si l'eau semblait trouble ou qu'une hausse de la mortalité larvaire était constaté, les larves restantes étaient transférées directement dans un nouveau bac d'eau propre

**Annexe 3** : Photos des étapes du protocole d'infection expérimentale

Photo A : Gorgement des femelles *Cq. Venezuelensis* sur Hemotek de sang infecté.

Photo B : Tri des femelles gorgées.

Photo C : Salivation des femelles *Cq. Venezuelensis*.



## **Annexe 4 : Protocole d'extraction ARN et de RT-qPCR**

### **Protocole d'extraction ARN**

L'extraction s'effectue sous poste de sécurité microbiologique (PSM) en pièce 734 selon la procédure suivante :

- Lyse cellulaire : addition de 560  $\mu\text{L}$  de tampon AVL (Qiagen) contenant 5,6  $\mu\text{L}$  d'ARN carrier par échantillon
- Homogénéisation : vortex 15 secondes puis incubation 10 minutes à température ambiante
- Purification : passage sur colonnes de silice selon le protocole fabricant
- Éluion : re suspension finale dans 60  $\mu\text{L}$  d'eau RNase-free
- Conservation : stockage à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à analyse

Les échantillons sont conservés dans des boîtes dédiés au  $-80^{\circ}\text{C}$ . Au cours de ce stage, plus d'une dizaine d'extraction ont été réalisées, à raison de 30 échantillons par manipulations.

### **Détection par RT-qPCR temps réel**

La détection et quantification d'OROV s'effectue par RT-qPCR temps réel utilisant le kit MicroAmpFast Optical 96 well.

Composition du mélange réactionnel (volume final 25  $\mu\text{L}$ ) :

- Superscript III RT/Platinum Taq Mix : 0,5  $\mu\text{L}$
- Primer OROV-FNF (10  $\mu\text{M}$ ) : 0,75  $\mu\text{L}$  chaque
- Sonde OROV-FNP (5  $\mu\text{M}$ ) : 0,5  $\mu\text{L}$
- Primer OROV-FNR (5  $\mu\text{M}$ ) : 0,75  $\mu\text{L}$  chaque
- 2X Reaction Mix ROX : 12,5  $\mu\text{L}$
- Eau RNase-free : 5  $\mu\text{L}$
- ARN échantillon : 5  $\mu\text{L}$

### **Conditions d'amplification**

L'amplification s'effectue sur thermocycleur QuantStudio® 5 (Applied Biosystems) selon le programme suivant :

- Transcription inverse :  $50^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes
- Dénaturation initiale :  $95^{\circ}\text{C}$  pendant 2 minutes
- Amplification : 45 cycles de  $95^{\circ}\text{C}$  (15 sec) et  $58^{\circ}\text{C}$  (30 sec)

Sur notre plaque de 92 puits, on place nos échantillons de salives, carcasses ou intestins moyens +

- Témoin négatif d'extraction : échantillon de PBS traité parallèlement
- Témoin positif : ARN d'OROV de titre connu
- Témoin négatif de PCR : eau RNase-free

Séquences des amorces et sondes

OROV (ciblant le segment S) :

- Forward : 5'-TCC GGA GGC AGC ATA TGT G -3'
- Reverse : 5'-ACA ACA CCA GCA TTG AGC ACT T-3'
- Sonde OROV-FNP

## Annexe 5

Résumé des taux moyens par macro-biotope

| <b>Macro-biotope</b>  | <b>Sessions</b> | <b>C. portesi (moy.)</b> | <b>C. venezuelensis (moy.)</b> |
|-----------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------------|
| Forêt primaire        | 30              | 1,397                    | 2,920                          |
| Forêt                 | 189             | 67.5                     | 106                            |
| Marais                | 13              | 24.2                     | 65.3                           |
| Savane                | 142             | 0.03                     | 31.9                           |
| Plage                 | 18              | 1.5                      | 23.6                           |
| Lisière               | 28              | 0.54                     | 10.8                           |
| INCONNU               | 3,457           | 2.46                     | 4.93                           |
| Habitation/périphérie | 137             | 1.52                     | 2.34                           |
| Abattis               | 3               | 53.7                     | 0                              |