

TABLE DES MATIERES

Résumé	iv
Summary	vi
PREFACE	1
INTRODUCTION GENERALE.....	3
1. Une danse en trio : hôte, pathogène, vecteur avec l’environnement et le climat comme chef d’orchestre	4
2. La dynamique temporelle du nidus	8
3. Vecteur et dynamique vectorielle : facteur de régulation d’une maladie à transmission vectorielle ?	9
4. La dynamique des populations de vecteurs comme proxy du risque d’une maladie à transmission vectorielle.....	11
5. De la difficulté à caractériser une espèce vectrice au sein du genre <i>Culicoides</i>	12
6. Les <i>Culicoides</i> , la fièvre catarrhale ovine et la maladie hémorragique épizootique.....	14
6.1. Généralités, rôle nuisant et vectoriel des <i>Culicoides</i>	14
6.2. La fièvre catarrhale ovine	16
6.3. La maladie hémorragique épizootique.....	18
6.4. La situation dans le sud-ouest de l’Océan Indien	19
6.5. Les <i>Culicoides</i> et les « bavites » à La Réunion.....	19
6.6. La Réunion démunie face aux « bavites » ?	22
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA THESE	24
Chapitre I : Les facteurs conditionnant la dynamique temporelle des populations de <i>Culicoides</i> à La Réunion	26
Modelling temporal dynamics of <i>Culicoides</i> Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations on Reunion Island (Indian Ocean), vectors of viruses of veterinary importance.....	29
Abstract.....	30
Background.....	31
Methods	32
Results.....	38
Discussion.....	41
Conclusion.....	46
References.....	48
Figures legends	54
Tables	59
Additional files.....	60
Chapitre II : Modélisation de la dynamique spatio-temporelle des populations de <i>Culicoides</i> à La Réunion	81

Spatio-temporal modelling of <i>Culicoides</i> Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations on Reunion Island (Indian Ocean)	84
Abstract	85
Background	85
Methods	87
Results	90
Discussion	93
Conclusions	97
References	98
Figure legends	102
Additional file	108
Chapitre III : La circulation des virus de la fièvre catarrhale ovine et de la maladie hémorragique épizootique dans les populations de <i>Culicoides</i>	119
Assessing infectious rates in field-collected <i>Culicoides</i> populations: Large scale study of Bluetongue and Epizootic Hemorrhagic Disease Virus infectious rates in <i>Culicoides</i> species (Diptera: Ceratopogonidae) present in Reunion Island, Indian ocean	123
Abstract	124
Background	125
Material and Methods	127
Results	128
Discussion	130
Figures legends	132
Tables	136
DISCUSSION GENERALE	138
1. Piégeage, modélisation et recherche de génome viral	139
1.1. La caractérisation de la diversité et de l'abondance des <i>Culicoides</i> à partir d'échantillonnage de terrain	139
1.2. Caractérisation de l'écologie et de la dynamique des <i>Culicoides</i> par modélisation	140
1.3. La détection du génome viral de BTV et de l'EHDV à partir d'échantillonnage de populations sauvages de <i>Culicoides</i>	144
2. La composante vectorielle de la BT et de l'EHD à La Réunion	146
2.1. Ecologie et dynamique des <i>Culicoides</i>	146
2.2. Des espèces vectrices avérées, candidates et potentielles	150
2.2.1. Des <i>Culicoides</i> aux comportements trophiques mammophiles	151
2.2.2. Etude d'infection expérimentale sur les espèces de <i>Culicoides</i> retrouvées à La Réunion	151
2.2.3. Infection naturelle des populations sauvages de <i>Culicoides</i>	152
2.2.4. Des <i>Culicoides</i> vecteurs à La Réunion	153

2.3. <i>Implication pour l'épidémiologie de la BT et de l'EHD à La Réunion</i>	153
2.3.1. La bluetongue (BT)	155
2.3.2. La maladie hémorragique épizootique	156
3. Intérêts de la modélisation de la dynamique des <i>Culicoides</i> dans la compréhension et la maîtrise du risque BT et EHD	159
3.1. <i>Vers le renforcement de la surveillance des Culicoides en Europe</i>	160
3.2. <i>Vers un outil de sensibilisation et de prévention à La Réunion</i>	162
4. Le risque BT et EHDV dans la zone du Sud-Ouest de l'Océan Indien par la dispersion des <i>Culicoides</i>	163
CONCLUSION GENERALE	165
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	167

TABLE DES ILLUSTRATIONS: FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

Figure 1 : Schéma représentant un système vectoriel. Modifié de Reisen {Reisen, 2010 #359}.	5
Figure 2: Cycle de vie des Culicoides. Modifié de (Purse et al., 2005b) (Purse et al., 2015).	14
Figure 3: Distributions connues de 6 arbovirus transmis par les Culicoides obtenues par des données sérologiques ou des cas cliniques durant les trois dernières décennies. Données issues de publications ou de bases de données publiques (Purse et al., 2015).	16
Figure 4: Carte d'abondance et de distribution spatiale des spécimens femelle des 5 espèces de Culicoides collectées sur 41 sites par des pièges lumineux à suction (Rieb trap) à l'île de La Réunion durant mars – avril 2005. Modifié de (Desvars et al., 2015).	20
Figure 5: Chronogramme des cas cliniques de fièvre catarrhale ovine (BT, fond vert) et de fièvre hémorragique épizootique (EHD, fond orange) recensés à La Réunion. L'encadré rouge correspond à la saison chaude et pluvieuse, l'encadré bleu à la saison froide et sèche.	21

CHAPITRE I

Figure 1. Map of the South-West Indian Ocean region localizing Reunion Island and the 11 study sites.	54
Figure 2. Diversity and total abundance at the study sites. Pie charts show the relative frequency of each species on site. Observed abundance resulting from 55 trapping sessions per site except for PL04 (49) and PL11 (33). Bar graphs: site number on title, relative frequency on y-axis, number of individuals on bar labels. Topographical map from French National Geographic Institute (BD Topo® IGN; http://professionnels.ign.fr/scan-ign).	55
Figure 3. Mondrian matrix of fortnightly <i>Culicoides</i> abundance (color coded) of the five species over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) and at the 11 trapping sites. *sp., species; **Alt., altitude in meters. Bold vertical lines separate the seasons. Note that the sites are classified by increasing altitude.	56
Figure 4. Matrix of correlation between meteorological - environmental variables and presence - abundance of each <i>Culicoides</i> species at final mixed-effect negative binomial hurdle model. Red, significant ($p < 0.05$) favorable effect on presence or abundance of the <i>Culicoides</i> species; blue, significant ($p < 0.05$) unfavorable effect; stripped, lagged effect of the variable on catch; light colors, less significant effect ($p < 0.1$); grey, variables retained by the model but without significant effect. For categorical variables, modalities associated with the correlation are represented. For reference modalities in categorical variables and detailed information, see additional file 4: tables S4 to S8. Abbreviations: Lcmrf, leeward coast mountain rain forest; Wcmrf, windward coast mountain rain forest; Lwf, lowland wet forest; Tf, tamarind forest; Df, dry forest; Sav., savannah.	57
Figure 5. Prediction graphs of <i>C. bolitinos</i> and <i>C. imicola</i> abundance according to the final mixed effect negative binomial hurdle modelling by site. Black and dashed line, observed abundance; red line, predicted abundance. Note the log10 scale for the number of <i>Culicoides</i>	58
Figure S1. Temporal variation of dynamics variables over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) at the 11 trapping sites and maps of non-dynamics variables.	60
Figure S2. Temporal variation of the fortnightly <i>Culicoides</i> abundance of the five species over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) and at the 11 trapping sites.	64
Figure S3. Prediction graphs of <i>C. enderleini</i> , <i>C. grahamii</i> and <i>C. kibatiensis</i> abundance according to the final mixed effect negative binomial hurdle modelling by site.	80

CHAPITRE II

Figure 1. Spatial distribution of cattle, goats, sheep, deer and horses on Reunion Island.	102
Figure 2: Workflow diagram for the application at Reunion Island scale of the <i>Culicoides</i> spatio-temporal models.	103
Figure 3. Temporal variations in the number of husbandry locations with an estimated positive abundance for each of the <i>Culicoides</i> species. Husbandry locations with more than 10^1 to 10^5 individuals are also shown.	104
Figure 4. Example of modelled density maps of each <i>Culicoides</i> species, Reunion Island, 2016-2018. The examples chosen are those closest to the 3rd quartile of the number of positive husbandry locations during the hot and rainy season for <i>C. bolitinos</i> , <i>C. enderleini</i> , and <i>C. imicola</i> and during the cold season for <i>C. grahamii</i> and <i>C. kibatiensis</i> . For the opposite seasons, the examples are the closest to the 1st quartile.	105
Figure 5. Spatial distribution of <i>Culicoides</i> species observed during the March 2018 sampling campaign.	106
Figure 6. Maps of standardized differences between predictions and observations from the March 2018 sampling campaign.	107
Figure S1. Predictions of average abundances and observations of positive abundances of <i>Culicoides</i> during the sampling campaign from 07 to 22 March 2018.	118

CHAPITRE III

Figure 1. Dynamics of infectious rate for BTV. Plain line represents minimum infectious rate and dashed line is MLE.	132
Figure 2. Dynamics of infectious rate for EHDV. Plain line represents minimum infectious rate and dashed line is MLE.	133
Figure 3. Spatial dynamics of EHDV.	134
Figure 4. Spatial dynamics of BTV.	135

TABLES DES ILLUSTRATIONS: TABLEAUX

CHAPITRE I

Table 1. Number of <i>Culicoides</i> caught and percentage of positive catches per trapping site. N, number of trapping sessions; Nb, number of <i>Culicoides</i> ; Ppc (%), percentage of positive catches; Mean (sd), mean (standard deviation) of <i>Culicoides</i> at all trapping sessions; % TC, percentage of total catch.	59
Table S1. Characteristics of trapping sites.	61
Table S2. Temporal variables considered on mixed-effect negative binomial hurdle models.	62
Table S3. Non-dynamic variables considered on mixed-effect negative binomial hurdle models.	63
Table S4. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of <i>C. bolitinos</i>	65
Table S5. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of <i>C. enderleini</i>	68
Table S6. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of <i>C. grahamii</i>	70
Table S7. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count	

of <i>C. imicola</i>	73
Table S8. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of <i>C. kibatiensis</i>	75
Table S9. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of <i>C. imicola</i> without PL02 site.....	77
Table S10. Measurement of model fit (AIC), predictive accuracy or (AUC) and predictive performance (NRMSE) of the mixed effect negative binomial hurdle model for each species and each validation steps.....	79

CHAPITRE II

Table 1: Number of individuals, pools tested and positive pools by species and by virus. Nb = Number, ind = individuals.....	137
Table 2: Number of individuals and pools tested for the 29 site/date with BTV positive pools. *Number of site/date with the species being collected (among all the BTV positive site/date). MIR= Minimum Infectious Rate, MLE= Maximum Likelihood Estimates, CI= confidence interval.....	137
Table 3: Number of individuals and pools tested for the 12 site/date with EHDV positive pools. *Number of site/date with the species being collected (among all the EHDV positive site/date). MIR= Minimum Infectious Rate, MLE= Maximum Likelihood Estimates, CI= confidence interval.....	137

CHAPITRE III

Table S1. Model parameters for <i>C. bolitinos</i>	108
Table S2. Model parameters for <i>C. enderleini</i>	109
Table S3. Model parameters for <i>C. grahamii</i>	109
Table S4. Model parameters for <i>C. imicola</i>	110
Table S5. Model parameters for <i>C. kibatiensis</i>	111
Table S6. Observed <i>Culicoides</i> abundance during the sampling campaign from 07 to 22 March 2018.....	114

TABLES DES ILLUSTRATIONS: VIDÉOS

CHAPITRE II

Movie of the spatio-temporal distribution of <i>C. bolitinos</i>	
Movie of the spatio-temporal distribution of <i>C. enderleini</i>	
Movie of the spatio-temporal distribution of <i>C. grahamii</i>	
Movie of the spatio-temporal distribution of <i>C. imicola</i>	
Movie of the spatio-temporal distribution of <i>C. kibatiensis</i>	

PREFACE

Les arthropodes existent depuis des millions d'années, bien avant qu'un quelconque vertébré, dont l'homme ne soit présent sur Terre. Ils ont eu tout le temps, et continuent, de nouer des relations complexes avec des organismes de toutes sortes. Si bien qu'aujourd'hui, les arthropodes occupent une place vitale dans ce monde, ne serait-ce que par les services écosystémiques qu'ils apportent. Mais à l'opposé, certains sont devenus des adversaires redoutables pour l'homme et les animaux, et devant lesquels, les plus grands prédateurs font pâle figure. Pour s'en convaincre, il suffit de considérer l'impact sanitaire et économique des maladies infectieuses humaines et animales dont les agents pathogènes sont transmis par des arthropodes hématophages. La dengue, le Chikungunya ou la fièvre catarrhale ovine sont des exemples contemporains de maladies virales vectorielles qui peuvent étayer ce propos. Par ailleurs, les activités humaines et les changements climatiques tendent à aggraver la situation en permettant l'émergence, la recrudescence ou l'intensification de certaines de ces maladies. Mais alors, comment s'en protéger ou les contrôler ? Répondre à cette question nécessite avant tout de mieux comprendre les modalités d'une maladie à transmission vectorielle.

Depuis près de 80 ans, il est établi que les maladies à transmission vectorielle constituent un système biologique défini par trois acteurs (l'hôte vertébré, l'agent pathogène, l'arthropode vecteur), leurs interactions et la dimension environnementale au sens large (écosystème, climat, activités anthropiques) qui les contient. On comprend alors la complexité du système car il faut appréhender de nombreux éléments de connaissances sur les trois acteurs mais aussi tenir compte du dynamisme et de l'évolution de l'environnement dans lequel le trio évolue. Ces éléments de connaissances sont indispensables pour définir les outils et les stratégies permettant de mieux les surveiller, les prévenir et les contrôler, ce tenant compte du contexte local. Dans de nombreux cas, selon la maladie étudiée et/ou le contexte géographique, ces éléments restent fragmentaires ou sont inexistantes, et souvent, la seule action médicale ou vétérinaire possible repose sur le contrôle des populations de vecteurs. Identifier ces vecteurs, connaître leurs bio-écologie et préciser leur rôle dans la transmission des agents pathogènes s'avèrent ainsi crucial. C'est dans cette optique que s'inscrivent les travaux de cette thèse en s'intéressant aux *Culicoides* à l'île de La Réunion. En effet, les *Culicoides* sont des moucheron hématophages et certaines espèces sont responsables, entre autres, de la transmission de virus d'intérêt majeur, tels que le BTV et l'EHDV, affectant les ruminants. A La Réunion, la présence de races améliorées de bovins et donc particulièrement sensibles à ces virus, rend la situation beaucoup moins stable qu'il n'y paraît. La recrudescence des épizooties dues à ces deux virus transmis

par les *Culicoides* en témoigne. Malgré l'intérêt à travailler sur les *Culicoides* et leur rôle vectoriel dans le contexte réunionnais, les travaux en entomologie réalisés jusqu'à présent restent fragmentaires et ne portent que sur un inventaire faunistique réalisé en 2005. C'est dans ce contexte que cette thèse tente de faire la lumière sur les *Culicoides* vecteurs de La Réunion. L'objectif de cette thèse est non seulement d'enrichir les connaissances sur les *Culicoides* et leur rôle vecteur mais également d'ouvrir la voie à des outils pratiques et opérationnels en vue de se prémunir des maladies virales comme la BT et l'EHD affectant les bovins à La Réunion, et déployables, espérons-le, dans d'autres îles de l'Océan Indien.

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies infectieuses sont classées par les épidémiologistes selon le moyen de transmission (par contact, via l'eau, la nourriture, l'air, périnatale, par des organismes vivants vecteurs) ou selon le réservoir de l'organisme infectieux (humain, animal, le sol, l'eau) (Nelson and Williams, 2014). La transmission par un organisme vivant vecteur, du latin *vector*, « celui qui traîne ou qui porte », contribue à complexifier l'épidémiologie de ces maladies infectieuses. Ce mode de transmission oblige à considérer les paramètres qui conditionnent la biologie et l'écologie de l'organisme vecteur ainsi que les modalités de transmission de l'agent infectieux.

La transmission biologique d'agents pathogènes (virus, bactéries, protozoaires et métazoaires) par des arthropodes hématophages est connu depuis près de 140 ans (Gubler, 1998). En effet, en 1877-1879, Sir Patrick Manson a soulevé le rôle du moustique *Culex quinquefasciatus* dans la transmission de la filaire de Bancroft, c'est-à-dire l'agent pathogène responsable de l'éléphantiasis. Du 17^{ème} au début du 20^{ème} siècle, les pathogènes à transmission vectorielle ont constitué l'une des principales causes de maladies et de décès (Gubler, 2009). Actuellement, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS 2016), les maladies à transmission vectorielle représentent 17% de toutes les infections touchant les humains et sont à l'origine de plus d'un million de décès par an. Le secteur de l'élevage n'est également pas épargné et il en résulte, en ce qui concerne les maladies animales ou zoonotiques vectorielles, d'importantes pertes économiques directes et indirectes pour les éleveurs et les filières (Takken et al., 2018) : les pertes directes sont la morbidité et la mortalité touchant les animaux infectés et les pertes indirectes sont liées au coût de l'ensemble des mesures visant à réduire ou à contrôler l'impact de ces maladies (vaccins, mesures de lutte anti-vectorielle, arrêt des mouvements d'animaux).

Cette importance sanitaire des maladies vectorielles se reflète dans la littérature scientifique. Une recherche sur les mots-clés « vector-borne diseases » dans la base de données des références scientifiques PubMed montre que le nombre de publications de rang A a décuplé depuis l'an 2000 (125 en l'an 2000 contre 1361 en 2017). Si certaines maladies à transmission vectorielle sont toujours d'actualité dans les zones historiques de transmission, comme le paludisme en Afrique, d'autres sont en expansion et sortent de leur bassin historique de circulation. C'est le cas par exemple du virus de la dengue ou du virus du Chikungunya, qui a la faveur de la croissance exponentielle des transports et de la circulation de souches virales par des voyageurs virémiques ainsi que la colonisation de nouveaux territoires par ses moustiques

vecteurs comme *Aedes albopictus* sont transmis aujourd'hui sur toute la ceinture intertropicale et tropicale (Charrel et al., 2007; Fontenille, 2017). Ces dernières décennies, d'autres maladies à transmission vectorielle d'intérêt économique ont émergé ou ré-émergé (Kilpatrick and Randolph, 2012). L'apparition inattendue de la BT en 2006 en Europe du Nord, alors qu'elle y était absente, est un cas caricatural d'émergence de maladie animale à transmission vectorielle affectant les ruminants d'élevage (Purse et al., 2005; Wilson and Mellor, 2009).

L'émergence de ces maladies dans de nouveaux territoires en dehors du bassin historique de circulation, l'extension des zones de circulation ou l'augmentation de la prévalence dans les zones connues de circulation des maladies à transmission vectorielle sont associés à des facteurs favorables tels que les modifications de l'environnement, les activités humaines, le contexte socio-économique, ou encore les changements climatiques (Kampen and Werner, 2011; Lambin et al., 2010; Parham et al., 2015). Il apparaît ainsi important pour prédire l'évolution des patrons épidémiologiques de ces maladies dans des environnements changeants de décrire et comprendre les facteurs biotiques et abiotiques facilitant ou inhibant ces phénomènes. Pour évaluer le risque d'exposition d'une population humaine ou animale à un agent pathogène transmis par un arthropode et mener des actions de prévention ou de contrôle, il est primordial de bien caractériser le rôle des espèces vectrices dans les patrons épidémiologiques.

1. Une danse en trio : hôte, pathogène, vecteur avec l'environnement et le climat comme chef d'orchestre

Pour que la transmission vectorielle d'un agent infectieux puisse se faire, hôte(s), vecteur(s) et agent infectieux doivent interagir dans un environnement favorable (Reisen, 2010). Selon Robert (Robert, 2017), les 3 acteurs de ce processus de transmission forment la triade vectorielle. Cette triade, plus l'environnement dans lequel elle évolue et l'ensemble des interactions entre les acteurs et l'environnement forment le système vectoriel (Figure 1).

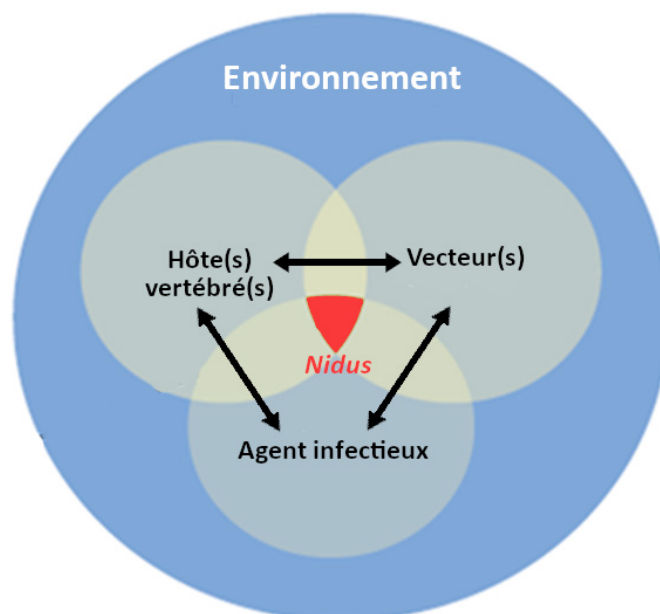


Figure 1 : Schéma représentant un système vectoriel. Modifié de Reisen (Reisen, 2010).

Sous les termes simples d'hôte, de vecteur et d'agent infectieux se cachent en réalité des rôles complexes et nécessitant des définitions claires (encadré 1).

Encadré 1

Agent infectieux :

Dans une maladie à transmission vectorielle, un agent infectieux est un virus, une bactérie, un protozoaire ou un métazoaire. Etant donné la relation biologique qui existe entre l'hôte et l'agent infectieux, le terme « parasite » est aussi utilisé pour qualifier ce dernier alors que ce terme est habituellement réservé aux seuls agents infectieux protozoaires ou métazoaires. Selon Robert (Robert, 2017), aucune maladie à transmission vectorielle connue ne fait intervenir des algues ou des champignons (mycètes). L'agent est dit infectieux s'il peut causer une infection, c'est-à-dire est capable de se multiplier chez un hôte vertébré susceptible (Nelson and Williams, 2014). Le pouvoir infectieux de l'agent, ou infectivité, peut être mesuré par le nombre minimal de particules nécessaire pour établir l'infection. Lorsque l'infection est capable d'induire des symptômes et donc une maladie chez l'hôte, le terme d'agent pathogène est alors utilisé et souvent préféré. Cette capacité à développer une maladie définit le pouvoir pathogène de l'agent.

Hôte :

Par simple acceptation de la définition de Robert (Robert, 2017), l'hôte est celui qui héberge. Cette définition peut confondre le rôle de certains vecteurs qui doivent d'abord être infectés, et donc devenir hôtes, avant de pouvoir transmettre l'agent infectieux. Dans le cadre de cette thèse,

et suivant ce qui est classiquement admis, l'hôte désignera l'hôte vertébré. L'hôte peut être définitif, intermédiaire ou paraténique et jouer le rôle de réservoir, de compartiment de maintien ou d'amplification de l'agent infectieux (Reisen, 2010). L'hôte est dit susceptible à un agent infectieux s'il permet une infection aigüe, conduisant à sa mort ou à sa guérison, ou à une infection chronique, devenant alors une source d'infection sur le long terme pour le vecteur (Reisen, 2010).

Hôte définitif : espèce dans laquelle l'agent infectieux peut atteindre sa maturité et s'y possible se reproduire sexuellement.

Hôte intermédiaire : hôte transitoire chez lequel l'agent infectieux va subir une évolution larvaire et/ou va effectuer sa reproduction asexuée.

Hôte paraténique : hôte surnuméraire facultatif (accidentel) dans le cycle de vie de l'agent infectieux. Dans le cas des zoonoses à transmission vectorielle, l'homme est souvent un hôte paraténique.

Hôte réservoir : espèce qui participe majoritairement au cycle de reproduction de l'agent infectieux par son maintien prolongé dans l'environnement et à partir de laquelle d'autres espèces peuvent être sporadiquement infectées.

Hôte d'amplification : hôte dans laquelle l'agent infectieux se multiplie rapidement jusqu'à un haut niveau, fournissant ainsi une importante source d'infection pour les vecteurs.

Vecteur :

Les trois définitions suivantes sont issues de Robert (Robert, 2012, 2017) : 1) tout organisme qui intervient dans la transmission d'un agent infectieux ; 2) tout arthropode qui assure la transmission active d'un agent infectieux ; 3) tout arthropode hématophage qui assure la transmission biologique active d'un agent pathogène d'un vertébré à un autre. La deuxième définition sera retenue dans le cadre de cette thèse car elle 1) impose que le vecteur ait un comportement qui favorise la transmission de l'agent infectieux (transmission active), 2) permet de tenir compte des vecteurs qui assurent une transmission non biologique et qui sont les vecteurs mécaniques.

Vecteur mécanique : arthropode qui assure le transport actif d'un agent infectieux sans que ce dernier se multiplie ou se différencie. La transmission mécanique par des arthropodes hématophages passe par des pièces buccales souillées ou par régurgitation partielle d'un repas de sang infecté.

Vecteur biologique : ce terme désigne strictement un arthropode hématophage qui s'infecte lors d'un repas de sang et au sein duquel l'agent infectieux peut se multiplier et/ou se transformer avant d'être retransmis à un nouvel hôte. Le vecteur biologique peut rester infecté

et être infectant durant toute sa vie. A ce titre, c'est parfois le vecteur biologique qui joue le rôle de réservoir (vecteur réservoir) dans le cycle de l'agent infectieux comme c'est le cas pour de nombreux virus transmis par les moustiques *Aedes*. Il existe un délai entre le moment où le vecteur biologique s'infecte et le moment où l'agent infectieux peut être retransmis à un hôte (c'est à ce moment que le vecteur devient infectant). Ce délai s'appelle période d'incubation extrinsèque.

Période d'incubation extrinsèque : Dans tous les types de transmission biologique, l'agent infectieux a besoin de temps pour se développer à l'intérieur de l'arthropode et pour progresser vers le stade où il devient infectieux et peut être transmis à un nouvel hôte. La période d'incubation extrinsèque est généralement de 6 à 15 jours, selon l'agent infectieux, les espèces vectrices concernées et divers facteurs environnementaux, au premier rang desquels la température (Gubler, 2009).

Un cycle continu de transmission ne peut persister que si les interactions entre les 3 acteurs biologiques sont possibles et suffisantes et si les barrières physiques et biologiques entre les trois acteurs peuvent être franchies. Une interaction suffisante reposera sur des caractères quantitatifs liés aux populations des trois acteurs et aux comportements qui favorisent des contacts fréquents entre ces populations. Les densités d'hôtes réservoirs et d'hôtes susceptibles doivent être suffisantes pour que le cycle de transmission puisse persister (Robert, 2017). Le comportement du vecteur dans la recherche et le choix d'hôte, combiné à son abondance, sa longévité et son aptitude à être infecté puis infectant influencent de façon déterminante la dynamique de transmission (Reisen, 2010). Le nombre élevé d'agent infectieux chez les hôtes d'amplification, au niveau populationnel et individuel, favorisera l'infection des vecteurs (Kilpatrick et al., 2006). Enfin, une barrière est par exemple la peau de l'hôte qui constitue une barrière physique et immune aux arthropodes hématophages. Ces derniers pourront s'en affranchir grâce à leurs pièces buccales vulnérantes et aux propriétés anti-inflammatoires, anticoagulantes et vasodilatatrices de leurs salives qui facilitent la prise du repas de sang (Bernard et al., 2015; Fontaine et al., 2011).

En définitive, l'intersection de la niche écologique des 3 acteurs dans un environnement favorable définit l'espace et le temps où la transmission est possible. Cette zone d'espace et de temps est aussi appelé le *nidus*, en référence à Pavlosky (Pavlowsky, 1988) qui a structuré la théorie de la « nidalité » naturelle des maladies transmissibles en 1938. Pour en donner une définition, le *nidus* naturel d'une maladie à transmission vectorielle est donc « l'habitat »

composé des vecteurs, des hôtes et des réservoirs impliqués dans un cycle continu de transmission qui permet la survie d'un agent infectieux dans un écosystème (Mengistu and Haile, 2017).

L'environnement et les paramètres météorologique ont un rôle décisif dans le système vectoriel. Ils doivent *i)* permettre la réplication de l'agent infectieux à l'intérieur du vecteur, *ii)* fournir un biotope adéquat aux hôtes et aux vecteurs et *iii)* fournir des conditions qui permettent le contact entre hôtes et vecteurs (Hartemink et al., 2015). Ils peuvent agir à des échelles spatiales et temporelles différents (Lambin et al., 2010) et avec des niveaux d'impacts différents (Gage et al., 2008). Aussi, parce que l'environnement et le climat sont hétérogènes dans le temps et l'espace, la présence conjointe des trois acteurs de la triade vectorielle, et *in fine* la transmission de l'agent infectieux, n'est possible que sur des espaces et des périodes précises.

2. La dynamique temporelle du nidus

Parce que les facteurs environnementaux et climatiques évoluent dans le temps, la dynamique de transmission de l'agent infectieux sera également affectée temporellement. Diverses échelles de temps peuvent être considérées : saisonnière, inter-annuelle et à plus long terme. Les variations saisonnières et inter-annuelles changent de façon temporaire la dimension des biotopes favorables. L'augmentation de la taille des populations d'hôtes et de vecteurs qui peut en résulter, favorisera le contact et la transmission de l'agent infectieux (Reisen, 2010). Par exemple dans le cas de l'encéphalite à tiques pour laquelle *Ixodes ricinus* intervient en tant que vecteur, les variations saisonnières de température et d'humidité plus favorables au printemps et en été permettent une augmentation de l'abondance des nymphes (stade infectant) et de la transmission (Korenberg, 2000). Les relevés effectués dans plusieurs pays d'Europe entre 2005 et 2007 (Kilpatrick and Randolph, 2012) montrent que le nombre de cas d'encéphalites à tiques atteint un pic en début d'été conjointement au pic d'abondance des nymphes d'*I. ricinus*. En hiver, lorsque la population d'*I. ricinus* est basse, le nombre de cas est quasiment nul. Un exemple de variations inter-annuelles concerne l'oscillation australe d'El Niño, qui est un facteur climatique pluriannuel conditionnant des épisodes extrêmes de températures et des précipitations au niveau local et régional. Il a été en effet reporté que ce phénomène climatique a un impact sur l'incidence des cas de dengue dans le monde (Johansson et al., 2009; Poveda et al., 2000) ou encore de la fièvre de la vallée du Rift dans la corne de l'Afrique (Linthicum et al., 1999).

Les variations sur le long terme, c'est à dire dues aux changements climatiques auront un impact tout autre car elles n'incluent pas, jusqu'à présent, de retour à la normale et peuvent profondément modifier la dynamique du *nidus*. Les changements climatiques affectent principalement l'expansion et les contractions saisonnières de l'aire de répartition des maladies à transmission vectorielle (Semenza and Suk, 2017), le cycle de vie des vecteurs, le taux de reproduction de l'agent infectieux et donc l'intensité de la transmission (Semenza and Menne, 2009).

3. Vecteur et dynamique vectorielle : facteur de régulation d'une maladie à transmission vectorielle ?

Dans la mesure où les conditions sont favorables (densité d'hôtes, densité des réservoirs, présence de l'agent infectieux, climat et environnement), les caractéristiques liées aux populations de vecteurs dictent l'établissement, la dynamique de transmission et la persistance de l'agent infectieux (Reisen, 2010). L'aptitude d'un vecteur à assurer efficacement la transmission d'un agent infectieux repose sur sa compétence vectorielle et sa capacité vectorielle (encadré 2).

Encadré 2 :

Compétence vectorielle : la compétence vectorielle correspond à l'aptitude du vecteur à s'infecter, à assurer la multiplication et/ou le développement puis à transmettre l'agent infectieux (Robert, 2017). Cette aptitude dépend du génotype du vecteur, du génotype de l'agent infectieux ainsi que de leurs interactions incluant le rôle du microbiote. Des facteurs extrinsèques, comme la température, impactent cette aptitude en affectant la multiplication et/ou le développement de l'agent infectieux ainsi que l'état physiologique du vecteur. La compétence vectorielle se quantifie grâce à des études d'infections expérimentales menées au laboratoire par la proportion de piqûres réellement infectantes pour un vecteur infecté.

Capacité vectorielle : la capacité vectorielle exprime le potentiel de transmission d'un agent infectieux particulier par une population d'une espèce vectrice compétente. Il s'agit donc d'un facteur quantitatif. Elle dépend de facteurs intrinsèques au vecteur tels que l'abondance, la longévité, les préférences trophiques et la fréquence des repas de sang. La capacité vectorielle C peut être calculée par : $C = m \cdot a^n \cdot p^{-n} / -\ln(p)$; avec m : le ratio du nombre de vecteurs sur le nombre d'hôtes ; a : le nombre d'hôtes piqué par jour ; p : le taux de survie quotidien du vecteur ; n : la durée de la période d'incubation extrinsèque.

La compétence vectorielle, qui mesure le niveau de co-adaptation entre l'agent infectieux et le vecteur (Robert, 2017), a un impact sur le taux de vecteurs infectés. Bien que dépendant essentiellement de facteurs génétiques, il a été démontré que des microbiotes naturels ou acquis influencent aussi la compétence vectorielle (Weiss and Aksoy, 2011). Il en résulte des « bons » et des « mauvais » vecteurs selon l'agent infectieux considéré. Par exemple, *Aedes aegypti* a montré une très bonne compétence vectorielle pour le virus du Chikungunya comparativement à *Ae. polynesiensis* en Polynésie française (Richard et al., 2016a). En ce qui concerne le virus Zika, *Ae. aegypti* s'est montré peu compétent dans la même zone (Richard et al., 2016b). Toutefois, la compétence vectorielle peut varier au sein d'une même espèce entre des populations géographiques différentes. En effet, il a été démontré une variabilité de la compétence vectorielle entre des populations d'*Ae. aegypti* pour différentes souche du virus Zika (Roundy et al., 2017). La compétence vectorielle apparait ainsi comme un facteur clé pour le maintien et la dissémination d'une maladie à transmission vectorielle. Cependant, elle ne suffit pas à déterminer quel vecteur intervient majoritairement dans une zone donnée. Pour continuer notre exemple, *Ae. aegypti* a effectivement une meilleure compétence vectorielle pour le virus du Chikungunya qu'*Ae. polynesiensis* en Polynésie française. Toutefois, l'abondance plus élevée d'*Ae. polynesiensis* fait que c'est cette espèce qui contribue le plus au maintien et à la dissémination du virus du Chikungunya dans ce contexte (Richard et al., 2016a). Il en résulte que d'autres facteurs, qui ne relèvent pas de la simple présence du vecteur et de sa compétence vectorielle doivent être considérés. Les éléments qui caractérisent la capacité vectorielle montrent que l'abondance du vecteur mais aussi sa longévité et son comportement de pique sont à prendre en considération.

Une abondance de vecteur plus élevée augmente le ratio vecteur-hôte et permet des contacts plus importants. Cela a aussi pour conséquence d'augmenter les risques qu'un pathogène s'établisse dans une zone donnée tout en favorisant sa transmission et sa dispersion locale (William et al., 2018). Par exemple, l'augmentation de l'abondance de *Culicoides imicola* dues aux changements climatiques (élévation des températures) en Europe du Sud a permis l'émergence de la fièvre catarrhale ovine dans les régions méditerranéennes dans les années 90 (William et al., 2018). La transmission et la dispersion au sein d'un troupeau de bovins d'*Anaplasma marginale* par son vecteur mécanique que sont les stomoxes est d'autant plus efficace que les stomoxes sont nombreux (Gilles, 2005). En ce qui concerne la persistance d'un agent infectieux, elle peut être liée à l'aptitude du vecteur biologique à survivre à un stade infecté tout au long de l'année, notamment pendant la période d'hiver en milieu tempéré

(William et al., 2018). Cela s'applique surtout pour les moustiques (Rudolf et al., 2017; Tesh et al., 2016) et les *Culicoides* (Mayo et al., 2016a). Pour les maladies à tiques, la persistance de l'agent infectieux est davantage corrélée à la densité du réservoir, qui est soit l'hôte soit la tique elle-même (William et al., 2018). Enfin, le comportement du vecteur a aussi un rôle important dans la transmission d'un agent infectieux. Par exemple, le taux de pique des *Culicoides* diffère selon la température (Brand and Keeling, 2017). L'augmentation de la température dans le nord-ouest de l'Europe a augmenté le taux de piqûre d'espèces de *Culicoides* autochtones et leur compétence vectorielle, faisant d'eux des vecteurs efficaces pour le sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine lors de l'épizootie massive de 2006-2007 (Guis et al., 2011).

4. La dynamique des populations de vecteurs comme proxy du risque d'une maladie à transmission vectorielle

Compte tenu de la place centrale qu'occupe le vecteur dans une maladie à transmission vectorielle, toutes variations des paramètres biologiques de sa population, notamment l'abondance, aura des conséquences sur la dynamique de la transmission du pathogène. De nombreuses études se sont ainsi attachées à décrire la dynamique spatio-temporelle des populations de vecteurs. Ne pouvant toutes les citer, quelques exemples récents existent sur les tiques (Pak et al., 2019; Remesar et al., 2019; Yawa et al., 2018), les moustiques (Endo and Eltahir, 2018; Ewing et al., 2016; Yamashita et al., 2018) ou encore les *Culicoides* (Cuéllar et al., 2018b; Sanders et al., 2019; Villard et al., 2019a). Les observations répétées dans le temps et l'espace ont permis de corréler la dynamique spatio-temporelle des populations de vecteurs à des facteurs climatiques et environnementaux, pour ensuite prédire la présence ou l'abondance des vecteurs pour des points spatio-temporels non échantillonnés par des méthodes statistiques ou mathématiques. Couplé aux autres connaissances obtenues sur le vecteur (compétence et capacité vectorielle incluant non seulement l'abondance mais également la longévité et le taux de pique), les hôtes (densité, susceptibilité) et l'agent infectieux (pouvoir infectant), il est alors possible d'extrapoler à partir de l'abondance des populations de vecteurs, la dynamique de transmission d'une maladie à transmission vectorielle. Un indicateur essentiel pour évaluer le risque ou la persistance d'une épidémie dans une zone donnée est le taux de reproduction de base : le R_0 (Dietz, 1993; Hartemink et al., 2009). Cet indicateur définit le nombre de cas secondaires attendus après introduction d'un hôte infectieux dans une population naïve. D'après son calcul simplifié (Lancelot et al., 2017), le R_0 fait intervenir pour des maladies

vectérielles des paramètres relatifs à la population de vecteur résumé par la compétence et la capacité vectorielle ainsi que la susceptibilité des hôtes:

$$R_0 = C.b.1/r$$

avec C la capacité vectorielle, b la compétence vectorielle, c'est-à-dire la proportion de piqûres infectantes ; r le taux de guérison de l'hôte par jour.

Connaître la dynamique d'un vecteur est donc un prérequis primordial pour proposer des moyens de prévention, de lutte ou de contrôle adéquats. Lorsque la compréhension des mécanismes de transmission est incomplète, estimer le niveau d'exposition d'une population d'hôtes aux vecteurs permet une approximation du risque d'une maladie à transmission vectorielle. Lorsque les moyens de contrôle de l'agent infectieux sont manquants ou insuffisants, des outils de modélisation peuvent être développés pour identifier et hiérarchiser les périodes et les zones où la surveillance et le contrôle doivent être priorités. A La Réunion, AlboRun® est un outil de modélisation de l'abondance des populations d'*Ae. albopictus* adultes sur lequel s'appuie les autorités sanitaires pour gérer les interventions de contrôle ou de prévention contre ce moustique vecteur local de dengue et de Chikungunya (Marti et al., 2018; Tran et al., 2018). Pouvoir prédire l'abondance des vecteurs et le risque d'une épidémie de maladie vectorielle, notamment dans un monde en plein bouleversement du fait de la globalisation, des modifications de l'environnement et des changements climatiques, est essentiel à toute mesure de prévention (Fischer et al., 2013; Guichard et al., 2014; Guis et al., 2011; Liu-Helmersson et al., 2019). Enfin, les modèles obtenus aident à établir des scénarios permettant d'évaluer et d'optimiser les méthodes de prévention et de contrôle (Esteva and Yang, 2005; Ferguson et al., 2015; Moiroux et al., 2013; Pleydell and Bouyer, 2019; Thomé et al., 2010).

5. De la difficulté à caractériser une espèce vectrice au sein du genre *Culicoides*

Caractériser une espèce comme vectrice avérée n'est pas toujours évident et nécessite de vérifier trois critères (Robert, 2017; WHO, 1975). Pour certains groupes d'arthropodes dont les *Culicoides*, la vérification de certains de ces critères est difficile à réaliser en raison de limites technologiques.

Le premier critère est de déterminer le niveau de contact entre l'hôte et le vecteur potentiel. La capture des individus directement sur les hôtes est considérée comme la méthode

la plus fiable (Service and Service, 1993), mais pour de nombreux groupes d'arthropodes, la méthode la plus utilisée pour estimer ce contact est indirecte et repose sur des systèmes de piégeage réalisés à proximité des hôtes et ciblés sur le groupe de vecteurs d'intérêt par une typologie particulière du piège et l'utilisation d'attractants spécifiques (lumière, odeurs). Le niveau de contact hôte-vecteur permet d'estimer le ratio vecteur/hôte, un paramètre important pour déterminer la capacité vectorielle d'une espèce vectrice (Viennet et al., 2011).

Le second critère consiste à démontrer la compétence vectorielle, c'est-à-dire l'aptitude de l'arthropode à s'infecter, permettre la multiplication ou la transformation de l'agent infectieux et in fine sa transmission à l'hôte vertébré. Ce critère se vérifie par des études d'infections expérimentales réalisées en laboratoire ou en enceinte confinée (Robert, 2017). Généralement, les arthropodes sont élevés en insectarium afin que leur développement et leurs paramètres biologiques soient maîtrisés. Si cela est relativement standardisé pour certains groupes d'arthropodes, l'élevage peut être compliqué voire impossible pour d'autres vecteurs comme les *Culicoides*.

Ainsi, en l'absence d'études de la compétence vectorielle pour une espèce cible, il est accepté d'utiliser un autre critère. Ce critère est celui de la détection (souvent par des méthodes moléculaires) du pathogène dans les populations sauvages. Il est parfois possible d'isoler l'agent infectieux à partir d'arthropodes collectés sur le terrain. Si ce critère sur des jeux de données conséquent peut compenser les études d'infection expérimentales et fournir des données précieuses sur le taux d'infection en conditions naturelles, il est insuffisant pour considérer que l'arthropode étudié est bien vecteur en conditions naturelles. En effet, la détection moléculaire du pathogène peut révéler la présence du pathogène dans le corps de l'arthropode sans que cela indique que l'arthropode puisse être infectant. Toutefois, si l'agent infectieux est isolé dans des tissus spécifiques comme les glandes salivaires, cela constitue un argument de poids et prouve que l'agent infectieux a été capable à partir du repas sanguin de traverser les différentes barrières de l'arthropode qui est donc devenu infectant. Selon l'analyse statistique menée, cela permet d'estimer le taux d'infection minimum ou réelle (réelle estimée) d'une population de vecteur (Gu et al., 2004; Katholi and Unnasch, 2006; Nasci and Mitchell, 1996). Enfin, comme le souligne Robert (Robert, 2017), c'est bien l'ensemble des arguments obtenus à travers différentes méthodes déployées pour vérifier ces 3 critères qui fournit la conviction qu'un arthropode est bien vecteur d'un pathogène donné.

6. Les *Culicoides*, la fièvre catarrhale ovine et la maladie hémorragique épizootique

6.1. Généralités, rôle nuisant et vectoriel des *Culicoides*

Les *Culicoides* (Diptera : Ceratopogonidae) sont de petits moucheron nématocères de 1 à 3 mm de long, associés à une grande diversité d'hôtes vertébrés dont les ruminants sauvages et domestiques. Seules les femelles sont hématophages et les repas de sang permettent d'assurer la maturation des œufs. Un total de 1 357 espèces ont été décrites (Borkent, 2016). Le genre *Culicoides* est présent dans quasiment toutes les régions du monde à l'exception des régions polaires, la Nouvelle-Zélande, la Patagonie et les îles Hawaii (Mellor et al., 2000). Le cycle de vie inclut les œufs, 4 stades larvaires, le stade nymphal et le stade adulte (Figure 2). Les stades immatures (larves et nymphes) se développent dans des milieux humides et riches en matière organique d'origine animale ou végétale tel que les déjections animales, de la matière végétale en décomposition, des berges de plans d'eau, ou des trous d'arbres. Dans des conditions optimales, notamment de température, le cycle de vie peut être réalisé en moins d'un mois mais il peut aussi atteindre plusieurs mois pour certaines espèces tempérées exposées à des basses températures (Purse et al., 2015). Les adultes survivent entre 20 jours et 3 mois et pour la plupart des espèces, les femelles sont crépusculaires avec un pic d'activité au crépuscule ou à l'aube (Mellor et al., 2000; Purse et al., 2015).

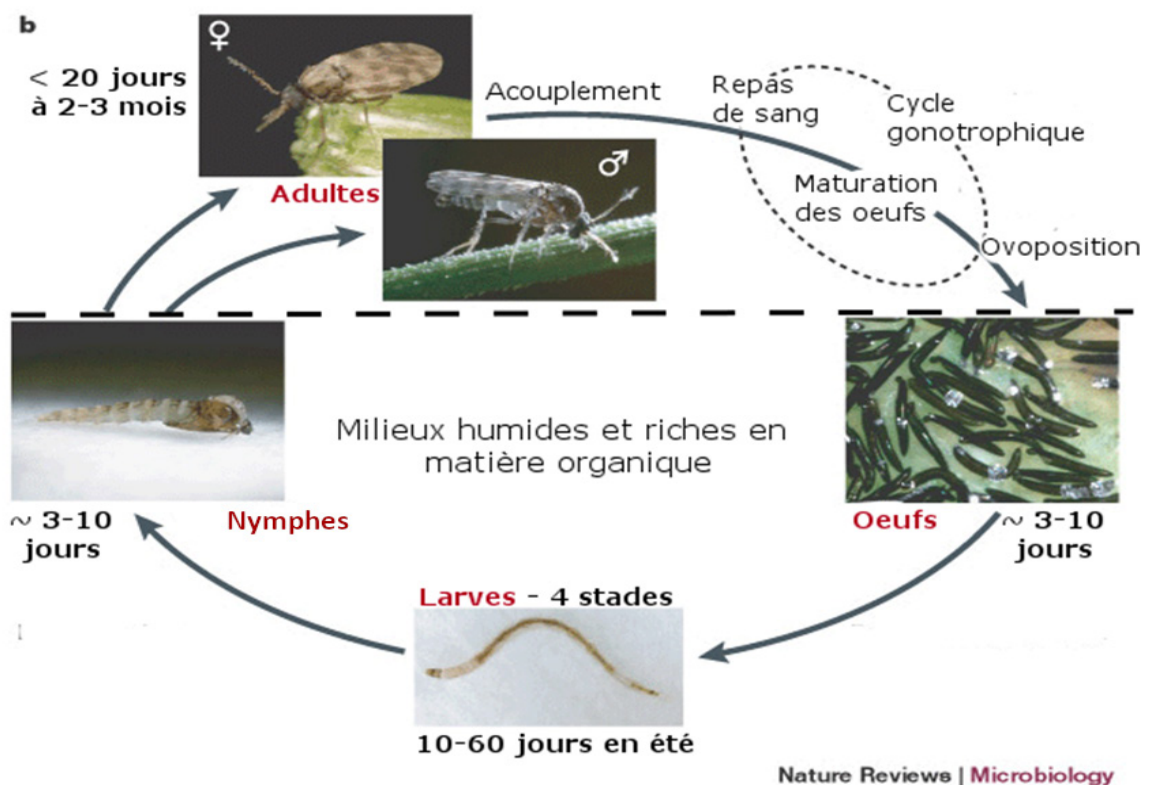


Figure 2: Cycle de vie des *Culicoides*. Modifié de (Purse et al., 2005b) (Purse et al., 2015).

Certaines espèces ont un rôle nuisant vis-à-vis des humains et des animaux. En s'attaquant aux populations humaines, *C. furens* Poey a longtemps nuit aux activités touristiques sur les plages des Caraïbes et de la Floride (Linley and Davies, 1971). En Ecosse, le harcèlement incessant de *C. impunctatus* Goetghebuer, le fameux *scottish midge*, limite les activités extérieures telles que la sylviculture, l'agriculture et le tourisme durant les pics d'abondance (Blackwell, 2001; Hendry and Godwin, 1988). Enfin, les piqûres allergisantes de certaines espèces de *Culicoides* sont responsables de la dermatite estivale chez les chevaux (Wilson et al., 2001) ou les moutons (Correa et al., 2007).

Compte tenu de leur hématophagie, les femelles de *Culicoides* sont capables de transmettre des agents infectieux dont des protozoaires et des filaires (Mellor et al., 2000). Cependant, c'est bien leurs rôles dans la transmission de virus d'importance vétérinaire et médicale qui font des *Culicoides* des vecteurs d'intérêt pour la communauté scientifique. Sur l'ensemble des espèces décrites, seulement une poignée d'espèce serait impliquée dans la transmission de plus de 50 arbovirus, la plupart d'importance en santé vétérinaire (Mellor et al., 2000). L'impact sanitaire et économique majeur des *Culicoides* réside dans leur capacité à transmettre les virus de la fièvre catarrhale ovine (BTV, pour *bluetongue virus*), de la maladie épizootique hémorragique (EHDV) et de la peste équine (AHSV) (Slama et al., 2017). Ces arbovirus (contraction de l'anglais *arthropode-borne virus* : virus transmis par des arthropodes) sont d'importance respectivement pour les ruminants domestiques et sauvages dont les cervidés et, les équidés. Ces maladies sont d'ailleurs inscrites sur la liste à déclaration obligatoire de l'Organisation Internationale des Epizooties (OIE).

Certaines espèces de *Culicoides* sont responsables de la transmission d'autres virus d'intérêt vétérinaire : le virus d'Akabane et le virus de Schmallerberg, responsables de perte à la reproduction chez les ruminants domestiques (Garros and Balenghien, 2017). Enfin, la littérature rapporte la transmission d'un seul virus touchant les populations humaines, le virus Oropouche responsable de la fièvre Oropouche en Amérique du Sud (Garros and Balenghien, 2017; Purse et al., 2015). En ce qui concerne la distribution de ces arbovirus d'intérêt, certains sont restreints à des régions spécifiques du monde comme le virus Oropouche (OROV) en Amérique du Sud ou le virus de la peste équine en Afrique subsaharienne, alors que d'autres comme les virus de la fièvre catarrhale ovine (BTV) et de la maladie épizootique hémorragique (EHDV) ont une distribution qui s'étend à plusieurs continents (Figure 3).

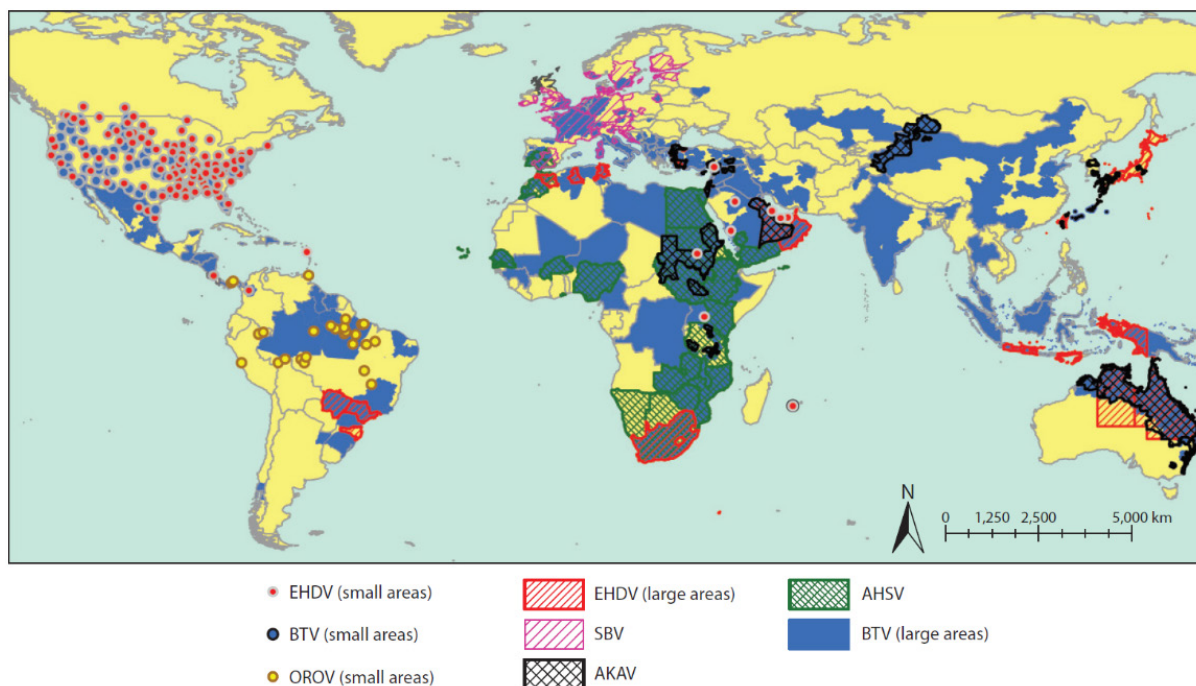


Figure 3: Distributions connues de 6 arbovirus transmis par les *Culicoides* obtenues par des données sérologiques ou des cas cliniques durant les trois dernières décennies. Données issues de publications ou de bases de données publiques (Purse et al., 2015).

6.2. La fièvre catarrhale ovine

La fièvre catarrhale ovine (BT, pour *bluetongue*) est une arbovirose non contagieuse causée par un virus de la famille des Reoviridae et du genre *Orbivirus* (Schwartz-Cornil et al., 2008). Ce virus est transmis presque exclusivement par les piqûres des femelles hématophages de plusieurs espèces de *Culicoides* (Mellor et al., 2000). Actuellement, 27 sérotypes du virus ont été recensés dont le dernier, BTV-27, détecté en 2014 dans des chèvres en Corse (France) (Jenckel et al., 2015; Schulz et al., 2016). Le virus de la BT affecte aussi bien les ruminants domestiques que sauvages bien que les signes cliniques sont d'ordinaire seulement évidents chez les ruminants domestiques, notamment les ovins (Erasmus and Potgieter, 2009; Maclachlan et al., 2009). Chez ces derniers, les signes cliniques s'expriment par une forte hyperthermie, des lésions et des érosions buccales, un œdème de la face, des écoulements nasaux, une salivation excessive, une raideur des membres, des boiteries, une fonte musculaire importante et des avortements (Backx et al., 2007; Hourrigan and Klingsporn, 1975). La morbidité peut atteindre 80% du troupeau et la mortalité se situe entre 5 à 10% selon les sérotypes et les races ovines pouvant atteindre les 40% si les animaux sont en mauvaises conditions (Lefevre et al., 2010).

La fièvre catarrhale ovine est considérée enzootique dans les régions tropicales et tempérées situées entre les latitudes 40°S et 35°N (Walton, 2004). Cependant, des épizooties périodiques ont eu lieu principalement dans les régions adjacentes, jusqu'à 58°N, faisant que la BT a plutôt un impact sanitaire et économique dans les régions tempérées (Miranda, 2018; Walton, 2004; Wilson and Mellor, 2009). Chaque grande région du monde a son pathosystème spécifique, c'est-à-dire des couples espèces vectrices / sérotypes distinctes (Garros and Balenghien, 2017).

Historiquement, l'Europe était située en dehors de la zone d'enzootie de la BT (Mellor and Wittmann, 2002). Avant 1998, seules quelques incursions épizootiques avaient été constatées dans le bassin méditerranéen (Espagne, Portugal, Grèce et Chypre)(Mellor and Boorman, 1995). De 1998 à 2005, 6 sérotypes sont entrés en Europe du Sud via l'Afrique du Nord à l'ouest et via la Turquie et Chypre à l'est et se sont étendus à 12 pays (Purse et al., 2008). A l'issue de cette période, la limite septentrionale de la BT dans la région s'est déplacée de 800 km. Parallèlement, *C. imicola*, le principal vecteur en Afrique et dans le bassin méditerranéen, a été collecté dans des régions au-delà de sa limite nord précédemment connue atteignant à son maximum septentrional le nord de l'Espagne, le sud de la France et le nord de l'Italie (Purse et al., 2008; Purse et al., 2005). En 2006, le sérotype 8 de la BT, BTV-8, est entré en Europe du Nord (Belgique, Allemagne et Pays-Bas), dans une zone hors de l'aire de répartition de *C. imicola*. La transmission du virus a alors été assurée par des espèces locales autochtones. Le virus a survécu à l'hiver et s'est étendu en 2007 à 14 pays, de l'Espagne à la Norvège (Garros and Balenghien, 2017; Purse et al., 2008; Schwartz-Cornil et al., 2008). Parallèlement, le sérotype 1, BTV-1, a été introduit dans le sud de la France via la péninsule Ibérique avec une incursion en Bretagne via l'importation d'ovins infectés (Garros and Balenghien, 2017). Les incursions de ces différents sérotypes de BTV en Europe ont été catastrophiques sur le plan sanitaire et économique (Calistri et al., 2003; Gethmann et al., 2015; Mellor and Wittmann, 2002).

Ces événements ont remis la BT sur le devant de la scène, et ont aussi soulevé de nombreuses questions sur les facteurs ayant permis son expansion. D'avis général, l'émergence de la BT en Europe est fortement reliée aux changements climatiques (Baylis et al., 2017; Guis et al., 2011; Purse et al., 2005). Le transport des animaux (Schwartz-Cornil et al., 2008), le changement du paysage agricole (Purse et al., 2005), la densité des hôtes (Jacquot et al., 2017), le vent permettant la dispersion passive des *Culicoides* sur de grandes distances (Hendrickx et al., 2008), l'intervention d'espèces de *Culicoides* autochtones (notamment les *Culicoides* des

groupes *Obsoletus* et *Pulicaris*) (Goffredo et al., 2015a; Torina et al., 2004) ont été mis en cause pour expliquer l'introduction et la dispersion de BTV-8 dans ces nouveaux territoires alors devenus favorables. De plus, les détections de nouveaux sérotypes aux Etats-Unis suggèrent fortement que les changements dans la distribution et l'épidémiologie de la BT pourraient être un phénomène mondial (Schwartz-Cornil et al., 2008).

6.3. La maladie hémorragique épizootique

Tout comme celui de la fièvre catarrhale ovine, le virus de la maladie hémorragique épizootique est aussi un *Orbivirus* (Maclachlan et al., 2015). Sept sérotypes ont été déterminés mais il est admis l'existence d'une grande variété de souches virales géographiquement distinctes au sein de chaque sérotype (McGregor et al., 2019). La maladie hémorragique épizootique (EHD) affecte une variété de ruminants domestiques et sauvages et est une cause importante de morbidité et de mortalité chez le cerf de Virginie en Amérique du Nord (Savini et al., 2011). La distribution et l'épidémiologie de l'EHD sont similaires à celles de la BT, mais étant moins impactant pour l'élevage, elle a été moins étudiée (Maclachlan et al., 2019). Si les symptômes sont généralement sub-cliniques chez les ruminants (Maclachlan et al., 2019), les bovins domestiques peuvent exprimer des signes cliniques aigus (Temizel et al., 2009). L'EHD reste néanmoins une maladie d'importance sanitaire et économique, non seulement en raison de la mortalité induite, mais aussi pour la morbidité qu'elle entraîne (baisse de production, avortements) et les mesures de restriction dans les pays affectés (interdiction du commerce du bétail, des ovules et du sperme) (Savini et al., 2011). Aussi, des épizooties récentes ont été constatées dans le bassin méditerranéen, en Amérique du Nord, en Afrique du Sud, à La Réunion et dans d'autres régions du monde (Ahmed et al., 2019; Cêtre-Sossah et al., 2014; Golender et al., 2017; Kamomae et al., 2018; Maclachlan et al., 2015; Savini et al., 2011; Stevens et al., 2015). Ces nouvelles épizooties sont aussi caractérisées par une augmentation de la pathogénicité de certains sérotypes envers les bovins (Savini et al., 2011), notamment pour certains d'entre eux (EHDV-2, 6 et 7) qui sont clairement plus virulents pour les bovins que d'autres sérotypes (Maclachlan et al., 2019). C'est l'ensemble de ces signaux alarmants qui ont conduit à inscrire l'EHD sur la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE.

6.4. La situation dans le sud-ouest de l'Océan Indien

Dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien, les études qui ont porté sur les *Culicoides* et les agents infectieux associés restent à ce jour limitées. En dehors de l'île de La Réunion, c'est à Mayotte, île de l'archipel des Comores, que la situation épidémiologique et faunistique est la plus connue. Une étude transversale menée sur les bovins en 2016 a montré la présence de 5 sérotypes de BTV (BTV-4, 9, 11, 15, 19) et d'un sérotype d'EHDV (EHDV-6) (Dommergues et al., 2019). La même année, un inventaire faunistique a mis en évidence la présence de 17 espèces de *Culicoides* décrites et une espèce inconnue (Garros et al., 2019). L'espèce la plus abondamment échantillonnée était *C. trifasciellus*, suivi de loin par *C. bolitinos* et *C. enderleini*. *Culicoides imicola*, l'espèce la plus abondante et vectrice majeure de BTV et AHSV en région Afrotropicale, était rare et très peu abondante à Mayotte. Dans les autres îles de l'archipel des Comores, aucun inventaire n'a été réalisé. A l'île Maurice, seules deux espèces, *C. imicola* et *C. enderleini*, ont été échantillonnées et la présence de BTV et d'EHDV a été mise en évidence par sérologie (Jori et al., 2011). Aux Seychelles, deux inventaires limités ont recensé 3 espèces de *Culicoides* (Wirth, 1990; Wirth and Messersmith, 1977). Enfin, à Madagascar, l'inventaire faunistique reste très incomplet. *Culicoides imicola* et *C. enderleini* ont cependant été décrites (Augot et al., 2013; Rabeantoandro et al., 2011) et le sérotype 2 de la fièvre catarrhale ovine (BTV-2) a été identifié (Andriamandimby et al., 2015).

6.5. Les *Culicoides* et les « bavites » à La Réunion

Un inventaire faunistique réalisé à l'échelle de l'île de La Réunion en 2005 et à l'aide d'un piège lumineux de type Rieb, a mis en évidence la présence de 5 espèces afrotropicales de *Culicoides* (Desvars et al., 2015) : *C. bolitinos*, *C. enderleini*, *G. grahamii*, *C. imicola* et *C. kibatiensis*. Cette étude confirme ainsi les premières descriptions sur l'île de *C. imicola* en 1959 (Clastrier, 1959) et de *C. grahamii* en 1985 (Barré et al., 1985). La Réunion compte donc au moins 2 espèces afrotropicales vectrices avérées pour les virus de la BT et de l'EHD (*C. imicola* et *C. bolitinos*) (Paweska et al., 2005; Paweska et al., 2002; Venter et al., 2006b; Venter et al., 1998; Venter, 2015) et une espèce vectrice suspecte pour le BTV (*C. enderleini*) (Venter et al., 2006b). Aucune étude n'a associé jusqu'à présent les deux autres espèces, *C. grahamii* et *C. kibatiensis*, à la transmission d'arbovirus.

L'inventaire faunistique de 2005 à La Réunion a montré une distribution spatiale hétérogène entre les espèces (Figure 4). *Culicoides imicola* a été montré plus abondant et

dominant à basse altitude. A haute altitude, c'est l'espèce *C. kibatiensis* qui dominait. En ce qui concerne *C. bolitinos*, il a été retrouvé en abondance de basse à moyenne altitude.

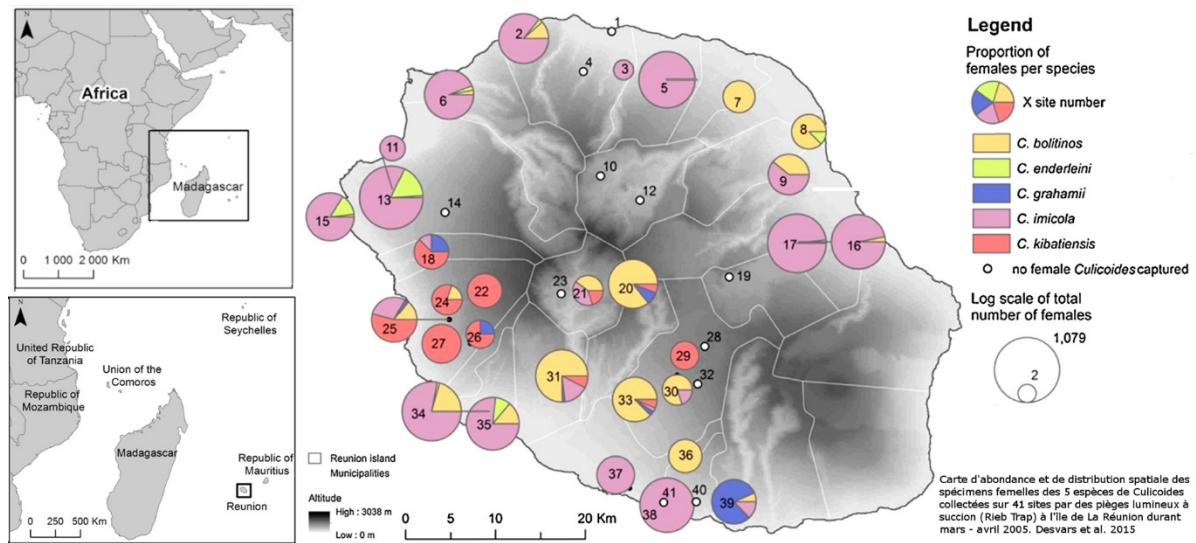


Figure 4: Carte d'abondance et de distribution spatiale des spécimens femelle des 5 espèces de *Culicoides* collectées sur 41 sites par des pièges lumineux à suction (Rieb trap) à l'île de La Réunion durant mars – avril 2005. Modifié de (Desvars et al., 2015).

En ce qui concerne la situation épidémiologique, La Réunion fait régulièrement face à des épizooties de BT et d'EHD. Compte tenu de leurs symptômes similaires et surtout de la salivation excessive des bovins infectés, le terme de « bavites » a été donné localement pour désigner ces deux maladies. Les premiers cas cliniques de BT ont été observés et rapportés dans deux élevages de moutons en 1979 (Barré et al., 1985). Le sérotype 2, BTV-2, a été mis en cause. L'hypothèse émise à propos de l'origine de cette maladie serait l'importation entre 1974 et 1976 de bovins depuis l'Afrique du Sud, là où le BTV-2 était exclusivement rencontré à l'époque. Les cas cliniques d'EHD, impliquant le sérotype 6, EHDV-6, ont été observés pour la première fois chez des bovins en 2003 (Bréard et al., 2004). La même année, une nouvelle épizootie de BT affecta un élevage de moutons (Bréard et al., 2005). Un nouveau sérotype a été alors mis en cause : BTV-3. A partir de 2009, l'observation de cas cliniques d'EHD, rencontré exclusivement chez les bovins, devient plus régulière, soit tous les 1 ou 2 ans (Cêtre-Sossah et al., 2014; Sailleau et al., 2012)(Cêtre-Sossah comm. pers.). Là encore, de nouveaux sérotypes, EHDV-1 et EHDV-7, ont été impliqués. L'accélération du nombre de foyers d'EHDV ces dernières années soulève de nombreuses questions mais peut-être due à un biais de surveillance. Quoiqu'il en soit, l'observation des cas cliniques couplée aux différentes enquêtes sérologiques tendent à suggérer une circulation enzootique et à bas bruit du virus de la BT *versus* une circulation épizootique du virus de l'EHD.

Par ailleurs, une saisonnalité des foyers est aussi constatée puisqu'ils ont cours principalement durant la saison chaude et pluvieuse (Figure 5). Aussi, les cas cliniques d'EHDV de 2015-2016 ont été recensés principalement à haute altitude (Cête-Sossah comm. pers.). Autant la temporalité de ces foyers peut être corrélée à la saisonnalité des *Culicoides* comme cela est classique pour toute maladie à transmission vectorielle, autant la distribution spatiale des foyers récents d'EHDV soulève des questions car elle est incohérente avec celle du principal vecteur, *C. imicola*.

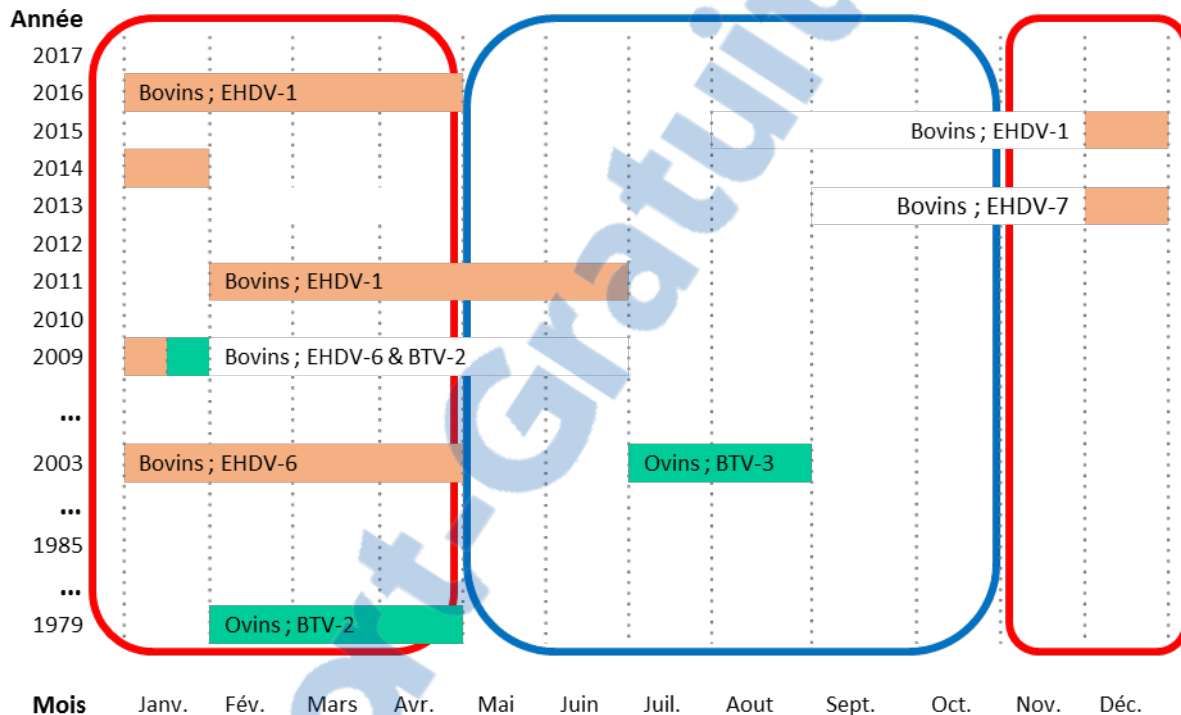


Figure 5: Chronogramme des cas cliniques de fièvre catarrhale ovine (BT, fond vert) et de fièvre hémorragique épizootique (EHD, fond orange) recensés à La Réunion. L'encadré rouge correspond à la saison chaude et pluvieuse, l'encadré bleu à la saison froide et sèche.

La saisonnalité des cas cliniques observés soulèvent donc l'hypothèse d'un lien direct avec la dynamique saisonnière des populations de *Culicoides*. Les variations saisonnières des paramètres climatiques, à priori plus favorables durant la saison chaude et pluvieuse, conditionnent sûrement la dynamique des populations de *Culicoides* et par conséquent les taux de transmission des deux virus. Toutefois, les occurrences cliniques observées ici tous les 2 ou 3 ans à partir de 2009 soulèvent la question d'une variabilité interannuelle des paramètres conditionnant leur transmission, notamment les paramètres climatiques. Par ailleurs, la distribution des cas, en dehors de la zone de forte abondance de *C. imicola*, suggère l'intervention d'autres espèces mieux adaptées aux conditions de hautes altitudes. *Culicoides*

kibatiensis et *C. bolitinos*, de par leur distribution par rapport à *C. enderleini* et leurs abondances relativement plus élevées que celles de *C. grahamii*, semblent tout à fait indiquées pour assurer la transmission de BTV et EHDV à haute altitude.

6.6. La Réunion démunie face aux « bavites » ?

Consécutivement aux épizooties récurrentes de la BT et à l'épizootie massive du au sérotype 8 en 2006-2007 en Europe du Nord, les états touchés ont mis en place de vastes campagnes de vaccination (Savini et al., 2008; Zientara et al., 2010). Les vaccins produits étaient commercialisés pour les sérotypes BTV-2, puis BTV-4 et ensuite BTV-9, BTV-1 et BTV-8. La vaccination de plus de 100 millions d'animaux en Europe du Nord après 2006 a permis de faire diminuer rapidement l'incidence de la fièvre catarrhale ovine due au BTV-8 et BTV-1 (Zientara et al., 2010). Ailleurs dans le monde, notamment en Afrique du Sud, d'autres vaccins utilisant des virus atténués ont été développés pour d'autres sérotypes de BTV (Maclachlan et al., 2019). A La Réunion, compte tenu du contexte épidémiologique avec une grande diversité de sérotypes circulants pour les deux virus et en raison de l'absence d'exportation et d'importation de bétail, la vaccination n'a jamais été un moyen proposé par les services vétérinaires pour contrôler ces maladies.

En l'absence de stratégie de contrôle avec l'utilisation de vaccins et de traitements thérapeutiques, le contrôle de la BT et de l'EHD à La Réunion pourrait alors passer par une lutte anti-vectorielle contre les *Culicoides*. Toutefois, les méthodes de lutte contre les *Culicoides* testées à travers le monde jusqu'à présent sont assez peu convaincantes. Carpenter en 2008 (Carpenter et al., 2008) et Harrup en 2016 (Harrup et al., 2016) ont passé en revue l'ensemble des évaluations d'outils et de méthodes disponibles pour contrôler les *Culicoides* : modification de l'habitat larvaire, utilisation de répulsifs, d'attractifs, d'adulticides sur animaux ou sur support, usage de larvicide chimique ou biologique. Carpenter (Carpenter et al., 2008) conclut que selon l'acceptabilité environnementale ou économique des différentes méthodes, le traitement ciblé du bétail ou des bâtiments d'élevage avec des pyréthrinoïdes, l'utilisation de bâtiment d'isolement pour les animaux de valeur, et la mise en place de bonnes pratiques agricoles pour limiter les sites de reproduction étaient les meilleures solutions pour réduire l'abondance des populations adultes et immatures et le contact hôte-vecteur.

La deltaméthrine, un insecticide de la classe des pyréthrinoïdes, induit une forte mortalité des *Culicoides* au contact (application pour-on sur l'animal ou aspersion ciblée dans

les bâtiments d'élevage ou les véhicules de transport) alors que l'efficacité de pulvérisations spatiales sur les populations de *Culicoides* est limitée lors d'une utilisation en plein champ, sans compter l'impact négatif sur la faune non cible et l'environnement (Mehlhorn et al., 2008; Murchie et al., 2019; Venail et al., 2011).

L'application en pour-on d'insecticides sur les animaux est un moyen de contrôle possible dans des contextes de faible densité d'hôte et avec un investissement de l'éleveur suffisant pour appliquer régulièrement la formulation. Harrup (Harrup et al., 2016) liste que certaines techniques (modification de l'habitat larvaire si lien économique viable avec l'activité humaine, utilisation d'insecticide sur animaux, étiquettes auriculaires imprégnées, stabulation) permettent une réduction des populations de *Culicoides* et/ou du contact hôte-vecteur. Toutefois, cet auteur constate comme lacune généralisée l'incapacité de déduire l'impact de ces méthodes sur la transmission des arbovirus et l'absence d'évaluation économique en termes de cout-efficacité des stratégies de lutte intégrée (combinaisons synergiques de plusieurs méthodes ayant prouvé leur efficacité).

Force est de constater qu'il n'existe pas actuellement de méthodes ou techniques valables et éprouvées pour pouvoir contrôler la BT ou l'EHD à La Réunion, que ce soit contre le virus (vaccination) ou contre les *Culicoides* (lutte antivectorielle). Un effort de recherche doit donc être mené pour développer des méthodes de prévention et/ou de contrôle innovantes et applicables au contexte réunionnais. L'identification des périodes et des zones les plus à risque de transmission sont une voie à explorer qui permettrait de mieux comprendre le système vectoriel et de communiquer et sensibiliser de façon plus efficace les acteurs de la santé animale à La Réunion.

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA THESE

Dans le contexte d'une maladie à transmission vectorielle, les facteurs climatiques et environnementaux conditionnent la dynamique de transmission de l'agent infectieux, notamment en impactant la (les) population(s) du (des) vecteur(s). Comprendre la dynamique et connaître la distribution des populations de vecteurs et les facteurs qui régulent cette dynamique est crucial pour bien comprendre l'épidémiologie des maladies à transmission vectorielle. Aussi, parce que la transmission d'un agent infectieux peut être réalisée par plusieurs espèces vectrices, il convient d'identifier précisément ces espèces.

L'épizootie d'EHD en 2015-2016 à l'île de La Réunion a soulevé de nombreuses questions des éleveurs, des filières et des autorités locales vis-à-vis des « bavites », mettant en lumière des attentes afin de mieux prévenir les épidémies. Il en va d'un enjeu de maîtrise de l'incidence de l'EHD et de la BT pour améliorer l'état sanitaire des troupeaux et minimiser les pertes économiques, ceci dans un contexte tropical isolé géographiquement. Lors de l'épizootie de 2015-16, l'analyse de la situation avec le Réseau d'Innovation et de Transfert agricole (RITA, <https://coatis.rita-dom.fr/reunion/?HomePage>) a fait état d'un manque important de connaissances sur la dynamique des interactions hôte-vecteur-pathogène.

Dans cette thèse, nous nous intéressons aux 5 espèces de *Culicoides* présentes dans les élevages de l'île de La Réunion. L'objectif principal de ce travail est de décrire la dynamique et la distribution des 5 espèces en caractérisant les facteurs biotiques et abiotiques expliquant les patrons épidémiologiques observés et d'évaluer le rôle vecteur de chacune des espèces pour les deux virus, BTV et EHDV. Plus précisément, il s'agit 1) d'approfondir les interactions entre les différentes espèces de *Culicoides* et les facteurs climatiques et environnementaux, 2) de définir les périodes et les zones où ces différentes espèces sont abondantes et 3) d'identifier et décrire la circulation des virus de la BT et de l'EHD dans chacune de ces espèces afin de préciser leur rôle vecteur respectif.

Pour les 5 espèces de *Culicoides* présents dans les élevages à La Réunion, la quasi-totalité des modèles qui permettent d'établir des liens avec les facteurs climatiques et environnementaux concerne l'espèce *C. imicola* (31 référencements sur PubMed avec les mots-clés « Culicoides & imicola & model », contre seulement un modèle pour *C. bolitinos* et *C. enderleini* et aucun pour les deux autres espèces, *C. grahamii* et *C. kibatiensis*. Le contexte géographiquement isolé et la faible diversité des espèces est une aubaine pour étudier les populations de *Culicoides* de La Réunion. L'objectif du premier chapitre de cette thèse est de

modéliser la dynamique temporelle de chaque espèce de *Culicoides* présente à La Réunion. La méthodologie repose sur un suivi longitudinal de 26 mois sur 11 sites à l'aide du piège de référence OVI (Onderstepoort Veterinary Institute, South Africa) et sur l'application d'un modèle statistique en deux parties dit de haie (« hurdle »). Ces modèles permettront de déduire l'influence des facteurs climatiques et environnementaux sur la dynamique de chaque espèce tout en permettant de définir les périodes de fortes abondances, c'est-à-dire à haut risque de transmission.

Si le risque de transmission de BTV et d'EHDV est en relation avec la taille des populations de *Culicoides*, ces populations sont obligatoirement confinées aux limites environnementales et climatiques nécessaires à la survie de chaque espèce. La zone de transmission possible est donc contrainte par la distribution spatio-temporelle des espèces vectrices. L'objectif du deuxième chapitre est donc de déterminer les zones de fortes abondances pour chaque espèce de *Culicoides* à l'échelle de l'île et leurs évolutions au fil du temps en fonction des variations climatiques. L'approche utilisée pour répondre à l'objectif de ce second chapitre repose sur le couplage des modèles de haie au logiciel de dynamique spatiale Ocelet. Les modèles spatio-temporelles construits pourraient servir au développement d'un outil de veille entomologique.

Enfin, s'il n'y a pas de doutes sur le rôle vecteur de *C. imicola* et *C. bolitinos* il est important de le vérifier dans le contexte réunionnais. De plus, *C. grahamii* et *C. kibatiensis*, n'ont jamais été identifiées comme vectrices de BTV et d'EHDV. L'objectif du troisième chapitre de cette thèse vise donc à déterminer quelles sont les espèces potentiellement incriminées dans la transmission de BTV et d'EHDV à La Réunion et comment évolue dans le temps et l'espace le taux d'infection dans les populations naturelles de *Culicoides*. Pour ce faire, la recherche de particules virales a été réalisée par RT-PCR sur des lots mono-spécifiques issus du suivi longitudinal de 26 mois. Cette approche permettra aussi d'apporter de nouveaux éléments pour comprendre l'épidémiologie des deux maladies dans le contexte réunionnais.

L'ensemble de ces travaux seront enfin discutés en tenant compte des questionnements et biais méthodologiques, des paramètres bio-écologiques propres à chaque espèce de *Culicoides*, du risque « bavites » pour l'élevage local et des débouchés opérationnels attendus. Enfin, des perspectives ouvriront la voie pour des travaux de recherche permettant de compléter ce travail pour une meilleure appréhension du système vectoriel de la BT et de l'EHD à La Réunion et dans des contextes similaires dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien.

Chapitre I : Les facteurs conditionnant la dynamique temporelle des populations de *Culicoides* à La Réunion

La variabilité des facteurs climatiques exerce une forte pression sur les populations de vecteurs influençant ainsi leurs distributions, leurs reproductions, leurs comportements ou encore leurs abondances (Altizer et al., 2006; Gage et al., 2008). Par conséquent, l'épidémiologie des agents infectieux transmis est également influencée par la variabilité de ces facteurs. De ce fait, déterminer les occurrences et les abondances saisonnières des vecteurs s'avère crucial pour comprendre l'épidémiologie des maladies à transmission vectorielle. Armé d'une bonne compréhension des effets des facteurs climatiques et environnementaux, il est alors possible de construire des modèles pour prédire les occurrences et les abondances des vecteurs. Ainsi en Europe, des modèles statistiques basés sur des variables climatiques ont été très utiles pour modéliser la distribution de *C. imicola* sur de grandes échelles (Baylis and Rawlings, 1998; Purse et al., 2004; Tatem et al., 2003). Pour des échelles plus locales, l'incorporation de facteurs environnementaux, tels que l'utilisation du sol, la disponibilité d'hôte ou le type d'élevage ont apporté une meilleure explication de la distribution et des abondances (Conte et al., 2007; Purse et al., 2012). Toutefois, même en restant dans le contexte européen, la saisonnalité des vecteurs varie grandement d'une région à l'autre et les facteurs impliqués diffèrent (Mellor et al., 2000; Versteirt et al., 2017). De ce fait, la compréhension des effets des facteurs climatiques et environnementaux se doit d'être spécifique aux populations de vecteurs dans un contexte local.

La saisonnalité des cas cliniques d'EHD et de BT à La Réunion soulèvent ainsi la question du lien avec les variations temporelles d'abondance des populations de *Culicoides*. L'inventaire faunistique réalisé en 2005 (Desvars et al., 2015) a mis en évidence la présence de 5 espèces et a permis d'avoir une photographie de la distribution spatiale de chaque espèce à un instant t. Cependant, soulever des hypothèses sur la temporalité des cas cliniques observés nécessitera avant tout une description des variations saisonnières des populations de *Culicoides* et une compréhension des facteurs climatiques et environnementaux qui gouvernent ces variations.

S'inscrivant dans un système peu étudié, ce premier chapitre présente donc une modélisation statistique de la dynamique temporelle des populations de chaque espèce de *Culicoides* à La Réunion. Si des modèles de dynamiques temporelles existent pour *C. imicola* (Brugger and Rubel, 2013b; Diarra et al., 2015), ce n'est pas le cas pour les 4 autres espèces de l'île de La Réunion. C'est aussi la première approche de ce genre appliquée aux *Culicoides* en milieu tropical insulaire. Basés sur des captures bimensuelles de *Culicoides* réalisées sur 11 sites représentatifs des élevages pendant 26 mois à l'aide du piège de référence OVI, les modèles de haie développés permettent d'identifier distinctement les facteurs qui gouvernent

ou non la présence de chaque espèce de *Culicoides* et ceux qui modulent leurs abondances en cas de présence. Aussi, l'utilisation de Cross Correlation Maps (Brugger and Rubel, 2013a) a permis de considérer des variables qui auraient exercé un effet sur les stades immatures, se répercutant ensuite sur les populations de *Culicoides* adultes observées.

Les observations régulières ont montré une forte hétérogénéité dans la dynamique temporelle de chaque espèce selon les zones de La Réunion mais aussi des variations interannuelles pour certaines espèces (*C. bolitinos* et *C. grahamii*). Par ailleurs, les modélisations statistiques ont mis en évidence des paramètres communs entre espèces (température, pluie, indice de végétation, densité d'animaux, environnement végétal), mais agissant souvent avec des forces ou un temps différent ; et soit sur la présence, soit sur l'abondance ou les deux. D'autres paramètres (vent, taille d'ouvertures des bâtiments) étaient spécifiques à une espèce donnée. Ces différences ont donc mis en avant les paramètres les plus impactants pour chaque espèce, mais ont aussi permis d'émettre des hypothèses sur la relation entre ces facteurs et le développement des stades immatures.

Notre étude apporte ainsi pour la première fois une caractérisation des facteurs climatiques et environnementaux qui gouvernent la dynamique des populations de *Culicoides* à La Réunion. Si les observations ont permis d'identifier les périodes de plus fortes abondances pour chaque espèce, les modèles développés permettront leurs prédictions pour des points spatio-temporels non échantillonnés. Aussi, en améliorant la connaissance du système vectoriel, cette étude ouvre la voie au développement de modèles mathématiques qui appréhenderont mieux la transmission des virus de la BT et de l'EHD à La Réunion.

Ce chapitre a été publié dans le journal *Parasites and Vectors*, (DOI à donner).

Modelling temporal dynamics of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations on Reunion Island (Indian Ocean), vectors of viruses of veterinary importance

Yannick Grimaud^{1,2,3*}, Hélène Guis^{4,5,6,7}, Frédéric Chiroleu⁸, Floriane Boucher^{3,5}, Annelise Tran^{3,5,9,10}, Ignace Rakotoarivony^{5,11}, Maxime Duhayon^{5,11}, Catherine Cetre-Sossah^{3,5}, Olivier Esnault¹, Eric Cardinale^{3,5}, Claire Garros^{3,5*}

¹ GDS Réunion, 1 rue du Père Hauck, 97418 La Plaine des Cafres, La Réunion, France

² University of Reunion Island, 15 avenue René Cassin, 97715 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

³ CIRAD, UMR ASTRE, F-97490 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

⁴ CIRAD, UMR ASTRE, 101 Antananarivo, Madagascar

⁵ ASTRE, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier, France

⁶ Institut Pasteur of Madagascar, Epidemiology and clinical research unit, Antananarivo, Madagascar

⁷ FOFIFA DRZVP, Antananarivo, Madagascar

⁸ CIRAD, UMR PBVMT, F-97410 Saint-Pierre, La Réunion, France

⁹ CIRAD, UMR TETIS, F-97490 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

¹⁰ TETIS, Univ Montpellier, Montpellier, France

¹¹ CIRAD, UMR ASTRE, F-34398 Montpellier, France

*Corresponding authors: yannick.grimaud@gds974.re, claire.garros@cirad.fr

YG: yannick.grimaud@gds974.re

HG: helene.guis@cirad.fr

FC: frederic.chiroleu@cirad.fr

FB: floriane.boucher@cirad.fr

AT: annelise.tran@cirad.fr

IR: ignace.rakotoarivony@cirad.fr

MD: maxime.duhayon@cirad.fr

CCS: catherine.cetre-sossah@cirad.fr

OE: olivier.esnault@gds974.re

EC: eric.cardinale@cirad.fr

CG: claire.garros@cirad.fr

Abstract

Background: Reunion Island regularly faces outbreaks of epizootic haemorrhagic disease (EHD) and bluetongue (BT), two viral diseases transmitted by haematophagous midges of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) to ruminants. To date, five species of *Culicoides* are recorded in Reunion Island in which the first two are proven vector species: *Culicoides bolitinos*, *C. imicola*, *C. enderleini*, *C. grahamii* and *C. kibatiensis*. Meteorological and environmental factors can severely constrain *Culicoides* populations and activities and thereby affect dispersion and intensity of transmission of *Culicoides*-borne viruses. The aim of this study was to describe and predict the temporal dynamics of all *Culicoides* species present in Reunion Island. **Materials and methods:** Between 2016 and 2018, 55 biweekly *Culicoides* catches using Onderstepoort Veterinary Institute traps were set up in 11 sites. A hurdle model (*i.e.* a presence/absence model combined with an abundance model) was developed for each species in order to determine meteorological and environmental drivers of presence and abundance of *Culicoides*. **Results:** Abundance displayed very strong heterogeneity between sites. Average *Culicoides* catch per site per night ranged from 4 to 45,875 individuals. *Culicoides imicola* was dominant at low altitude and *C. kibatiensis* at high altitude. A marked seasonality was observed for the 3 other species with annual variations. Twelve groups of variables were tested. It was found that presence and/or abundance of all five *Culicoides* species were driven by common parameters: rain, temperature, vegetation index, forested environment and host density. Other parameters such as wind speed and farm building opening size governed abundance level of some species. In addition, *Culicoides* populations were also affected by meteorological parameters and/or vegetation index with different lags of time, suggesting an impact on immature stages. Taking into account all the parameters for the final hurdle model, error rate by Normalized Root mean Square Error ranged from 4.4 to 8.5%. **Conclusions:** This is the first study to model *Culicoides* population dynamics in Reunion Island. In the absence of vaccination and vector control strategies, determining periods of high abundance of *Culicoides* is a crucial first step towards identifying periods at high risk of transmission for the two economically important viruses they transmit.

Keywords: *Culicoides*, temporal dynamics, hurdle model, Reunion Island, bluetongue, epizootic hemorrhagic disease, Indian Ocean

Background

Transmission of vector-borne diseases depends on the interaction between hosts (domestic and wild), vectors and pathogens within suitable environmental and climatic conditions [1]. The complex interplay of multiple factors and their dependence towards extrinsic factors mean that pathogen transmission is not constant and is often distributed over time and space [2]. Identifying when the transmission is suspected to occur facilitates disease surveillance, vector control implementation and communication to populations and stakeholders. To achieve this, the bionomics and population dynamics of each vector species is a starting point to investigate. Indeed, daily, seasonal or longer-term changes in meteorological and environmental features can impact their presence and abundance and therefore, the rate of transmission of pathogens they carry [1, 3, 4].

Biting midges of *Culicoides* genus are vector species of economically important viruses affecting livestock [5, 6]. In Reunion Island, Indian Ocean, five *Culicoides* species are recorded with different altitudinal distributions: *C. bolitinos*, *C. enderleini*, *C. grahamii*, *C. imicola* and *C. kibatiensis* [7]. Since the 80's, clinical cases of two *Culicoides*-borne viral diseases, bluetongue (BT) and epizootic hemorrhagic diseases (EHD), are observed in sheep and cattle resulting in economic losses [8]. Epidemiological investigations highlighted that outbreaks of bluetongue virus (BTV) and epizootic hemorrhagic diseases virus (EHDV) occurred on annual cycles with BTV being enzootic and EHDV epizootic [8-10]. Clinical cases are almost exclusively reported during or after the rainy season (November-March). This could be linked to *Culicoides* population dynamics and prompts us to identify the drivers of these dynamics to better understand patterns of disease transmission.

In poorly studied biological systems such as *Culicoides* species in Reunion Island, statistical models of population dynamics may facilitate understanding of relationships between climatic and environmental factors, and the known distribution of vectors [11-13]. In addition to highlighting the sensitivity of a species to particular factors [13], statistical models could 1) improve the characterization of the biology of a species, 2) estimate vector occurrence at unsampled space and time point [14] and 3) help analyzing *Culicoides* abundance with different ecological characteristics in the same model framework [15, 16].

Many studies have described the influence of meteorological and environmental parameters on *Culicoides* populations [11-13, 15-19], mainly in temperate areas. Among the five species recorded in Reunion Island, models were developed only for *C. imicola*. In Senegal [18], in Morocco [11], and in South Africa [12], this species was associated with rainfall,

Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), temperature, wind speed and percentage cover of water bodies. These studies also highlighted the role of humidity and host density as parameters that can regulate the presence or abundance of *Culicoides* in tropical environments.

Other studies conducted in the Mediterranean Basin included non-climatic parameters (land use, landscape and ecoclimate) which improved the representation of the suitability of the habitats occupied by *C. imicola* and the accuracy of abundance prediction at a local scale [15, 19].

The aim of the present work was to describe and predict the temporal dynamics of all *Culicoides* species present in Reunion Island. Fortnightly catches were conducted on 11 farms during 26 months, and a library of climatic and non-climatic factors was built up. Mixed-effect negative binomial hurdle models were developed to predict presence and abundance of *Culicoides* species and identify factors promoting or depressing populations.

Methods

Study sites

Reunion Island, a French overseas department, is a mountainous (highest point 3,069 m) small (2,510 km²) volcanic island in the south-west of the Indian Ocean, 800 km east from Madagascar (Figure 1). The island has a tropical wet climate with a warm rainy season (austral summer) observed from December to mid-April and a cooler dry season (austral winter) between mid-April and November. The contrasted geography of the island strongly impacts the wind, rain and temperature patterns (Figure 1). Winds mainly affect the eastern coast, bringing clouds which are blocked by the mountainous terrain. Thus abundant rainfall (2,000 to 8,000 mm annually) is observed on the eastern coast, whereas the western coast only receives 600 to 2,000 mm of rain per year [20]. Temperatures are closely linked with altitude. The mean annual temperatures range between 20.5 and 26°C below 500 m; between 16 and 21°C for altitudes from 500 to 1,000 m; between 12 and 17°C for altitudes from 1,000 to 2,000 m; and are $\leq 12^\circ\text{C}$ above 2,000 m [20].

Livestock farming is well-developed with several European improved breeds of ruminants like Prim'Holstein cattle for milk production, Limousine, Blonde d'Aquitaine cattle, Boer goats, Merinos and Romane sheep for meat production. According to the 2016-2017 census, the territory has approximately 16,000 cattle, 9,000 goats and 2,000 sheep (French Ministry of Agriculture and GDS Réunion). The mean holding of beef cattle, dairy cattle and sheep is 15, 41 and 67 animals per farm respectively in the structured sector. There are also 700

farmed Rusa deers (12 farms or game facilities) alongside to a hundred of free-roaming deers in the highlands. Finally, there are 520 horses in 30 horse riding facilities.

Eleven sites were chosen among i) farms with more than 10 animals, ii) to cover the different geo-climatic regions and altitudes, iii) and to coincide with cattle distribution because it is the dominant production and because cattle are the most clinically impacted by EHDV and BTV infections [8, 10] (Figure 1, Additional file 1: Figure S1). Cattle were present on all 11 sites. They were the only animal bred on six sites and they were bred alongside to sheep or deer on the 5 other sites (Additional file 2: Table S1).

***Culicoides* collection**

Fortnightly catches were conducted from 12/01/2016 to 21/02/2018 using an Onderstepoort Veterinary Institute (OVI) black-light trap [21] in the 11 study sites. One site (PL04) could not be prospected during two months (from 06/09/2016 to 02/11/2016) because of official sanitary regulations and collection started on 15/11/2016 for the PL11 site with the opportunity to include a farm with deer at that time.

Traps were placed at 1.5 m to 1.8 m above the ground at the interface between inside and outside animal holdings or at the edge of the enclosure. Although light traps are only really efficient in the absence of sunlight, OVI traps were left in place and functional for 24h (\pm 1h). It was a compromise between the logistical organization and the need to cover the activity of the *Culicoides* at each of the sites in a standardized way. For optimal preservation and identification, all insects were collected in water containing drop of liquid soap and transferred in 70% alcohol until their identification. All *Culicoides* were morphologically identified under a stereomicroscope to species level based on a morphological identification key relevant for Reunion Island [7]. Large samples over 4 ml were sub-sampled to 3 ml of sedimented insect following a modified procedure described by Van Ark & Meiswinkel [22] to estimate the total number of *Culicoides*. Sex was also recorded.

Meteorological and environmental data

Twelve categories of meteorological and environmental variables were used: temperature, humidity, rainfall, wind speed, global radiation, vegetation index, eco-climatic area, land use, farm density (*i.e.* the number of farms in 3 buffer areas defined around the trapping sites), animal density, length of watercourse and building opening size (Additional file 1: Figure S1, Additional file 2: Table S2 and Table S3).

Temperature and humidity were recorded every 4 hours on site using thermo-hygro microchip recorder Hygrochip TH (Waranet Solutions Co., Fr) from 12/01/2016 to 22/08/2017 and with Tinytag Plus 2-TGP-4500 Dual Channel temperature and RH data loggers (Gemini

Co., UK; Gemini data loggers) from 22/08/2017 to 21/02/2018. Daily minimum, maximum and average temperature, minimum and maximum temperature between two trapping sessions and daily average humidity were extracted from the recorded data. Due to the failure of some recorders during the study, missing values were completed with Météo France and Cirad meteorological station data from the web platform <https://smartis.re/HOME>. Temperature data were automatically extrapolated at site coordinates using the web platform [23]. For humidity, data were extracted from the nearest meteorological station without modification. The replacement data, all before 22/08/2017, represent between 11.6% and 75% of the data on sites PL02, PL04, PL05, PL07, PL08 and PL11, *i.e.* 26.5% of the humidity and temperature data for all sites combined. Despite taking into account the data from meteorological stations, 5% of the global humidity data was still missing.

Daily rainfall extrapolated at site locations, average wind speed at 2 m above the ground and global radiation from the nearest meteorological station during 24h collection period were also extracted from the web platform <https://smartis.re/HOME>. Data for wind and global radiation were sometimes not available (for respectively 13.8% and 13.7% of the study period). Some meteorological stations recorded wind speed only at 10 m above the ground. In that case, wind speed at 2 m above the ground was calculated by using the formula: $U2 = U10 * \ln(2/Z0)/\ln(10/Z0)$, with $U2$ wind speed at 2 m above the ground, $U10$ wind speed at 10 m above the ground and $Z0$ the roughness coefficient [24]. Categories of roughness of the land around trapping sites were estimate with the help of Atlas of Landscape and Roughness of Reunion Island (<https://sites.google.com/site/venturiec1/calendar>) and matched to coefficients according to ICAB® (<https://www.icab.fr/guide/eurocode/en1991-1-4/>).

The vegetation index was obtained from Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) measurements at 250 m spatial resolution and 16 day frequency by the Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) sensors (<https://lpdaac.usgs.gov/>) [25]. MODIS Terra 16-day composite images (product MOD13Q1) were acquired for the study period and the NDVI values were extracted for each site. Daily NDVI values were then estimated for each site using a temporal linear interpolation.

Eco-climatic area was extracted from the map of “Urban Planning and Native Plants Approach” (DAUPI) (Botanical Conservatory of the Mascarenes 2010; <http://daupi.cbnm.org/palette/#/taxons>). A land-use map [26] (http://aware.cirad.fr/layers/geonode%3Aclassif_gabir_2016_2017) was used to define 11 categories of land-use from which the percentage of land use categories were extracted in 0.5 km, 1 km and 2 km radius buffers around sites (Additional file 1: Figure S1). Size of buffers

were based on estimated dispersal capacity of *Culicoides* [27, 28]. Hydrographical data from French National Geographic Institute (BD Topo® IGN; <http://professionnels.ign.fr/bdtopo-hydrographie>) were used to extract length of watercourses flowing through the three buffer zones.

Farm and animal data were obtained by merging governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion (the main association of breeders of the island) census databases. Farm and animal densities were extracted for the three buffer sizes. Lastly, building opening size was recorded on the field. Production of maps and spatial analysis were performed using QGIS 2.18.20 software [29].

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using R version 3.4.1[30]. Catch data collected before 22/02/2016 were discarded because climatic data recorded on site of the previous months were not available for statistical analysis.

All missing values for humidity, wind and global radiation were estimated using the MissMDA package [31] which imputes the data by taking into account both the similarities between individuals and the links between variables using multiple factor analysis.

The dataset was split into two parts: i) a training dataset, defined by a random selection of 2/3 of the dates from 22/02/2016 to 21/02/2018 used to build statistical models; and ii) a validation dataset, defined by the remaining third of the dates, used to estimate the predictive capacity of the models.

In order to consider nonlinear correlations between explanatory variables and *Culicoides* abundance, variables were log₁₀ transformed, or reclassified into 3, 4 or 5 class quantiles when appropriate.

For each species, classes of categorical variables with low numbers of positive or negative catches per class were grouped. Values of NDVI, which range from 0 to 10,000, were rescaled from 0 to 100 in order to have a range similar to those of other variables.

To define the time lag with which variables were best correlated with observed *Culicoides* abundance, Cross Correlation Maps (CCM) analysis [32] was performed. CCM analysis was applied to minimum, maximum and average temperature, relative humidity, rainfall and vegetation index and their log₁₀ transformation. For each variable and each species, a CCM analysis was performed using a timeframe of 50 days. If the lag giving the best correlation was a period between 50 and 30 days before the capture, a second lag within a timeframe of 30 days was also selected in order to take into account that the life cycle of *Culicoides* species can be completed in less than a month under favorable conditions [6].

Mixed effect models were developed to consider the repeated nature of the data. Moreover, large numbers of zero counts are commonly observed with vector abundance data leading to zero inflation and overdispersion in classical count regression models, such as Poisson regression [33]. Zero inflation and overdispersion were verified using “zero.test” function in vcdExtra package [34] and “dispersiontest” function in the AER package [35] respectively. Considering repetition on site and to deal with zero inflation and overdispersion, mixed effect Negative Binomial Hurdle (NBH) models, with random effect on farms, were chosen to explain the abundance of each *Culicoides* species.

Hurdle models specify one process for zero counts and, once a threshold is crossed, another process for positive counts [33]. For the first step of the hurdle model, a mixed-effect logistic regression model (lmer package [36]) was developed to explain the presence (positive realization) vs. absence (negative realization) (binary outcome) of each *Culicoides* species. If the species was present in a given site at a given time (*i.e.* if the realization is positive), the hurdle is crossed, and the conditional distribution of the positive is governed by mixed-effect zero-truncated negative binomial model developed using the glmmTMB package [37].

Both steps of the NBH model were developed by successively performing univariate and multivariate analyses, conducted separately for the binary and count (abundance) parts of the model. Variables with a p value greater than 0.2 at the univariate level were not selected. To avoid duplication of information and promote the most informative meteorological and vegetation index variables, priority was given to numerical variables followed by categorical variables with the largest number of classes and then log₁₀ transformed variables. This priority was also given to variables from the CCMs if the variable and its log₁₀ transformation had the same lag. To avoid collinearity among remaining variables, generalized variance inflated factor (GVIF) using “vif” function in the car package [38] were computed on the fixed effect place in generalized linear models (GLMs) as suggest by [39]. One by one, variables with the highest GVIF were deleted until the GVIF was less than 2, which indicates no collinearity.

At the multivariate analysis stage, an automatic stepwise selection, according to the Akaike Information Criterion (AIC), was used on the mixed logistic models. This automatic stepwise selection is based on a set of adding or dropping of each variable, from the current model, leading to the best AIC improvement (smaller AIC). Then, the null hypothesis of no random effect on these mixed logistic models was tested with glmmML package [40, 41] in 10,000 boot replicates. If the tests were significant for mixed logistic models for all species, random effects were not dropped out of the models. If the tests were not significant for all species, simple logistics models, maintaining the same structure of fixed effects, were applied

to each species. Concerning mixed effect zero-truncated negative binomial models, as recommended by [39] for (generalized) linear mixed-effect models, a manual backward stepwise selection was used, also according to the AIC. There is, to our knowledge, no function that enables testing the significance of the random effect in zero-truncated negative binomial mixed models.

To combine each part of the NBH model, the threshold defining a zero or a positive realization was chosen to maximize the sensitivity and the specificity of the binary outcome on the ROC curve and using PresenceAbsence package [42]. In other words, the chosen threshold minimized the mean of the error rate for positive observations and the mean of the error rate for negative observations. The fit of the final NBH models was estimated by AIC equal to $[AIC_{\text{count}} * (1 - n_{>0}/n)] * AIC_{\text{binary}}$, where AIC_{count} and AIC_{binary} , correspond respectively to the values of AIC for the count and binary model parts, and n and $n_{>0}$, correspond respectively to the total number of samples and the subset with positive counts only [43].

Then, predictive performances were assessed for the logistic model, count model and the final mixed effect NBH model. For the logistic model, the predictive accuracy was measured using area under curve (AUC) of the ROC (Receiver Operating Characteristic) curve [44] with the pROC package [45]. For the count model and the NBH model, a Euclidean distance, the Normalized Root mean Square Error (NRMSE), was calculated using hydroGOF package [46] by: $NRMSE = \sqrt{(pred - obs)^2 / N} / (obs_{max} - obs_{min})$; with obs , the observed abundance of the *Culicoides* sp., obs_{max} the maximum observed abundance, obs_{min} the minimum observed abundance, $pred$, the predictive values and N the number of observations. The NRMSE (expressed as a percentage if multiplied by 100) thus refers to the average error rate relative to the range of the observed values. The closer the NRMSE is to zero, the better the predictive performance. An internal validation was carried out on each part and on the final mixed effect NBH model using a leave-one-out cross validation (LOOCV) using the foreach package [47]. LOOCV, also called n-fold cross validation [48], minimizes the perturbation of the training data introduced during a cross-validation procedure [49]. An external validation was also conducted in which the predictive capacities of models were assessed using the validation dataset. The differences in AUC and NRMSE induced by internal and external validations reflect the reliability of the models: the smaller the differences, the more reliable the models.

Results

A total of nearly 2.6 million biting midges were collected during 577 night-catches at 11 locations and over 26 months, from January 2016 to February 2018 (Table 1, Figure 2). This large scale and extensive survey confirmed the presence of the five *Culicoides* species recorded in 2005 [7]. Overall, 48 night-catches (8.3%) did not collect any *Culicoides*. Total observed abundance over the collection period varied greatly among sites (Table 1, Figure 2): 245 and 344 individuals for PL05 and PL08 respectively (for the entire collection period), compared to 2.5 million for PL02. In others sites, the number of *Culicoides* caught ranged from 2,100 to 25,040 individuals. The total number of individuals and percentage of positive catches, in brackets, per species were: 2,537,374 (57.9%) for *C. imicola*, 41,832 (56.8%) for *C. kibatiensis*, 6,310 (42.8%) for *C. bolitinos*, 1,773 (29.5%) for *C. grahamii* and 2,526 (12.5%) for *C. enderleini*. Thus, mean number of individuals per positive catch was 7,597 for *C. imicola*, and ranged from 10.42 for *C. grahamii* to 127.1 for *C. kibatiensis* for the other species. *Culicoides imicola* was mostly collected from a single site (PL02: 99.34% of total catches, 45,829 individuals/positive catch). Not considering this site, only 16,744 (52.3%) *C. imicola* were collected from the 10 other sites in 522 catches (60.01 individuals/positive catch on average).

The five species were caught at least once in 8 of the 11 sites. A strong spatial heterogeneity was observed for abundance (Figure 2). *Culicoides imicola* was the most abundant species at the 6 sites with the lowest altitude (*i.e.* less than 660 m) where it represented more than 95% of the catches in PL02 and PL07 and more than 50% in the 4 others (PL01, PL03, PL08 and PL09). *Culicoides kibatiensis* was the most abundant at 4 of the 5 sites (PL05, PL06, PL10 and PL11) with the greatest altitude (*i.e.* greater than 1,195 m) where it represented more than 95% of the catches. *Culicoides bolitinos* was abundant in sites with altitudes ranging from 200 to 1,200 m and represented more than 50% of the catches in PL04.

When merging all sites together, dynamics of the 5 species showed strong differences (Additional file 3: Figure S2). Three species, *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. grahamii*, showed a decrease in abundance from July to November 2016, corresponding to the cold and dry season. However, this decrease in abundance was not observed in 2017 for *C. bolitinos* and *C. grahamii*. The two others species, *C. imicola* and *C. kibatiensis*, did not display such seasonal decreases in abundance during the observation period.

Differences in dynamics were also observed for each species between sites (Figure 3, Additional file 3: Figure S2). Without considering sites with no positive catches for a given

species, three types of dynamics were observed: 1) continuous if no more than two sequential zero catches were observed, 2) sporadic if each positive catch was separated by more than 2 zero catches and 3) seasonal for intermediate situations. Thus, the continuous dynamics of *C. imicola* and *C. kibatiensis* were observed only in 4 (PL02, PL03, PL07 and PL09) and 3 (PL06, PL10, PL11) sites respectively. Seasonal dynamics were observed in the other sites except in PL05 and PL06 for *C. imicola* and in PL02 for *C. kibatiensis*. *Culicoides bolitinos* and *C. grahamii* showed seasonal dynamics on each site except for PL05 and PL06 for the former and PL02 for the latter. Last, seasonal dynamics were observed for *C. enderleini* in 6 sites (PL01, PL02, PL03, PL07, PL08 and PL09).

Detailed information on the covariates associated with the species and from final mixed-effect NBH models (coefficients and their standard errors, odds ratios (OR) or incidence rate ratios (IRR), their 95% confidence intervals and the value of t-statistic) are presented in Additional files 4: Tables S4 to S8. As site PL02 represented 99.34% of all *C. imicola* caught, we considered two datasets to model *C. imicola* abundance: one with all sites, and one without the outlier site (PL02). Statistical results for the latter are presented in Additional file 4: Table S9 but are not discussed here. In addition, no significant random effects were detected for the logistical part of the NBH models for all species, including *C. imicola* without PL02. Each NBH model therefore consists of a simple logistic model to estimate presence/absence and a mixed effect zero-truncated negative binomial model to estimate abundances. The thresholds defining a zero or a positive realization for each species were: 0.555 for *C. bolitinos*, 0.2 for *C. enderleini*, 0.27 for *C. grahamii*, 0.61 for *C. imicola* and 0.58 for *C. kibatiensis*. Specificity varied between 0.793 and 0.929 and sensitivity between 0.736 and 0.870.

Regarding correlations with meteorological and environmental variables (Figure 4), four main categories of variables impacted presence and/or abundance of all species: rain, temperature, NDVI and host densities. To a lesser extent, a 5th category related to a forested environment (as described by land use and eco-climatic areas) also impacted the presence and abundance of the five species. Although some parameters impacted all 5 species, their importance, based on the absolute value of t-statistic (Additional files 4: Table S4 to S8), varied.

Rain was the only explanatory variable that affected both presence and abundance of all five species. Rain had a positive effect on all species, but could be offset by a negative effect depending on the quantity and the period considered in relation to the catch. For example, rain at trap retrieval had a positive effect on the presence of *C. imicola*, but a negative effect if it rained 4 days before trapping. Rain was the most important driver of the abundance of *C. grahamii* and *C. kibatiensis*. Rain at trap retrieval between 1.1 and 6.3 mm negatively

affected the former and, in contrast, rain at trap setting between 1.5 and 6.9 mm positively affected the latter.

Temperature had an effect on presence of all species and on abundance of some species (*C. bolitinos*, *C. imicola* and *C. kibatiensis*). It was the most important driver of presence of *C. kibatiensis* and abundance of *C. bolitinos*. This driver impacted the former negatively and with a lag of time between two trapping sessions. The latter was positively impacted with a lag of 35 days. In addition, temperature was the second most important and positive driver of the presence of *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. imicola*.

NDVI was positively associated with all species, except *C. imicola*. It was one of the most important parameters affecting the presence of *C. grahamii* with a lag of 31 days.

Another category of covariates associated with all species was host density. The most important factors governing the presence of *C. bolitinos* and the abundance of *C. enderleini* were the density of small ruminants in 0.5 and 1 km radius respectively. For *C. grahamii*, density of deer and horses in 2 km radius was the second most important parameter affecting positively its presence.

Last, forested environment was also associated with all species. The presence and/or abundance of *C. grahamii*, *C. imicola* and *C. kibatiensis* were strongly and positively associated with eco-climatic areas such as leeward and/or windward coast mountain rain forest. *Culicoides imicola* was also positively associated with dry forest and savannah.

The other parameters were not associated with all species. The presence of *C. enderleini* was negatively governed by wind speed at trap setting (most important factor). Similarly, building opening size was the most important parameter explaining the presence of *C. imicola*.

The comparison of the predictions of the models and the observed *Culicoides* abundances (Figure 5 for *C. bolitinos* and *C. imicola*, the two proven vectors of BTV and EHDV [50, 51]; Additional files 5: Figure S3 for the three other species), showed that the mixed effect NBH models correctly predicted the seasonal variation in abundance, as well as difference in abundance level between sites.

Overall, the predictive accuracy of presence and absence of each species were good or excellent: ROC AUCs varied from 0.884 to 0.949 (Additional file 4: Table S10). Results of internal validation by LOOCV showed that predictive performances remained globally similar, with slight decreases of AUCs of -0.015 to -0.034. External validation results showed that the predictive performance was acceptable for *C. grahamii* (AUC = 0.743) and good for other species (AUCs \in [0.813, 0.847]). For the count part of the model, the NRMSEs varied from

9% to 17%. The best predictive performance was observed for *C. imicola* and *C. kibatiensis* with NRMSEs of 9% and 11.3% respectively.

Finally, for the complete mixed effect NBH models, NRMSEs varied from 4.4% to 8.5%. The best predictive performance was observed for *C. enderleini* (4.4%). Remarkably, external validation yielded better results for *C. bolitinos*. Indeed, the variation was -0.9%, reflecting an improvement in the error rate. For *C. enderleini*, the value of NRMSE varied from 4.4% to 17.6% during the external validation, *i.e.* a 4-fold increase in the error rate. For *C. grahamii*, *C. imicola* and *C. kibatiensis*, NRMSEs were 4.9%, 4.8% and 5.9% respectively. During external validation, their NRMSEs increased by 6.7%, 1.3% and 4.8% respectively.

Discussion

This study is the largest sampling effort ever carried out on Reunion Island for *Culicoides* biting midges associated with livestock using reference traps while comprehensively examining the relationship between seasonal population dynamics and meteorological and environmental conditions.

The survey confirmed the low specific diversity (5 species) [7] compared to Mayotte, a 6-fold smaller volcanic island (374 km²) belonging to the Comoros Archipelago (Figure 1), where a recent inventory listed at least 17 species including *C. bolitinos*, *C. enderleini*, *C. imicola* and *C. kibatiensis* [52]. This relatively low diversity in Reunion Island could be linked to its greater geographical remoteness (684 km from Madagascar and 1,680 km from the African coastline as opposed to 295 and 485 km for Mayotte respectively). Diversity in the other islands of the Indian Ocean have not yet been thoroughly assessed. Only two species (*C. imicola* and *C. enderleini*) sampled in three sites were described in Mauritius [53]. In Seychelles, two limited inventories listed 3 species [54, 55] not found in Reunion Island. In the other islands of the Comoros Archipelago, no inventory has been carried out. Last, in Madagascar, few species, including *C. imicola* and *C. enderleini*, have been described [56, 57] but the inventory remains largely incomplete.

Except for one site (PL02), observed *Culicoides* abundance on the island was low compared to other areas in the Afrotropical region where the same trap was used and where average catches were in the hundreds to tens of thousands of individuals (in South Africa [12, 58-60]; in Zimbabwe [61]; in Senegal [62]). These low abundances could be explained by a lack of favorable microhabitats [63] due to the presence of volcanic soil, and/or sub-optimal climate for the development and survival of *Culicoides* [64].

Exceptionally, high numbers of *C. imicola* were caught in site PL02 all year round. Local variations in abundance are well described for *Culicoides* in different areas [11-13, 21, 61, 62, 65-67]. Variations in climate, environment, host density, and farming practices are usually advocated to explain the observed differences [17, 68, 69]. Indeed, unlike the other sites, PL02 has environmental and climatic characteristics closer to those recorded in the Afrotropical region where *C. imicola* is frequently found and in high abundance: dry vegetation, dry winter, favorable year-round temperature, hot summer, and presence of mammalian hosts [58, 61, 62].

Three of the 5 species recorded (*C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. grahamii*) showed marked seasonality with a total abundance decrease during the cold and dry season whereas the two most abundant species (*C. imicola* and *C. kibatiensis*) showed continuous dynamics during the 26 months follow-up. However, strong variations of dynamics were observed at a finer scale, *i.e.* between sites, for each species.

Temperature appears to be the main seasonal factor for *Culicoides* in Reunion Island, with a clear positive impact on the presence and abundance of *C. imicola* and *C. enderleini*, and a negative impact for *C. kibatiensis*. The temperature seemed also favorable to *C. bolitinos* but with a limiting effect above a threshold (*i.e.* when temperatures are too high), thus explaining why this species was less abundant at low altitude. Concerning *C. grahamii*, its relationship to temperature is less obvious here because its distribution is associated with cold temperatures whereas its seasonality seems to indicate a positive impact of higher temperatures on population size. Interestingly, for *C. bolitinos* and *C. grahamii*, a clear decrease in total abundance was not observed during the 2017 cold and dry season compared to 2016. According to the climate monitoring of Météo-France on Reunion Island (<http://www.meteofrance.re>), the cold and dry season of 2017 was warmer and wetter than that of 2016. These different temperature and rainfall patterns in 2017 could have extended the favorable weather period for these species, thus underlining that the dynamic of a species can vary from one year to the next.

Eleven of the twelve categories of meteorological and environmental variables tested (all variables except length of watercourses) were linked to the presence and/or abundance of at least one species of *Culicoides*. Moreover, a same driver could affect the same species in several ways: 1) in an ambivalent way, such as rain, which had both a positive and a negative effect on *C. grahamii* for example and 2) during capture and/or with one or more lagged effects, undeniably suggesting impacts that could affect adults but also larval stages. The correlations with earlier dates can thus provide information on when these species are most sensitive to climatic hazards during their life cycle and potentially when certain immature phases occur.

Many studies have associated *C. imicola* with various climatic and environmental factors [11, 12, 15, 16, 18, 70-72]. According to our results, behavior and preference for a habitat type were the first characteristics to consider for this species. Its strong association with widely open buildings or enclosures underlines the importance of its exophilic behavior as observed by Banard and Meiswinkel *et al.* [73, 74]. As regards to the relationship of this species with the different climatic zones of the island and secondarily with land use (forest), the study confirms its preference for a dry vegetation and/or areas with low vegetation that are exposed to the sun (see [15, 19, 58, 62, 67]). The association between NDVI and *C. imicola* further supports this result. Moreover, such a long lag (50 days) in the impact of NDVI could reflect a long term impact of vegetation on *C. imicola* population. Unfavorable conditions can reduce the quality of larval habitat and thus reduce adult recruitment. The effect of temperature and rain on flight activity, mortality or life cycle speed of *C. imicola* and on *Culicoides* in general has been widely described [5, 6, 18, 71, 75-81]. The presence of hosts is also a key factor affecting *Culicoides* populations [13, 18, 82, 83]. However, our results are very surprising about the link between *C. imicola* and the density of small ruminants or deer and horses. With regards to models associating *C. imicola* with a host type [70, 71] or studies on its trophic preference [84-87], none allow us to establish hypotheses. Thus, the question “how can a higher abundance of small ruminants, horses or deer in the surroundings of a cattle farm reduce the abundance of *C. imicola* in that farm?” remains unanswered.

Compared to *C. imicola*, the relationship between *C. bolitinos* and the climatic and environmental drivers showed tangible differences. Our results suggest that *C. bolitinos* was greatly affected by the quantity, quality and viability of its larval habitat, as reported by Meiswinkel *et al.* [88] in South Africa. The strong association of this species with farm and small ruminant density can be linked, respectively, to the quantity and quality of available larval habitats. Also, the strong and multiple delayed effects of temperature, followed by those of rain and NDVI, seem to define the viability of these larval habitats. Induced modulations on the intrinsic characteristics of the breeding site (temperature, moisture) or leaching could impact immature stages [5, 6, 89, 90]. It is interesting to note that the positive effect of NDVI on *C. bolitinos* associates this species with wetter, and therefore greener, environments [91] than those of *C. imicola*. With regard to the association with the building opening size, *C. bolitinos* exhibited a greater endophilic behavior than *C. imicola*. This result is also comforted by Meiswinkel [74] who showed that numbers of *C. bolitinos* dropped if entry size in buildings was too small. *Culicoides bolitinos* also showed a rather complex relationship with rain. Perhaps the fresh and humid conditions after a rainfall favor activity. Last, the effect of global

radiation on *C. bolitinos*, which can affect several parameters such as temperature, evapotranspiration or biomass production [92, 93], was probably a marker of seasonality.

Like *C. imicola*, the association of *C. enderleini* with temperature and forest suggests a preference for hot and sparsely vegetated habitats exposed to full sunlight, which is in consistent with observations made in Senegal [62, 94] and in Gambia [95]. However, the abundance of *C. enderleini* was most impacted by the density of small ruminants. In South Africa [96], this species was found near cattle with confirmed blood meal sources on horses and sheep, which underlines the importance of hosts for this species. Interestingly, *C. enderleini* was the only species significantly affected by wind. Wind speed can reduce dramatically the *Culicoides* activity [5, 97] but Jess *et al.* [98] suggested that the relation to wind speed may not be linear. Indeed, the flight of some insects can be stimulated by low winds [99]. This seems to be the case for *C. enderleini*, who was favored by wind speeds of 1.2 to 1.5 m.s⁻¹ and inhibited by higher wind speeds. Finally, the results showed lag effects of rain and humidity. These lags seem to indicate an effect on larval development, but the underlying ecological reasons explaining these associations remain difficult to clarify. *Culicoides enderleini* was also associated with NDVI, which is clearly a marker of seasonality [15], reflecting also seasonal rainfall [100].

Culicoides kibatiensis, the second most abundant species on the island, often exhibited associations with climatic or environmental parameters contrary to those of *C. imicola*. First, its association with temperature confirms that *C. kibatiensis* is a cold-adapted species and suggests that the survival of immature stages, and potentially the fertility of the previous generation [80] prevail over the speed of the life cycle. Concerning rainfall, *C. kibatiensis* was more abundant at high altitude, where the cloud cover is formed. The induced mist can lead to a form of precipitation that will be recorded by meteorological stations and this could explain the link between *C. kibatiensis* and light rainfall. Secondly, the strong relationship of this species with mountain rain forest eco-climates reinforces its association with cold environments and underlines its preference for rather humid and high altitude climates in Reunion Island. This observation differentiates it even more from *C. imicola*, as well as from *C. enderleini*. Thirdly, the presence and the abundance of *C. kibatiensis* were positively associated with deer and horses. This seems plausible as a large proportion of *Culicoides* species are opportunistic in host selection and several livestock-associated mammophilic species are known to feed on wild deer [6]. Finally and similarly to *C. bolitinos*, the effect of vegetation suggests a preference for wetter and greener environments for larval habitats than *C. imicola*.

The least abundant species, *C. grahamii*, was associated with mountain rain forest eco-climatic areas, suggesting, as for *C. kibatiensis*, a preference for rather humid and high altitude climates. This preference was secondarily supported by the effect of humidity, NDVI and minimum temperature of 12-15°C on this species. The first two conditions (humidity and NDVI) support the hypothesis that wetter conditions favor breeding sites. The last could correspond to the optimal temperature range for the activity of this species, as shown by Venter *et al.* [75] for *C. imicola*. *Culicoides grahamii* also showed a complex relationship with rain, the most influential parameter affecting its abundance. It can be hypothesized that the peak activity at dawn [101] may be particularly constrained by rain whereas rainy weather during the day could allow this species to have a daytime activity as observed by Nicholas *et al.* [102]. Concerning the lagged effect of rain on the presence of this species, one can hypothesize an impact on the availability of the breeding sites, *i.e.* small bodies of rainwater with a muddy bottom and which are rich in organic matter [103]. Finally and conversely to *C. imicola* and *C. bolitinos*, *C. grahamii* seems to have an endophilic behavior. This species is very small and could search for protection against climatic hazards given its size [7].

Many studies have shown that the inclusion of non-dynamic variables with dynamic variables increases the fit of models [15, 17, 83, 89, 104-106]. Significant associations were highlighted between *Culicoides* species presence or abundance and landscape [19], soil type [105] and farm-associated variables such as breeding practices, effluent management, hygienic measures, animal movements, use of insecticides and/or grassland mowing [107-110]. Our model fit suggests that overall no major driver of dynamics was omitted. Fortunately, when measurements are repeated in a sample, mixed models allow for farm-induced long-term differences to be taken into account. However, if these random effects at farm-level are not fully elucidated, it is not possible to extrapolate the models to other sites. Concerning our hurdle models, only the part concerning the estimation of abundance (count part) was affected by this restriction.

The statistical models developed in this study link presence and abundance of *Culicoides* to climatic and environmental factors with different time lags, suggesting an impact on the different stages of their life cycle. Mechanistic models allow the different processes underlying population dynamics to be taken into account by compartmentalizing the different life stages. However, such models require knowledge on the mechanisms related to the system under study and on their drivers. As these were the first models developed for four of the five species (all except *C. imicola*) and the first models concerning the dynamics of *Culicoides* in Reunion Island, it was important to first develop statistical models in order to refine our

knowledge on the drivers of dynamics of each species. CCM [111] proved very useful to identify the best lags for each dynamic variable, in turn helping identify on which stages the variables were impacting. By contributing to significantly improve our knowledge on the dynamics of *Culicoides* in Reunion Island, this work enables the further development of mechanistic models.

Conclusion

This study is the first to describe and model longitudinal data on *Culicoides* from Reunion Island. It confirmed the presence of five species, in relatively low abundance except for one species in one site (*C. imicola* in PL02), and presented their seasonal abundance patterns, giving more insight into the dynamics of *Culicoides* populations in the Afrotropical region. Through the identification of environmental and meteorological drivers of presence and abundance of the five *Culicoides* species, it improves our understanding of their ecology. *Culicoides imicola* dynamics was closely related to temperature and rainfall and it favored by dry open vegetation. *Culicoides grahamii*, *C. bolitinos* and *C. enderleini* showed marked seasonal patterns with a drop in abundance during the cold dry season. *Culicoides grahamii*, the least abundant species, showed relations with temperature similar to *C. imicola*. Results suggest it was more endophilic than *C. bolitinos* and *C. imicola*. As for *C. imicola*, *C. bolitinos* was positively associated to temperature and had more complex associations with rainfall but was associated to greener and wetter environments than *C. imicola*. *Culicoides kibatiensis* was clearly an outlier, abundant at high altitude, it was a cold-adapted species. *Culicoides enderleini* was positively associated to temperature and rainfall but negatively to humidity and had the particularity to be the only species significantly affected by wind. As at least two of the five species (*C. imicola*, *C. bolitinos*) are known vectors of Orbiviruses to ruminants, this study is a first step to enhance ecological understanding of the dynamic nature of pathogen-vector-host interactions in *Culicoides*-borne virus systems. Further work should include assessing the vector roles of the three other species (*C. enderleini*, *C. kibatiensis* and *C. grahamii*) and developing spatially explicit models of dynamics and of pathogen transmission for the entire island. These spatially explicit dynamic models will help farmers and animal health stakeholders identify areas and periods of vector activity and at high risk of viral transmission.

Abbreviations

AIC: Akaike information criterion; AUC: area under curve; BT(V): bluetongue (virus); CCM:

cross correlation map; DAUPI: urban planning and native plants approach; EHD(V): epizootic haemorrhagic disease (virus); GDS: groupement de défense sanitaire; GLM: generalized linear model; GVIF: generalized variance inflated factor; LOOCV: leave one out cross validation; MODIS: moderate resolution imaging spectroradiometer; NBH: negative binomial hurdle model; NDVI: normalized difference vegetation index; NRMSE: normalized root mean square error; OVI: Onderstepoort Veterinary Institute; ROC: receiver operating characteristic.

Acknowledgements

The authors acknowledged the farmers for allowing to collect *Culicoides* on their farms.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable

Consent for publication

Not applicable

Availability of data and materials

All samples and R codes are available upon request to the corresponding authors.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Funding

This study was funded by UMR 117 ASTRE, Cirad, GDS Réunion, TROI project (EU) and RITA Réunion.

Authors' contributions

YG, HG, AT and CG designed the study; YG collected the samples, YG, FB, IR, MD and CG identified the *Culicoides* samples, YG analyzed the data with the help of FC, HG and AT; CCS, OE and EC contributed to the manuscript after its first draft by YG, AT, HG and CG; all authors read and commented on the final manuscript version. All authors read and approved the final version of the manuscript

References

1. Reisen WK. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu Rev Entomol.* 2010;55:461-83.
2. Moore CG. Interdisciplinary research in the ecology of vector-borne diseases: opportunities and needs. *J Vector Ecol.* 2008;33:218-25.
3. Semenza JC, Suk JE. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiol Lett.* 2018;365.
4. Gage KL, Burkot TR, Eisen RJ, Hayes EB. Climate and vectorborne diseases. *Am J Prev Med.* 2008;35:436-50.
5. Mellor P, Boorman J, Baylis M. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annu Rev Entomol.* 2000;45:307-40.
6. Purse B, Carpenter S, Venter G, Bellis G, Mullens B. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annu Rev Entomol.* 2015;60:373-92.
7. Desvars A, Grimaud Y, Guis H, Esnault O, Allene X, Gardes L, et al. First overview of the *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) livestock associated species of Reunion Island, Indian Ocean. *Acta Trop.* 2015;142:5-19.
8. Cêtre-Sossah C, Roger M, Sailleau C, Rieau L, Zientara S, Bréard E, et al. Epizootic haemorrhagic disease virus in Reunion Island: Evidence for the circulation of a new serotype and associated risk factors. *Vet Microbiol.* 2014;170:383-90.
9. Bréard E, Sailleau C, Hamblin C, Zientara S. Bluetongue virus in the French Island of Reunion. *Vet Microbiol.* 2005;106:157-65.
10. Sailleau C, Zanella G, Breard E, Viarouge C, Desprat A, Vitour D, et al. Co-circulation of bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses in cattle in Reunion Island. *Vet Microbiol.* 2012;155:191-7.
11. Baylis M, Rawlings P. Modelling the distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Morocco and Iberia using climatic data and satellite imagery. *Arch Virol Suppl.* 1998;14:137-53.
12. Baylis M, Meiswinkel R, Venter G. A preliminary attempt to use climate data and satellite imagery to model the abundance and distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Africa. *J S Afr Vet Assoc.* 1999;70:80-9.
13. Kluiters G, Sugden D, Guis H, McIntyre KM, Labuschagne K, Vilar MJ, et al. Modelling the spatial distribution of *Culicoides* biting midges at the local scale. *J Appl Ecol.* 2013;50:232-42.
14. Rogers DJ, Randolph SE. Studying the global distribution of infectious diseases using GIS and RS. *Nat Rev Microbiol.* 2003;1:231.
15. Conte A, Goffredo M, Ippoliti C, Meiswinkel R. Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the *Obsoletus* Complex in Italy. *Vet Parasitol.* 2007;150:333-44.
16. Calvete C, Estrada R, Miranda M, Borrás D, Calvo J, Lucientes J. Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Med Vet Entomol.* 2008;22:124-34.
17. Purse B, Falconer D, Sullivan M, Carpenter S, Mellor P, Pierrney S, et al. Impacts of climate, host and landscape factors on *Culicoides* species in Scotland. *Med Vet Entomol.* 2012;26:168-77.
18. Diarra M, Fall M, Lancelot R, Diop A, Fall AG, Dicko A, et al. Modelling the abundances of two major *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) species in the Niayes area of Senegal. *PLoS One.* 2015;10:e0131021.
19. Ippoliti C, Gilbert M, Vanhuyse S, Goffredo M, Satta G, Wolff E, et al. Can landscape metrics help determine the *Culicoides imicola* distribution in Italy? *Geospatial health.* 2013;8:267-77.

20. Raunet M. Le milieu physique et les sols de l'île de la Réunion. Conséquences pour la mise en valeur agricole. Cirad; 1991.
21. Venter G, Labuschagne K, Hermanides K, Boikanyo S, Majatladi D, Morey L. Comparison of the efficiency of five suction light traps under field conditions in South Africa for the collection of *Culicoides* species. *Vet Parasitol.* 2009;166:299-307.
22. Van Ark H, Meiswinkel R. Subsampling of large light trap catches of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Onderstepoort J Vet Res.* 1992;59:183-9.
23. Chopart J-L, Mézino M, Le Mezo L. Relations entre l'altitude et la température mensuelle de l'air dans l'ouest de la Réunion. *Rev Agri Sucre Maurice.* 2002;80:68-72.
24. Gualtieri G, Secci S. Methods to extrapolate wind resource to the turbine hub height based on power law: A 1-h wind speed vs. Weibull distribution extrapolation comparison. *Renew Energ.* 2012;43:183-200.
25. Didan K. MOD13Q1 MODIS/Terra vegetation indices 16-day L3 global 250m SIN grid V006. NASA EOSDIS Land Processes DAAC. 2015.
26. Londoño Villegas MM: Développement d'une méthodologie pour la construction de cartes d'occupation du sol de l'île de la Réunion. Université Paul Valéry; 2017.
27. Kluiters G, Swales H, Baylis M. Local dispersal of palaeartic *Culicoides* biting midges estimated by mark-release-recapture. *Parasite Vector.* 2015;8:86.
28. Kirkeby C, Bødker R, Stockmarr A, Lind P, Heegaard PM. Quantifying dispersal of European *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) vectors between farms using a novel mark-release-recapture technique. *PloS one.* 2013;8:e61269.
29. Quantum G: Development Team. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. 2016. 2017.
30. Team RC: R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2017. ISBN3-900051-07-0 2017.
31. Josse J, Husson F. missMDA: a package for handling missing values in multivariate data analysis. *J Stat Softw.* 2016;70:1-31.
32. Curriero FC, Shone SM, Glass GE. Cross correlation maps: a tool for visualizing and modeling time lagged associations. *Vector-Borne Zoonot.* 2005;5:267-75.
33. Zeileis A, Kleiber C, Jackman S. Regression models for count data in R. *J Stat Softw.* 2008;27:1-25.
34. Friendly M. Working with categorical data with R and the vcd and vcdExtra packages. Toronto: York University. 2013.
35. Kleiber C, Zeileis A, Zeileis MA. Package 'AER'. R package version 12. 2017;4.
36. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S, Christensen RHB, Singmann H, et al. Package 'lme4'. *Convergence.* 2015;12.
37. Brooks ME, Kristensen K, van Benthem KJ, Magnusson A, Berg CW, Nielsen A, et al. Modeling zero-inflated count data with glmmTMB. *bioRxiv.* 2017:132753.
38. Fox J, Weisberg S, Adler D, Bates D, Baud-Bovy G, Ellison S, et al. Package 'car'. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2012.
39. Cheng J, Edwards LJ, Maldonado-Molina MM, Komro KA, Muller KE. Real longitudinal data analysis for real people: building a good enough mixed model. *Stat Med.* 2010;29:504-20.
40. Broström G, Holmberg H. Generalized linear models with clustered data: Fixed and random effects models. *Comput Stat Data An.* 2011;55:3123-34.
41. Holmberg H: Generalised linear models with clustered data. Statistiska institutionen, Umeå Universitet; 2010.
42. Freeman EA, Moisen G. PresenceAbsence: An R package for presence absence analysis. *J Stat Softw.* 2008;23:1-31.
43. Hilbe JM. Negative binomial regression. Cambridge University Press; 2011.
44. Park SH, Goo JM, Jo C-H. Receiver operating characteristic (ROC) curve: practical review for radiologists. *Korean J Radiol.* 2004;5:11-8.
45. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez J-C, et al: Package 'pROC'. 2019.

46. Zambrano-Bigiarini M. Package 'hydroGOF'. Goodness-of-fit Functions for Comparison of Simulated and Observed. 2017.
47. Weston S. Using the foreach package. CRAN Repository. 2015.
48. QT Q. n-Fold Cross Validation. 2015.
49. Cawley GC, Talbot NL. Efficient leave-one-out cross-validation of kernel fisher discriminant classifiers. *Pattern Recogn.* 2003;36:2585-92.
50. Paweska J, Venter G, Mellor P. Vector competence of South African *Culicoides* species for bluetongue virus serotype 1 (BTV-1) with special reference to the effect of temperature on the rate of virus replication in *C. imicola* and *C. bolitinos*. *Med Vet Entomol.* 2002;16:10-21.
51. Paweska J, Venter G, Hamblin C. A comparison of the susceptibility of *Culicoides imicola* and *C. bolitinos* to oral infection with eight serotypes of epizootic haemorrhagic disease virus. *Med Vet Entomol.* 2005;19:200-7.
52. Garros C, Labuschagne K, Dommergues L, Balenghien T, Muñoz F, Bakhoun MT, et al. *Culicoides* Latreille in the sun: faunistic inventory of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Mayotte (Comoros Archipelago, Indian Ocean). *Parasite Vector.* 2019;12:135.
53. Jori F, Roger M, Baldet T, Delécolle J-C, Sauzier J, Jaumally M, et al. Orbiviruses in Rusa deer, Mauritius, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:312-3.
54. Wirth W, Messersmith D. Notes on the biting midges of the Seychelles (Diptera: Ceratopogonidae)[Insects]. *P Entomol Soc Wash.* 1977.
55. Wirth W. The biting midges of Aldabra Atoll, Indian Ocean (Diptera: Ceratopogonidae). *P Entomol Soc Wash.* 1990;92:230-47.
56. Augot D, Randrianambinintsoa F, Gasser A, Depaquit J. Record of two species of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) new for Madagascar and molecular study showing the paraphyly of the subgenus *Oecacta* and the Schultzei group. *Bull Soc Pathol Exot.* 2013;106:201-5.
57. Rabeantoandro SZ, Rakotofiringa SL, delecalle JC. Les cératopogonidae malagasy (Diptères, Nématocères): systématique, écologie et biogéographie. *Colloq Parasitol Vet.* 2011.
58. Venter G, Nevill E, Van der Linde T. Seasonal abundance and parity of stock-associated *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in different climatic regions in southern Africa in relation to their viral vector potential. *Onderstepoort J Vet Res.* 1997;64:259-71.
59. Venter G, Hermanides K, Boikanyo S, Majatladi D, Morey L. The effect of light trap height on the numbers of *Culicoides* midges collected under field conditions in South Africa. *Vet Parasitol.* 2009;166:343-5.
60. Meiswinkel R, Paweska J. Evidence for a new field *Culicoides* vector of African horse sickness in South Africa. *Prev Vet Med.* 2003;60:243-53.
61. Musuka G, Mellor P, Meiswinkel R, Baylis M, Kelly P. Prevalence of *Culicoides imicola* and other species (Diptera: Ceratopogonidae) at eight sites in Zimbabwe: to the editor. *J S Afr Vet Assoc.* 2001;72:62-3.
62. Diarra M, Fall M, Fall AG, Diop A, Seck MT, Garros C, et al. Seasonal dynamics of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midges, potential vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in the Niayes area of Senegal. *Parasite Vector.* 2014;7:147.
63. De Liberato C, Purse B, Goffredo M, Scholl F, Scaramozzino P. Geographical and seasonal distribution of the bluetongue virus vector, *Culicoides imicola*, in central Italy. *Med Vet Entomol.* 2003;17:388-94.
64. Liebenberg D, van Hamburg H, Piketh S, Burger R. Comparing the effect of modeled climatic variables on the distribution of African horse sickness in South Africa and Namibia. *J Vector Ecol.* 2015;40:333-41.
65. Baldet T, Delécolle JC, Mathieu B, de La Rocque S, Roger F. Entomological surveillance of bluetongue in France in 2002. *Vet Ital.* 2004;40:226-31.
66. Liebenberg D, Piketh S, Labuschagne K, Venter G, Greyling T, Mienie C, et al. *Culicoides* species composition and environmental factors influencing African horse sickness distribution at three sites in Namibia. *Acta Trop.* 2016;163:70-9.

67. Mayo C, Venter EH, Steyn J, Coetzee P, van Vuuren M, Crafford J, et al. The prevalence of *Culicoides* spp. in 3 geographic areas of South Africa. *Vet Ital.* 2016;52:281-9.
68. Kirkeby C, Bødker R, Stockmarr A, Lind P. Spatial abundance and clustering of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) on a local scale. *Parasite Vector.* 2013;6:1.
69. Searle KR, Barber J, Stubbins F, Labuschagne K, Carpenter S, Butler A, et al. Environmental drivers of *Culicoides* phenology: how important is species-specific variation when determining disease policy? *PLoS One.* 2014;9:e111876.
70. Acevedo P, Ruiz-Fons F, Estrada R, Márquez AL, Miranda MA, Gortázar C, et al. A broad assessment of factors determining *Culicoides imicola* abundance: modelling the present and forecasting its future in climate change scenarios. *PloS one.* 2010;5:e14236.
71. Rigot T, Conte A, Goffredo M, Ducheyne E, Hendrickx G, Gilbert M. Predicting the spatio-temporal distribution of *Culicoides imicola* in Sardinia using a discrete-time population model. *Parasite Vector.* 2012;5:270.
72. Wittmann E, Mellor P, Baylis M. Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe. *Rev Sci Tech OIE.* 2001;20:731-40.
73. Barnard B. Some factors governing the entry of *Culicoides* spp.(Diptera: Ceratopogonidae) into stables. *Onderstepoort J Vet Res.* 1997;64:227-33.
74. Meiswinkel R, Baylis M, Labuschagne K. Stabling and the protection of horses from *Culicoides bolitinos* (Diptera: Ceratopogonidae), a recently identified vector of African horse sickness. *Bull entomol Res.* 2000;90:509-15.
75. Venter GJ, Boikanyo SN, de Beer CJ. The influence of temperature and humidity on the flight activity of *Culicoides imicola* both under laboratory and field conditions. *Parasite Vector.* 2019;12:4.
76. Veronesi E, Venter G, Labuschagne K, Mellor P, Carpenter S. Life-history parameters of *Culicoides (Avaritia) imicola* Kieffer in the laboratory at different rearing temperatures. *Vet Parasitol.* 2009;163:370-3.
77. Murray M. The seasonal abundance of female biting-midges, *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera, Ceratopogonidae), in coastal south-eastern Australia. *Aust J Zool.* 1991;39:333-42.
78. Sellers R, Mellor P. Temperature and the persistence of viruses in *Culicoides* spp. during adverse conditions. *Rev Sci Tech OIE.* 1993;12:733-.
79. Purse BV, Mellor PS, Rogers DJ, Samuel AR, Mertens PP, Baylis M. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3:171.
80. Wittmann E, Baylis M. Climate change: effects on *Culicoides*-transmitted viruses and implications for the UK. *Vet J.* 2000;160:107-17.
81. Nevill EM: Biological studies on some South African *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) and the morphology of their immature stages. University of Pretoria; 1967.
82. Garcia-Saenz A, McCarter P, Baylis M. The influence of host number on the attraction of biting midges, *Culicoides* spp., to light traps. *Med Vet Entomol.* 2011;25:113-5.
83. Sanders CJ, Shortall CR, Gubbins S, Burgin L, Gloster J, Harrington R, et al. Influence of season and meteorological parameters on flight activity of *Culicoides* biting midges. *J Appl Ecol.* 2011;48:1355-64.
84. Bakhoun MT, Fall M, Seck M, Gardes L, Fall A, Diop M, et al. Foraging range of arthropods with veterinary interest: new insights for Afrotropical *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) using the ring method. *Acta Trop.* 2016;157:59-67.
85. Fall M, Fall AG, Seck MT, Bouyer J, Diarra M, Lancelot R, et al. Host preferences and circadian rhythm of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae), vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in Senegal. *Acta Trop.* 2015;149:239-45.
86. Braverman Y, Boreham P, Galum R. The origin of blood meals of female *Culicoides pallidipennis* trapped in a sheepfold in Israel. *J Med Entomol.* 1971;8:379-81.
87. Nevill E, Anderson D. Host preferences of *Culicoides* midges (Diptera: Ceratopogonidae) in South Africa as determined by precipitin tests and light trap catches. *Onderstepoort J Vet Res.* 1972;39:147-52.

88. Meiswinkel R, Labuschagne K, Baylis M, Mellor P. Multiple vectors and their differing ecologies: observations on two bluetongue and African horse sickness vector *Culicoides* species in South Africa. *Vet Ital.* 2004;40:296-302.
89. Meiswinkel R. Discovery of a *Culicoides imicola*-free zone in South Africa: preliminary notes and potential significance. *Onderstepoort J Vet Res.* 1997;64:81-6.
90. Mullens BA, Rodriguez JL. Survival and vertical distribution of larvae of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) in drying mud habitats. *J Med Entomol.* 1992;29:745-9.
91. Leuschner C, Lenzion J. Air humidity, soil moisture and soil chemistry as determinants of the herb layer composition in European beech forests. *J Veg Sci.* 2009;20:288-98.
92. Sun H, Zhao N, Zeng X, Yan D. Study of solar radiation prediction and modeling of relationships between solar radiation and meteorological variables. *Energ Convers Manage.* 2015;105:880-90.
93. Qin J, Chen Z, Yang K, Liang S, Tang W. Estimation of monthly-mean daily global solar radiation based on MODIS and TRMM products. *Appl Energ.* 2011;88:2480-9.
94. Fall M, Diarra M, Fall AG, Balenghien T, Seck MT, Bouyer J, et al. *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) midges, the vectors of African horse sickness virus—a host/vector contact study in the Niayes area of Senegal. *Parasite Vector.* 2015;8:39.
95. Rawlings P, Snow W, Boorman J, Denison E, Hamblin C, Mellor P. *Culicoides* in relation to transmission of African Horse Sickness virus in The Gambia. *Med Vet Entomol.* 1998;12:155-9.
96. Venter G, Meiswinkel R, Nevill E, Edwardes M. *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) associated with livestock in the Onderstepoort area, Gauteng, South Africa as determined by light-trap collections. *Onderstepoort J Vet Res.* 1996;63:315-25.
97. Carpenter S, Szmaraagd C, Barber J, Labuschagne K, Gubbins S, Mellor P. An assessment of *Culicoides* surveillance techniques in northern Europe: have we underestimated a potential bluetongue virus vector? *J Appl Ecol.* 2008;45:1237-45.
98. Jess S, Thompson G, Clawson S, Forsythe I, Rea I, Gordon A, et al. Surveillance of biting midges (*Culicoides* spp.) in Northern Ireland: influence of seasonality, surrounding habitat and livestock housing. *Med Vet Entomol.* 2018;32:48-60.
99. Messing R, Klungness L, Jang E. Effects of wind on movement of *Diachasmimorpha longicaudata*, a parasitoid of tephritid fruit flies, in a laboratory flight tunnel. *Entomol Exp Appl.* 1997;82:147-52.
100. Foody G. Geographical weighting as a further refinement to regression modelling: An example focused on the NDVI–rainfall relationship. *Remote Sens Environ.* 2003;88:283-93.
101. Auriault M. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen), 1909, (Diptera, Ceratopogonidae): 1. Rythme d'activité des femelles. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol Off Rech Sci Tech.* 1977;15:171-6.
102. Nicholas W. The bionomics of *Culicoides austeni*, vector of *Acanthocheilonema perstans* in the rain-forest of the British Cameroons, together with notes on *C. Grahamii* and other species which may be vectors in the same area. *Ann Trop Med Parasit.* 1953;47:187-206.
103. Auriault M. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen), 1909, (Diptera, Ceratopogonidae): 3. Description de la larve. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol Off Rech Sci Tech.* 1978;16:87-93.
104. Calvete C, Estrada R, Miranda M, Del Río R, Borrás D, Beldron F, et al. Entry of bluetongue vector *Culicoides imicola* into livestock premises in Spain. *Med Vet Entomol.* 2009;23:202-8.
105. Conte A, Ippoliti C, Savini L, Goffredo M, Meiswinkel R. Novel environmental factors influencing the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the Obsoletus Complex in Italy. *Vet Ital.* 2007;43:571-80.
106. Purse B, Tatem A, Caracappa S, Rogers D, Mellor P, Baylis M, et al. Modelling the distributions of *Culicoides* bluetongue virus vectors in Sicily in relation to satellite-derived climate variables. *Med Vet Entomol.* 2004;18:90-101.

107. Thompson GM, Jess S, Murchie AK. Differential emergence of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) from on-farm breeding substrates in Northern Ireland. *Parasitology*. 2013;140:699-708.
108. Ninio C, Augot D, Dufour B, Depaquit J. Emergence of *Culicoides obsoletus* from indoor and outdoor breeding sites. *Vet Parasitol*. 2011;183:125-9.
109. Zimmer J-Y, Saegerman C, Losson B, Haubruge E. Breeding sites of bluetongue virus vectors, Belgium. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:575.
110. Baylis M, Parkin H, Kreppel K, Carpenter S, Mellor P, McIntyre K. Evaluation of housing as a means to protect cattle from *Culicoides* biting midges, the vectors of bluetongue virus. *Med Vet Entomol*. 2010;24:38-45.
111. Brugger K, Rubel F. Bluetongue disease risk assessment based on observed and projected *Culicoides obsoletus* spp. vector densities. *PLoS One*. 2013;8:e60330.

Figures legends

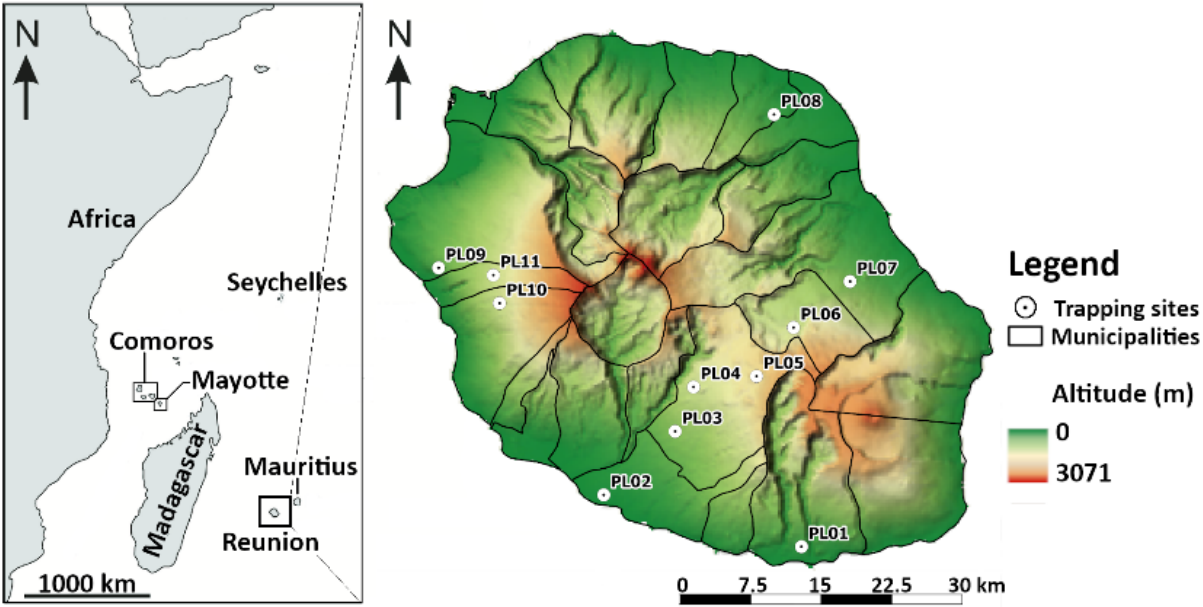


Figure 1. Map of the South-West Indian Ocean region localizing Reunion Island and the 11 study sites.

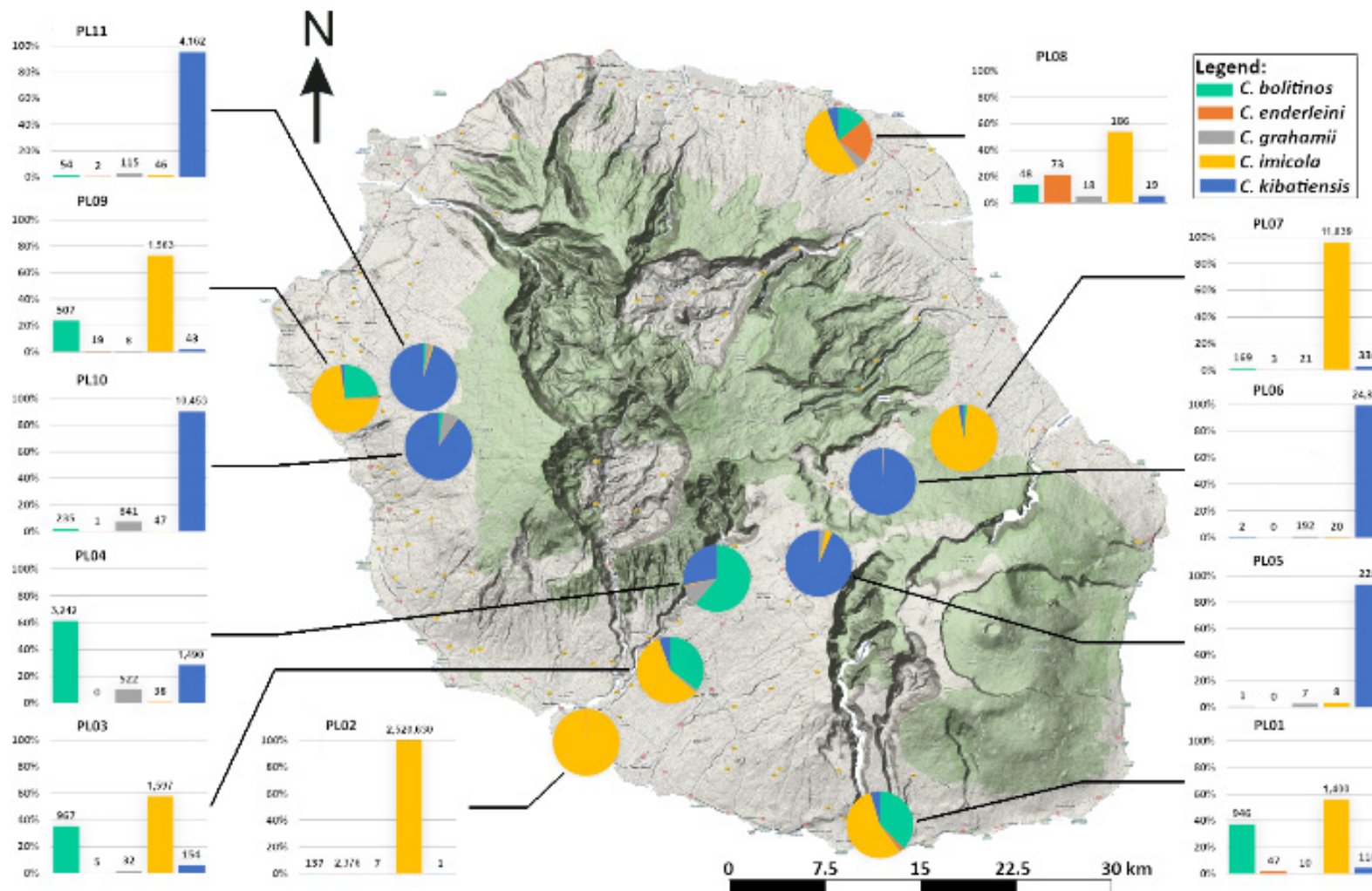


Figure 2. Diversity and total abundance at the study sites. Pie charts show the relative frequency of each species on site. Observed abundance resulting from 55 trapping sessions per site except for PL04 (49) and PL11 (33). Bar graphs: site number on title, relative frequency on y-axis, number of individuals on bar labels. Topographical map from French National Geographic Institute (BD Topo® IGN; <http://professionnels.ign.fr/scan-ign>).

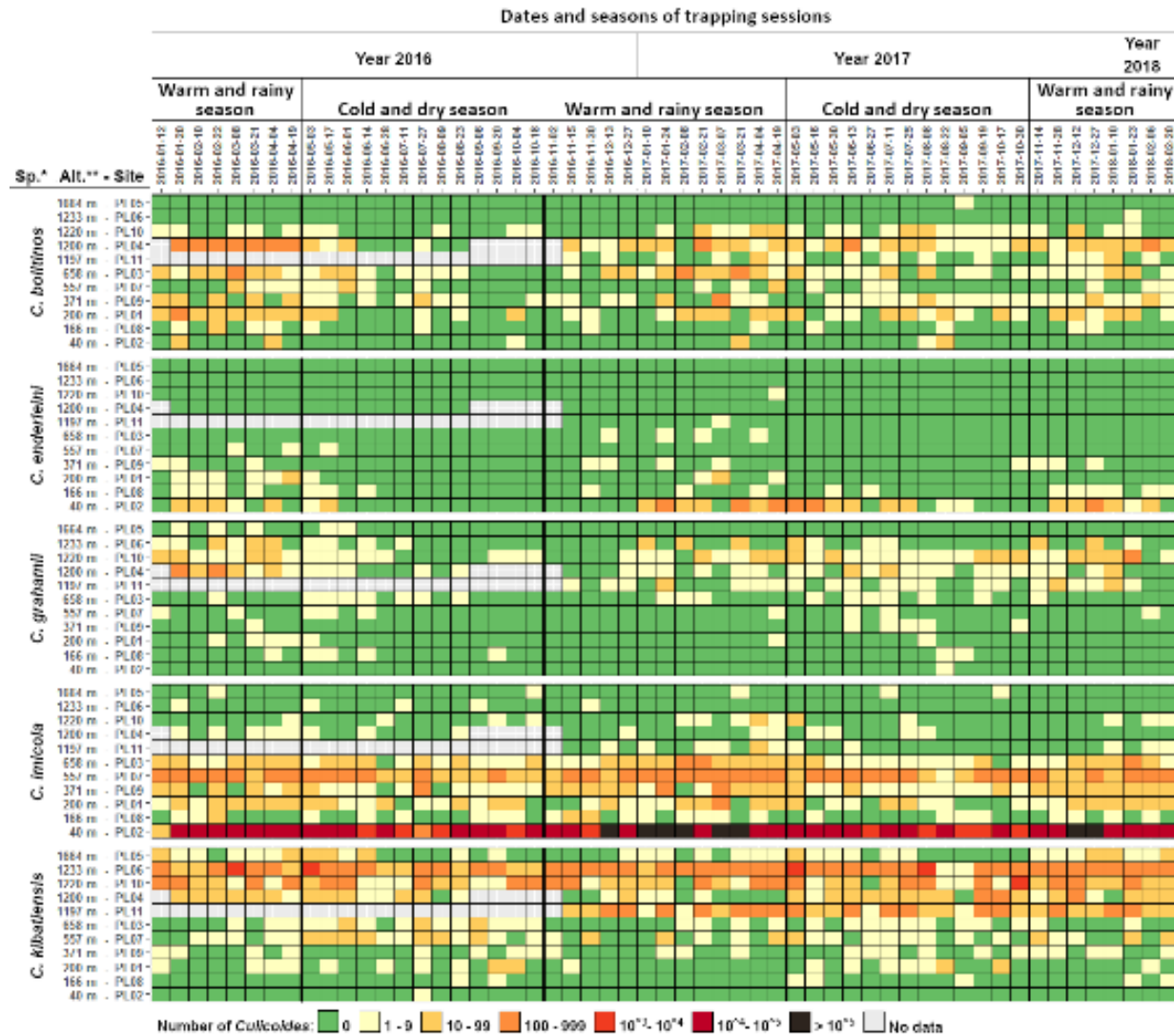


Figure 3. Mondrian matrix of fortnightly *Culicoides* abundance (color coded) of the five species over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) and at the 11 trapping sites. *sp., species; **Alt., altitude in meters. Bold vertical lines separate the seasons. Note that the sites are classified by increasing altitude.

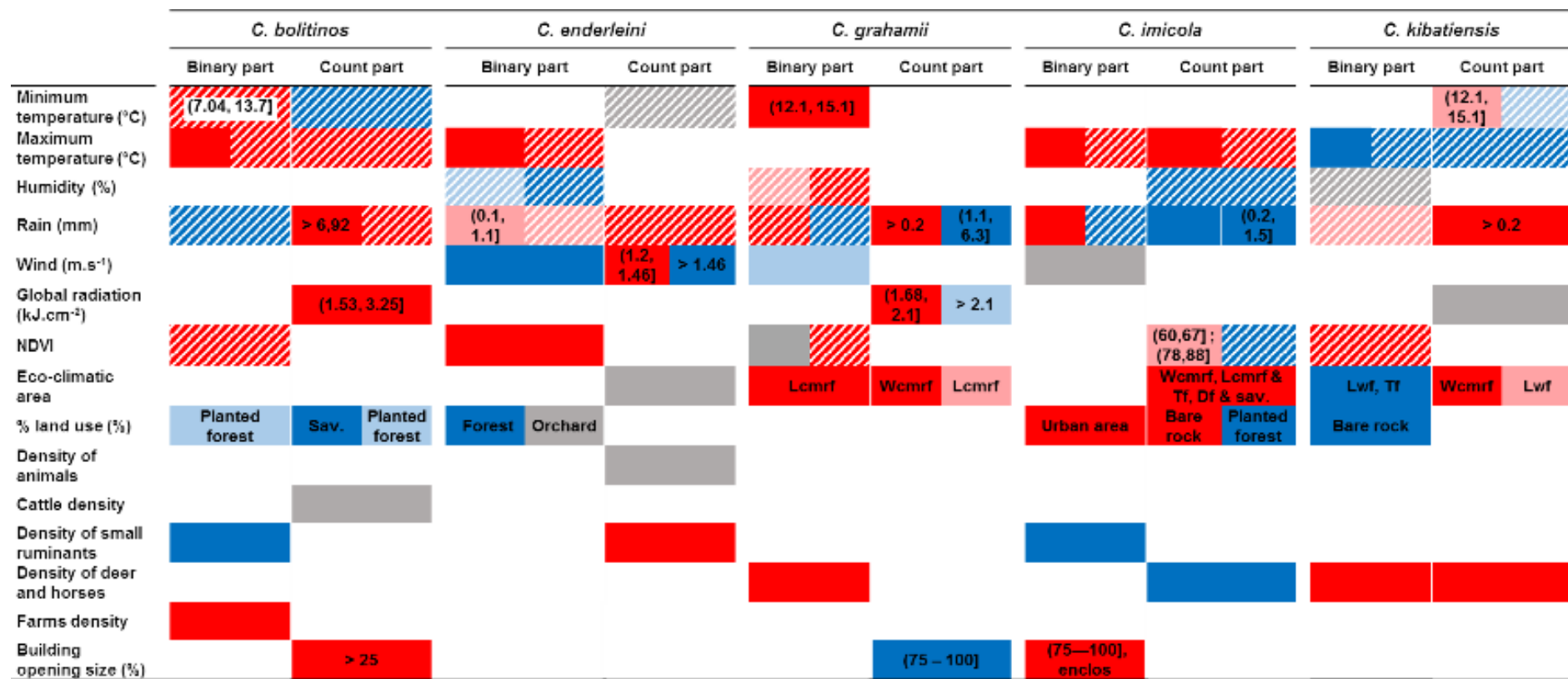


Figure 4. Matrix of correlation between meteorological - environmental variables and presence - abundance of each *Culicoides* species at final mixed-effect negative binomial hurdle model. Red, significant ($p < 0.05$) favorable effect on presence or abundance of the *Culicoides* species; blue, significant ($p < 0.05$) unfavorable effect; stripped, lagged effect of the variable on catch; light colors, less significant effect ($p < 0.1$); grey, variables retained by the model but without significant effect. For categorical variables, modalities associated with the correlation are represented. For reference modalities in categorical variables and detailed information, see additional file 4: tables S4 to S8. Abbreviations: Lcmrf, leeward coast mountain rain forest; Wcmrf, windward coast mountain rain forest; Lwf, lowland wet forest; Tf, tamarind forest; Df, dry forest; Sav., savannah.

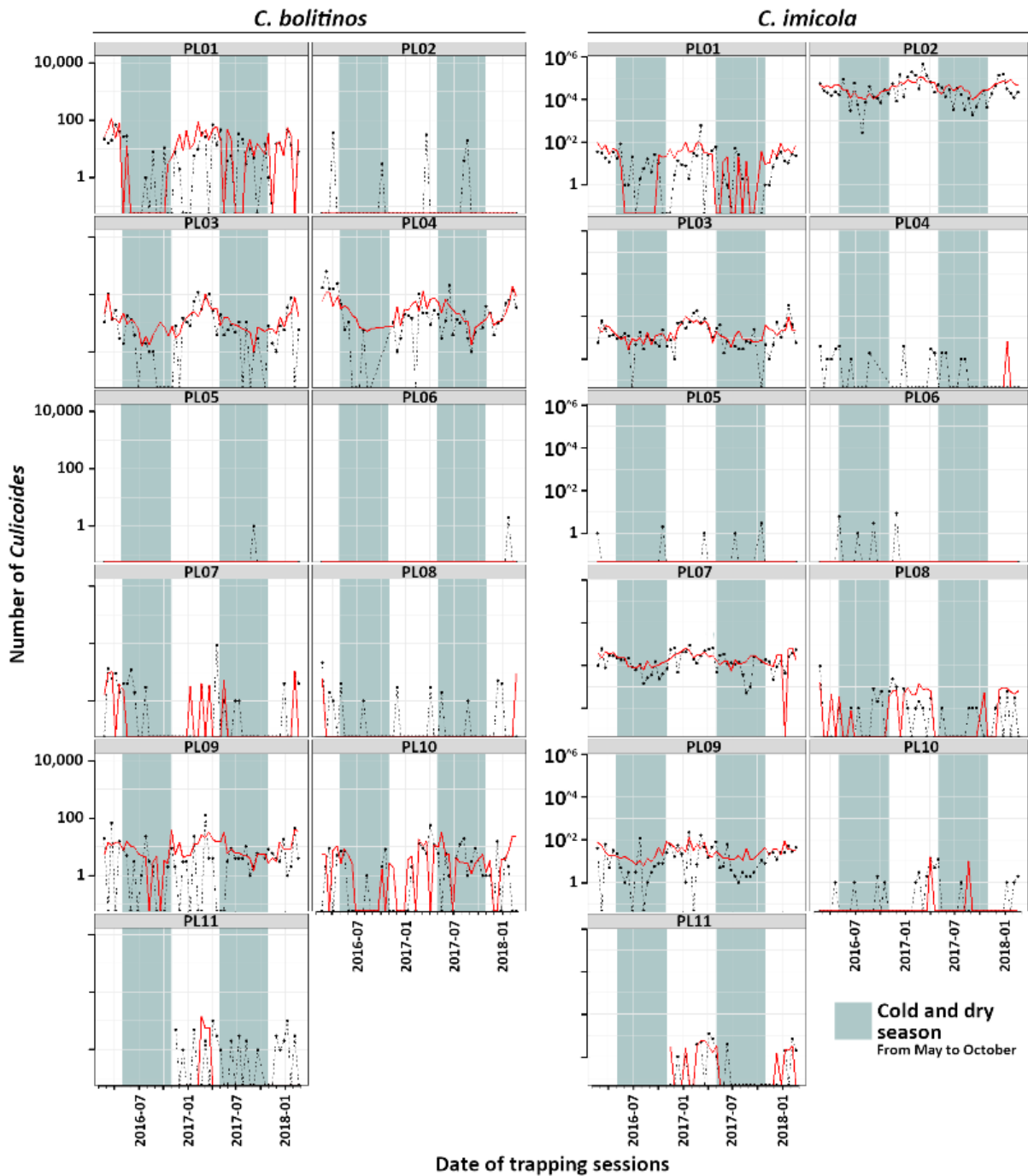


Figure 5. Prediction graphs of *C. bolitinos* and *C. imicola* abundance according to the final mixed effect negative binomial hurdle modelling by site. Black and dashed line, observed abundance; red line, predicted abundance. Note the log10 scale for the number of *Culicoides*.

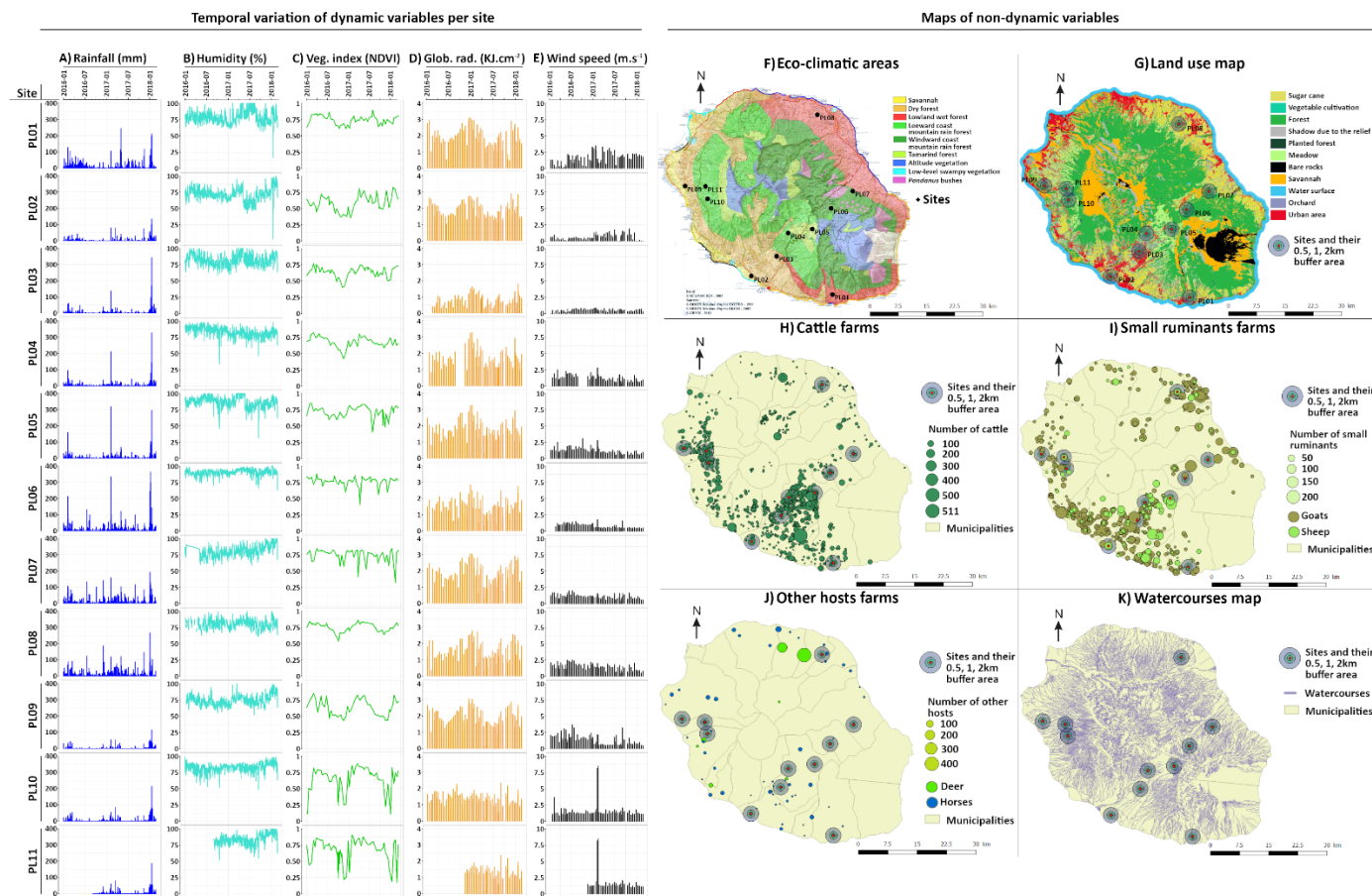
Tables

Table 1. Number of *Culicoides* caught and percentage of positive catches per trapping site. N, number of trapping sessions; Nb, number of *Culicoides*; Ppc (%), percentage of positive catches; Mean (sd), mean (standard deviation) of *Culicoides* at all trapping sessions; % TC, percentage of total catch.

Site (N)	<i>C. bolitinos</i>			<i>C. enderleini</i>			<i>C. grahamii</i>			<i>C. imicola</i>			<i>C. kibiensis</i>			Total <i>Culicoides</i>		
	Nb	Ppc	Mean ± sd	Nb	Ppc	Mean ± sd	Nb	Ppc	Mean ± sd	Nb	Ppc	Mean ± sd	Nb	Ppc	Mean ± sd	Nb	Ppc	Mean ± sd
PL01 (55)	946	67.3%	17.2 ± 31.82	47	20.0%	0.85 ± 2.96	10	12.7%	0.18 ± 0.55	1400	81.8%	25.45 ± 81.71	118	34.5%	2.15 ± 4.79	2515	89.1%	9.17 ± 40.35
PL02 (55)	137	10.9%	2.49 ± 8.79	2376	50.9%	43.2 ± 99.8	7	1.8%	0.13 ± 0.94	2520630	100.0%	45830 ± 69606	1	1.8%	0.02 ± 0.13	2522564	100.0%	9175.1 ± 35944
PL03 (55)	967	80.0%	17.58 ± 28.8	5	7.3%	0.09 ± 0.35	32	32.7%	0.58 ± 1.08	1597	96.4%	29.04 ± 52.8	154	54.5%	2.80 ± 6.04	2755	96.4%	10.02 ± 29.2
PL04 (49)	3242	87.8%	66.2 ± 127.5	0	0.0%	0 ± 0	522	67.3%	10.65 ± 31.4	38	30.6%	0.78 ± 1.49	1490	79.6%	30.41 ± 40.5	5291	95.9%	21.61 ± 65.9
PL05 (55)	1	1.8%	0.02 ± 0.13	0	0.0%	0 ± 0	7	9.1%	0.13 ± 0.43	8	9.1%	0.15 ± 0.52	229	61.8%	4.16 ± 7.62	245	69.1%	0.89 ± 3.77
PL06 (55)	2	1.8%	0.04 ± 0.27	0	0.0%	0 ± 0	192	36.4%	3.49 ± 6.88	20	9.1%	0.36 ± 1.5	24827	100.0%	451.4 ± 490.2	25040	100.0%	91.06 ± 282.7
PL07 (55)	169	32.7%	3.07 ± 12.05	3	5.5%	0.05 ± 0.23	21	16.4%	0.38 ± 1.25	11839	100.0%	215.25 ± 197.1	336	67.3%	6.11 ± 7.96	12363	100.0%	44.97 ± 122.4
PL08 (55)	48	21.8%	0.87 ± 3.0	73	32.7%	1.33 ± 2.37	18	12.7%	0.33 ± 1.2	186	47.3%	3.38 ± 12.47	19	12.7%	0.35 ± 1.21	344	67.3%	1.25 ± 5.95
PL09 (55)	507	72.7%	9.22 ± 20.13	19	20.0%	0.35 ± 0.89	8	10.9%	0.15 ± 0.45	1563	90.9%	28.42 ± 41.6	43	41.8%	0.78 ± 1.23	2100	94.5%	7.78 ± 23.25
PL10 (55)	235	56.4%	4.27 ± 8.53	1	1.8%	0.02 ± 0.13	841	80.0%	15.29 ± 29.6	47	25.5%	0.85 ± 2.56	10453	96.4%	190.05 ± 315.7	10830	100.0%	42.1 ± 159.2
PL11 (33)	54	48.5%	1.64 ± 2.61	2	3.0%	0.06 ± 0.35	115	63.6%	3.48 ± 5.15	46	33.3%	1.39 ± 2.77	4162	100.0%	126.12 ± 136	4339	100.0%	26.54 ± 78.2
All sites (577)	6410	43.2%	10.94 ± 43.8	2526	13.3%	4.38 ± 33.1	1773	29.6%	3.07 ± 14.0	2537374	57.9%	4397.5 ± 25207	41832	57.4%	72.5 ± 227.4	2589815	91.7%	897.7 ± 11401

Additional files

Additional file 1 (png): Figure S1. Temporal variation of dynamics variables over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) at the 11 trapping sites and maps of non-dynamics variables.



Additional file 1: Figure S1. Temporal variation of dynamics variables over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) at the 11 trapping sites and maps of non-dynamics variables. A) Daily rainfall (mm). B) Daily average humidity (%). C) Daily vegetation index by NDVI at site coordinates and according to linear interpolation between value of the same pixel of the closest preceding and following images. D) Daily global radiation (KJ. cm⁻²) measured at trap setting and at trap retrieval. E) Daily average wind speed (m.s⁻¹) measured at trap setting and at trap retrieval. F) Map of eco-climatic areas according to "Urban Planning and Native Plants Approach" (DAUPI). G) Land-use map 2016-2017 © CIRAD. This work used image(s) acquired as part of the CNES Kaléidos system (Réunion Island site). This work was supported by the State, managed by the National Research Agency under the Future Investment Programme for the EQUIPEX GEOSUD project with reference ANR-10-EQPX-20; This work was supported by the financial contribution from the Ministry of Agriculture and Rural Development trust account. Creative Commons License This work is made available under the terms of the Creative Commons Attribution - Non-Commercial Use 4.0 International License. H) Map of cattle farms from governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion census databases. I) Map of small ruminants (sheep and goats) farms from governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion census databases. J) Map of other hosts (deer and horses) farms from governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion census databases. K) Map of watercourses from French National Geographic Institute (<http://professionnels.ign.fr/bdtopo-topographie>).

Additional file 2 (docx): Table S1. Characteristics of trapping sites. **Table S2.** Temporal variables considered on mixed-effect negative binomial hurdle models. **Table S3.** Non-dynamic variables considered on mixed-effect negative binomial hurdle models.

Table S1: characteristics of trapping sites

Site number	Primary activity	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Animals in the vicinity of traps	Number of animals in the vicinity of traps	Other host(s) present on the farm	Building opening (%)
PL01	Beef farm	200	-21.36	55.64	Cattle	50	-	25-75
PL02	Mixed farm	40	-21.32	55.44	Cattle	100	Sheep, goats, pig, poultry	75-100
PL03	Beef farm	658	-21.26	55.51	Cattle	38	Poultry	75-100
PL04	Beef farm	1200	-21.21	55.53	Cattle	50	-	25-75
PL05	Dairy farm	1664	-21.20	55.59	Cattle	57	Sheep	0-25
PL06	Dairy farm	1223	-21.16	55.63	Cattle	70	-	25-75
PL07	Beef farm	557	-21.11	55.69	Cattle	15	-	Enclosure
PL08	Mixed farm	166	-20.95	55.61	Cattle	9	Sheep, goats, poultry	0-25
PL09	Beef farm	371	-21.10	55.27	Cattle	14	-	Enclosure
PL10	Dairy farm	1220	-21.13	55.33	Cattle	50	-	0-25
PL11	Mixed farm	1197	-21.11	55.33	Deer	12	Cattle, sheep, poultry, pig, donkey	Enclosure

Table S2: Temporal variables considered on NBH models, periods and location of measurements, transformations performed on them.

Categories of variables	Variables (data sources*)	Periods considered in relation to the catch	Transformations tested	CCM-defined lag	Measurement location	Nb meteo. station (mean distance**)	Units	Observed range
Weather variables	Minimum temperature (a, b)	During catch, 2 prev. week	Qt3, qt4, qt5, log10	Yes	Trap loc., at site coord.	31 (3.53 km)	°C	[-2, 25.62]
	Average temperature (a, b)	During catch	Qt3, qt4, qt5, log10	Yes	Trap loc., at site coord.	31 (3.53 km)	°C	[6.37, 28.57]
	Maximum temperature (a, b)	During catch, 2 prev. week	Qt3, qt4, qt5, log10	Yes	Trap loc., at site coord.	31 (3.53 km)	°C	[13.49, 37.95]
	Average humidity (a, b)	During catch	Qt3, qt4, qt5, log10	Yes	Trap loc., nearest meteo. station	14 (4.05 km)	%	[50, 100]
	Daily rains (b)	Trap setting day, trap retrieval day	Qt3, qt4, qt5, log10	Yes	Trap loc., at site coord.	31 (3.53 km)	mm	[0, 146.3]
	Average wind speed (b)	Trap setting day, trap retrieval day	Qt3, qt4, qt5, log10	-	Nearest meteo. station	25*** (3.27 km)	m.s ⁻¹	[0, 8.5]
	Daily global radiation (b)	Trap setting day, trap retrieval day	Qt3, qt4, qt5, log10	-	Nearest meteo. station	28 (3.27 km)	kJ.cm ⁻²	[0.16, 3.27]
Vegetation index	NDVI (c)	Trap setting day	Value * 100	Yes	250*250m pixel	-	No unit	[22, 88]

*Data sources: a, thermo-hygro microchip recorders; b, Météo France and Cirad meteorological station; c, MODIS. ** Mean distance of the nearest meteorological stations (concerned sites for temperature and humidity: PL02, PL04, PL05, PL07, PL08, PL11). *** 10 of the 25 stations only provide wind at 10m above ground and concern sites PL04 to PL11. Abbreviations: QtX, splitting into quantiles of X classes; CCM, Cross Correlation Map; Nb, number; meteo., meteorological; loc., location.

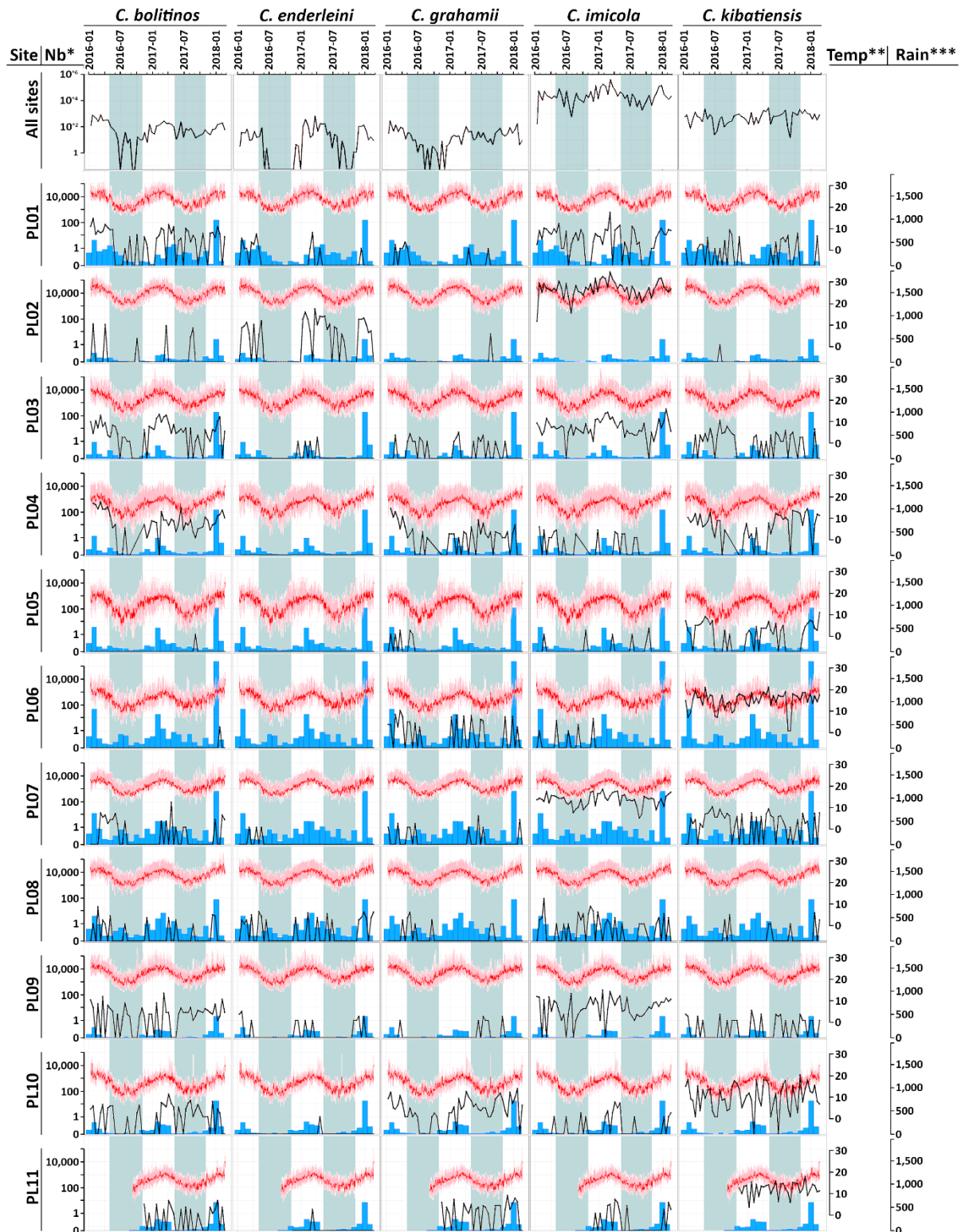
Table S3: Non-dynamic variables considered on NBH models.

Categories of variables	Variables (data sources*)	Measurement location	Units	Observed range
Forested environment	Eco-climatic area (a)	At site coordinates	Categorical variable	x classes
	% cover of each land use class (b)	At site coordinates	%	[0, 83.7]
Density of hosts	Number of target hosts (c)	At trap vicinity	nb individuals	[9, 100]
	Farms density (d)	Buffer	nb/ buf.	[0, 13] - 0.5 km buf.
				[2, 37] - 1 km buf.
				[4, 69] - 2 km buf.
	Density of total animals (d)	Buffer	nb/ buf.	[14, 343] - 0.5 km buf.
				[22, 1130] - 1 km buf.
				[22, 1859] - 2 km buf.
Density of cattle (d)				Buffer
Density of small ruminants (sheep and goats) (d)	Buffer	nb/ buf.	[0, 80] - 0.5 km buf.	
			[0, 246] - 1 km buf.	
			[0, 385] - 2 km buf.	
Density of others animals (deer and horse) (d)	Buffer	nb/ buf.	[0, 12] - 0.5 km buf.	
			[0, 12] - 1 km buf.	
			[0, 52] - 2 km buf.	
Water courses	Length of water courses (e)	Buffer	Km/ buf.	[0, 6.62] - 0.5 km buf.
				[2.35, 27.88] - 1 km buf.
				[8.02, 99.77] - 2 km buf.
Stable housing	Building opening size (c)	At trap vicinity	Categorical variable	x classes

*Data sources: a, map of "Urban Planning and Native Plants Approach" (DAUPI); b, land-use map 2016-2017 © – CIRAD; c, recorded on the field; d, governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion census databases; e, French National Geographic Institute. Abbreviations: buf., buffer area.

© "Land use map 2016-2017 - CIRAD"; "This work used image(s) acquired as part of the CNES Kalideos system (Reunion Island site)"; "This work was supported by the State, managed by the National Research Agency under the Future Investment Programme for the EQUIPEX GEOSUD project with reference ANR-10-EQPX-20"; "This work was supported by the financial contribution from the Ministry of Agriculture "Agriculture and Rural Development" trust account. Creative Commons License This work is made available under the terms of the Creative Commons Attribution - Non-Commercial Use 4.0 International License.

Additional file 3 (png): Figure S2. Temporal variation of the fortnightly *Culicoides* abundance of the five species over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) and at the 11 trapping sites.



Additional file 3: Figure S2. Temporal variation of the fortnightly *Culicoides* abundance of the five species over the two years of trapping collection (January 2016 – February 2018) and at the 11 trapping sites. Area in grey green color correspond to the cold and dry season; bold black lines show the number of individuals caught (note the log10 scale for the number of individuals caught); blue bars represent monthly rainfall; bold red lines correspond to the daily mean temperature; pink ribbons represent daily temperature variation from minimum to maximum. *Nb, number of individuals caught; **Temp, temperature (°C); ***Rain, rainfall (mm).

Additional file 4 (docx): Table S4. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. bolitinos*. **Table S5.** Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. enderleini*. **Table S6.** Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. grahamii*. **Table S7.** Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. imicola*. **Table S8.** Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. kibatiensis*. **Table S9.** Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. imicola* without PL02 site. **Table S10.** Measurement of model fit (AIC), predictive accuracy or (AUC) and predictive performance (NRMSE) of the mixed effect negative binomial hurdle model for each species and each validation steps.

Table S4. Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. bolitinos* (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		-12.175	2.054	-	-	-5.929	<0.001 ***
Maximum temperature during the catch (°C)		0.120	0.056	1.13	1.01 - 1.26	2.131	0.033 *
Maximum temperature 14 days before catch (°C)		0.210	0.061	1.23	1.09 - 1.39	3.431	<0.001 ***
Average rain from day 24 to day 21 before catch (mm)		-0.067	0.024	0.94	0.89 - 0.98	-2.816	0.005 **
NDVI 18 days before catch		0.029	0.011	1.03	1.01 - 1.05	2.606	0.009 **
% of land use by planted forest in 0.5 km radius (%)		-3.513	1.860	0.03	0 - 1.14	-1.889	0.059 .
Number of small ruminants in 0.5 km radius		-0.044	0.006	0.96	0.95 - 0.97	-7.117	<0.001 ***
Number of farms in 2 km radius		0.075	0.014	1.08	1.05 - 1.11	5.510	<0.001 ***
Minimum temperature between 2 trapping sessions (°C)	[-2, 7.04]	-	-	1	-	-	-
	(7.04, 13.7]	2.061	0.670	7.85	2.11 - 29.2	3.076	0.002 **
	(13.7, 16.9]	1.026	0.711	2.79	0.69 - 11.24	1.443	0.149
	(16.9, 25.6]	0.634	0.683	1.88	0.49 - 7.19	0.928	0.354

Count part (zero-truncated negative binomial with log link)

<i>Intercept</i>		1.096	1.848	-	-	0.593	0.553
Log10 minimum temperature 10 days before the catch (°C)		-4.654	1.165	0.010	0.00 – 0.09	-3.994	<0.001 ***
Maximum temperature 35 days before the catch (°C)		0.192	0.038	1.212	1.12 – 1.31	5.020	<0.001 ***
Log10 rain during the day at trap retrieval (mm)		0.297	0.204	1.346	0.90 – 2.01	1.453	0.146
Rain 9 days before catch (mm)		0.015	0.009	1.015	1.00 – 1.03	1.639	0.101
Average log10 rain from day 25 to day 23 before catch (mm)		0.804	0.291	2.235	1.26 – 3.95	2.765	0.006 **
% of land use by savannah in 0.5 km radius (%)		-0.050	0.020	0.951	0.91 – 0.99	-2.468	0.014 *
% of land use by planted forest in 1 km radius (%)		-0.554	0.290	0.575	0.33 – 1.01	-1.911	0.056 .
Number of cattle in 1 km radius		0.003	0.002	1.003	1.00 – 1.01	1.451	0.147
Rain during the day at trap setting (mm)	[0, 0.2]	-	-	1	-	-	-
	(0.2, 1.5]	-0.239	0.272	0.787	0.46 – 1.34	-0.881	0.378
	(1.5, 6.92]	0.109	0.289	1.115	0.63 – 1.96	0.377	0.706
	(6.92, 146]	0.636	0.298	1.890	1.05 – 3.39	2.135	0.033 *
Global radiation during the day at trap setting (kJ.cm ⁻²)	[0.3, 1.09]	-	-	1	-	-	-
	(1.09, 1.53]	0.415	0.300	1.515	0.84 – 2.73	1.385	0.166
	(1.53, 1.97]	0.669	0.326	1.953	1.03 – 3.70	2.056	0.040 *
	(1.97, 3.27]	-0.057	0.386	0.945	0.44 – 2.01	-0.147	0.883
Global radiation during the day at trap retrieval (kJ.cm ⁻²)	[0.16, 1.25]	-	-	1	-	-	-
	(1.25, 1.8]	0.527	0.271	1.695	1.00 – 2.88	1.944	0.052 .
	(1.8, 3.25]	0.851	0.377	2.343	1.12 – 4.91	2.257	0.024 *
Building opening size (%)	[0, 25]	-	-	1	-	-	-

(25, 75]	1.403	0.341	4.069	2.08 – 7.94	4.112	<0.001 ***
(75, 100]	1.341	0.400	3.823	1.75 – 8.37	3.353	<0.001 ***
Enclosure	0.766	0.323	2.151	1.14 – 4.05	2.374	0.018 *

^a Variance component values (standard deviation) was 1.226e-4 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs.

Table S5: Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. enderleini* (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		-3.666	6.416	-	-	-0.677	0.498
Maximum temperature during the catch (°C)		0.246	0.087	1.28	1.08 – 1.52	2.833	0.005 **
Maximum temperature between 2 trapping sessions (°C)		0.338	0.120	1.4	1.11 – 1.77	2.812	0.005 **
Average humidity from day 27 to day 17 before catch (%)		-0.080	0.044	0.92	0.85 – 1.01	-1.805	0.071 .
Average humidity from day 41 to day 35 before catch (%)		-0.126	0.05	0.88	0.8 – 0.97	-2.513	0.012 *
Average rain from day 48 to day 44 before catch (mm)		0.062	0.034	1.06	1 – 1.14	1.830	0.067 .
Average wind during the day at trap setting (m.s ⁻¹)		-1.209	0.395	0.3	0.14 – 0.65	-3.064	0.002 **
NDVI		0.051	0.023	1.05	1.01 – 1.1	2.174	0.030 *
% land use by forest in 2 km radius (%)		-0.045	0.022	0.96	0.92 – 1	-2.031	0.042 *
% land use by orchard in 2 km radius (%)		-0.088	0.062	0.92	0.81 – 1.03	-1.420	0.156
Rain during the day at trap retrieval (mm)	(0, 0.1]	-	-	1	-	-	-
	[0.1, 1.1]	1.164	0.632	3.2	0.93 – 11.06	1.842	0.065 .
	[1.1, 6.3]	-0.415	0.721	0.66	0.16 – 2.71	-0.576	0.564
	[6.3, 117.7]	-0.740	0.679	0.48	0.13 – 1.8	-1.090	0.276
Count part (zero-truncated negative binomial with log link)							
<i>Intercept</i>		-10.487	3.756	-	-	-2.792	0.005 **
Log10 minimum temperature between 2 trapping sessions (°C)		4.719	3.046	112.05	0.29 – 4.4e5	1.549	0.121
Log10 rain 9 days before catch (mm)		1.126	0.344	3.084	1.57 – 6.06	3.272	0.001 **
Number of small ruminants in 1 km radius		0.070	0.016	1.073	1.04 – 1.11	4.514	<0.001 ***

Number of total animals in 1 km radius		0.022	0.014	1.022	0.99 – 1.05	1.521	0.128
Average wind during the day at trap retrieval (m.s ⁻¹)	(0, 0.512]	-	-	1	-		-
	[0.512, 0.9]	-0.491	0.549	0.612	0.21 – 1.80	-0.893	0.372
	[0.9, 1.2]	-0.281	0.760	0.755	0.17 – 3.35	-0.370	0.711
	[1.2, 1.46]	1.713	0.588	5.545	1.75 – 17.54	2.915	0.004 **
	[1.46, 8.5)	-1.982	0.916	0.138	0.02 – 0.83	-2.164	0.030 *
Eco-climatic area	Df & sav. ^f	-	-	1	-		-
	Lwf ^g	1.157	1.059	3.182	0.4 – 25.34	1.093	0.274
	Mrf & Tf ^h	-3.401	2.666	0.033	0 – 6.19	-1.276	0.202

^a Variance component values (standard deviation) was 2.837e-5 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs. ^f Dry forest and savannah. ^g Lowland wet forest. ^h Mountain rain forest & tamarind forest.

Table S6: Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. grahamii* (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		-15.818	3.081	-	-	-5.134	<0.001 ***
Average humidity from day 20 to day 15 before catch (%)		0.049	0.027	1.05	1 – 1.11	1.816	0.071 .
Average humidity from day 48 to day 43 before catch (%)		0.064	0.028	1.07	1.01 – 1.13	2.341	0.019 *
Log10 Average rain from day 3 to day 2 before catch (mm)		-0.723	0.442	0.49	0.2 – 1.15	-1.637	0.102
Average rain from day 29 to day 24 before catch (mm)		-0.042	0.021	0.96	0.92 - 1	-1.969	0.049 *
Rain 48 days before catch (mm)		0.036	0.018	1.04	1 – 1.07	2.028	0.043 *
Average wind during the day at trap setting (m.s ⁻¹)		-0.599	0.337	0.55	0.28 – 1.06	-1.774	0.076 .
NDVI		0.022	0.015	1.02	0.99 – 1.05	1.504	0.133
NDVI 31 days before catch		0.043	0.016	1.04	1.01 – 1.08	2.768	0.006 **
Number of deer and horses in 2 km radius		0.034	0.011	1.03	1.01 – 1.06	3.095	0.002 **
Minimum temperature during the catch (°C)	[-2, 12.1]	-	-	1	-	-	-
	(12.1, 15.1]	1.213	0.458	3.36	1.37 – 8.25	2.651	0.008 **
	(15.1, 18]	0.370	0.513	1.45	0.53 – 3.96	0.722	0.470
	(18, 21]	0.624	0.554	1.87	0.63 – 5.52	1.126	0.260
	(21, 25.6]	0.411	0.797	1.51	0.32 – 7.19	0.517	0.605
	Df, sav. & Tf		-	-	1	-	-
Eco-climatic area							
	Lwf ^g	0.447	0.667	1.56	0.42 – 5.78	0.670	0.503
	Wcmrf ^h	0.311	0.575	1.36	0.44 – 4.21	0.540	0.589

	Lcmrf ⁱ	2.648	0.517	14.12	5.13 – 38.88	5.124	<0.001 ***
Count part (zero-truncated negative binomial with log link)							
<i>Intercept</i>		1.765	1.235			1.430	0.153
NDVI 21 days before catch		-0.020	0.011	0.950	0.96 – 1	-1.887	0.059 .
Rain during the day at trap setting (mm)	[0, 0.2]	-	-	1	-		-
	(0.2, 1.5]	0.936	0.455	2.549	1.05 – 6.21	2.059	0.040 *
	(1.5, 6.92]	1.489	0.516	4.435	1.61 – 12.20	2.884	0.004 **
	(6.92, 146]	1.472	0.499	4.360	1.64 – 11.60	2.949	0.003 **
Rain during the day at trap retrieval (mm)	[0, 0.1]	-	-	1	-		-
	(0.1, 1.1]	-0.864	0.463	0.421	0.17 – 1.04	-1.868	0.062 .
	(1.1, 6.3]	-1.899	0.469	0.150	0.06 – 0.38	-4.052	<0.001 ***
	(6.3, 117.7]	-0.528	0.457	0.590	0.24 – 1.44	-1.156	0.248
Global radiation during the day at trap setting (kJ.cm ⁻²)	[0.3, 1.01]	-	-	1	-		-
	(1.01, 1.38]	-0.333	0.442	0.717	0.30 – 1.70	-0.753	0.451
	(1.38, 1.68]	-0.134	0.491	0.875	0.33 – 2.29	-0.272	0.786
	(1.68, 2.1]	1.249	0.556	3.486	1.17 – 10.37	2.245	0.025 *
	(2.1, 3.27]	-1.267	0.731	0.282	0.07 – 1.18	-1.733	0.083 .
Eco-climatic area	Df, sav. & Tf	-	-	1	-		-
	Lwf	-0.301	0.948	0.740	0.12 – 4.74	-0.318	0.751
	Wcmrf	1.990	0.943	7.316	1.15 – 46.43	2.111	0.035 *
	Lcmrf	1.340	0.769	3.818	0.85 – 17.23	1.743	0.081 .
Building opening size (%)	[0, 25]	-	-	1	-		-
	(25, 75]	-0.696	0.467	0.499	0.20 – 1.25	-1.490	0.136

(75, 100]	-2.009	0.547	0.134	0.05 – 0.39	-3.676	<0.001 ***
Enclosure	-0.732	0.446	0.481	0.20 – 1.15	-1.642	0.101

^a variance component values (standard deviation) was 4.884e-5 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs. ^f Df, sav. & Ft, dry forest, savannah & tamarind forest. ^g Lwf, lowland wet forest. ^h Wcmrf, windward coast mountain rain forest. ⁱ Lcmrf, leeward coast mountain rain forest.

Table S7: Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. imicola* (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		-9.855	2.157	-	-	-4.568	<0.001 ***
Maximum temperature during the catch (°C)		0.160	0.058	1.17	1.05 – 1.31	2.772	0.006 **
Maximum temperature between 2 trap sessions (°C)		0.214	0.079	1.24	1.06 – 1.45	2.697	0.007 **
Rain during the day at trap retrieval (mm)		0.028	0.013	1.03	1 – 1.05	2.175	0.030 *
Rain 4 days before catch (mm)		-0.033	0.015	0.97	0.94 - 1	-2.263	0.024 *
Average wind during the day at trap setting (m.s ⁻¹)		-0.477	0.297	0.62	0.35 – 1.11	-1.605	0.109
% land use by urban area in 2 km radius (%)		0.052	0.026	1.05	1 – 1.11	2.013	0.044 *
Number of small ruminants in 1 km radius		-0.010	0.004	0.99	0.98 – 0.999	-2.261	0.024 *
Building opening size (%)	[0, 25]	-	-	1	-	-	-
	(25, 75]	-0.020	0.441	0.98	0.41 – 2.33	-0.045	0.964
	(75, 100] & enclosure	2.746	0.499	15.58	5.86 – 41.39	5.506	<0.001 ***
Count part (zero-truncated negative binomial with log link)							
<i>Intercept</i>		-2.718	1.755	-	-	-1.549	0.121
Maximum temperature during the catch (°C)		0.190	0.028	1.209	1.14 – 1.28	6.671	<0.001 ***
Maximum temperature between 2 trapping sessions (°C)		0.090	0.038	1.094	1.02 – 1.18	2.352	0.019 *
Humidity at day 26 before catch (%)		-0.027	0.011	0.974	0.95 – 1.00	-2.360	0.018 *
Rain during the day at trap retrieval (mm)		-0.013	0.006	0.987	0.97 – 1.00	-2.012	0.044 *
NDVI at day 50 before catch		-0.020	0.009	0.980	0.96 – 1.00	-2.237	0.025 *

% land use by planted forest in 1 km radius (%)		-0.735	0.146	0.480	0.36 – 0.64	-5.028	<0.001 ***
% land use by bare rock in 2 km radius (%)		4.195	0.179	66.35	46.7 – 94.3	23.397	<0.001 ***
Number of deer and horses in 2 km radius		-0.031	0.012	0.970	0.95 – 0.99	-2.493	0.013 *
Rain during the day at trap setting (mm)	[0, 0.2]	-	-	1	-	-	-
	(0.2, 1.5]	-0.815	0.276	0.443	0.26 – 0.76	-2.959	0.003 **
	(1.5, 6.92]	0.037	0.261	1.038	0.62 – 1.73	0.143	0.886
	(6.92, 146]	-0.332	0.237	0.718	0.45 – 1.14	-1.399	0.162
NDVI	[22, 60]	-	-	1	-	-	-
	(60, 67]	0.440	0.251	1.552	0.95 – 2.54	1.753	0.080 .
	(67, 73]	0.165	0.275	1.180	0.69 – 2.02	0.601	0.548
	(73, 78]	-0.441	0.278	0.643	0.37 – 1.11	-1.587	0.112
	(78, 88]	0.527	0.306	1.694	0.93 – 3.08	1.724	0.085 .
Eco-climatic area	Lwf ^f	-	-	1	-	-	-
	Df & sav. ^g	1.524	0.286	4.590	2.62 – 8.05	5.322	<0.001 ***
	Wcmrf ^h	4.621	0.309	101.6	55.4 – 186.4	14.937	<0.001 ***
	Lcmrf & Tf ⁱ	1.368	0.294	3.929	2.21 – 6.99	4.653	<0.001 ***

^a variance component values (standard deviation) was 3.316e-05 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs. ^f Lwf, lowland wet forest. ^g Df & sav., dry forest & savannah. ^h Wcmrf, windward coast mountain rain forest. ⁱ Lcmrf & Tf, leeward coast mountain rain forest & tamarind forest.

Table S8: Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. kibatiensis* (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		6.984	3.846	-	-	1.816	0.069 .
Maximum temperature during the catch (°C)		-0.095	0.048	0.91	0.83 - 1	-1.990	0.047 *
Maximum temperature between 2 trapping sessions (°C)		-0.369	0.086	0.69	0.58 – 0.82	-4.276	<0.001 ***
Average humidity from day 50 to day 3 before catch (%)		0.053	0.032	1.05	0.99 – 1.12	1.635	0.102
Log10 average rain from day 11 to day 10 before catch (mm)		0.747	0.402	2.11	0.96 – 4.64	1.857	0.063 .
NDVI 29 days before catch		0.038	0.017	1.04	1.01 – 1.07	2.293	0.022 *
% land use by bare rock in 2 km radius (%)		-1.504	0.539	0.22	0.08 – 0.64	-2.789	0.005 **
Number of deer and horses in 2 km radius		0.038	0.019	1.04	1 – 1.08	2.006	0.045 *
Eco-climatic area	Df & sav. ^f	-	-	1	-	-	-
	Lwf ^g	-1.958	0.592	0.14	0.04 – 0.45	-3.321	<0.001 ***
	Wcmrf ^h	-0.907	0.674	0.4	0.11 – 1.51	-1.346	0.178
	Lcmrf ⁱ	-0.544	0.588	0.58	0.18 – 1.84	-0.924	0.355
	Tf ^j	-2.465	0.783	0.09	0.02 – 0.39	-3.148	0.002 **
Count part (zero-truncated negative binomial with log link)							
<i>Intercept</i>		3.305	1.601	-	-	2.064	0.039 *
Minimum temperature between 2 trap sessions (°C)		-0.093	0.054	0.911	0.82 – 1.01	-1.731	0.083 .
Maximum temperature 44 days before catch (°C)		-0.077	0.036	0.926	0.86 – 0.99	-2.147	0.032 *
Global radiation during the day at trap retrieval (kJ.cm ⁻²)		-0.304	0.187	0.738	0.51 – 1.06	-1.626	0.104
Number of deer and horses in 0.5 km radius		0.141	0.065	1.151	1.01 – 1.31	2.166	0.030 *

Number of deer and horses in 2 km radius		0.032	0.015	1.033	1.00 – 1.06	2.116	0.034 *
Minimum temperature during the catch (°C)	[-2, 12.1]	-	-	1	-		-
	(12.1, 15.1]	0.454	0.251	1.574	0.96 – 2.57	1.811	0.070 .
	(15.1, 18]	-0.070	0.333	0.932	0.49 – 1.79	-0.210	0.834
	(18, 21]	-0.427	0.458	0.652	0.27 – 1.60	-0.933	0.351
	(21, 25.6]	0.780	0.727	2.182	0.52 – 9.08	1.073	0.283
Rain during the day at trap setting (mm)	[0, 0.2]	-	-	1	-		-
	(0.2, 1.5]	0.5995	0.264	1.821	1.09 – 3.05	2.272	0.023 *
	(1.5, 6.92]	0.987	0.294	2.684	1.51 – 4.78	3.357	<0.001 ***
	(6.92, 146]	0.706	0.313	2.025	1.10 – 3.74	2.258	0.024 *
Eco-climatic area	Df & sav.	-	-	1	-		-
	Lwf	1.610	0.93	5.002	0.81 – 30.96	1.731	0.083 .
	Wcmrf	3.182	1.027	24.103	3.22 – 180.4	3.099	0.002 **
	Lcmrf	1.691	1.055	5.425	0.69 – 42.91	1.602	0.109
	Tf	-0.125	1.422	0.883	0.05 – 14.34	-0.088	0.930

^a variance component values (standard deviation) was 0.5962 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs. ^f Df & sav., dry forest & savannah. ^g Lwf, lowland wet forest. ^h Wcmrf, windward coast mountain rain forest. ⁱ Lcmrf, leeward coast mountain rain forest. ^j Tf, tamarind forest.

Table S9: Final mixed-effect negative binomial hurdle model of risk factors associated with the count of *C. imicola* without PL02 site (with farm random effects in the count part) ^a.

Variables (unit)	Classes	Coeff. ^b	SE ^c	OR or IRR ^d	95% CI ^e	Value of t-statistic	p value
Binary part (binomial with logit link)							
<i>Intercept</i>		-11.385	2.364	-	-	-4.816	<0.001 ***
Maximum temperature during the catch (°C)		0.164	0.059	1.18	1.05 – 1.32	2.768	0.006 **
Maximum temperature between 2 trapping sessions (°C)		0.181	0.084	1.2	1.02 – 1.41	2.158	0.031 *
Rain during the day at trap retrieval (mm)		0.025	0.012	1.02	1 – 1.05	2.039	0.041 *
Rain 4 days before catch (mm)		-0.036	0.016	0.96	0.94 – 0.99	-2.302	0.021 *
Log10 average rain from day 9 to day 8 before catch (mm)		0.882	0.418	2.42	1.07– 5.48	2.111	0.035 *
NDVI		0.023	0.015	1.02	0.99 – 1.05	1.541	0.123
% land use by urban area in 2 km radius (%)		0.064	0.031	1.07	1 – 1.13	2.077	0.038 *
Number of small ruminants in 0.5 km radius		-0.027	0.009	0.97	0.96 – 0.99	-2.860	0.004 **
Building opening size (%)	[0, 25]	-	-	1	-		-
	(25, 75]	-0.516	0.522	0.6	0.21 – 1.66	-0.988	0.323
	(75, 100] & enclosure	2.916	0.535	18.47	6.47 – 52.7	5.452	<0.001 ***
Count part (zero-truncated negative binomial with log link)							
<i>Intercept</i>		1.306	1.379	-	-	0.947	0.344
Maximum temperature during the catch (°C)		0.125	0.040	1.133	1.05 – 1.23	3.091	0.002 **
Maximum temperature 13 days before catch (°C)		0.080	0.045	1.083	0.99 – 1.18	1.791	0.073 .
Humidity 6 days before catch (%)		-0.026	0.012	0.975	0.95 – 1	-2.162	0.031 *
Log10 average rain from day 18 to day 17 before catch (mm)		0.460	0.269	1.584	0.94 – 2.68	1.710	0.087 .

Number of animals at the vicinity of the trap		-0.030	0.008	0.970	0.95 – 0.99	-3.585	<0.001 ***
Number of small ruminants in 1 km radius		-0.050	0.010	0.951	0.93 – 0.97	-4.825	<0.001 ***
Number of deer and horses in 2 km radius		-0.064	0.014	0.938	0.91 – 0.96	-4.523	<0.001 ***
Rain during the day at trap setting (mm)	[0, 0.3]	-	-	1	-	-	-
	(0.3, 1.72]	-0.805	0.292	0.447	0.25 – 0.79	-2.754	0.006 **
	(1.72, 6.92]	0.386	0.285	1.471	0.84 – 2.57	1.356	0.175
	(6.92, 146]	-0.271	0.277	0.763	0.44 – 1.31	-0.978	0.328
Eco-climatic area	Df & sav. ^f	-	-	1	-	-	-
	Lwf ^g	0.095	0.362	1.100	0.54 – 2.23	0.264	0.792
	Wcmrf ^h	1.278	0.409	3.591	1.61 – 8.01	3.126	0.002 **
	Lcmrf & Tf ⁱ	0.584	0.351	1.794	0.90 – 3.57	1.666	0.096 .

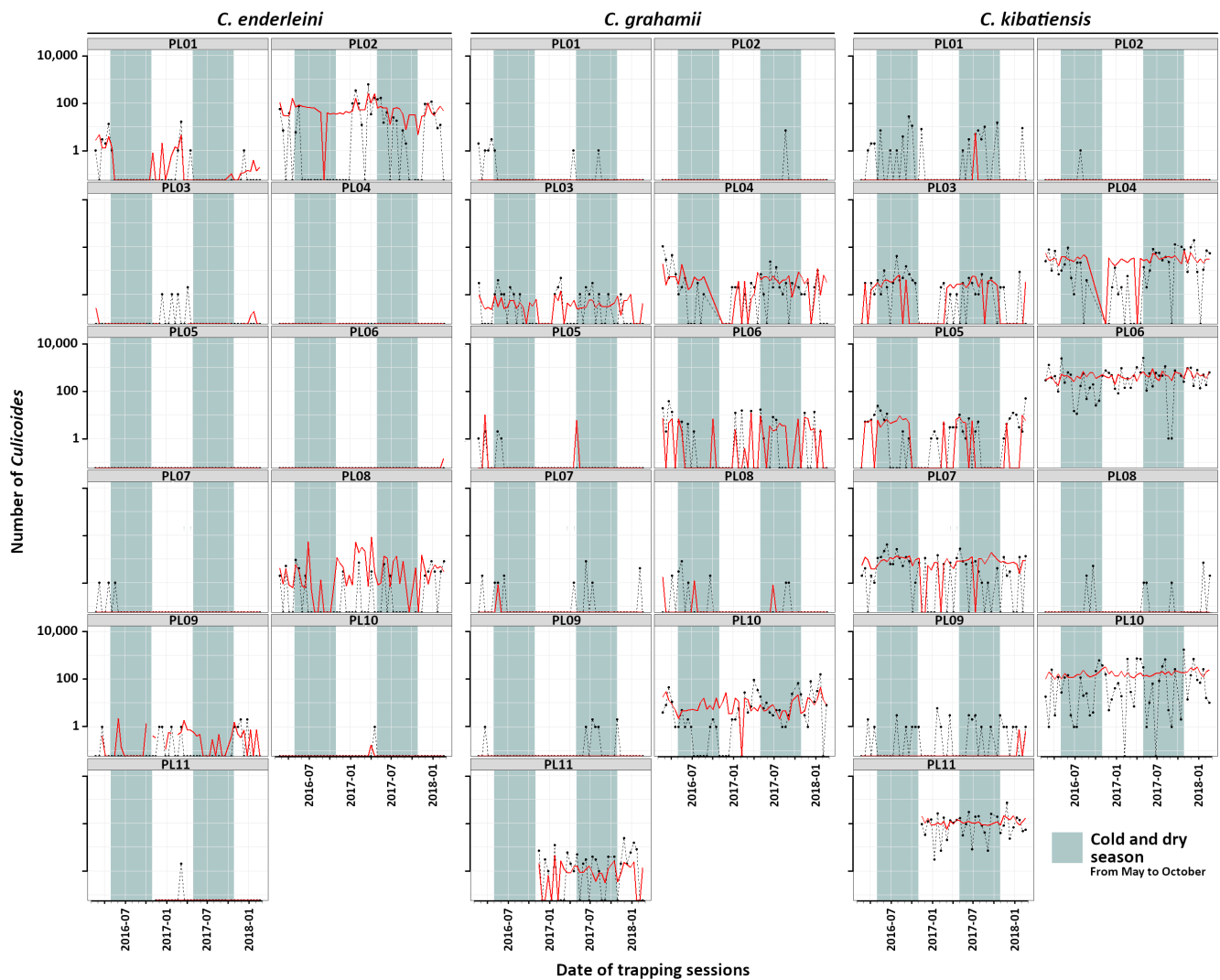
^a variance component values (standard deviation) was 5.028e-05 for farm in the count part. ^b Coeff., value of the regression coefficient. ^c SE, standard error. ^d OR, adjusted odds ratio; IRR, incidence rate ratio. In the column, ORs are shown for the binary part and IRRs are shown for the count part. ^e CI, confidence interval of adjusted ORs or IRRs. ^f Df & sav., dry forest & savannah. ^g Lwf, lowland wet forest. ^h Wcmrf, windward coast mountain rain forest. ⁱ Lcmrf & Tf, leeward coast mountain rain forest & tamarind forest.

Table S10: measurement of model fit (AIC), predictive accuracy or (AUC) and predictive performance (NRMSE) of the mixed effect NBH model for each species and each validation steps.

		Training model		Internal validation LOOCV		External validation	
		AIC	AUC or NRMSE (%)	AUC or NRMSE (%)	Variation	AUC or NRMSE (%)	Variation
Binary part	<i>C. bolitinos</i>	330.5	0.886	0.870	0.016	0.836	0,05
	<i>C. enderleini</i>	154.5	0.949	0.925	0.024	0.813	0,136
	<i>C. grahamii</i>	312.1	0.884	0.850	0.034	0.743	0,141
	<i>C. imicola</i>	261.7	0.929	0.914	0.015	0.847	0,082
	<i>C. kibatiensis</i>	322	0.896	0.878	0.018	0.836	0,06
Count part	<i>C. bolitinos</i>	1098.2	16%	15%	-1%	11.8%	-4.2%
	<i>C. enderleini</i>	295.2	17%	28.6%	11.6%	53.2%	36.2%
	<i>C. grahamii</i>	556.8	13.4%	20.7%	7.3%	21%	7.6%
	<i>C. imicola</i>	2280	9%	15.3%	6.3%	8.1%	-0.9%
	<i>C. kibatiensis</i>	1888.8	11.3%	13.6%	2.3%	14%	2.7%
Final mixed effect NBH model	<i>C. bolitinos</i>	948.2	8.5%	10.4%	1.9%	7.6%	-0.9%
	<i>C. enderleini</i>	409.5	4.4%	6.4%	2%	17.6%	13.2%
	<i>C. grahamii</i>	705.4	4.9%	5.9%	1%	11.6%	6.7%
	<i>C. imicola</i>	1222	4.8%	5.1%	0.3%	6.1%	1.3%
	<i>C. kibatiensis</i>	1122.7	5.9%	6.3%	0.4%	10.7%	4.8%

AUC for binary part, NRMSE for count part and final mixed effect NBH model.

Additional file 5 (png): Figure S3. Prediction graphs of *C. enderleini*, *C. grahamii* and *C. kibatiensis* abundance according to the final mixed effect negative binomial hurdle modelling by site.



Additional file 5: Figure S3. Prediction graphs of *C. enderleini*, *C. grahamii* and *C. kibatiensis* abundance according to the final mixed effect negative binomial hurdle modelling by site. Black and dashed line represent observed abundance; red line represent predicted abundance. Note the log10 scale for the number of *Culicoides*.

Chapitre II : Modélisation de la dynamique spatio-temporelle des populations de *Culicoides* à La Réunion

Rapport-Gratuit.com

La concordance spatiale entre les populations d'hôtes, de vecteurs et de l'agent infectieux est obligatoire pour que la transmission de ce dernier puisse se faire (Lambin et al., 2010; Reisen, 2010). Les variations spatiales ou spatio-temporelles de l'environnement et du climat vont conditionner fortement la distribution de ces populations. Il en résulte une hétérogénéité spatiale des zones de transmission possible qui peuvent s'étendre ou se contracter en fonction des facteurs climatiques et environnementaux (Reisen, 2010). Les variations spatio-temporelles de la distribution des vecteurs sont donc un élément clé à considérer pour définir ces zones de transmission possible.

Le premier chapitre de cette thèse a mis en évidence un nombre de facteurs climatiques et environnementaux qui gouvernent la dynamique temporelle des populations de *Culicoides* à La Réunion. Il en résulte ainsi des modèles statistiques pour chaque espèce présente sur l'île. Toutefois, l'île possède une diversité très importante de microclimats (Raunet, 1991). Contraint par les facteurs environnementaux et climatiques qui y sont associés, les populations de chaque espèce de *Culicoides* vont varier dépendamment des conditions qui leur sont favorables. Des dynamiques temporelles différentes ont d'ailleurs été constatées entre les sites d'études comme cela est souligné dans le premier chapitre de cette thèse. Connaitre la distribution spatio-temporelle de chacune des espèces de *Culicoides* permettra de définir les zones à haut risque de transmission et donc susceptibles pour des épizooties, mais aussi pour définir les zones sans vecteur. Des études antérieures ont identifié une gamme de variables éco-climatiques associées à la distribution des *Culicoides* par des observations répétées dans le temps sur un ou plusieurs sites (Brugger and Rubel, 2013a; Rigot et al., 2012). Les relations entre les variables éco-climatiques et les abondances ont ensuite été utilisées pour établir des modèles spatialement et temporellement explicites. Toutefois, ces modèles se sont basés sur un nombre limité de variables (données climatiques issues de stations météorologiques et/ou obtenues par télédétection) et sans association avec la distribution des hôtes, c'est-à-dire des élevages. Pourtant, des modèles de distribution spatiale des *Culicoides* ont été développés utilisant en plus des données climatiques, des données environnementales (utilisation du sol, couverture forestière, type de sol, etc.) et des données relatives aux hôtes (densité d'animaux) (Acevedo et al., 2010; Calvete et al., 2008; Conte et al., 2007; Conte et al., 2004).

Ce second chapitre présente donc une modélisation de la dynamique spatio-temporelle des populations de *Culicoides* non seulement en fonction de variables climatiques et environnementales, mais aussi en fonction de la distribution et des caractéristiques des élevages de l'île de La Réunion. Les prédictions se veulent donc être à l'échelle de l'emplacement

d'élevage. Les cartes dynamiques de la distribution des *Culicoides* résultent du couplage des modèles statistiques dites de haie développés pour chaque espèce à un Système d'Information Géographique (SIG). Le logiciel de dynamique spatiale Ocelet a été utilisé et donne les prémices pour la mise en place d'un outil permettant d'apprécier le risque BT ou EHD à La Réunion.

Les résultats de cette modélisation spatio-temporelle montre que les *Culicoides*, et plus particulièrement *C. imicola* et *C. kibatensis*, sont largement distribués sur l'île (relativement à la distribution des élevages) et tout au long de l'année. Par ailleurs, cette large distribution suggère que tous les élevages seraient positifs à la présence de *Culicoides*. Ces résultats confortent l'idée que certaines espèces de *Culicoides*, incluant celles d'intérêt vétérinaire, sont capables d'occuper une large variété de climat et d'environnement et suggèrent que les virus de la BT et de l'EHD peuvent circuler continuellement et dans de nombreuses zones de l'île.

Les prédictions qui résultent de cette étude impliquent des limites pour toutes actions de contrôle et de prévention ciblant les *Culicoides*. Pour pouvoir cibler davantage le risque BT et EHD, il convient alors d'investiguer la compétence vectorielle de chaque espèce et d'étendre les modèles au calcul du taux de reproduction de base R_0 . L'utilisation du logiciel Ocelet est alors un atout ici pour intégrer ces paramètres.

Ce chapitre sera publié dans le journal *Parasites and Vectors*.

Spatio-temporal modelling of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations on Reunion Island (Indian Ocean)

Yannick Grimaud^{1,2,3*}, Annelise Tran^{3,4,5,6}, Samuel Benkimoun⁵, Floriane Boucher^{3,4}, Olivier Esnault¹, Catherine Cêtre-Sossah, Eric Cardinale^{3,4}, Claire Garros^{3,4*}, Hélène Guis^{4,7,8,9}

¹ GDS Réunion, 1 rue du Père Hauck, 97418 La Plaine des Cafres, La Réunion, France

² University of Reunion Island, 15 avenue René Cassin, 97715 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

³ CIRAD, UMR ASTRE, F-97490 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

⁴ ASTRE, University of Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier, France

⁵ CIRAD, UMR TETIS, F-97490 Sainte-Clotilde, La Réunion, France

⁶ TETIS, Univ Montpellier, Montpellier, France

⁷ CIRAD, UMR ASTRE, 101 Antananarivo, Madagascar

⁸ Institut Pasteur of Madagascar, Epidemiology and clinical research unit, Antananarivo, Madagascar

⁹ FOFIFA DRZVP, Antananarivo, Madagascar

*Corresponding authors: yannick.grimaud@gds974.re, claire.garros@cirad.fr

YG: yannick.grimaud@gds974.re

AT: annelise.tran@cirad.fr

SB: s.benkimoun@gmail.com

FB: floriane.boucher@cirad.fr

OE: olivier.esnault@gds974.re

CCS: catherine.cetre-sossah@cirad.fr

CG: claire.garros@cirad.fr

EC: eric.cardinale@cirad.fr

HG: helene.guis@cirad.fr

Abstract

Background: Reunion Island regularly faces outbreaks of Bluetongue and Epizootic hemorrhagic disease. In a previous study, statistical models were developed for the five *Culicoides* species present in the island in order to provide a better understanding of their ecology and predict their presence and abundance from weather and environmental data. The purpose of this study was to couple these statistical models with a Geographic Information Systems in order to provide dynamic maps of the distribution of *Culicoides* throughout the island, which could provide a tool to initiate prevention and/or control strategies. **Methods:** Based on meteorological data from ground weather stations and satellite-derived environmental data, the abundance of each *Culicoides* species was estimated for the 2,214 husbandry locations on the island for the period ranging from February 2016 to June 2018. A large-scale *Culicoides* sampling campaign including 100 farms was carried out in March 2018 to validate the model. **Results:** According to the model predictions, no husbandry location would be free of *Culicoides* throughout the study period. The different *Culicoides* species would be present in 57.0% of the husbandry locations for *C. bolitinos*, 40.7% for *C. enderleini*, 26.5% for *C. grahamii*, 87.1% for *C. imicola* and 91.8% for *C. kibatiensis*. The models also show high seasonal variations in their distributions. During the validation process, predictions were acceptable for *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. kibatiensis*, with normalized root mean square errors (NRMSE) of 15.4%, 13.6% and 16.5% respectively. The NRMSE was 27.4% for *C. grahamii*. For *C. imicola*, the NRMSE of 252.5% throughout the island dropped to 11.9% by not considering a specific area. **Conclusions:** Our model provides, for the first time, an operational tool to better understand and predict the distribution of *Culicoides* in Reunion Island. As it predicts a wide spatial distribution of the five *Culicoides* species throughout the year, our results suggest that BTV and EHDV can circulate continuously on the island. It implies significant limitations for any preventive or control actions targeting vector populations. To assess other control strategies, our model could be coupled with an epidemiological model of BTV and EHDV transmission. **Keywords:** *Culicoides*, spatio-temporal distribution, Ocelet Modelling Platform, Reunion Island, Indian Ocean, bluetongue, epizootic hemorrhagic disease

Background

Temporal and spatial variations in climate and environment have an impact on vector populations and on the transmission of vector-borne diseases (VBDs) [1-3]. Statistical models help understand the interactions between climate – environment and vectors – VBDs [4]. When

these models are incorporated into a geographical information system (GIS), spatially explicit outputs such as distribution maps can be produced, making it possible to establish and rank the risk of exposure to vector bites and associated pathogens in a given geographical area [5, 6]. This approach is particularly relevant for areas where surveillance data are lacking and the level of risk is unknown, as it provides a useful tool for health policy makers, vector-control agencies and the public [5].

Some species of biting midges species of the genus *Culicoides* are vector species of economically important viruses affecting livestock [7]. Because these viruses are exclusively transmitted to hosts by bites [8], their distribution and the intensity of infection are dependent on the distribution and abundance of vectors [9, 10]. Epizootic events of bluetongue (BT) and African horse sickness (AHS), two *Culicoides*-borne viral diseases, in Europe [11-13] and in Africa [14, 15] have highlighted the need to map vector distribution and produce detailed predictive risk maps of *Culicoides*-borne diseases. Consequently, during the last decades, various studies conducted in Europe and Africa have mapped occurrence or abundance of *Culicoides* at world-wide or country-wide scale [16-25], and less commonly at local scale [4, 26, 27]. A spatio-temporal approach is particularly useful when the risk of exposure to vectors or VBDs is clustered in time and space [5]. This approach was favored by different authors [28-31].

Five *Culicoides* species were recorded in Reunion Island [32, 33]: *C. bolitinos*, *C. enderleini*, *C. grahamii*, *C. imicola* and *C. kibatiensis*. Meanwhile, bluetongue virus (BTV) and epizootic hemorrhagic disease virus (EHDV) outbreaks occurred on annual cycles with BTV being enzootic and EHDV epizootic [34]. Clinical cases were almost exclusively reported during or after the rainy season (November-March) and the most recent cases (years 2016, 2018 and 2019) were reported mainly on farms at high altitudes (GDS 974 personal communication). This highlights the necessity to develop dynamic distribution maps of *Culicoides* in Reunion Island.

Statistical models were recently developed for each *Culicoides* species on Reunion Island [33] in order to provide a better understanding of their ecology and determine their periods of high abundance from meteorological and environmental data. This first study focused on the temporal dimension of the *Culicoides* dynamics but the spatial dimension was not addressed.

The aim of this study was therefore to couple previously developed statistical temporal models of *Culicoides* dynamics [33] with GIS techniques, in order to provide spatio-temporal vector suitability maps for each *Culicoides* species in Reunion Island. It aims at addressing the

needs expressed by different stakeholders, including breeders and veterinary services, to identify periods and areas when and where prevention and vector control strategies could be targeted.

Methods

Study sites

The study area is Reunion Island, a French department located in the southwestern Indian Ocean. It includes all farms of the island. Livestock units are defined by the association of one breeder, one type of animal and one type of production (dairy farms, fatteners or pasture farms). In accordance to the 2016-2017 governmental and Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de La Réunion (the main association of breeders of the island) census databases, Reunion Island has 2,560 livestock units (figure 1) of cattle (1,337), goats (980), sheep (174), deers (12) and horses (57) distributed among 2,070 breeders. For the model, livestock units occupying the same production space, whatever the type of animal, can be considered as a single geographic unit. Conversely, geographically separated livestock units of the same breeder can be considered as separate units. Therefore, 2,214 husbandry locations with distinct geographical coordinates, composed of single or multiple livestock units, were defined and used as elementary geographic units in the model of *Culicoides* abundance.

Meteorological and environmental data

The temporal dynamics models developed for each *Culicoides* species [33] include 11 categories of meteorological and environmental variables to estimate abundances: temperature, humidity, rainfall, wind speed at 2 m above ground, global radiation, vegetation index, eco-climatic area, land use, husbandry location density (i.e. the number of husbandry locations in the vicinity), animal density and building opening size. Corresponding data were acquired from different sources. Time-dependent variables (i.e. temperature, humidity, rainfall, wind speed, global radiation, and vegetation index) were obtained for the January 2016 to June 2018 period.

The location of meteorological stations recording temperatures (n=31), rainfall (n=31), wind speed (n=30), global radiation (n=28) and humidity (n=18) was obtained from meteorological service “Meteo France” (<https://publitheque.meteo.fr>). The daily data recorded by these stations were downloaded from Smartis' web service (www.smartis.re). Missing data for wind (24.12%) and humidity (29.23%) were estimated by time linear interpolation. Meteorological stations recording wind speed provide measures either at 2 m or 10 m above the ground. To estimate wind speed at 2 m above the ground from 10 m above the ground measures,

a correction method is applied [33] based on the roughness categories of the land around the station, defined from the Atlas of Landscape and Roughness of Reunion Island (<https://sites.google.com/site/venturiec1/calendar>).

Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) was obtained from the Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) measurements at 250 m spatial resolution (<https://lpdaac.usgs.gov/>)[35]. MODIS Terra 16-day composite images (product MOD13Q1) were acquired for the study period.

Eco-climatic area was obtained from the map of “Urban Planning and Native Plants Approach” (DAUPI) (Botanical Conservatory of the Mascarenes 2010; <http://daupi.cbnm.org/palette/#/taxons>). A 2016-2017 land-use map [36] was acquired from Cirad (<http://aware.cirad.fr>). Husbandry location and characteristics (type of husbandry atelier and number of animals) data were obtained by 2016-2017 governmental and GDS census databases.

Altitude data were also required to consider temperature variation between weather stations and husbandry locations. These data were acquired using the digital elevation model BD ALTI® from the National Geographic Institute (<http://professionnels.ign.fr/bdalti>).

Models of *Culicoides* presence and abundance

For each husbandry location, the abundance of each *Culicoides* species from February 2016 to June 2018 was estimated using the temporal dynamics models developed in [33]. This estimated abundance reflects what could have been captured near the animals by an OVI (Onderstepoort Veterinary Institute) light trap overnight. The temporal models are hurdle models, i.e. a presence/absence model combined with an abundance model, built from a two-year dataset of biweekly catches in 11 farms. For each species, the presence/absence model is a logit-link logistic regression model (Eq. 1), and the abundance model is a log-link mixed-effect zero-truncated negative binomial model (Eq. 2) with random effect on farms:

$$p_i = \frac{e^{\beta_0 + \beta_j X_{ij}}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_j X_{ij}}} \quad (\text{Eq.1})$$

where p_i is the probability of presence at the husbandry location i , β_0 the intercept, β_j the coefficient of the explanatory variable X_j , X_{ij} the value of variable X_j at the husbandry location i .

$$\lambda_i = \begin{cases} e^{\gamma_0 + \gamma_j X_{ij} + e_{\text{farm}(i)} + e_i} & \text{if } p_i \geq \alpha \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (\text{Eq.2})$$

where λ_i is the estimated abundance (number of *Culicoides* per trap and per night) at the husbandry location i , γ_0 the intercept and γ_j the coefficient of the explanatory variable X_j , $e_{\text{farm}(i)}$ the random effect of farm for husbandry location i , e_i an error term for each prediction and α the threshold of positive realization.

All variables and coefficients used to estimate *Culicoides* abundances are presented in Additional file 1, table S1 to S5.

To apply the models to the scale of Reunion Island, the random effect of farms in the count part of the hurdle model was neglected. The environmental characteristics of the 11 farms used to build the temporal model define their validity domain: no predictions can be made on the husbandry locations with values of environmental characteristics outside the range of values of the predictive variables. The limiting variables are presented in Additional file 1, table S1 to S5.

Preprocessing

The eco-climate area corresponding to each husbandry location, the husbandry location density, animal density and the percentage of land use coverage in different buffer sizes (0.5 km, 1 km or 2 km) around each husbandry location were all extracted using QGIS [37].

The altitude was extracted for each husbandry location and each weather station using QGIS. Building opening size was interpreted according to the general configuration of the type of farming: from 0 to 25% for dairy farms, from 25 to 100% for fatteners, enclosure for pasture farms.

Spatio-temporal dynamics

The representation of the spatio-temporal dynamics of *Culicoides* was built with Ocelet language and open modelling platform (www.ocelet.org). Ocelet is a domain specific language and simulation tool for modelling changes in geographical landscapes and facilitating the processing of geographical information [38]. Our model comprises four main elements called “entities”: *i*) the 2214 husbandry locations (point geometry), characterized by their respective values of eco-climatic area, land use, husbandry location density, animal density and building opening size, *ii*) the weather stations (point geometry) whose daily minimum and maximum temperature, rainfall, wind speed, global radiation and humidity are imported as text files (csv format), *iii*) the satellite-derived vegetation indices, imported as raster data, and *iv*) a 1 km wide hexagonal grid to map model output (Figure 2). The entities interact through spatial relations: for each husbandry location, the values of the meteorological variables are defined as those of the closest weather station, and the NDVI value is defined as the NDVI of the pixel in which the husbandry location is contained. The scenario, which defines the sequence of operations

and interactions between the entities is defined as follows (Figure 2). Step 1: the daily meteorological variables are read and attributed to each corresponding husbandry location. A correction of $-0.0075^{\circ}\text{C}\cdot\text{m}^{-1}$ [39] was applied to the temperature based on the altitude difference in meters between the station and the husbandry location. A correction of the 10 m above the ground wind speed measure is applied to convert it to 2 m from the ground wind speed (Grimaud et al., 2019). Step 2: daily NDVI values for each husbandry location are either read from a raster file if the date coincides with the date of acquisition of MODIS NDVI, or estimated using a temporal linear interpolation. When the pixel corresponding to a husbandry location has a value lower than zero (suggesting that the pixel was masked by a cloud), the positive value of the nearest pixel is selected. Step 3: for each husbandry location, the probability of presence and the predicted abundance of each species is computed from Equations 1 and 2, provided they are within the validity limits of the model variables. Step 4: for each hexagonal grid, the abundance of *Culicoides* species is computed as the average values of *Culicoides* abundance of the husbandry locations it contains.

Validation

In order to validate the simulation of the spatial dynamics of each species, an inventory was carried out at the scale of the whole island. A total of 100 farms distributed throughout the island were sampled representing 101 catches (one farm was sampled at two husbandry locations). Single night catches were conducted from 07 to 22 March 2018 using OVI traps. The trapping and identification of *Culicoides* follows the same procedure described in [33].

Observed and predicted values at the date of capture were compared using the area under curve (AUC) of the ROC (Receiver Operating Characteristic) curve [40] for presence/absence and the Normalized Root mean Square Error (NRMSE) standardized to the range of observations for abundance. These calculations were performed using R version 3.4.1 [41] with pROC [42] and hydroGOF [43] packages. Standardized differences, *i.e.* the difference between a prediction and an observation divided by the range of observed values, was also spatially analyzed to assess conditions or areas of good or bad predictions.

Results

On the 2,214 husbandry locations, the total number of husbandry locations on which it was possible to estimate abundances (*i.e.* their environmental characteristics were within the validity domain of the model) was 1,807 (81.62%) for *C. bolitinos*, 1,534 (69.29%) for *C. enderleini*,

2,178 (98.37%) for *C. grahamii*, 1,866 (84.28%) for *C. imicola* and 1,922 (86.81%) for *C. kibatiensis*.

During the 28 months of spatio-temporal dynamics simulation, *C. kibatiensis* followed by *C. imicola* were the most widespread species, present on average (minimum - maximum) in 91.77% (81.95% – 99.84%) and 87.12% (63.67% – 99.09%) of the husbandry locations respectively. In contrast, *C. grahamii* and *C. enderleini* were the least widespread species, present on average in 26.48% (6.80% – 73.97%) and 40.66% (17.28% – 64.28%) husbandry locations average coverage respectively. As for *C. bolitinos*, it was present on average in 56.98% (13.95% - 87.44%) of the husbandry locations.

A clear seasonal pattern was observed for all species (Figure 3). The number of husbandry locations with a positive abundance of *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. imicola* were present in fewer husbandry locations during the cold and dry season. These seasonal patterns could also be observed when considering husbandry locations with more than 10, 100 or more *Culicoides*. The opposite situation was observed for *C. kibatiensis* and *C. grahamii*.

Interestingly, for *C. bolitinos*, the seasonal patterns were less pronounced and were mainly visible in husbandry locations where more than 10 individuals of this species were estimated. Furthermore, a significant and global decrease in the number of husbandry locations where it was present was observed after the 2017 cold and dry season. Before this time of year, the average percentage (range in bracket) of positive husbandry locations was 69.46% (37.24% - 87.44%) and then it decreased to 45.83% (13.95% - 66.69%).

Estimated abundances remained generally low. Considering times points when the species were present, the median of estimated abundances (*Culicoides* per trap per night), 1st and 3rd quartiles in brackets, were 12.108 (5.741 – 23.687) for *C. bolitinos*, 0.182 (0.028 – 1.132) for *C. enderleini*, 1.68 (0.528 – 3.745) for *C. grahamii*, 23 (1.174 – 148) for *C. imicola* and 3.732 (1.174 – 12.057) for *C. kibatiensis*. However, *C. imicola* was estimated to have a high abundance in an important number of husbandry locations compared to other species. On average for *C. imicola*, more than 1,000 individuals were estimated on 13.71% of the husbandry locations. This rate dropped below 0.1% for the other species. Considering a lower expectation of 100 individuals, the rate was 28.29% for *C. imicola* and less than 2.4% for the other species.

The abundance maps produced with a 7-day time step showed the spatial and temporal variation for each species (see examples of abundance maps in Figure 4; Additional File S2-6 for movies). According to the model, *C. imicola* occupies the island's coastal areas continuously and with high abundance. During the hot and rainy season, its distribution expand and reaches sites located further from the coast, towards the interior of the island.

Climatic and environmental conditions are favorable for the distribution of *C. kibatiensis* throughout the island, except on a thin southern and northeastern coastline during the hot and rainy season. However, areas of high abundance are only found in the highlands.

Culicoides bolitinos occupies a wide band from the coastal area to the interior of the island although the southern and western coastal areas become less favorable to its presence during the cold and dry season. The highest abundances were estimated for the mid- and high-altitude husbandry locations. Results highlight also a high inter-annual variability, with a distribution of *C. bolitinos* much more restricted and less abundant in the western area in 2017 than in 2016.

Culicoides enderleini occupies the coastal areas of the island and during the cold and dry season, it persists only in the southwest and in a small area to the northwest. Conversely, *C. grahamii* occupies very clearly the western and southwestern highlands and its distribution can extend to the northeast during the cold and dry season.

The sampling campaign conducted in March 2018 (Figure 5) confirmed the presence of the 5 species identified by [32]. A total of 50,526 *Culicoides* were caught during the 101 night campaign with a maximum of 8,091 individuals. No *Culicoides* were caught in 6 farms. For each species, the total number of individuals, mean and number of positive catches in brackets, was: 4,087 (40.47; 41) for *C. bolitinos*, 5,314 (52.61; 29) for *C. enderleini*, 154 (1.525; 20) for *C. grahamii*, 26,908 (266.4; 69) for *C. imicola* and 14,063 (139.2; 61) for *C. kibatiensis* (Additional file 7, table S6).

Predictive accuracy of presence and absence was acceptable for *C. imicola* and *C. kibatiensis* with ROC AUCs of 0.755 and 0.730 respectively. For *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. grahamii*, predictions of presence were less good with AUCs of 0.557, 0.649 and 0.5882 respectively. Regarding abundance estimates, the NRMSEs were 15.4% for *C. bolitinos*, 13.6% for *C. enderleini*, 27.4% for *C. grahamii* and 16.5% for *C. kibatiensis*. The abundance predictions for *C. imicola* showed a high NRMSE of 252.5%. The spatial analysis of the predictions showed a high variability between predictions and observations for *C. imicola* at the Salazie husbandry locations and four other husbandry locations located in the south, southwest and northeast coasts, with a tendency to overestimate (Figure 6). Without considering the Salazie husbandry locations and the four others ones for which the model predicted more than 7,877 individuals per trap per night (maximum observation for *C. imicola*), the NRMSE was 11.9%.

The highest variabilities between observations and predictions were observed in the south and west for *C. bolitinos* and on the south coast for *C. enderleini*. For *C. grahamii*, a

strong variability seemed to exist between the observations and the predictions. Finally, predictions for *C. kibatiensis* lead to underestimation of abundance, mainly in the western highlands.

Discussion

BT and EHD epidemics can cause severe economic losses to farmers [8, 44]. In Reunion Island, both a large-scale inventory and longitudinal monitoring allowed to identify local species, improve the understanding of their ecology and modelling high abundance periods [32, 33]. The present study provides, for the first time, a spatial model of the abundance of *Culicoides* in Reunion Island, designed to implement an operational tool to help stakeholders and farmers identifying and communicating on disease risk periods and areas.

The abundance of each *Culicoides* species was estimated from mixed-effect zero-truncated negative binomial models developed in a previous study (Grimaud et al., 2019). To apply these models to the entire island, the random effect of farms (Eq. 2) was neglected, as mixed models do not allow predictions on subjects that were not part of the original training data. However, the standard deviation of the random effects for farms provided in Grimaud *et al.* [33] was in the range of $2.837 \cdot 10^{-5}$ to $1.226 \cdot 10^{-4}$ for all species except *C. kibatiensis*. These orders of magnitude can be considered negligible and suggested that the estimated temporal dynamics for these four species were under the almost exclusive governance of climate and the environment. Consequently, we can consider that the estimations of *C. bolitinos*, *C. enderleini*, *C. grahamii* and *C. imicola* abundances were not biased by the intrinsic effects of farms. However, for *C. kibatiensis*, the standard deviation of random effect was 0.5962 and thus could not be considered negligible. The modelled dynamics of *C. kibatiensis* allows staggering the favourable areas according to climatic and environmental data only, but intrinsic characteristics of the farm can greatly vary these abundances.

Overall, the predicted spatio-temporal distributions of each *Culicoides* species coincide with observations made by [32] and [33]: low overall abundance, except for *C. imicola* in coastal areas, *C. imicola* and *C. enderleini* more abundant at low altitude and during the hot and rainy season, *C. bolitinos* at mid-altitude and during the hot and rainy season too, *C. kibatiensis* and *C. grahamii* at high altitude and during the cold and dry season. Our results showed that *C. imicola* and *C. kibatiensis* have a wide spatial distribution and that there is virtually not a single husbandry location that would not be affected by *Culicoides*. This prediction was verified by data from the March 2018 campaign where *Culicoides* were found in 95 of the 101 catches.

This confirms that *Culicoides* species are capable of occupying a wide variety of climates encountered on Reunion Island as already mentioned for the Palearctic region [7].

The spatial distribution of species observed during the March 2018 sampling campaign confirmed the global distribution described by Desvars *et al.* [32] and Grimaud *et al.* [33]. However, the greater sampling effort and the use of the reference trap (OVI) enabled detecting a larger distribution of *C. bolitinos* in the south of the island and of *C. enderleini* on the northeast coast and on the highlands. A more extensive spatial distribution was also observed for *C. imicola* and *C. kibatiensis*, which is consistent with the predicted spatio-temporal distribution (Figure 4).

When comparing modeled abundance predictions with field observations from the March 2018 sampling campaign, presence predictions were acceptable for the two most common species, *C. imicola* and *C. kibatiensis*. For the three others species (*C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. grahamii*), presence prediction were less good. With regard to abundance estimates, predictions were acceptable for *C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. kibatiensis*, but less good for *C. grahamii* and *C. imicola*.

It should also be noted that the high variability of catches is a general problem in vector modelling [28]. As Baylis *et al* points out [20], the number of *Culicoides* that can be caught per night using a light trap depends on the size of the local *Culicoides* population, the activity rate and the efficiency of the trap; the latter two are themselves affected by the weather. According to the same author, the absence of repetitive capture over a short period of time reduces the accuracy of presence estimation, especially when *Culicoides* abundance is low. The model predictions were compared to one night-catches data of March 2018, which could explain the lack of accuracy in the prediction of presence for the three species with the lowest observed abundances (*C. bolitinos*, *C. enderleini* and *C. grahamii*). Moreover, it should be stressed that NRMSE tends to be higher for low abundances even if the order of magnitude of observations and predictions is comparable, as it is the case for *C. grahamii* (maximum catch: 28 individuals per trap; maximum predicted abundance: 52 individuals per trap).

For *C. imicola* model estimates of abundance were satisfactory only if outliers were not considered. *Culicoides imicola* abundance was overestimated in the municipality of Salazie (Figure 6). As a geological cirque, this municipality is a very isolated region of the island, surrounded by cliffs of several hundred meters, with very rugged relief and with stony and very gullied soils [45]. In this area, the climatic and environmental conditions taken into account in our models were very favorable for high *Culicoides* abundances, but its particular landscape and soil characteristics, which were not exploited in the models, may explain the low

abundances observed in March 2018. Indeed, if landscape can play a role in local *Culicoides* abundance [27, 46, 47], the type of soil reminds the conditions found in *C. imicola*-free zone South Africa, where the soil is sandy, poor in nutrients and too well-drained to sustain *Culicoides* larvae [48]. Concerning the high variability between observation and predictions of *C. imicola* in coastal areas, they can be attributed to the high volatility of the temporal model, based on an exponential function, for the estimation of high abundance. This tends to have a strong impact on RMSE and its derivatives (NRMSE).

Another source of differences between predictions and observations of March 2018 could come from the variables estimates. For example, the building opening size was estimated according to the general configuration of the type of production, and not from field observations as in [33]. Greater distances to weather stations could lead to approximations of climate data given the diversity of the island's microclimates. Finally, the type of animal hosts in the vicinity of the traps could also be a source of variation, although the farms selected for the March 2018 campaign were mainly cattle farms (82 out of 100, Additional file 7) and therefore correspond to the conditions under which the temporal models were constructed in Grimaud *et al* [33].

By construction, the predictions from temporal dynamics model built in Grimaud *et al.* reflect the expected catches in the vicinity of cattle. In this study, other animal types, such as sheep, goats, deer and horses, were included, assuming an equivalent importance of the host type on the composition of *Culicoides* species. However, some *Culicoides* species may be associated with one host type more than another by their host preference or the behavior [49, 50] [51, 52]. Unfortunately, no comparative study was carried out in Reunion Island to take into account the differences induced by the type of host in the vicinity of the traps and therefore requires careful consideration of predictions.

From an epidemiological point of view, the wide permanent distribution of *Culicoides* suggests that BT and EHD viruses can circulate throughout the year and throughout the island in vector *Culicoides* and in livestock. A serological survey conducted in 2011 [34] confirmed this hypothesis by the fact that: (1) two thirds of the cattle tested were EHDV positive and distributed throughout the island; (2) near 80% of cattle, 50% of goats and 21.5% of sheep were seropositive suggesting a high level of BTV circulation among these animals.

Given the close link between transmission and biting rates, it would be tempting to position *C. imicola* as the main vector of BTV and EHDV. Indeed, with abundances of more than 100 individuals in an average of 2.4% of husbandry locations and more than 1,000 individuals in only 0.1% of husbandry locations on average, it may be considered that the participation of other species in transmission intensity remains low compared to that of

C. imicola. However, other parameters such as virus replication pattern inside the vector, host preference and association could provide effective mechanisms for the virus transmission [53]. A concrete example is *C. bolitinos*, which, having a biology closely associated with cattle and more adapted to cold environments than *C. imicola*, is a vector of prime importance during winter and in the coldest parts of South Africa [53, 54]. If, due to their abundance, *C. imicola* and *C. kibatiensis* are the ideal candidates in coastal areas and highlands respectively, it is not unreasonable that *C. bolitinos* could be the first-rate vector at higher altitudes in Reunion Island. However, without knowing the vector competence and mechanisms relating to the two other species (*C. enderleini* and *C. grahamii*), their importance cannot be ruled out on the sole assessment of their abundance. The presence of several vector or potentially vector species, their wide distributions, their different trophic preferences and behaviors, reinforces the need to better understand the BTV and EHDV risk on Reunion Island. The calculation of the basic reproduction rate R_0 appears to be the best approach for assessing this risk.

Most of the time, for *Culicoides*, the spatial and temporal components of their abundance distribution are modelled separately. Only Brugger & Ruble [28] and Rigot *et al.* [30] built spatio-temporal models on *C. obsoletus* spp. and *C. imicola* respectively. However, these models were built only from climate variables but Rigot *et al.* [30] also integrated the NDVI and altitude. Environmental variables such as land use, eco-climate, host type and density were not taken into account although Conte *et al.* [55] and Purse *et al.* [46] highlighted a gain in accuracy in estimating *Culicoides* abundance. In this study, environmental and host variables as well as the entrance size of buildings, which may impact *Culicoides* if they have exophilic or endophilic behavior, were included for the first time to model the spatio-temporal distribution of *Culicoides*.

Moreover, spatio-temporal dynamics models of *Culicoides* have never been developed using the Ocelet modelling platform software. Despite a decade of existence, this free software was mainly used to simulate landscape, vegetation or agro-system dynamics (see ocelet.fr for all publications). But recently, it has been used for VBDs of interest in human health [56-58], and now through this study for a vector of interest in animal health. As mentioned, Ocelet facilitates the processing of geographical information, more precisely by being able to read different data carriers (raster, shapefile, csv file, kml file for google earth, etc.), to make the link between these data to assign them to entities, to make these entities interact and to make them evolve through a scenario. As such, Ocelet deserves to be more widely distributed and used because it is a software particularly adapted for all spatial dynamics models.

Finally, modelling the spatial and temporal dynamics of an arthropod vector is of great interest to public health. For example, such a model has been developed for *Aedes albopictus*, a vector of dengue and chikungunya viruses in Reunion Island, and transferred to local authorities [57-59]. The tool helps health authorities to prioritize action areas for public awareness and vector control. For *Culicoides*, control methods are not as developed as for mosquitoes [60]. In parallel, the results of this study suggest that vector control actions against *Culicoides* will be limited to Reunion Island: no breeding and period without *Culicoides* and several species that could support the epidemiology of BT and EHD. But a tool equivalent to that of mosquitoes in Reunion Island would help with awareness campaigns, training and decision-making support for future prevention or testing of control methods.

Conclusions

From an operational point of view, the conclusions of this study may result in significant limits for any preventive and control actions targeting the vectors due to their large distributions. It now appears crucial to evaluate the vector competence of each species to better assess the risk of BTV and EHDV transmission. The use of GIS and spatial modelling tools such as Ocelet Modelling Platform allows easily integrating different climatic and environmental variables and providing risk maps. In the future, when sufficient knowledge will be available, the spatio-temporal model should be extended to model the basic reproduction rate (R_0) and investigate the spread of BTV and EHDV by allowing different simulations of the progression of a pathogen across the island from farms to farms or from a wild reservoir and test control strategies as done for *Aedes albopictus*.

Abbreviations

AHS: African horse sickness; AUC: area under curve; BT(V): bluetongue (virus); DAUPI: urban planning and native plants approach; EHD(V): epizootic hemorrhagic disease (virus); GIS: geographic information system; GDS: groupement de défense sanitaire; MODIS: moderate resolution imaging spectroradiometer; NDVI: normalized difference vegetation index; (N)RMSE: (normalized) root mean square error; OVI: Onderstepoort Veterinary Institute; ROC: receiver operating characteristic; VBDs: vector-borne diseases.

Acknowledgements

The authors acknowledged the farmers for allowing to collect *Culicoides* on their farms;

Mickaël Mezzino from Cirad-UMR AIDA for his help with Smartis web service; Floriane Boucher and Johnny Hoareau from Cirad-UMR ASTRE for their help during the March 2018 sampling campaign.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable

Consent for publication

Not applicable

Availability of data and materials

All sample and Ocelet codes are available upon request to the corresponding authors.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Funding

This study was funded by UMR 117 ASTRE, Cirad, GDS Réunion, TROI project (EU) and RITA Réunion.

Authors' contributions

Y.G., A.T., SB, H.G. and C.G. designed the study; Y.G. and HG collected the samples, Y.G. and C.G. identified the *Culicoides* samples, Y.G. and SB analyzed the data with the help of A.T.; SB, O.E. and E.C contributed to the manuscript after its first draft by Y.G, A.T., H.G. and C.G.; all authors read and commented on the final manuscript version. All authors read and approved the final version of the manuscript

References

1. Reisen WK. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu Rev Entomol.* 2010;55:461-83.
2. Lambin EF, Tran A, Vanwambeke SO, Linard C, Soti V. Pathogenic landscapes: interactions between land, people, disease vectors, and their animal hosts. *Int J Health Geogr.* 2010;9:54.
3. Moore CG. Interdisciplinary research in the ecology of vector-borne diseases: opportunities and needs. *J Vector Ecol.* 2008;33:218-25.
4. Kluiters G, Sugden D, Guis H, McIntyre KM, Labuschagne K, Vilar MJ, et al. Modelling the spatial distribution of *Culicoides* biting midges at the local scale. *J Appl Ecol.* 2013;50:232-42.

5. Eisen L, Eisen RJ. Using geographic information systems and decision support systems for the prediction, prevention, and control of vector-borne diseases. *Annu Rev Entomol.* 2011;56:41-61.
6. Rogers DJ, Randolph SE. Studying the global distribution of infectious diseases using GIS and RS. *Nat Rev Microbiol.* 2003;1:231-7.
7. Purse B, Carpenter S, Venter G, Bellis G, Mullens B. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annu Rev Entomol.* 2015;60:373-92.
8. Mellor P, Boorman J, Baylis M. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annu Rev Entomol.* 2000;45:307-40.
9. Capela R, Purse B, Pena I, Wittman E, Margarita Y, Capela M, et al. Spatial distribution of *Culicoides* species in Portugal in relation to the transmission of African horse sickness and bluetongue viruses. *Med Vet Entomol.* 2003;17:165-77.
10. William W, Bülent A, Thomas B, Eduardo B, Marieta B, Olivier B, et al. The importance of vector abundance and seasonality: Results from an expert consultation VectorNet project. EFSA Supporting Publications. 2018;15:1491E.
11. Mellor P, Wittmann E. Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998–2001. *Vet J.* 2002;164:20-37.
12. Carpenter S, Wilson A, Mellor PS. *Culicoides* and the emergence of bluetongue virus in northern Europe. *Trends Microbiol.* 2009;17:172-8.
13. Calistri P, Goffredo M, Caporale V, Meiswinkel R. The distribution of *Culicoides imicola* in Italy: application and evaluation of current Mediterranean models based on climate. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2003;50:132-8.
14. MacLachlan NJ, Guthrie AJ. Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other orbivirus diseases. *Vet Res.* 2010;41:35.
15. Diarra M, Fall M, Fall AG, Diop A, Seck MT, Garros C, et al. Seasonal dynamics of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midges, potential vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in the Niayes area of Senegal. *Parasite Vector.* 2014;7:147.
16. Purse B, Tatem A, Caracappa S, Rogers D, Mellor P, Baylis M, et al. Modelling the distributions of *Culicoides* bluetongue virus vectors in Sicily in relation to satellite-derived climate variables. *Med Vet Entomol.* 2004;18:90-101.
17. Torina A, Caracappa S, Mellor P, Baylis M, Purse B. Spatial distribution of bluetongue virus and its *Culicoides* vectors in Sicily. *Med Vet Entomol.* 2004;18:81-9.
18. Baylis M, Meiswinkel R, Venter G. A preliminary attempt to use climate data and satellite imagery to model the abundance and distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Africa. *J S Afr Vet Assoc.* 1999;70:80-9.
19. Baylis M, Mellor P, Wittmann E, Rogers D. Prediction of areas around the Mediterranean at risk of bluetongue by modelling the distribution of its vector using satellite imaging. *Vet Rec.* 2001;149:639-43.
20. Baylis M, O'Connell L, Purse B. Modelling the distribution of bluetongue vectors. *Vet Ital.* 2004;40:176-81.
21. Baylis M, Rawlings P. Modelling the distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Morocco and Iberia using climatic data and satellite imagery. *Arch Virol Suppl.* 1998;14:137-53.
22. Tatem A, Baylis M, Mellor P, Purse B, Capela R, Pena I, et al. Prediction of bluetongue vector distribution in Europe and north Africa using satellite imagery. *Vet Microbiol.* 2003;97:13-29.
23. Calvete C, Estrada R, Miranda M, Borrás D, Calvo J, Lucientes J. Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Med Vet Entomol.* 2008;22:124-34.
24. Diarra M, Fall M, Fall AG, Diop A, Lancelot R, Seck MT, et al. Spatial distribution modelling of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midges, potential vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in Senegal. *Parasite Vector.* 2018;11:341.

25. Guichard S, Guis H, Tran A, Garros C, Balenghien T, Kriticos DJ. Worldwide niche and future potential distribution of *Culicoides imicola*, a major vector of bluetongue and African horse sickness viruses. PLoS One. 2014;9:e112491.
26. Kirkeby C, Bødker R, Stockmarr A, Lind P. Spatial abundance and clustering of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) on a local scale. Parasite Vector. 2013;6:1.
27. Guis H: Géomatique et épidémiologie: caractérisation des paysages favorables à *Culicoides imicola*, vecteur de la fièvre catarrhale ovine en Corse. Université de Franche-Comté; 2007.
28. Brugger K, Rubel F. Bluetongue disease risk assessment based on observed and projected *Culicoides obsoletus* spp. vector densities. PLoS One. 2013;8:e60330.
29. Hartemink N, Purse B, Meiswinkel R, Brown HE, De Koeijer A, Elbers A, et al. Mapping the basic reproduction number (R0) for vector-borne diseases: a case study on bluetongue virus. Epidemics. 2009;1:153-61.
30. Rigot T, Conte A, Goffredo M, Ducheyne E, Hendrickx G, Gilbert M. Predicting the spatio-temporal distribution of *Culicoides imicola* in Sardinia using a discrete-time population model. Parasite Vector. 2012;5:270.
31. Ensoy C, Aerts M, Welby S, Van der Stede Y, Faes C. A dynamic spatio-temporal model to investigate the effect of cattle movements on the spread of bluetongue BTV-8 in Belgium. PLoS One. 2013;8:e78591.
32. Desvars A, Grimaud Y, Guis H, Esnault O, Allene X, Gardes L, et al. First overview of the *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) livestock associated species of Reunion Island, Indian Ocean. Acta Trop. 2015;142:5-19.
33. Grimaud Y, Guis H, Chiroleu F, Boucher F, Tran A, Rakotoarivony I, et al. Modelling temporal dynamics of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations on Reunion Island (Indian Ocean), vectors of viruses of veterinary importance. Parasite Vector. In Press.
34. Cêtre-Sossah C, Roger M, Sailleau C, Rieau L, Zientara S, Bréard E, et al. Epizootic haemorrhagic disease virus in Reunion Island: Evidence for the circulation of a new serotype and associated risk factors. Vet Microbiol. 2014;170:383-90.
35. Didan K. MOD13Q1 MODIS/Terra vegetation indices 16-day L3 global 250m SIN grid V006. NASA EOSDIS Land Processes DAAC. 2015.
36. Londoño Villegas MM: Développement d'une méthodologie pour la construction de cartes d'occupation du sol de l'île de la Réunion. Université Paul Valéry; 2017.
37. QGIS DT. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgisosgeorg>. 2015.
38. Degenne P, Seen DL. Ocelet: Simulating processes of landscape changes using interaction graphs. SoftwareX. 2016;5:89-95.
39. Chopart J-L, Mézino M, Le Mezo L. Relations entre l'altitude et la température mensuelle de l'air dans l'ouest de la Réunion. Rev Agri Sucre Maurice. 2002;80:68-72.
40. Park SH, Goo JM, Jo C-H. Receiver operating characteristic (ROC) curve: practical review for radiologists. Korean J Radiol. 2004;5:11-8.
41. Team RC: R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2017. ISBN3-900051-07-0 2017.
42. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez J-C, et al: Package 'pROC'. 2019.
43. Zambrano-Bigiarini M. Package 'hydroGOF'. Goodness-of-fit Functions for Comparison of Simulated and Observed. 2017.
44. Savini G, Afonso A, Mellor P, Aradaib I, Yadin H, Sanaa M, et al. Epizootic haemorrhagic disease. Res Vet Sci. 2011;91:1-17.
45. Raunet M. milieu physique et les sols de l'île de la Réunion. 1991.
46. Purse B, Falconer D, Sullivan M, Carpenter S, Mellor P, Pierrney S, et al. Impacts of climate, host and landscape factors on *Culicoides* species in Scotland. Med Vet Entomol. 2012;26:168-77.
47. Ippoliti C, Gilbert M, Vanhuyse S, Goffredo M, Satta G, Wolff E, et al. Can landscape metrics help determine the *Culicoides imicola* distribution in Italy? Geospatial health. 2013;8:267-77.

48. Meiswinkel R. Discovery of a *Culicoides imicola*-free zone in South Africa: preliminary notes and potential significance. *Onderstepoort J Vet Res.* 1997;64:81-6.
49. Meiswinkel R, Labuschagne K, Baylis M, Mellor P. Multiple vectors and their differing ecologies: observations on two bluetongue and African horse sickness vector *Culicoides* species in South Africa. *Vet Ital.* 2004;40:296-302.
50. Viennet E, Garros C, Lancelot R, Allène X, Gardès L, Rakotoarivony I, et al. Assessment of vector/host contact: comparison of animal-baited traps and UV-light/suction trap for collecting *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae), vectors of Orbiviruses. *Parasite Vector.* 2011;4:119.
51. Bakhom MT, Fall M, Seck M, Gardes L, Fall A, Diop M, et al. Foraging range of arthropods with veterinary interest: new insights for Afrotropical *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) using the ring method. *Acta Trop.* 2016;157:59-67.
52. Fall M, Fall AG, Seck MT, Bouyer J, Diarra M, Lancelot R, et al. Host preferences and circadian rhythm of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae), vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in Senegal. *Acta Trop.* 2015;149:239-45.
53. Paweska J, Venter G, Mellor P. Vector competence of South African *Culicoides* species for bluetongue virus serotype 1 (BTV-1) with special reference to the effect of temperature on the rate of virus replication in *C. imicola* and *C. bolitinos*. *Med Vet Entomol.* 2002;16:10-21.
54. Meiswinkel R, Paweska J. Evidence for a new field *Culicoides* vector of African horse sickness in South Africa. *Prev Vet Med.* 2003;60:243-53.
55. Conte A, Goffredo M, Ippoliti C, Meiswinkel R. Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the Obsoletus Complex in Italy. *Vet Parasitol.* 2007;150:333-44.
56. Tran A, Fall AG, Biteye B, Ciss M, Gimonneau G, Castets M, et al. Spatial modeling of mosquito vectors for rift valley fever virus in northern Senegal: Integrating satellite-derived meteorological estimates in population dynamics models. *Remote Sensing.* 2019;11:1024.
57. Tran A, demarchi M, Mangeas M, Roux E, degenne P, Herbreteau V, et al: ALBORUN, an operational predictive tool to map *Aedes albopictus* mosquito populations in Reunion Island. In: *ISESSAH2018; Montpellier (France)*.
58. Tran A, Herbreteau V, Demarchi M, Mangeas M, Roux E, Degenne P, et al: Spatial modeling of mosquito population dynamics: an operational tool for the surveillance of vector-borne diseases. In: *International Symposium on Remote Sensing of Environment2017; South Africa: ISRSE*.
59. Marti R, Catry T, Demarchi M, L'Ambert G, Cros M, Dehecq J-S, et al. Modélisation spatiale fine de la distribution de moustiques *Aedes albopictus* par forçage météorologique et intégration de données environnementales et in situ. 2018.
60. Harrup LE, Miranda MA, Carpenter S. Advances in control techniques for *Culicoides* and future prospects. *Vet Ital.* 2016;52:247-64.

Figure legends

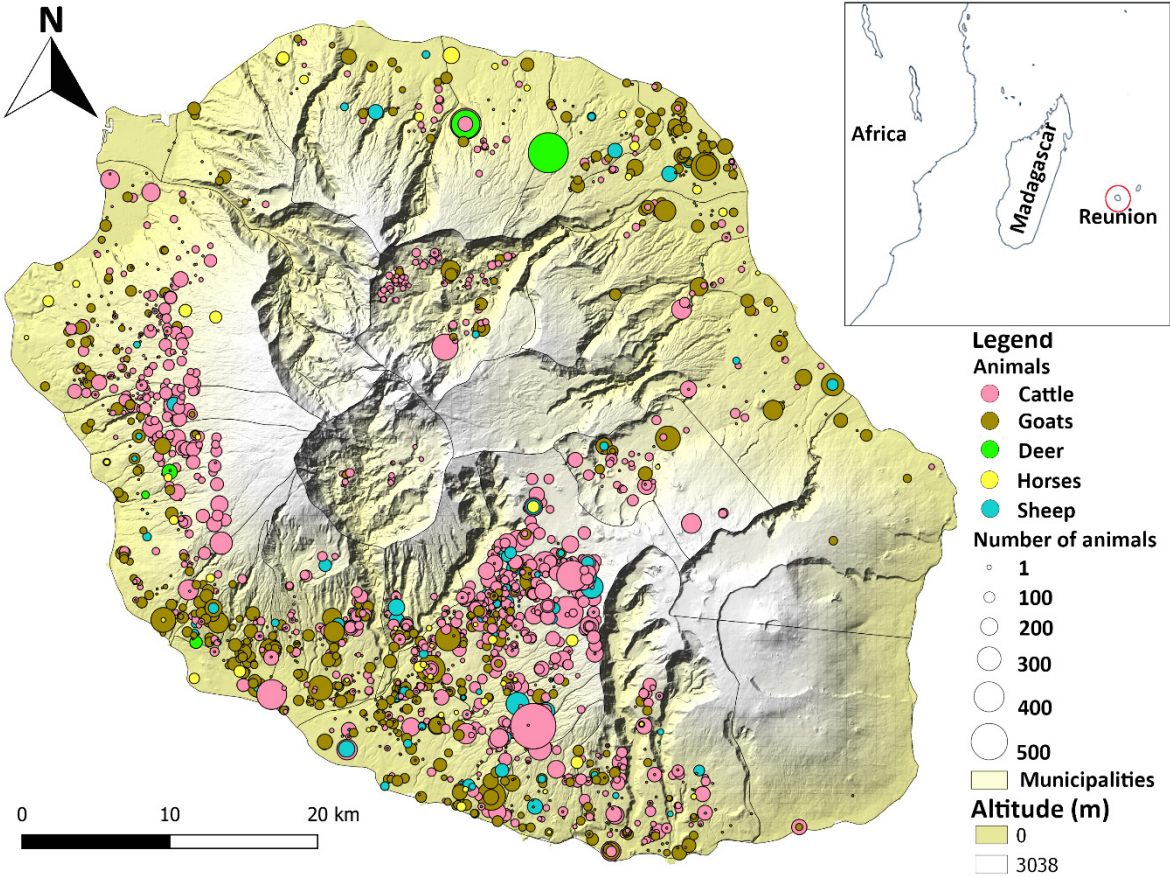


Figure 1. Spatial distribution of cattle, goats, sheep, deer and horses on Reunion Island.

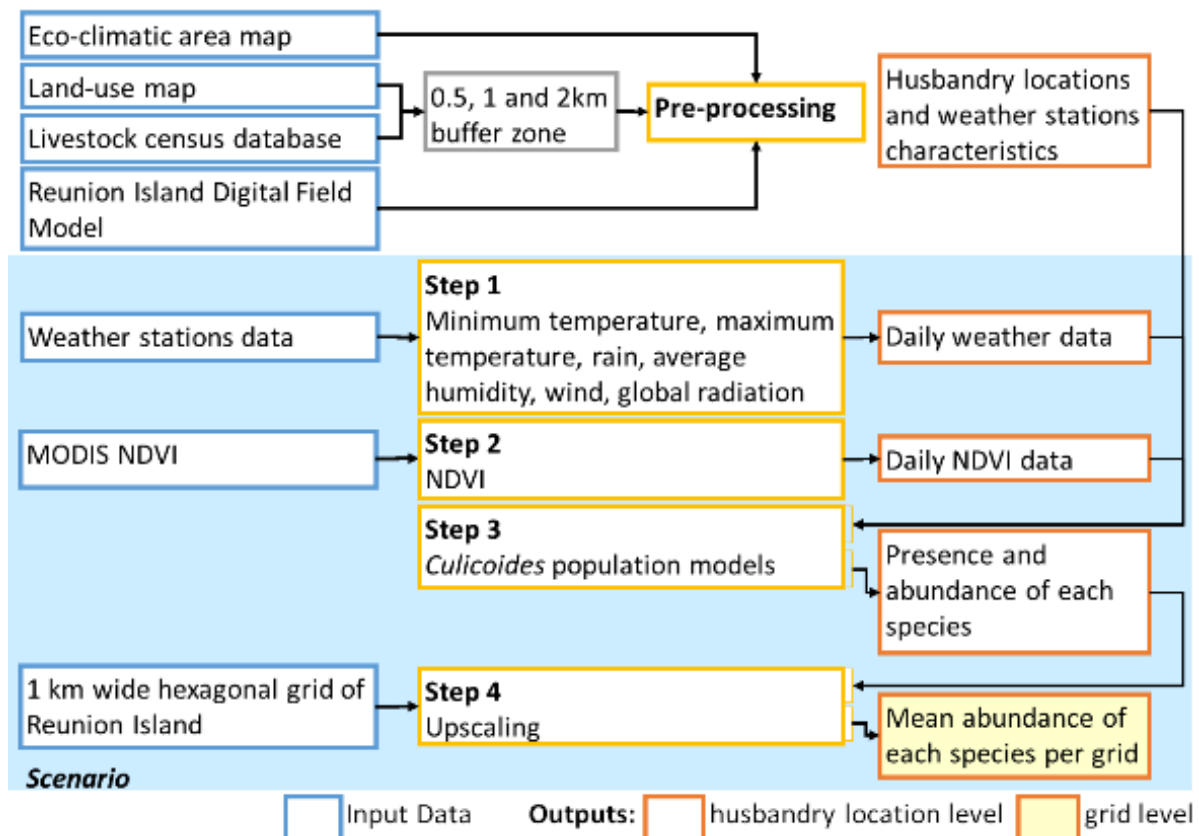


Figure 2: Workflow diagram for the application at Reunion Island scale of the *Culicoides* spatio-temporal models.

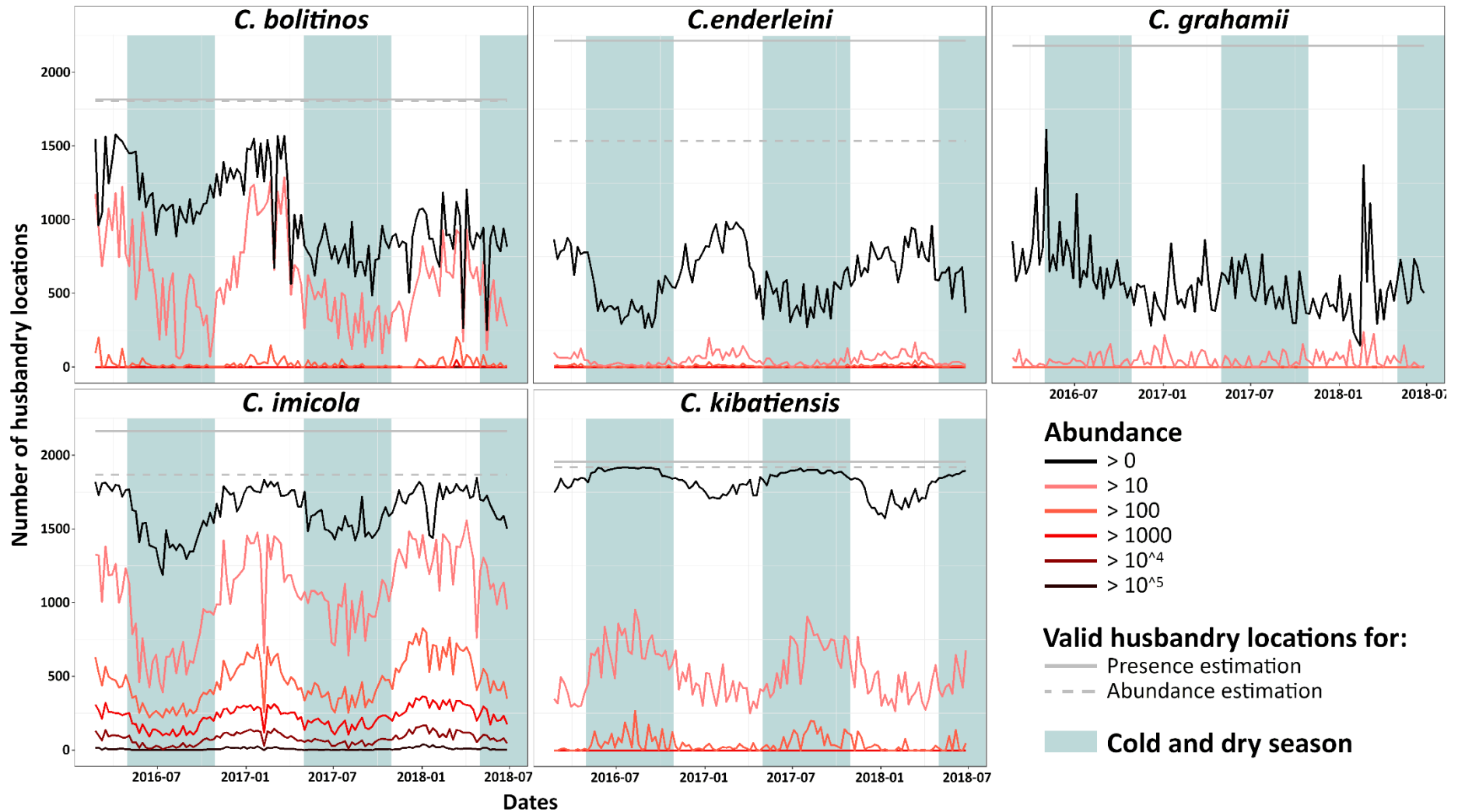


Figure 3. Temporal variations in the number of husbandry locations with an estimated positive abundance for each of the *Culicoides* species. Husbandry locations with more than 10^1 to 10^5 individuals are also shown.

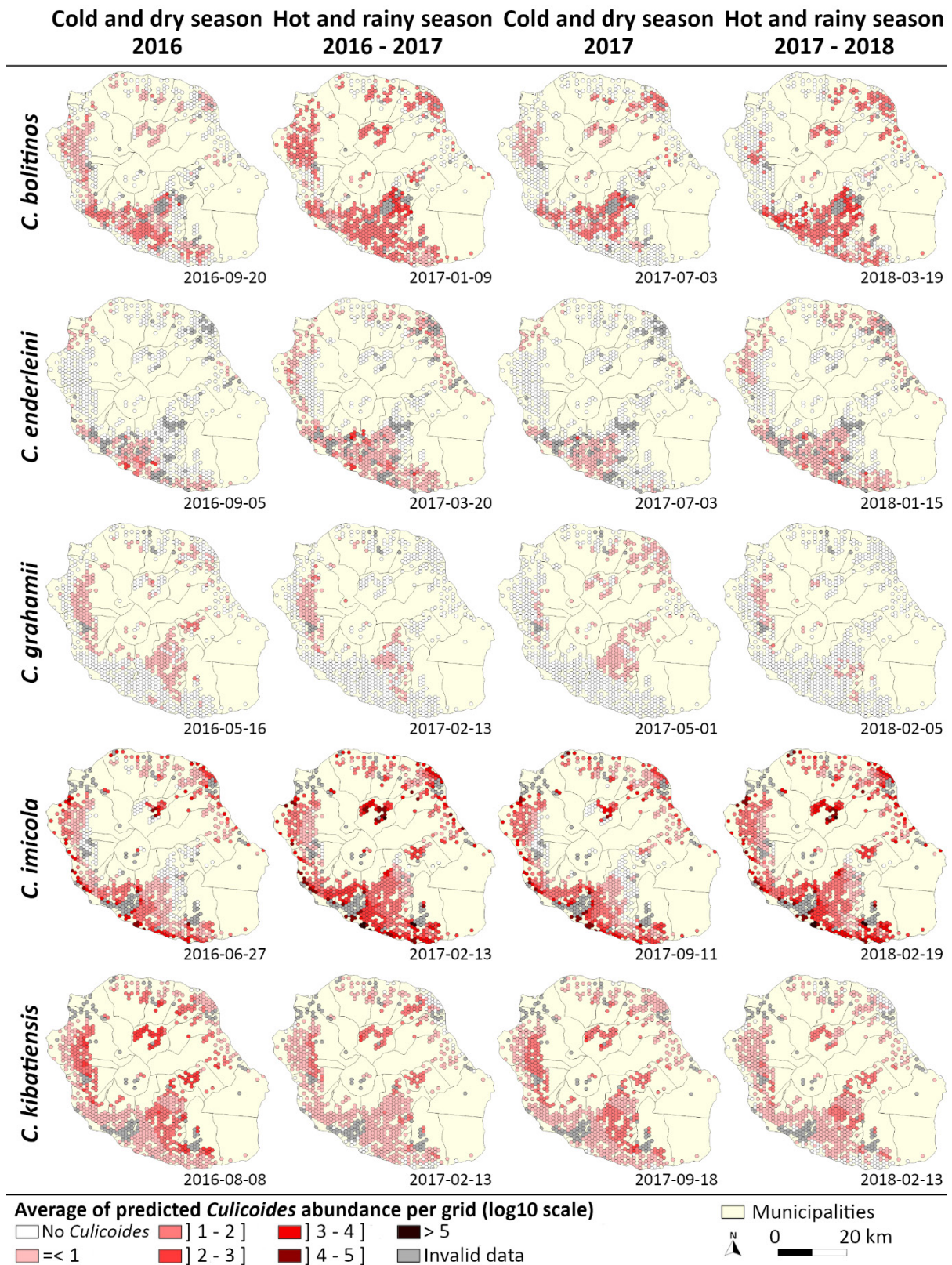


Figure 4. Example of modelled density maps of each *Culicoides* species, Reunion Island, 2016-2018. The examples chosen are those closest to the 3rd quartile of the number of positive husbandry locations during the hot and rainy season for *C. bolitinos*, *C. enderleini*, and *C. imicola* and during the cold season for *C. grahamii* and *C. kibatiensis*. For the opposite seasons, the examples are the closest to the 1st quartile.

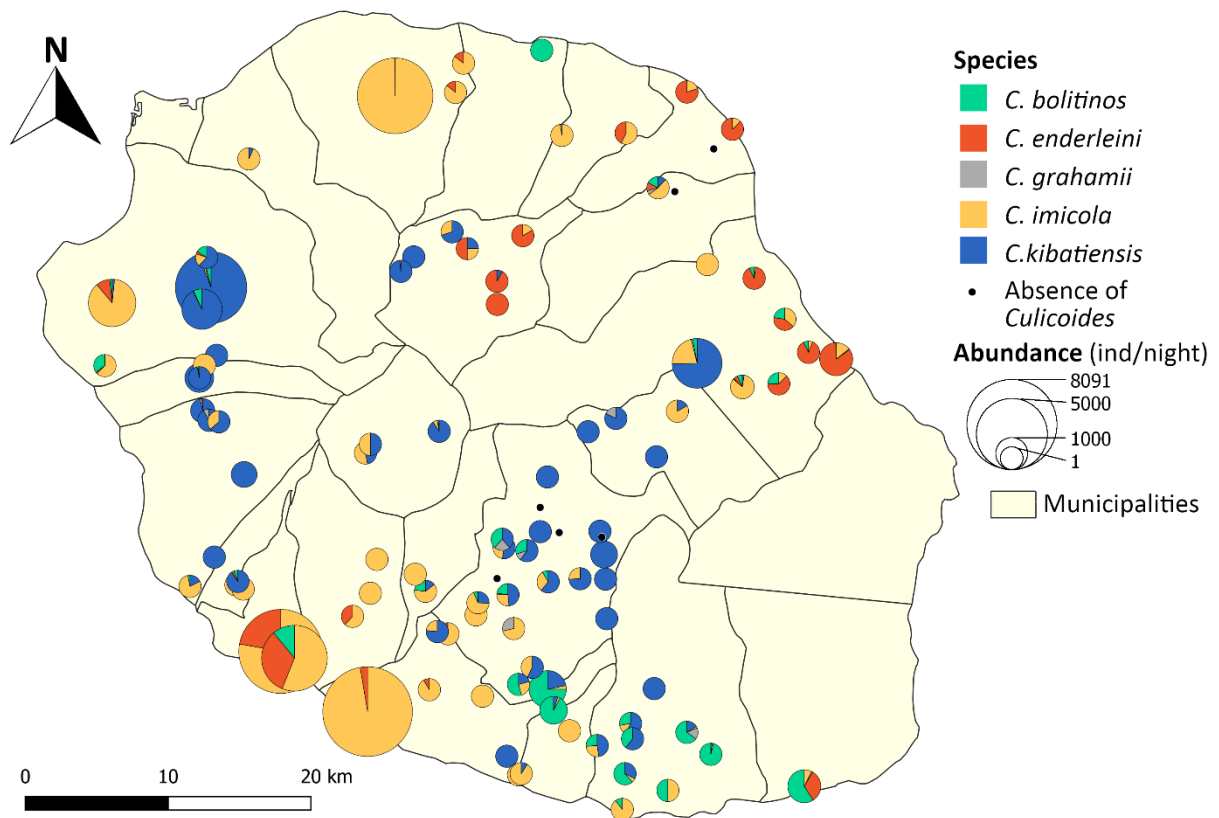


Figure 5. Spatial distribution of *Culicoides* species observed during the March 2018 sampling campaign.

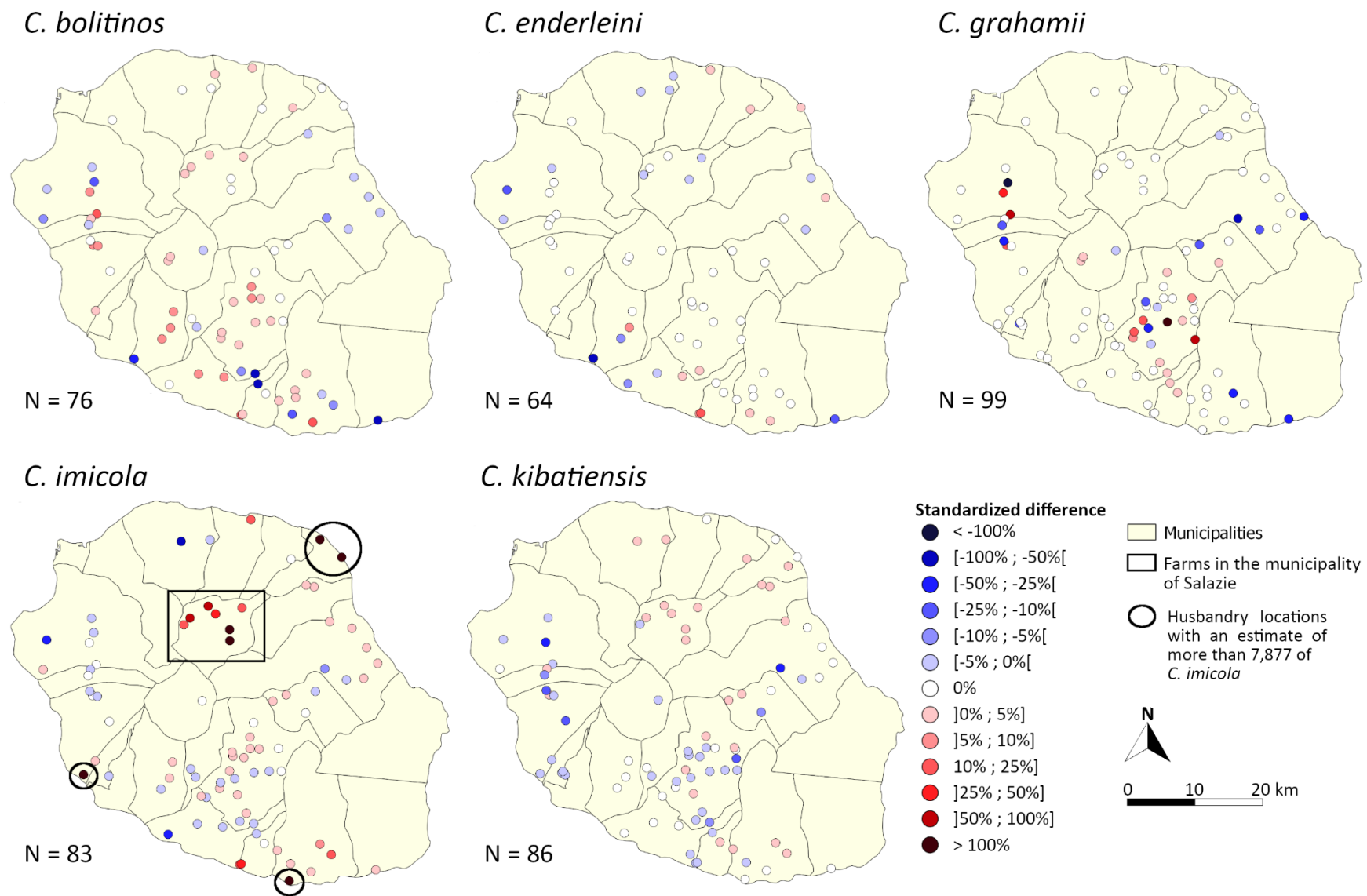


Figure 6. Maps of standardized differences between predictions and observations from the March 2018 sampling campaign

Additional file

Additional file 1 (.docx): Table S1. Model parameters for *C. bolitinos*. **Table S2.** Model parameters for *C. enderleini*. **Table S3.** Model parameters for *C. grahamii*. **Table S4.** Model parameters for *C. imicola*. **Table S5.** Model parameters for *C. kibatiensis*.

Table S1: model parameters for *C. bolitinos*

Presence estimation (threshold ^a = 0.555)			Abundance estimation		
Variables	Classes	Coeff. ^b	Variables	Classes	Coeff.
<i>Intercept</i>		-12.175	<i>Intercept</i>		1.096
Maximum temperature during the DoS ^c (°C)		0.120	Log10 minimum temperature 10 days before the DoS (°C)		-4.654
Maximum temperature 14 days before DoS (°C)		0.210	Maximum temperature 35 days before the DoS (°C)		0.192
Average rain from day 24 to day 21 before DoS (mm)		-0.067	Log10 rain during the DoS (mm)		0.297
NDVI 18 days before DoS		0.029	Rain 9 days before DoS (mm)		0.015
% of land use by planted forest in 0.5 km radius (%; max. ^d 0.6%)		-3.513	Average log10 rain from day 25 to day 23 before DoS (mm)		0.804
Number of small ruminants in 0.5 km radius (max. 80)		-0.044	% of land use by savannah in 0.5 km radius (%)		-0.050
Number of farms in 2 km radius (max. 69)		0.075	% of land use by planted forest in 1 km radius (%; max. 4.7%)		-0.554
Minimum temperature during the 14 days before DoS (°C)	(7.04, 13.7]	2.061	Number of cattle in 1 km radius (max. 884)		0.003
	(13.7, 16.9]	1.026	Rain 1 day before DoS (mm)	(0.2, 1.5]	-0.239
	> 16.9	0.634		(1.5, 6.92]	0.109
				> 6.92	0.636
			Global radiation 1 day before DoS (kJ.cm ⁻²)	(1.09, 1.53]	0.415
				(1.53, 1.97]	0.669
				> 1.97	-0.057
			Global radiation during the DoS (kJ.cm ⁻²)	(1.25, 1.8]	0.527
				> 1.8	0.851
			Building opening size (%)	(25, 100]	1.403
				Enclosure	0.766

^a the threshold defining a positive abundance; ^b Coeff.: coefficient; ^c DoS: day of simulation; ^d max.: the maximum limit value for which the estimate of presence and/or abundance can be made.

Table S2: model parameters for *C. enderleini*

Presence estimation (threshold ^a = 0.2)			Abundance estimation		
Variables	Classes	Coeff. ^b	Variables	Classes	Coeff.
<i>Intercept</i>		-3.666	<i>Intercept</i>		-10.487
Maximum temperature during the DoS ^c (°C)		0.246	Log10 minimum temperature during the 14 days before DoS (°C)		4.719
Maximum temperature during the 14 days before DoS (°C)		0.338	Log10 rain 9 days before DoS (mm)		1.126
Average humidity from day 27 to day 17 before DoS (%)		-0.080	Number of small ruminants in 1 km radius (max. ^d 65)		0.070
Average humidity from day 41 to day 35 before DoS (%)		-0.126	Number of total animals in 1 km radius (max. 271)		0.022
Average rain from day 48 to day 44 before DoS (mm)		0.062	Average wind during the DoS (m.s ⁻¹)	(0.512, 0.9]	-0.491
Average wind 1 day before DoS (m.s ⁻¹)		-1.209		(0.9, 1.2]	-0.281
NDVI		0.051		(1.2, 1.46]	1.713
% land use by forest in 2 km radius (%)		-0.045		> 1.46	-1.982
% land use by orchard in 2 km radius (%)		-0.088	Eco-climatic area	Lwf ^e	1.157
Rain during the DoS (mm)	(0.1, 1.1]	1.164		Mrf & Tf ^f	-3.401
	(1.1, 6.3]	-0.415			
	> 6.3	-0.740			

^a the threshold defining a positive abundance; ^b Coeff.: coefficient; ^c DoS: day of simulation; ^d max.: the maximum limit value for which the estimate of presence and/or abundance can be made; ^e Lwf: lowland wet forest; ^f Mrf & Tf: mountain rain forest and tamarind forest.

Table S3: model parameters for *C. grahamii*

Presence estimation (threshold ^a = 0.27)			Abundance estimation		
Variables	Classes	Coeff. ^b	Variables	Classes	Coeff.
<i>Intercept</i>		-15.818	<i>Intercept</i>		1.765
Average humidity from day 20 to day 15 before DoS ^c (%)		0.049	NDVI 21 days before DoS		-0.020
Average humidity from day 48 to day 43 before DoS (%)		0.064	Rain 1 day before DoS (mm)	(0.2, 1.5]	0.936
Log10 Average rain from day 3 to day 2 before DoS (mm)		-0.723		(1.5, 6.92]	1.489
Average rain from day 29 to day 24 before DoS (mm)		-0.042		> 6.92	1.472
Rain 48 days before DoS (mm)		0.036	Rain during the DoS (mm)	(0.1, 1.1]	-0.864

Average wind 1 day before DoS (m.s ⁻¹)		-0.599		(1.1, 6.3]	-1.899
NDVI		0.022		> 6.3	-0.528
NDVI 31 days before DoS		0.043	Global radiation 1 day before DoS (kJ.cm ⁻²)	(1.01, 1.38]	-0.333
Number of deer and horses in 2 km radius (max. ^d 52)		0.034		(1.38, 1.68]	-0.134
Minimum temperature during the DoS (°C)	(12.1, 15.1]	1.213		(1.68, 2.1]	1.249
	(15.1, 18]	0.370		> 2.1	-1.267
	(18, 21]	0.624	Eco-climatic area	Lwf	-0.301
	> 21	0.411		Wcmrf	1.990
Eco-climatic area	Lwf ^e	0.447		Lcmrf	1.340
	Wcmrf ^f	0.311	Building opening size (%)	(25, 100]	-2.009
	Lcmrf ^g	2.648		Enclosure	-0.732

^a the threshold defining a positive abundance; ^b Coeff.: coefficient; ^c DoS: day of simulation; ^d max.: the maximum limit value for which the estimate of presence and/or abundance can be made; ^e Lwf: lowland wet forest; ^f Wcmrf: windward coast mountain rain forest; ^g Lcmrf: leeward coast mountain rain forest.

Table S4: model parameters for *C. imicola*

Presence estimation (threshold ^a = 0.61)			Abundance estimation		
Variables	Classes	Coeff. ^b	Variables	Classes	Coeff.
<i>Intercept</i>		-9.855	<i>Intercept</i>		-2.718
Maximum temperature during the DoS ^c (°C)		0.160	Maximum temperature during the DoS (°C)		0.190
Maximum temperature during the 14 days before DoS (°C)		0.214	Maximum temperature during the 14 days before DoS (°C)		0.090
Rain during the DoS (mm)		0.028	Humidity at day 26 before DoS (%)		-0.027
Rain 4 days before DoS (mm)		-0.033	Rain during the DoS (mm)		-0.013
Average wind 1 day before DoS (m.s ⁻¹)		-0.477	NDVI at day 50 before DoS		-0.020
% land use by urban area in 2 km radius (%)		0.052	% land use by planted forest in 1 km radius (%; max. 4.7%)		-0.735
Number of small ruminants in 1 km radius (max. ^d 246)		-0.010	% land use by bare rock in 2 km radius (%; max. 1.6%)		4.195
Building opening size (%)	(25, 100] & enclosure	2.746	Number of deer and horses in 2 km radius (max. 52)		-0.031
			Rain 1 day before DoS (mm)	(0.2, 1.5]	-0.815
				(1.5, 6.92]	0.037
			> 6.92	-0.332	

NDVI	(60, 67]	0.440
	(67, 73]	0.165
	(73, 78]	-0.441
	> 78	0.527
Eco-climatic area	Df & sav. ^e	1.524
	Wcmrf ^f	4.621
	Lcmrf & Tf ^g	1.368

^a the threshold defining a positive abundance; ^b Coeff.: coefficient; ^c DoS: day of simulation; ^d max.: the maximum limit value for which the estimate of presence and/or abundance can be made; ^e Df & sav.: dry forest and savannah; ^f Wcmrf: windward coast mountain rain forest; ^g Lwmrf & Tf: leeward coast mountain rain forest and tamarind forest.

Table S5: model parameters for *C. kibatiensis*

Presence estimation (threshold ^a = 0.58)			Abundance estimation		
Variables	Classes	Coeff. ^b	Variables	Classes	Coeff.
<i>Intercept</i>		6.984	<i>Intercept</i>		3.305
Maximum temperature during the DoS ^c (°C)		-0.095	Minimum temperature during the 14 days before DoS (°C)		-0.093
Maximum temperature during the 14 days before DoS (°C)		-0.369	Maximum temperature 44 days before DoS (°C)		-0.077
Average humidity from day 50 to day 3 before DoS (%)		0.053	Global radiation during the DoS (kJ.cm ⁻²)		-0.304
Log10 average rain from day 11 to day 10 before DoS (mm)		0.747	Number of deer and horses in 0.5 km radius (max. 12)		0.141
NDVI 29 days before DoS		0.038	Number of deer and horses in 2 km radius (max. 52)		0.032
% land use by bare rock in 2 km radius (%; max. ^d 1.6%)		-1.504	Minimum temperature during the DoS (°C)	(12.1, 15.1]	0.454
Number of deer and horses in 2 km radius (max. 52)		0.038		(15.1, 18]	-0.070
Eco-climatic area	Lwf ^e	-1.958		(18, 21]	-0.427
	Wcmrf ^f	-0.907		> 21	0.780
	Lcmrf ^g	-0.544	Rain 1 day before DoS (mm)	(0.2, 1.5]	0.5995
	Tf ^h	-2.465		(1.5, 6.92]	0.987
				> 6.92	0.706
			Eco-climatic area	Lwf	1.610
				Wcmrf	3.182

Lcmrf	1.691
Tf	-0.125

^a the threshold defining a positive abundance; ^b Coeff.: coefficient; ^c DoS: day of simulation; ^d max.: the maximum limit value for which the estimate of presence and/or abundance can be made; ^e Lwf.: lowland wet forest; ^f Wcmrf: windward coast mountain rain forest; ^g Lwmrf: leeward coast mountain rain forest; ^h Tf: tamarind forest.

Additional file 2 (.mp4): Movie of the spatio-temporal distribution of *C. bolitinos*.

Additional file 3 (.mp4): Movie of the spatio-temporal distribution of *C. enderleini*.

Additional file 4 (.mp4): Movie of the spatio-temporal distribution of *C. grahamii*.

Additional file 5 (.mp4): Movie of the spatio-temporal distribution of *C. imicola*.

Additional file 6 (.mp4): Movie of the spatio-temporal distribution of *C. kibatiensis*.

Additional file 7 (.docx): Table S6. Observed *Culicoides* abundance during the sampling campaign from 07 to 22 March 2018.

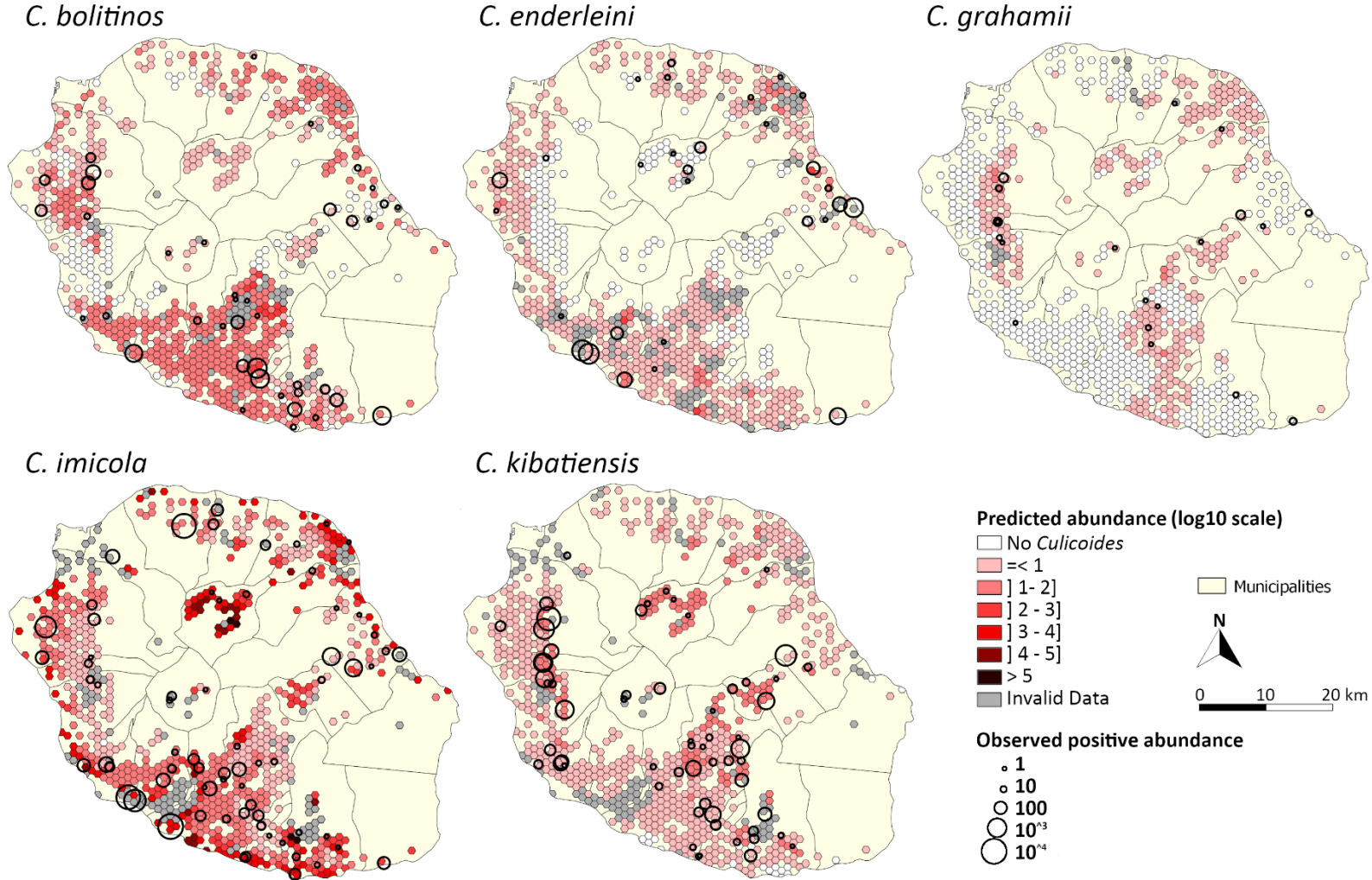
Latitude	Longitude	Date of trapping	Cattle	Sheep & goats	Deer & horses	Other hosts	Total <i>Culicoides</i>	<i>C. bolitinos</i>	<i>C. enderleini</i>	<i>C. grahamii</i>	<i>C. imicola</i>	<i>C. kibatiensis</i>
-21.045	55.7	07/03/2018	18	0	0	0	126	9	114	0	3	0
-21.093	55.736	07/03/2018	26	60	0	0	202	15	175	0	12	0
-21.097	55.755	07/03/2018	0	123	0	0	1106	5	934	9	158	0
-21.112	55.716	07/03/2018	0	90	0	0	8	2	5	0	1	0
-21.114	55.691	07/03/2018	15	0	0	0	584	42	33	5	490	14
-21.304	55.478	07/03/2018	40	0	0	0	46	0	4	0	42	0
-21.308	55.514	07/03/2018	100	0	0	0	16	0	0	0	16	0
-21.317	55.437	07/03/2018	100	0	0	0	8091	0	214	0	7877	0
-21.346	55.53	07/03/2018	40	0	0	0	9	0	0	0	0	9
-21.358	55.538	07/03/2018	19	0	0	0	23	2	0	0	13	8
-21.014	55.496	08/03/2018	10	0	0	0	10	0	0	0	3	7
-21.017	55.544	08/03/2018	10	10	0	20	60	0	50	0	10	0
-21.025	55.507	08/03/2018	0	85	0	20	4	0	2	0	1	1
-21.03	55.471	08/03/2018	9	0	0	0	8	0	0	0	0	8
-21.039	55.462	08/03/2018	8	0	0	0	53	0	1	0	0	52
-21.046	55.526	08/03/2018	3	28	0	30	25	0	23	0	0	2
-21.061	55.527	08/03/2018	0	60	0	0	4	0	4	0	0	0
-21.214	55.53	08/03/2018	50	0	0	0	19	1	0	0	8	10
-21.257	55.51	08/03/2018	38	0	0	0	7	0	0	0	7	0
-21.266	55.536	08/03/2018	49	0	0	0	7	0	0	2	5	0
-21.267	55.484	08/03/2018	14	0	0	0	17	0	0	0	4	13
-21.269	55.491	08/03/2018	60	0	0	0	155	0	3	0	152	0
-20.951	55.686	09/03/2018	1	50	0	20	8	0	7	0	1	0
-21.037	55.668	09/03/2018	0	75	0	0	4	0	0	0	4	0
-21.072	55.72	09/03/2018	0	55	0	0	22	5	9	0	8	0
-21.231	55.469	09/03/2018	35	60	0	0	52	0	0	0	52	0

-21.242	55.476	09/03/2018	25	0	0	0	56	13	0	0	35	8
-21.099	55.661	12/03/2018	60	0	0	0	2507	73	0	27	534	1873
-21.129	55.647	12/03/2018	0	150	0	20	12	0	0	0	10	2
-21.133	55.606	12/03/2018	0	70	0	50	17	0	0	3	0	14
-21.142	55.587	12/03/2018	46	0	0	0	28	0	0	0	0	28
-21.158	55.633	12/03/2018	11	0	0	0	395	0	0	0	0	395
-21.221	55.444	12/03/2018	1	0	0	0	9	0	0	0	9	0
-21.243	55.439	12/03/2018	23	0	0	0	18	0	0	0	18	0
-21.257	55.427	12/03/2018	20	0	0	0	215	0	82	0	133	0
-21.358	55.54	12/03/2018	20	0	0	0	44	0	0	0	40	4
-21.205	55.554	13/03/2018	10	0	0	0	10	0	0	0	0	10
-21.209	55.529	13/03/2018	60	0	0	0	13	5	0	3	0	5
-21.216	55.545	13/03/2018	4	0	0	0	10	3	0	1	0	6
-21.219	55.334	13/03/2018	96	0	0	75	51	0	0	0	0	51
-21.234	55.35	13/03/2018	31	0	0	0	145	9	5	0	0	131
-21.234	55.525	13/03/2018	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-21.236	55.349	13/03/2018	1	80	0	28	386	0	0	3	203	180
-21.236	55.559	13/03/2018	50	0	0	0	23	2	0	0	7	14
-21.239	55.353	13/03/2018	0	100	0	0	33	0	0	0	30	3
-21.244	55.532	13/03/2018	16	0	0	0	490	112	0	7	133	238
-21.249	55.512	13/03/2018	14	0	0	0	93	6	0	0	63	24
-21.279	55.379	13/03/2018	0	99	0	0	7137	0	1584	0	5553	0
-21.132	55.331	14/03/2018	50	0	0	0	12	0	0	1	0	11
-21.133	55.338	14/03/2018	7	0	0	0	22	0	0	0	8	14
-21.167	55.355	14/03/2018	21	0	0	0	678	0	0	0	0	678
-21.237	55.318	14/03/2018	0	150	1	0	126	4	0	0	100	22
-21.29	55.548	14/03/2018	88	0	0	0	84	0	0	0	36	48
-21.304	55.558	14/03/2018	35	0	0	0	1403	1050	0	0	46	307
-21.318	55.562	14/03/2018	18	0	0	0	780	720	0	0	21	39
-21.331	55.573	14/03/2018	71	0	0	0	5	0	0	0	5	0

-21.062	55.328	15/03/2018	13	0	0	0	1645	115	0	10	0	1520
-21.091	55.337	15/03/2018	13	0	0	0	206	0	0	0	0	206
-21.097	55.329	15/03/2018	15	0	0	0	4	0	0	0	4	0
-21.105	55.325	15/03/2018	30	40	12	41	852	8	0	20	16	808
-21.105	55.325	15/03/2018	30	40	12	41	406	9	0	5	0	392
-21.126	55.328	15/03/2018	10	0	0	0	609	0	0	7	15	587
-21.17	55.559	15/03/2018	80	0	0	0	1	0	0	0	0	1
-21.189	55.554	15/03/2018	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-21.205	55.567	15/03/2018	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-21.207	55.596	15/03/2018	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-21.301	55.539	15/03/2018	3	0	0	0	144	78	0	0	36	30
-20.967	55.36	16/03/2018	0	12	0	15	155	0	0	0	145	10
-21.029	55.331	16/03/2018	9	0	0	0	183	30	7	0	33	113
-21.048	55.334	16/03/2018	0	30	30	0	5173	198	0	28	68	4879
-21.057	55.267	16/03/2018	40	0	0	0	2295	37	219	0	2002	37
-21.097	55.262	16/03/2018	20	0	0	0	173	61	4	0	108	0
-21.205	55.594	16/03/2018	57	0	0	0	1	0	0	0	0	1
-21.219	55.597	16/03/2018	1	120	0	0	742	0	0	0	0	742
-21.235	55.581	16/03/2018	95	0	0	0	35	0	0	0	9	26
-21.235	55.598	16/03/2018	3	0	0	0	13	0	0	0	0	13
-21.26	55.599	16/03/2018	65	0	0	0	103	0	0	0	0	103
-21.305	55.63	19/03/2018	55	0	0	0	120	0	0	0	0	120
-21.332	55.652	19/03/2018	26	0	0	0	43	28	0	7	1	7
-21.346	55.668	19/03/2018	50	0	0	0	108	104	0	0	2	2
-21.367	55.731	19/03/2018	50	0	0	0	1106	653	360	13	80	0
-21.369	55.639	19/03/2018	25	0	0	0	14	7	0	0	7	0
-20.908	55.505	20/03/2018	0	24	0	0	81	0	12	0	69	0
-20.926	55.5	20/03/2018	13	0	0	0	49	0	7	0	42	0
-20.927	55.656	20/03/2018	3	30	0	0	5	0	4	0	1	0
-20.928	55.459	20/03/2018	14	0	0	0	5796	0	4	0	5792	0

-20.963	55.673	20/03/2018	0	200	0	50	0	0	0	0	0	0	
-21.283	55.388	20/03/2018	70	0	0	0	4373	480	1440	0	2453	0	
-21.327	55.614	20/03/2018	45	0	0	0	54	15	0	0	8	31	
-21.336	55.615	20/03/2018	40	0	0	0	43	17	0	0	0	26	
-21.34	55.591	20/03/2018	20	0	0	0	23	6	0	0	6	11	
-21.358	55.61	20/03/2018	55	0	0	0	238	147	0	0	14	77	
-21.381	55.608	20/03/2018	30	0	0	0	66	7	0	0	59	0	
-20.9	55.558	21/03/2018	0	34	0	0	4	4	0	0	0	0	
-20.953	55.615	21/03/2018	9	45	0	0	14	0	6	0	8	0	
-20.954	55.571	21/03/2018	0	0	400	0	36	0	0	1	35	0	
-20.988	55.636	21/03/2018	3	16	0	0	17	3	2	1	9	2	
-20.99	55.647	21/03/2018	0	110	0	0	0	0	0	0	0	0	
-21.154	55.437	21/03/2018	3	0	0	0	17	1	0	0	8	8	
-21.14	55.487	22/03/2018	1	0	0	3	65	1	0	1	4	59	
-21.148	55.44	22/03/2018	10	0	0	3	46	0	0	0	23	23	
							Total	50526	4087	5314	154	26908	14063

Additional file 8 (.png): Figure S1. Predictions of average abundances and observations of positive abundances of *Culicoides* during the sampling campaign from 07 to 22 March 2018.



Chapitre III : La circulation des virus de la fièvre catarrhale ovine et de la maladie hémorragique épizootique dans les populations de *Culicoides*

Le rôle vecteur d'une espèce se détermine à partir d'arguments scientifiques (WHO, 1975) dont l'évaluation du niveau de compétence vectorielle qui fait référence à la capacité d'un vecteur à soutenir l'infection, la réplication, la dissémination et la transmission ultérieure d'un agent pathogène aux hôtes sensibles (Goddard, 2009). Définir la compétence vectorielle d'un arthropode hématophage pour un agent infectieux est un prérequis essentiel pour le considérer comme étant vecteur. Cependant, cet argument nécessite la réalisation d'expérimentations qui peuvent être difficiles selon les modèles biologiques à cause de limites technologiques. En effet, ces expérimentations demandent des colonies d'insectes maintenues en laboratoire ou le maintien au laboratoire d'individus sauvages. Deux autres arguments sont importants et souvent utilisés à défaut d'avoir une évaluation du niveau de compétence vectorielle. Le taux de contact entre l'hôte et le vecteur et la preuve de la circulation de l'agent pathogène dans les populations sauvages par détection moléculaire ou isolement.

Malgré la difficulté de maintenir des individus sauvages au laboratoire, des essais expérimentales ont montré que *C. imicola* et *C. bolitinos* pouvaient être infectés et permettre la réplication de BTV et/ou d'EHDV (Paweska et al., 2005; Paweska et al., 2002; Venter et al., 2006b; Venter et al., 1998; Venter et al., 2011). La répétition de ces essais a conforté l'idée que ces deux espèces sont compétentes vis-à-vis de ces virus.

En ce qui concerne les *Culicoides*, très peu d'études démontrant la circulation des virus d'intérêt existent. Le niveau de circulation généralement faible (1 pour mille) et l'exploration couteuse et longue des populations pour la détection de l'agent pathogène sont souvent avancées pour expliquer le manque d'études. Parmi les 5 espèces recensées à La Réunion, BTV n'a été retrouvé que chez *C. imicola* en Italie (Goffredo et al., 2015a) et quelques pays d'Afrique (Goffredo et al., 2015b; Mellor et al., 2000), chez *C. enderleini* au Soudan (Mellor et al., 1984) et en Afrique du Sud (Venter et al., 2006b) et chez *C. bolitinos* en Afrique du Sud (Gerdes, 2004). Quant à EHDV, le virus n'a jamais été retrouvé chez les 5 espèces recensées à La Réunion. Parmi l'ensemble des espèces de *Culicoides*, EHDV (EHDV-4) n'a été isolé que chez *C. schultzei* au Soudan (Mohammed and Mellor, 1990). Certaines de ces études montrent des taux minimum d'infection qui diffèrent entre pays et entre régions d'un même pays. Pour *C. imicola*, le taux minimum d'infection était de 0,15% en Namibie (Goffredo et al., 2015b) et variaient entre 1% et 3,1% selon les régions d'Italie (Goffredo et al., 2015a). Le niveau de coadaptation entre les différents sérotypes d'un virus et le vecteur (Venter, 2015), les différences de susceptibilité et de virémie chez les hôtes (Bonneau et al., 2002; Caporale et al., 2014; Singer et al., 2001) et la variabilité des facteurs climatiques dont la température (Mullens

et al., 2004; Wittmann et al., 2002) peuvent affecter l'intensité de transmission, expliquant ainsi les différences de taux d'infection d'un vecteur. De plus, l'estimation du taux minimum d'infection des espèces ou des populations telle que présentée dans la plupart des études présente un biais car elle ne prend pas en compte la taille des échantillons testés. Ceci a été démontré chez des moustiques (Bustamante and Lord, 2010; Gu et al., 2004; Gu et al., 2003) et les auteurs ont alors proposé une méthode statistique pour estimer le taux réel d'infection. Selon nos connaissances, aucune étude n'a estimé le taux réel d'infection par BTV ou EHDV au sein d'une population sauvage de *Culicoides*.

A La Réunion, il est tout à fait plausible que *C. imicola*, *C. bolitinos* et potentiellement *C. enderleini* participent à la transmission de BTV ou d'EHDV, de par leur abondance dans les élevages réunionnais ainsi que leur compétence vectorielle connue et les isollements sur des spécimens sauvages démontrés ailleurs et son abondance uniquement pour la première espèce. Cependant, leurs taux d'infections par BTV et EHDV restent inconnus. Le rôle des autres espèces n'ayant jamais été investigué n'écarte pas l'hypothèse qu'elles puissent aussi participer à la transmission de ces virus à La Réunion. L'identification des vecteurs potentiels apportera un éclairage sur la complexité épidémiologique de la BT et de l'EHD. Aussi, en réalisant la recherche de virus sur des échantillons de captures répétées de *Culicoides* dans le temps, il est alors possible d'apprécier la variation temporelle des taux d'infection et d'en déduire la dynamique de la circulation virale dans les populations de vecteurs. Cette approche n'a d'ailleurs jamais été réalisée sur des populations sauvages de *Culicoides*. Ce troisième chapitre estime donc les taux minimum d'infection et les taux réels d'infection de toutes les espèces réunionnaises par BTV et EHDV. Cette investigation repose sur la détection de particules virales par RT-PCR dans des lots composés d'un maximum de 50 femelles non-gorgées d'une espèce donnée. Afin d'apprécier la circulation de BTV et d'EHDV dans les populations de *Culicoides*, les mesures ont été effectuées sur des échantillons issues de 26 mois de captures bimensuelles.

Les résultats montrent que toutes les espèces de *Culicoides* présentes à La Réunion seraient impliquées dans la transmission de BTV et/ou d'EHDV. Plus précisément, chacune de ces deux orbiviroses ferait intervenir quatre espèces (*C. enderleini* a été retrouvé positif que pour BTV et *C. grahamii* que pour EHDV). Les espèces les plus abondantes et/ou les plus souvent collectées dans les élevages seraient particulièrement impliquées. L'analyse de la circulation des deux virus conforte l'idée que celui de l'EHD circule de façon épizootique *versus* une circulation enzootique à bas bruit sur toute l'année pour celui de la BT. D'un point

de vue spatial, la circulation des deux virus est plus effective dans l'ouest, le sud et le centre de l'île de La Réunion. A l'est de l'île, des incursions sont parfois constatées.

Le potentiel de transmission par plusieurs espèces vectrices complique l'épidémiologie de la BT et de l'EHD et suggère des limitations pour d'éventuelles actions de prévention et de contrôle ciblant les vecteurs. La circulation continue de BTV dans les *Culicoides* suggère des infections récurrentes, sûrement via les ruminants d'élevage à proximité. En ce qui concerne le virus de l'EHD, le fait qu'il soit détecté dans les populations de *Culicoides* seulement durant les 4 premiers des 26 mois de suivi soulève la question d'un cycle sauvage, notamment parmi les cerfs rusa présents dans les hauteurs de l'île.

Ce travail sera publié prochainement dans Acta Tropica.

Assessing infectious rates in field-collected *Culicoides* populations: Large scale study of Bluetongue and Epizootic Hemorrhagic Disease Virus infectious rates in *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) present in Reunion Island, Indian ocean

Claire Garros^{1,2*}, Yannick Grimaud^{1,2,3*}, Floriane Boucher^{1,2}, Eric Cardinale^{1,2}, Olivier Esnault², Hélène Guis^{2,4,5,6}, Annelise Tran^{7,8}, Thomas Balenghien^{2,8,9}, Catherine Cetre-Sossah^{1,2*}

* Equal contributions

1 Cirad, UMR ASTRE, F-97490 Ste Clotilde, La Réunion, France

2 ASTRE, Univ Montpellier, Cirad, INRA, Montpellier, France

3 GDS 974, 1 rue du Père Hauck, 97418 La Plaine des Cafres, La Réunion, France

4 Cirad, UMR ASTRE, Antananarivo, Madagascar

5 Institut Pasteur de Madagascar, Epidemiology and clinical research unit, Antananarivo, Madagascar

6 FOFIFA DRZVP, Antananarivo, Madagascar

7 Cirad, UMR TETIS, F-97490 Ste Clotilde, La Réunion, France

8 Cirad, UMR ASTRE, Rabat, Morocco

9 IAV Hassan II, MIMC, Rabat, Morocco

Corresponding authors: Claire.garros@cirad.fr, yannick.grimaud@gds974.re

Abstract

Characterizing the vector role of a species is mandatory to understand and quantify the whole host-vector-pathogen interplay, but is not a trivial issue. This role has to be assessed for each suspected vector species, but also at the population level. Indeed, populations could exhibit biological and ecological variations that could amplify or limit their epidemiological role in transmitting pathogens to human and animal populations. In this work, we have concentrated on the five *Culicoides* species present in Reunion Island, aiming to quantify their infectious rates for two viruses (bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses) during a two-year period, in order to compare them to the current infectious rates in other locations in the Afrotropical region.

Background

Three criteria are usually used to define the vector role of a species: observations of contact between relevant host and vector species in places and in period of transmission, confirmation of vector competence and evidences of infection of field-collected populations, meaning in natural conditions. There is a tremendous corpus of literature for mosquito species, however, this is limited for *Culicoides* species, biting midges involved in virus transmission to wild and domestic ruminants (bluetongue virus BTV, epizootic hemorrhagic disease virus EHDV, Schmallenberg virus SBV) as well as equines (African horse sickness virus AHSV).

The mammophilic trophic behavior of most of *Culicoides* species has been well described these past years worldwide, even if this biological trait could vary depending on the season and host availability. The most abundant and widespread species in the Afrotropical region are recognized as ruminant or equine related species.

Most often, the vector role of a species is resumed to its vector competence, which is the intrinsic and genetically driven ability of a species to acquire, multiply, and transmit pathogens. For arthropod species of medical and veterinary interest, the vector competence of a species is demonstrated by lab experimentation with forced infectious blood meals or intrathoracic pathogen injections with a regular follow up of viral titers in arthropod body parts. Sufficient viral titers in saliva is considered a sound argument for a good vector species. Vector competence studies on *Culicoides* species are rare because they are difficult to conduct. First, the maintenance of *Culicoides* lab colonies is complicated by large mortality when introducing the F0 field collected stages, limited mating and blood meal intake or by unbalanced sex ratio. Only two species worldwide have successfully been colonized and maintained artificially. Second, these experimentations used cohorts of females of same age and are run most of the time at constant temperature under controlled conditions which standardized results but poorly represent the natural conditions. Some authors have underpinned the difficulty of maintaining lab colonies and have used field-collected females to conduct vector competence studies. This was feasible thanks to the high abundance of local *Culicoides* populations that counterbalanced the mortality in the collected sample. However, the main reason limiting the characterization of the vector role of *Culicoides* relies in methodological constraints and limitations to satisfy this second criterion.

At last, the level of infection of populations in natural conditions can be quantified. Although this criterion alone could not preclude of the vector role of a species, it may be used with the

level of host-vector contact to fairly address the implication of a species in the transmission of a pathogen. For *Culicoides*, given that vector competence studies are difficult to conduct, the natural level of infection of populations is usually used as a good proxy of vector role. For instance, virus detection in field-collected *Culicoides* individuals was used as the main evidence of the role of Palearctic *Culicoides* species in the SBV transmission during investigations in five European countries.

In the Afrotropical region, and mentioning only the five species present in La Réunion Island, *C. imicola*, *C. bolitinos* and *C. enderleini* are known for their vector role. The vector competence of *C. imicola* and *C. bolitinos* has been demonstrated in the laboratory for several viruses and its host preference towards horses and ruminants has been documented which makes this species a major vector species for BTV, AHSV and EHDV in the Afrotropical region. A recent study in Namibia confirmed low infectious rate of field-collected *C. imicola* populations for AHSV. *Culicoides enderleini* is highly suspected to be implicated in BTV transmission based on laboratory susceptibility studies and BTV isolations in South African *Culicoides* populations. No evidence exists to support the vector role of *C. grahamii* and *C. kibatiensis* in the transmission of *Culicoides*-associated viruses.

Determining the role of species in the transmission of arboviruses relies on an accurate estimate of the proportion of infected individuals in an area. Basically, there are two methods for estimating the proportion of infected individuals from pooled samples. One is the widely used minimum infection rate (MIR), which is calculated as the ratio of the number of positive pools to the total number of mosquitoes tested. The underlying assumption of the MIR is that only one infected individual exists in a positive pool. This assumption is valid for arboviruses that are relatively rare, but it becomes problematic when infection rates are high and/or pool sizes are large. The other method of estimating the proportion of infected individuals in pooled samples is the maximum likelihood estimation (MLE), which is defined as the infection rate most likely observed given the testing results and an assumed probabilistic model (i.e., binomial distribution of infected individuals in a positive pool). The former estimates the lower bound of the infection rates, while the latter estimates infection rate itself. Although the values generated by the two methods are not typically different when infection rates are low and pool sizes small, the difference can be significant in other conditions. The *Culicoides* literature reported mostly MIR calculations and the MIR and MLE comparison have never been done. Studies confirmed the relative low infection prevalence in field-collected *Culicoides*, ranging from approximately 1 per thousand to 1%.

We aimed at characterizing the vector role of the 5 Afrotropical *Culicoides* species present in Reunion Island for both BTV and EHDV, assessing infectious rates using two estimates and giving new insights into the spatial and temporal dynamics of the viruses for a tropical zone of transmission. The infectious rates were assessed using populations collected every two weeks, at 11 sites, during a two-year period.

Material and Methods

Midge collections

Fortnightly catches were conducted from 01/12/2016 to 02/21/2018 using an Onderstepoort Veterinary Institute (OVI) black-light trap in 11 study sites (Figure 1). One site (PL04) was prospected from 01/20/2016 to 02/20/2018 with a 2 months stop (from 06/09/2016 to 02/11/2016) because of official sanitary regulations and collection started on the 11/15/2016 for the PL11.

Traps were placed at 1.5 m to 1.8 m above the ground during 24h (± 1 h) at the interface between inside and outside animal holdings or at the edge of the enclosure. For optimal preservation and identification, all insects were collected in water containing drop of liquid soap and transferred in 70% alcohol until their identification. All *Culicoides* were morphologically identified under a stereomicroscope to species level based on a morphological identification key relevant for Reunion Island (Desvars et al., 2015). Large samples over 4 ml were sub-sampled to 3 ml of sedimented insect following a modified procedure described by Van Ark & Meiswinkel (Van Ark and Meiswinkel, 1992) to estimate the total number of *Culicoides*. Sex was also recorded.

BTV and EHDV detection in midge pools

RNA was extracted using high-throughput assays from pools (up to three pools per species/site/night) of maximum of 50 whole midges according to the Nucleospin 96 virus core kit (Macherey Nagel, Duren, Germany). Homogenization was conducted in 200uL PBS buffer using two stainless steel beads in a TissueLyser (Qiagen, Germantown, USA) (two shakes, 30 s 30 hz each). Real-time reverse transcription (RT)-PCR tests were performed using the either the pan-BTV segment 5 (Toussaint et al., 2007) or the pan-EHDV segment 9 (Viarouge et al., 2015) with beta actin as the endogenous control, with AgPath-One-Step RT-PCR Reagents (Ambion, Life Technologies, USA) on a MX3005P Real-Time Cycler (Stratagene, Santa Clara, CA, USA). Data collected using the MxPro Mx3005P software (Stratagene, Santa Clara, CA,

USA). The real-time RT-PCR cut-off value was set at a cycle threshold (Ct) of 37 cycles. Weak positive results with $37 < Ct < 45$ were tested two times to confirm positivity. The cut-off value was based on previous laboratory vector competence studies (Veronesi et al., 2013) showing that a Ct value above 37 is the upper limit of a sub-transmissible infection. A similar value was used by Goffredo et al. (2013).

MIR and MLE calculations

The most basic form of arthropod-based surveillance data is the number of positive arthropod pools found in collections of a particular species over a defined time period and area. Estimates of the infection rate (IR) are usually presented as the number of infected specimens per 1,000 tested. The minimum infection rate (MIR) is calculated as: $([\text{number of positive pools}/\text{total specimens tested}] \times 1000)$, with the data representing a single species collected over a time period and a geographic area. The MIR uses the assumption that a positive pool contains only one infected specimen, an assumption that may underestimate the IR when infection rates are high. The other method of estimating the proportion of infected individuals in pooled samples is the maximum likelihood estimation, which is defined as the infection rate most likely observed given the testing results and an assumed probabilistic model (i.e., binomial distribution of infected individuals in a positive pool). The former estimates the lower bound of the infection rates, while the latter estimates infection rate itself (also called True Infectious Rate). Although the values generated by the two methods are not typically different when infection rates are low and pool sizes small, the difference can be significant when these conditions are violated.

Both MIR and MLE were calculated for all the tested species using the R package *binGroup*.

Results

A total of 33,199 individuals representing 1,500 pools were molecularly screened for the presence of both viruses (Table 1). The number of individuals tested per species is representative of the species abundance on the island. Size pools for the 5 species ranged from 1 to 50 females, except for the lowest abundance species, *C. enderleini*, for which pool size ranged from 1 to 20 females. Given the Ct cut-off values, 37 and 14 pools were retained as positive pools for respectively BTV and EHDV. No BTV positive pools were detected among

the 173 *C. grahamii* tested pools, and no EHDV positive pools were detected among the 69 *C. enderleini* tested pools (Table 1).

To assess appropriately MIR and MLE without over- or under-estimation of these parameters, we considered site/date with positive pools for each virus. This reduced the data set to 29 site/date for BTV (Table 2) and 12 site/date for EHDV (Table 3).

The 29 BTV positive site/date represented 3,045 individuals for 104 pools for the 5 species (Table 2). Positive occurrence represents the frequency of capture for a species in site/date where virus was detected. Hence, *C. imicola* is frequently collected (75.9%) while the three others species are moderately collected (34.5-48.3%) in positive site/date. The mean MIR and MLE were respectively 1.215 and 1.571 %. Strong variations were observed between species and MLE were higher compared to MIR for the 4 species. Infectious rates for *C. bolitinos*, *C. imicola* and *C. kibatiensis* were in the same range, from 0.9 to 1.7 % for MIR and from 1.1 to 2.1 % for MLE. However, both MIR and MLE for *C. enderleini* were very high reaching 16% (Table 2).

The 12 EHDV positive site/date represented 1,831 individuals for 60 pools for the 5 species (Table 3). *Culicoides bolitinos* and *C. kibatiensis* were very frequently collected (83.3%), while *C. imicola* and *C. grahamii* were moderately caught (Table 3). Infectious rate is lower compared to the one reported for BTV, with a MIR of 0.915 % and a MLE of 0.765 %. The four positive species showed comparable MIR and MLE (from 0.526 to 1.22 %; from 0.587 to 1.450 %) and no strong difference was observed between MIR and MLE for each species. The highest MIR and MLE was obtained for *C. grahamii* (Table 3).

Temporal and spatial dynamics of infectious rates

Positive pools for BTV were observed along the time frame covered by the sample collection (January 2016 to February 2018). No positive detection was recorded during July 2016, May to August 2017, October 2017 and January 2018 (Figure 1). BTV infectious rates of *C. imicola* and *C. bolitinos* showed a clear seasonal pattern reaching maximum rate with or after the rainy season (more than 5%), with an unexpected peak for *C. imicola* end of 2017 (above 15%). No detection of BTV was made for *C. bolitinos* for the 2017-2018 rainy season (Figure 1). The two other species (*C. enderleini* and *C. kibatiensis*) showed very high infectious rate (50 to 100%) without specific seasonal patterns. This could be related to small pool numbers at specific times. A total of 92 % of the positive pools were localized in the West or South part of the island, the other positive pools were in the highlands area (2 pools) and in the East part (1 pool). Two sites

(974PL2 and 974PL9) represent respectively 32% and 16% of the total number of positive pools.

Interestingly, positive pools for EHDV were only detected from January to April 2016 (Figure 2). *Culicoides imicola* and *C. bolitinos* infectious rates are EHDV positive pools were detected in the West and South part of the island (9 pools), 4 pools in the highlands and 1 in the East coast (Figure 2).

Discussion

This study emphasizes the importance of long-term collection to assess the vector role of species and characterize the virus circulation dynamics into natural populations. Our results confirm the epidemiological importance of *C. imicola*, *C. bolitinos* and *C. enderleini* and question on the potential role of *C. kibatiensis* and *C. grahamii*. This is the first report of virus detection for these two species. Overall, our work show that the five species could be involved in BTV or EHDV transmission with different infection level. Our study for the first time described the spatial and temporal dynamics of two main orbiviruses for the whole *Culicoides* diversity present on a territory. We showed that EHDV circulated only four months over the studies period. This could be due to a very low level of infection or a change in epidemiological pattern for a more sylvatic cycle. Conversely, BTV was observed circulating along the two year period. We hypothesized that although transmitted by the same species, the two diseases do not share the same epidemiological pattern, BTV being enzootic while EHDV being epizootic.

Infectious rates were also assessed for field-collected populations based on large dataset of samples collected in 11 sites for two years and two months. MIR and MLE were in the range of previous publications with differences among species. As found previously in other regions, the low level of infection of the field-collected populations is certainly counterbalanced by the high abundance of these species and may ensure virus transmission. Along with studies considering the host-virus replication component, this helps understanding the underlying mechanisms allowing *Culicoides*-borne virus transmission. The assumption that competence for orbiviruses might be widespread in the genus *Culicoides* encourages further assessment of the role of each species in relation to its abundance and seasonality. Meanwhile, the potential involvement of numerous species in virus transmission, each exhibiting different bionomics and phenology, greatly increases the complexity of the epidemiology of *Culicoides*-borne viruses.

Rapport-Gratuit.com

Figures legends

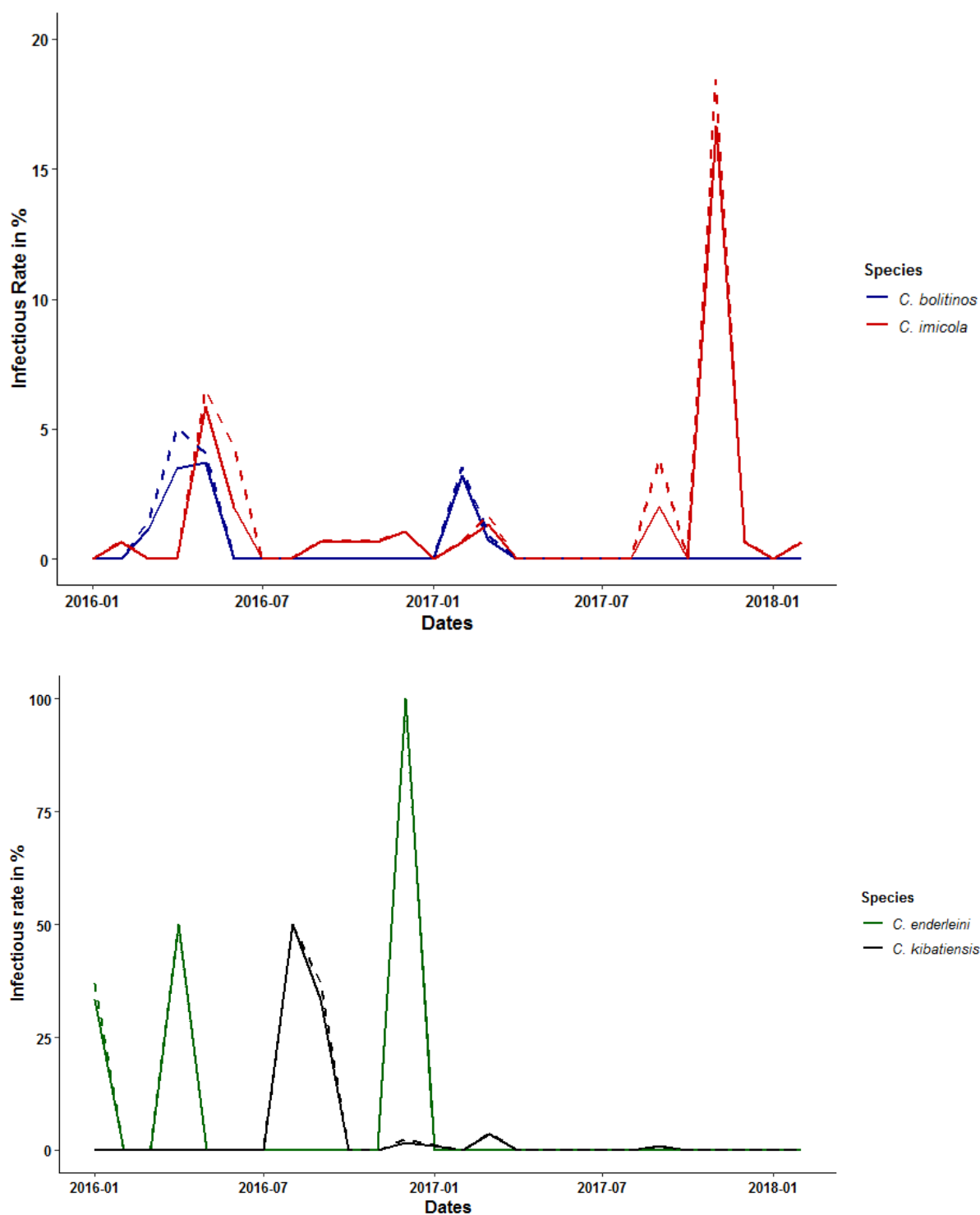


Figure 1. Dynamics of infectious rate for BTV. Plain line represents minimum infectious rate and dashed line is MLE.

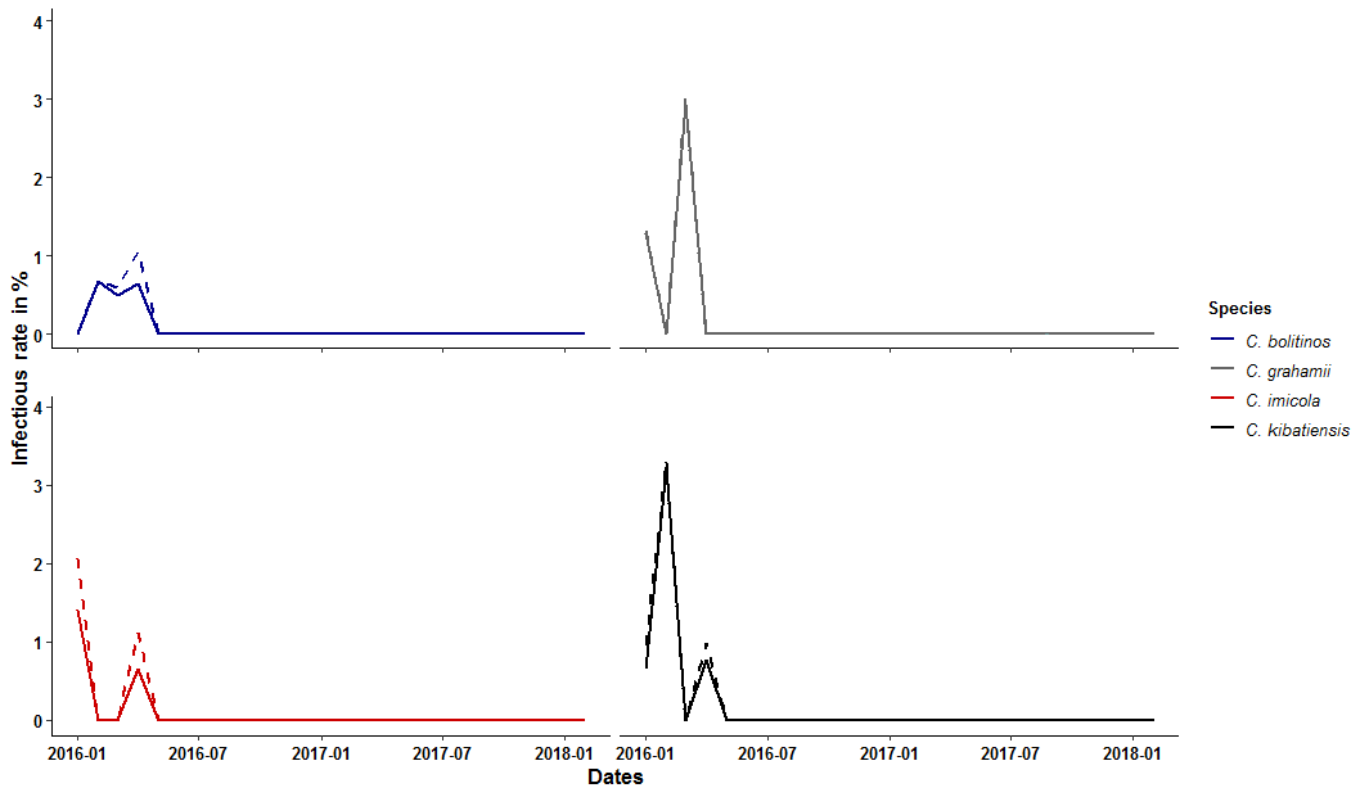


Figure 2. Dynamics of infectious rate for EHDV. Plain line represents minimum in factious rate and dashed line is MLE.

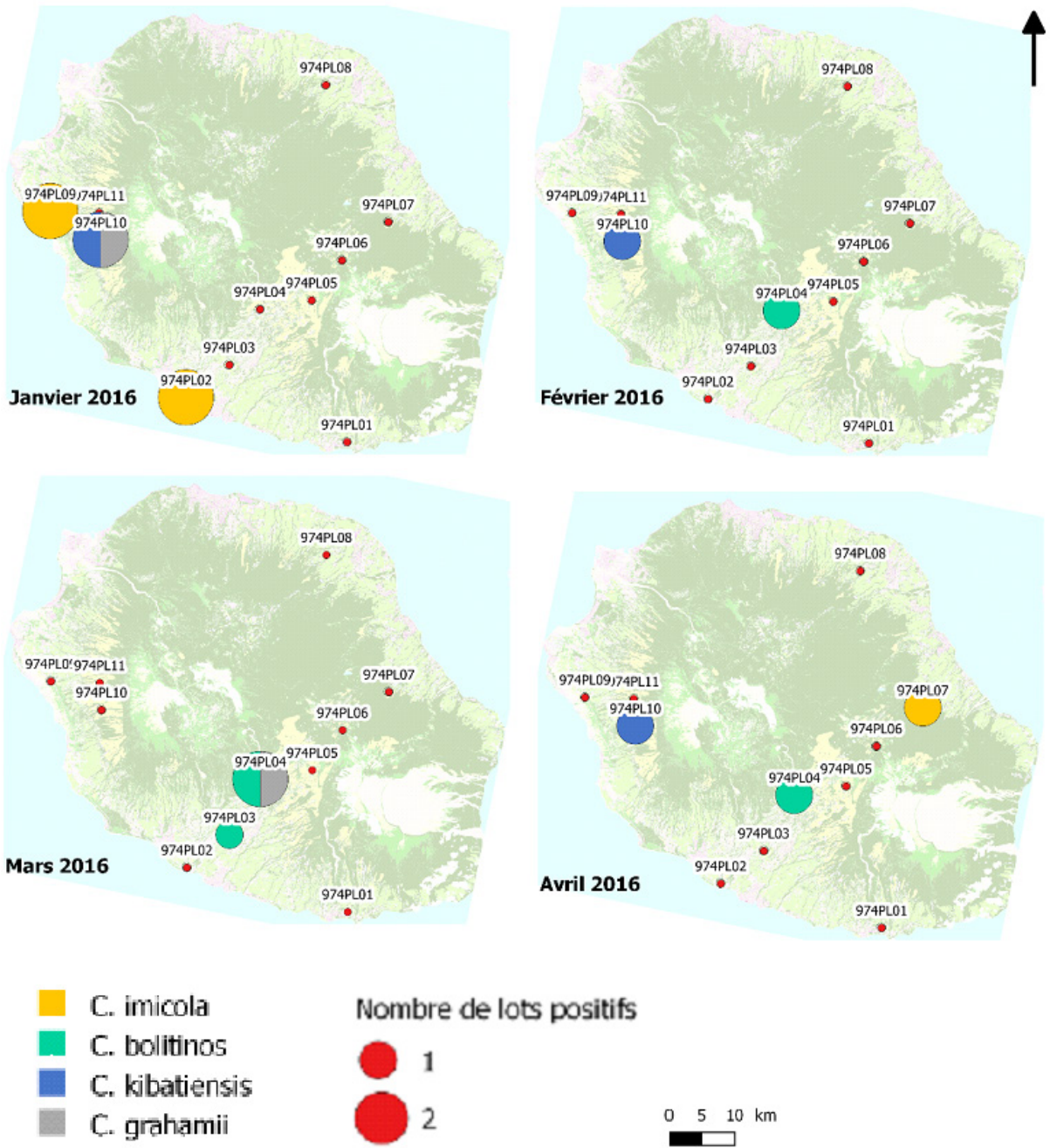


Figure 3. Spatial dynamics of EHDV.

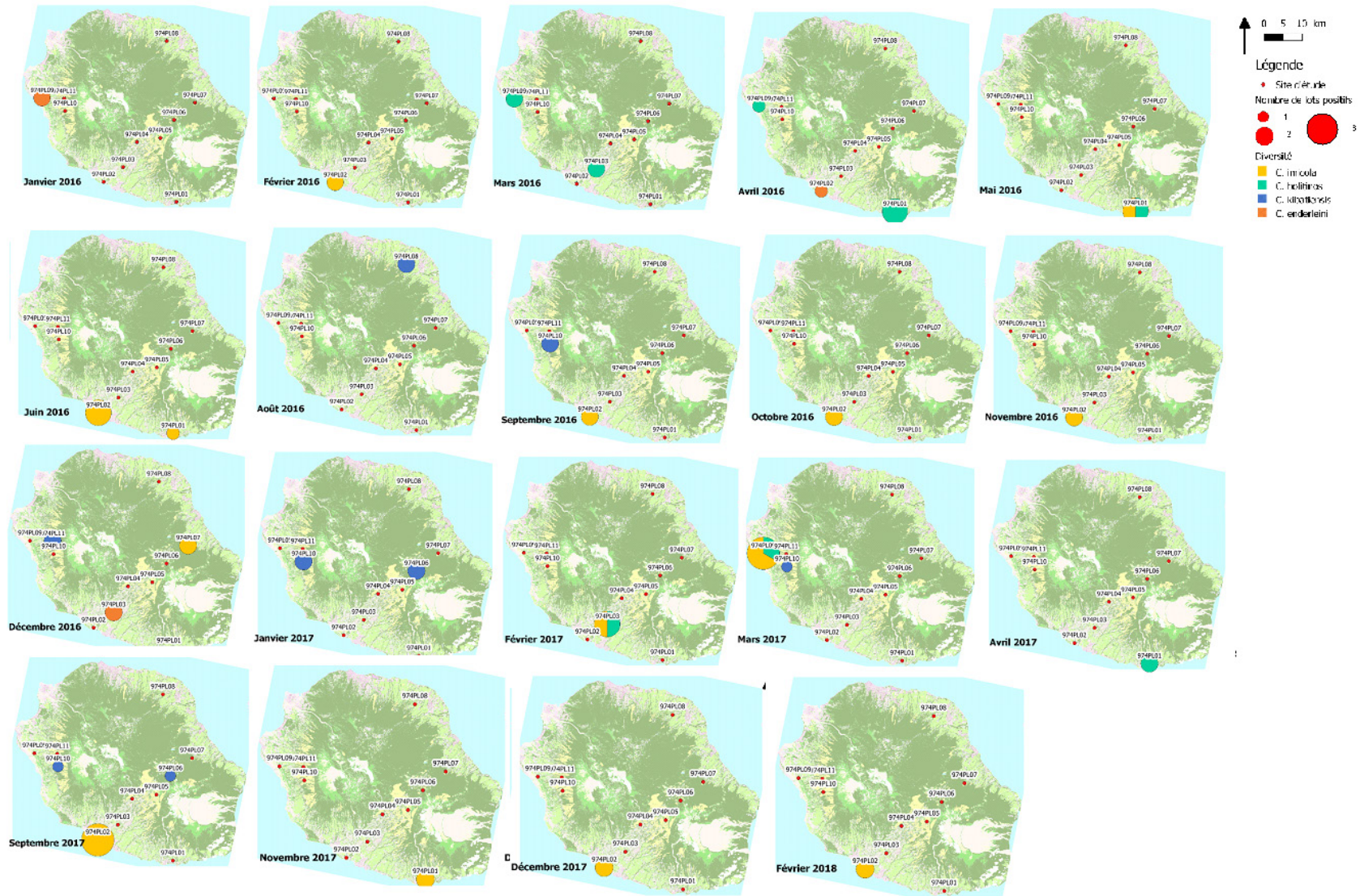


Figure 4. Spatial dynamics of BTV.

Tables

Table 1: Number of individuals, pools tested and positive pools by species and by virus. Nb = Number, ind = individuals.

	Nb ind tested	Nb pools tested	Size pool	Nb positive pools for BTV	Nb positive pools for EHDV
<i>C. bolitinos</i>	4023	277	[1 – 50]	8	4
<i>C. enderleini</i>	205	69	[1 – 20]	3	0
<i>C. grahamii</i>	1333	173	[1 – 50]	0	2
<i>C. imicola</i>	15475	517	[1 – 50]	18	5
<i>C. kibatiensis</i>	12163	464	[1 – 50]	8	3
Total	33199	1500	[1 – 50]	37	14

Table 2: Number of individuals and pools tested for the 29 site/date with BTV positive pools. *Number of site/date with the species being collected (among all the BTV positive site/date). MIR= Minimum Infectious Rate, MLE= Maximum Likelihood Estimates, CI= confidence interval

	Nb ind.	Nb pools	Size pool	Nb positive pools	Positive occurrence*	MIR [CI] in %	MLE [CI] in %
<i>C. bolitinos</i>	521	20	[1 – 50]	8	14 (48.3%)	1.536 [0.48 – 2.591]	2.138 [1.013 – 4.24]
<i>C. enderleini</i>	19	10	[1 – 5]	3	10 (34.5%)	15.789 [0 – 32.185]	16.070 [4.743 – 36.842]
<i>C. grahamii</i>	17	7	[1 – 5]	0	7 (24.1%)	0	0
<i>C. imicola</i>	2004	47	[1 – 50]	18	22 (75.9%)	0.898 [0.485 – 1.311]	1.114 [0.69 – 1.734]
<i>C. kibatiensis</i>	484	20	[1 – 50]	8	14 (48.3%)	1.653 [0.517 – 2.789]	2.140 [1.076 – 4.076]
Total	3045	104		37	29	1.215 [0.826 – 1.604]	1.571 [1.138 – 2.136]

Table 3: Number of individuals and pools tested for the 12 site/date with EHDV positive pools. *Number of site/date with the species being collected (among all the EHDV positive site/date). MIR= Minimum Infectious Rate, MLE= Maximum Likelihood Estimates, CI= confidence interval

	Nb ind.	Nb pools	Size pool	Nb positive pools	Positive occurrence*	MIR [CI] in %	MLE [CI] in %
<i>C. bolitinos</i>	761	20	[2 – 50]	4	10 (83.3%)	0.526 [0.012 – 1.039]	0.587 [0.193 – 1.441]
<i>C. enderleini</i>	4	2	[1 – 3]	0	2 (16.7%)		
<i>C. grahamii</i>	164	8	[1 – 50]	2	7 (58.3%)	1.220 [0 – 2.899]	1.450 [0.265 – 5.301]
<i>C. imicola</i>	499	15	[1 – 50]	5	8 (66.7%)	1.002 [0.128 – 1.876]	1.237 [0.473 – 2.833]
<i>C. kibatiensis</i>	403	15	[2 – 50]	3	10 (83.3%)	0.744 [0 – 1.584]	0.829 [0.224 – 2.304]
Total	1831	60	[1 – 50]	14	12	0.915 [0.525 – 1.510]	0.765 [0.366 – 1.164]

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

DISCUSSION GENERALE

Les travaux menés dans cette thèse s'inscrivent dans le contexte de l'épizootie d'EHD de 2015-2016 à La Réunion qui a soulevé l'intérêt des éleveurs, des filières et des autorités locales vis-à-vis des « bavites » dans un contexte marqué par le passé par des épisodes de BT. A cette occasion, les tentatives de prévention et de contrôle de ces maladies virales transmises par les *Culicoides* se heurtèrent à un manque important de connaissances sur leurs épidémiologies, notamment sur la composante vectorielle.

Nos travaux se sont donc intéressés à explorer la diversité du genre *Culicoides* dans les élevages de l'île de La Réunion. Le statut insulaire (territoire aux frontières géographiques marquées) et la faible diversité spécifique (5 espèces recensées dans les élevages réunionnais) constituent des atouts pour mener des études éco-épidémiologiques comparativement aux territoires européens où la diversité en espèces est bien plus grande et limitante pour développer des approches similaires (jusqu'à 100 espèces recensées dans les élevages européens). Les objectifs de cette thèse étaient 1) de caractériser les interactions entre les 5 espèces de *Culicoides* présentes à La Réunion et les facteurs climatiques et environnementaux, 2) de définir leurs distributions temporelles et spatiales à l'échelle de l'île, 3) de décrire la circulation des virus de la BT et de l'EHD dans les populations naturelles de *Culicoides* afin d'identifier les vecteurs potentiels de ces deux virus. Pour répondre à ces objectifs, nous avons mis en place des captures bimensuelles de *Culicoides* dans 11 élevages de l'île de La Réunion pendant 26 mois. Les facteurs climatiques et environnementaux associés à chacune de ces observations ont été compilés et analysés par des modèles de haie (« hurdle ») pour en prédire leurs effets sur la présence et l'abondance de chacune des espèces (chapitre 1). Ces modèles de haie, modélisant la dynamique temporelle de chaque espèce dans nos 11 sites d'étude, ont ensuite été extrapolés à l'ensemble des élevages de l'île afin d'établir la dynamique spatio-temporelle de chacune des espèces de *Culicoides* sur l'ensemble du territoire (chapitre 2). Enfin, en utilisant toute la diversité capturée pendant le suivi entomologique de 26 mois, des détections moléculaires ont été réalisées sur des lots mono-spécifiques de femelles non gorgées de *Culicoides*, afin de déterminer pour chacun des 2 virus (BTV, EHDV) le taux d'infection des populations naturelles pour les 5 espèces et de caractériser la dynamique de l'infection (chapitre 3).

Ainsi, les principaux résultats de cette thèse apportent des connaissances originales sur l'écologie et la dynamique des 5 espèces de *Culicoides* de La Réunion et donnent des éléments de compréhension sur leurs implications respectives dans la transmission de BTV et d'EHDV.

Ces résultats permettent également de proposer des hypothèses pour expliquer l'épidémiologie de la BT et de l'EHD dans l'île et mieux comprendre l'occurrence des cas cliniques rapportés. Plus généralement, ce travail propose une nouvelle approche de modélisation qui pourrait être décliné pour d'autres communautés d'espèces ou territoires. Il permet enfin d'approfondir les connaissances sur les *Culicoides* afrotropicaux vecteurs d'arboviroses et de fournir des prérequis pour l'élaboration d'outils de surveillance entomologique nécessaires aux stratégies de prévention et de contrôle.

Dans cette discussion, nous aborderons en premier lieu les limites et les contraintes liées aux méthodologies d'échantillonnage, de modélisations et de détection de génome viral de BTV et d'EHDV dans les populations naturelles des *Culicoides*. En second lieu, nous confronterons nos résultats à la littérature portant sur l'écologie et la dynamique des *Culicoides* de La Réunion et nous caractériserons le rôle vecteur de chacune des espèces en tenant compte des nouvelles données obtenues lors de ces travaux. Ensuite, à l'aide de ces résultats, nous discuterons de l'épidémiologie de la BT et de l'EHD dans le contexte local. Enfin, nous ouvrirons cette discussion sur les perspectives opérationnelles de ce travail à La Réunion puis dans d'autres contextes, et sur les enjeux de recherches à poursuivre à La Réunion et dans la zone du Sud-Ouest de l'Océan Indien.

1. Piégeage, modélisation et recherche de génome viral

1.1. La caractérisation de la diversité et de l'abondance des Culicoides à partir d'échantillonnage de terrain

La Réunion est une île tropicale d'une faible superficie (2510 km²). Cette particularité confère la possibilité d'effectuer plusieurs échantillonnages de *Culicoides* sur l'ensemble du territoire durant une même journée. L'utilisation du piège de référence dit OVI lors de nos travaux rend comparable les abondances observées avec celles publiées par ailleurs et menées avec le même piège en région afrotropicale ou paléarctique. Toutefois, pour nos suivis entomologiques, un équilibre a dû être trouvé entre la fréquence de capture, permettant une appréciation fine de l'évolution des abondances, le nombre de sites permettant de couvrir le territoire et être représentatif de la diversité environnementale, d'hôtes et des communautés de *Culicoides*, et la capacité logistique et humaine pour mener à bien les captures, le tri et l'identification des *Culicoides*. Les résultats de ces travaux reposent sur des données d'une nuit de capture, avec une fréquence bimensuelle lors du suivi longitudinal ou unique lors de la

campagne d'échantillonnage de Mars 2018. Certains auteurs (Jess et al., 2018; Searle et al., 2013; Villard et al., 2019a) ont utilisé le même système de piégeage (OVI) mais avec une fréquence plus élevée de capture (1 fois par semaine) permettant ainsi une appréciation plus fine de l'évolution des abondances de *Culicoides*. Le nombre de *Culicoides* capturés dans un piégeage est la résultante de l'efficacité du piège, de l'activité et de la densité des *Culicoides* au moment du piégeage (Baylis et al., 2004). Cependant, l'activité des *Culicoides* et l'efficacité du piège peuvent être affectées par des conditions météorologiques telles que le vent (Mellor et al., 2000), ce qui rend confus les tentatives visant à déterminer l'effet du climat sur la population de *Culicoides* (Baylis et al., 2004). Il aurait été intéressant d'effectuer des captures sur plusieurs nuits successives pour combler les variabilités des résultats de piégeages en fonction des conditions météorologiques et permettre une meilleure récolte des espèces faiblement abondantes, comme cela a été constaté par Baylis *et al.* (Baylis et al., 2004). Diarra *et al.* (Diarra et al., 2014; Diarra et al., 2015) ont utilisé cette approche au Sénégal, avec 3 nuits de capture consécutives et en considérant le maximum de capture, pour combler la variabilité des captures et modéliser la dynamique temporelle de *C. oxystoma* et de *C. imicola*. Cette approche permet de se rapprocher des conditions optimales de l'efficacité du piège et de l'activité maximum des *Culicoides* pour être le plus représentatif de la population de *Culicoides* échantillonnée. Cependant, la multiplication des nuits de captures doit être confrontée aux moyens logistiques et humains à disposition. Ainsi, les effets non maîtrisés des conditions météorologiques sur l'efficacité de piégeage et sur l'activité des *Culicoides* sont une contrainte pour caractériser au mieux la diversité et l'abondance des *Culicoides* sur une exploitation au moment du piégeage. Pour les modèles de distribution de *Culicoides* tenant compte de variables climatiques, cette contrainte peut être une source de variabilité sur le lien entre une variable climatiques et la présence et/ou l'abondance des *Culicoides* (Baylis et al., 2004).

1.2. Caractérisation de l'écologie et de la dynamique des Culicoides par modélisation

Le relief marqué de La Réunion lui confère une diversité de microclimats (Raunet, 1991). On peut ainsi y retrouver en altitude des conditions similaires à celles de milieu tempéré. Cette diversité de microclimats est une aubaine pour ce travail car il a permis de considérer une variabilité de conditions permettant d'apprécier une diversité de réponses des *Culicoides* aux facteurs climatiques et environnementaux et d'explicitier leur distribution dans le temps et l'espace.

Pour pouvoir expliquer les présences et les abondances de *Culicoides*, nous avons considéré un ensemble le plus complet possible de variables climatiques et environnementales dont le choix s'est appuyé sur celles qui ont été utilisées ou mises en avant auparavant par d'autres auteurs (Acevedo et al., 2010; Baylis et al., 1998; Conte et al., 2003; Conte et al., 2007; Ippoliti et al., 2013; Khamala and Kettle, 1971; Meiswinkel et al., 2000; Purse et al., 2015). Douze catégories de variables ont donc été considérées pour caractériser l'écologie et modéliser la dynamique des *Culicoides*. Ces catégories de variables sont : la température, l'humidité, la pluie, le vent, le rayonnement global, le NDVI, l'utilisation du sol, l'éco-climat, la densité d'animaux à proximité du piège et dans les alentours, le nombre d'exploitations dans les alentours, la taille d'ouverture des bâtiment et la longueur des cours d'eau dans une zone tampon autour du point de piégeage.

Nous avons analysé l'effet de ces différentes variables climatiques et environnementales par un modèle de haie. Le choix de ce modèle statistique a été défini par un ensemble de contraintes : 1) la forme des données (données de comptage, sur-dispersées pour une régression de Poisson) oblige à un modèle linéaire généralisé suivant une régression binomiale négative (Atkins et al., 2013; McCullagh and Nelder, 1989), 2) les captures répétées sur une même exploitation nécessite l'emploi d'un modèle à effets mixtes (Bolker et al., 2009) et 3) le nombre important de zéros dans les données doit être spécifiquement traité par des modèles appropriés (Zeileis et al., 2008). C'est donc sur la base d'un modèle de haie avec une distribution binomiale négative et à effets mixtes que nous avons établi la dynamique temporelle et spatio-temporelle des populations des *Culicoides* à La Réunion. Un modèle « zero-inflated » aurait pu être utilisé, mais le modèle de haie est plus facile à interpréter et à ajuster puisque les deux parties du modèle (sous-modèle de régression logistique et sous-modèle de régression de comptage) sont indépendantes l'une de l'autre (Atkins et al., 2013). Le modèle de haie présente donc un intérêt dans des zones où les valeurs d'abondance sont souvent nulles. Le modèle de haie n'avait jamais été utilisé auparavant pour modéliser l'abondance des *Culicoides* en Europe, mais s'est révélé particulièrement utile à La Réunion compte tenu, pour chaque espèce, du nombre important d'observations pour lesquelles les effectifs étaient nuls. Cependant, le fait de considérer un modèle mixte pour prédire les abondances des *Culicoides* peut poser problème pour des extrapolations en dehors des sujets, les exploitations ici, sur lesquels les mesures répétées ont été effectuées. Pour déterminer rigoureusement si l'effet aléatoire des exploitations est effectivement négligeable, il faut le tester. Pour les modèles logistiques à effets mixtes, le test existe (Broström and Holmberg) et a été appliqué. Pour les modèles avec une distribution

binomiale négative, zéro-tronqués et à effets mixtes, un tel test n'a pas encore été développé, ce qui nous a empêché de déterminer de manière rigoureuse l'absence d'effet aléatoire lié aux exploitations dans nos modèles. Résoudre ces limites nécessitera d'investiguer les caractéristiques intrinsèques des exploitations afin d'inclure de nouveaux facteurs améliorant les prédictions en ce qui concerne cette espèce.

Certaines études se sont appuyées sur des approches de modélisation mathématique pour simuler la dynamique temporelle des *Culicoides* (Kelso and Milne, 2014; White et al., 2017). L'intérêt est de pouvoir se passer des contraintes liées aux méthodes statistiques. L'approche mathématique (ou mécanistique) appliquée à la dynamique des *Culicoides* comme développée par (White et al., 2017) et (Kelso and Milne, 2014) nécessite cependant une connaissance précise des paramètres biologiques, généralement issues d'essais expérimentaux ou d'observations. Dans notre situation, le manque de connaissances, notamment pour les espèces peu étudiées comme *C. enderleini*, *C. grahamii* et *C. kibatiensis*, rend l'approche mathématique impossible. Une autre approche possible est celle du modèle « random forest » que l'on peut traduire par « forêt d'arbres décisionnels ». On peut qualifier cette approche comme une méthode de « machine learning », qui à partir d'un ensemble d'arbres de décisions, permet de classer ou de prédire par régression des observations en fonction d'un ensemble de variables prédictives (Breiman, 2001). Cette approche a été utilisée par Cuéllar *et al.* (Cuéllar et al., 2018a) pour prédire les variations mensuelles de la présence/absence de *Culicoides* adultes dans 9 pays européens. L'approche « random forest » possède de nombreux atouts tels que : la capacité d'analyser facilement des grandes bases de données comprenant un nombre élevé de variables, la capacité de détection de relation non linéaire entre réponses et prédicteurs, la détermination de l'importance d'une variable, ou encore, la capacité de mesurer les erreurs de prédictions après permutation des variables dans l'arbre de décisions (Breiman, 2001; Grömping, 2009; Hajjem, 2010). Cependant, l'utilisation du modèle « random forest » suppose l'indépendance des données et se retrouve donc limité lorsque des observations sont répétées sur un même sujet. Dans notre cas, les caractéristiques intrinsèques des exploitations (effet aléatoire) n'auraient pu être compensées pour déduire la part réelle des effets des facteurs climatiques et environnementaux sélectionnés. Toutefois, cette limitation tend à être corrigée par le développement de modèle « random forest » à effet mixte (Hajjem, 2010) mais cette approche n'a pas encore trouvé d'ouverture à un plus grand public, notamment via le logiciel de statistique R (R Team, 2012). Il serait intéressant, dans le futur, de tester cette approche sur nos données.

Connaissant les effets des facteurs climatiques et environnementaux déterminés à l'aide des modèles de haie, la dynamique spatio-temporelle de chacune des espèces de *Culicoides* a pu être extrapolée à l'ensemble des élevages de La Réunion en ne tenant pas compte de l'effet aléatoire des modèles et en utilisant le logiciel Ocelet. Ici, l'effet aléatoire lié aux exploitations a été considéré comme étant négligeable pour *C. bolitos*, *C. enderleini*, *C. grahamii* et *C. imicola*. De ce fait, il a été considéré que les dynamiques spatio-temporelles de ces 4 espèces étaient sous la quasi-exclusive gouvernance des facteurs climatiques et environnementaux. En ce qui concerne *C. kibatiensis*, l'effet aléatoire n'est pas négligeable et la modélisation de sa dynamique spatio-temporelle se heurte donc à des limites d'interprétation.

Dans les approches qui modélisent la dynamique spatio-temporelle de *Culicoides* ou d'autres vecteurs, de multiples moyens différents peuvent être utilisés pour lier la composante temporelle à la composante spatiale. Par exemple, Rigot *et al.* (Rigot *et al.*, 2012), pour modéliser la dynamique spatio-temporelle des *Culicoides* en Sardaigne, utilisent le logiciel R (R Team, 2012) et des packages spécialisés pour le traitement de l'information spatiale. Des méthodes de géostatistique tel que le krigeage (Diggle *et al.*, 1998) sont par exemple utilisées pour les moustiques ou le pathogène associé (voir (Amek *et al.*, 2011; Amek *et al.*, 2012; Kasasa *et al.*, 2013)). Mais comparativement à ces autres méthodes, Ocelet permet de manipuler l'information sous différentes formes (fichier texte, shapefile, raster, fichier kml pour Google Earth®, etc.), de mettre en interaction les éléments spatiaux pour le calcul et d'effectuer les sorties sous les différentes formes qu'Ocelet peut manipuler. Ainsi, ce logiciel permet de traiter facilement l'information géographique pour établir des modèles de dynamique spatiale. Depuis son récent développement (Degenne *et al.*, 2009), ce logiciel a été surtout utilisé pour modéliser de la dynamique paysagère ou végétale (voir liste de publications sur ocelet.fr). Son utilisation s'est élargie par la suite à des modèles d'entomologie médicale avec des travaux réalisés à La Réunion (Tran *et al.*, 2018) et au Sénégal (Tran *et al.*, 2019) afin de modéliser la dynamique des populations de moustiques vecteurs. Nos travaux sont la première utilisation d'Ocelet appliquée à des vecteurs d'intérêt en santé animale.

Enfin, dans beaucoup de publications, la modélisation de la distribution des *Culicoides* est soit temporelle soit spatiale. Pour les modélisations de dynamique temporelle de *Culicoides*, les données sont issues d'un suivi longitudinal sur un nombre généralement restreint de sites pour mieux capter la variabilité temporelle des facteurs climatiques. Diarra *et al.* (Diarra *et al.*, 2015) et Jess *et al.* (Jess *et al.*, 2018) par exemple, ont effectué des suivi longitudinaux sur 5 et 14 sites respectivement. Villard *et al.* (Villard *et al.*, 2019a) ont disposé de 203 sites pour établir

la dynamique temporelle de *Culicoides* sur 24 zones, ce qui revient à une moyenne de 8,46 sites par zone. Searle *et al.* (Searle *et al.*, 2013) ont quant à eux disposé de données issues de 37 fermes. La différence entre les nombres de sites est à mettre en relation avec les moyens logistiques et humains. Pour les modèles de distribution spatiale, les données sont généralement issues de captures ponctuelles sur un nombre de sites plus élevé que pour des modèles de dynamique temporelle. Ce plus grand nombre de sites permet de mieux capter la variabilité spatiale des facteurs climatiques et environnementaux. Par exemple, au Sénégal (Diarra *et al.*, 2018), en Espagne (Acevedo *et al.*, 2010) et sur la péninsule ibérique (Calvete *et al.*, 2008), en Italie (Conte *et al.*, 2007) et en Sicile (Purse *et al.*, 2004), ce sont de 96 à 885 sites qui ont été échantillonnés. Dans notre approche de modélisation spatio-temporelle, les données sont issues de 577 captures d'un suivi longitudinal sur 11 sites. Si la composante temporelle est bien appréhendée, la composante spatiale semble limitée par le nombre restreint de sites comparativement à ceux des auteurs cités ci-dessus. Bien que les sites de notre suivi longitudinal aient été sélectionnés pour couvrir au maximum les différents éco-climats de l'île et correspondre à la distribution des élevages bovins, leur nombre peut être limitante pour capter toute la variabilité due à la diversité des microclimats de l'île. Toutefois, la comparaison avec les modèles de distribution spatiale des exemples ci-dessus est à relativiser avec la superficie du territoire couvert. La densité de piège dans les exemples cités varie de 1 piège pour 96 km² environ en Sicile (Purse *et al.*, 2004) à 1 pour 1924 km² en Espagne (Acevedo *et al.*, 2010) et est de 1 pour 228 km² à La Réunion.

1.3. La détection du génome viral de BTV et de l'EHDV à partir d'échantillonnage de populations sauvages de Culicoides

La détection de génome viral de BTV et EHDV repose sur la recherche de brins d'ARN viral par RT-PCR en temps réel sur des lots de femelles mono-spécifiques non gorgées issus de populations sauvages. Des tests moléculaires non commerciaux ont été utilisés. Pour le BTV, le test repose sur la méthode Toussaint *et al.* (Toussaint *et al.*, 2007a) et cible le segment 5 du virus. Pour l'EHDV, le test repose sur la méthode de Viarouge *et al.* (Viarouge *et al.*, 2014) et cible le segment 9 du virus. Le segment ciblé permet la détection du virus quel que soit le sérotype (Toussaint *et al.*, 2007b; Viarouge *et al.*, 2015). Pour les tests effectués dans nos travaux sur les *Culicoides* de La Réunion, l'échantillon était considéré positif à BTV ou EHDV en dessous d'une valeur du cycle seuil (Ct) de 37 cycles. Cette valeur Ct correspond au nombre de cycle de réplication du segment cible amenant à une concentration détectable. Ce nombre de

cycles fut défini par Veronesi *et al.* (Veronesi et al., 2013) et considère qu'il s'agit de la valeur limite supérieure pour une infection sub-transmissible. Cette valeur limite fut aussi repris par (Goffredo et al., 2013) pour des essais sur le virus de Schmallerberg. Pour des valeurs Ct comprises entre 37 et 45, considérées comme douteuses dans nos travaux, les tests ont été doublés pour confirmer si les lots de *Culicoides* étaient positifs à BTV et/ou EHDV.

Le choix du segment est important car la valeur du cycle seuil (Ct) peut être impactée. Par exemple et selon les tests menés en conditions expérimentales par Toussaint *et al.* (Toussaint et al., 2007b), l'utilisation du segment 5 pour cibler le sérotype 2 du BTV conduit en moyenne à 1,6 cycle de moins que lors de l'utilisation du segment 1 (15,8 avec le segment 5 contre 17,4 avec le segment 1). Pour un même segment ciblé, la valeur du Ct peut aussi varier selon le sérotype du virus. Sur des souches de référence d'EHDV testées par Viarouge *et al.* (Viarouge et al., 2015) en ciblant le segment 9, la valeur du Ct était de 11,95 pour EHDV-1 (USA) contre 13,67 pour EHDV-6 (Australie). D'autres aspects, indépendant du segment ciblé ou du sérotype du virus peuvent aussi être une source de variabilité. Par exemple, la valeur du Ct dépend aussi de la quantité et de la qualité de l'ARN cible dans l'échantillon testé, et de l'efficacité de l'enzyme reverse transcriptase (Freeman et al., 1999). Pour nos travaux, les *Culicoides* capturés ont été conservés en alcool. La sensibilité de la reverse transcriptase à l'alcool restant dans les isolats d'ARN peut être une source de variation de détection (Freeman et al., 1999). Par ailleurs, l'ARN viral et le génome des *Culicoides* ont été extraits en même temps. L'encombrement stérique déséquilibré peut gêner la réaction et donc être aussi une source de variation. Ces sources de variabilités impactent la lecture critique du cycle seuil et par conséquent la transformation des résultats en présence/absence de génome viral dans les lots de *Culicoides*.

Par ailleurs, l'estimation des taux d'infection est aussi affecté par le nombre de lots et la taille des lots (Bustamante and Lord, 2010; Gu et al., 2004; Gu et al., 2003). La détermination du taux minimum d'infection, qui correspond au ratio du nombre de lots positifs par rapport au nombre total d'individus testés, assume la présence d'un seul individu infecté par lot positif. Ainsi, cette approche de calcul estime la limite basse du taux d'infection et peut être un postulat valable lorsque les infections sont rares comme c'est le cas pour les arboviroses (en dessous de quelques pourcents) (Gu et al., 2003). Toutefois, ce postulat devient problématique pour des taux d'infection et/ou des tailles de lots élevés. De plus, la détermination du taux réel d'infection est aussi dépendante du nombre de lots testés. Ce paramètre a en effet un impact sur la précision du taux estimé et particulièrement sur l'estimation de l'intervalle de confiance du taux réel

d'infection. Les faibles abondances observées lors de nos captures nous ont parfois amenés à considérer des lots avec 1 ou moins de 10 individus. Il est important de souligner cette contrainte de taille des lots pour déterminer les taux d'infection des *Culicoides*. Cela oblige à considérer avec recul les résultats et à être prudent dans l'interprétation des taux d'infection, notamment pour les espèces peu abondantes où la faible taille des lots peut conduire à des résultats de taux minimum et réel d'infection anormalement élevés. Une façon de contrebalancer ce biais a été de calculer les taux d'infection avec deux indices, l'un permettant de considérer la taille des lots testés.

2. La composante vectorielle de la BT et de l'EHD à La Réunion

2.1. Ecologie et dynamique des Culicoides

La faible diversité spécifique des *Culicoides* observée dans les élevages réunionnais en 2005 (5 espèces) (Desvars et al., 2015) a été confirmée par le suivi longitudinal sur 26 mois (chapitre 1) et par l'inventaire faunistique réalisé en Mars 2018 (chapitre 2). En considérant l'effort de capture de l'étude de Desvars et al. 2015 (41 sites, piège Rieb) et de nos captures (101 sites) réalisées dans des élevages représentatifs des différents éco-climats de l'île, du gradient altitudinal, de la distribution des bovins et à l'aide du piège de référence OVI, on peut avancer l'hypothèse que l'ensemble de la diversité des *Culicoides* d'intérêt vétérinaire de La Réunion est désormais connue. Cette faible diversité contraste avec d'autres régions du monde. En France par exemple, ce sont près d'une centaine d'espèces qui ont été recensées (Venail et al., 2012). Au Maroc, un récent inventaire fait état de 54 espèces validées (Bourquia et al., 2019). L'Afrique du Sud compterait au moins 112 espèces (Venter, 2015) et 17 espèces ont été recensé à Mayotte (Garros et al., 2019). L'isolement géographique de La Réunion, situé à 684 km de Madagascar et à 1680 km des côtes africaines, peut expliquer cette faible diversité comparativement à Mayotte qui est situé à 285 km de Madagascar et 485 km de l'Afrique continentale.

Cette faible diversité spécifique des *Culicoides* associé au bétail a permis de considérer toutes les espèces pour caractériser leurs écologies et leurs dynamiques par modélisation. Le modèle de haie a permis de distinguer les facteurs climatiques et environnementaux qui conditionnent la présence et l'abondance des espèces de *Culicoides*. Les analyses ont montré que seule la pluie impactait à la fois la présence et l'abondance des cinq espèces. D'autres paramètres étaient aussi communs aux cinq espèces mais impactaient soit la présence, soit

l'abondance, soit les deux pour certaines espèces: la température, l'indice de végétation, la densité d'hôte et l'environnement végétal (par combinaison de l'éco-climat et de l'occupation du sol). D'autres facteurs comme le vent ou la taille d'ouverture du bâtiment d'élevage étaient plus spécifiques à certaines espèces. L'ensemble de ces paramètres ont largement été associés aux *Culicoides* à travers des études de modélisations de la dynamique temporelle ou spatio-temporelle des *Culicoides* dans d'autres régions (Brugger and Rubel, 2013a; Diarra et al., 2015; Jess et al., 2018; Rigot et al., 2012; Sanders et al., 2019; Searle et al., 2013; Villard et al., 2019a). Un paramètre étudié dans nos travaux, les radiations globales, n'a été considéré que dans un modèle de distribution spatiale de *C. imicola* en Espagne (Acevedo et al., 2010). La zone éco-climatique dans laquelle des espèces de *Culicoides* évoluent n'a été considérée de manière statistique que par une étude de corrélation (Brugger and Rubel, 2013b). Enfin, la taille de l'ouverture du bâtiment a été étudié par (Barnard, 1997) sans approche statistique. Certaines de ces études ont d'ailleurs conditionné le choix des facteurs climatiques et environnementaux qui ont été mis en relation avec les *Culicoides* dans nos travaux. Les résultats de nos travaux confirment ainsi à nouveau un ensemble de paramètres communs aux *Culicoides*.

De manière générale, les facteurs climatiques et environnementaux affectaient chaque espèce avec une force ou un temps différent. En étudiant l'importance des variables lors de modélisations de la distribution spatiale des *Culicoides* au Sénégal, Diarra et al. (Diarra et al., 2018) a en effet démontré que des facteurs affectent davantage l'abondance des *Culicoides* que d'autres. Par exemple, la pluie avait plus d'impact sur l'abondance de *C. imicola* que la température. Les « cross correlation maps » (Brugger and Rubel, 2013a) ont été utiles pour déterminer le moment où les facteurs climatiques et le NDVI affectent chaque espèce et par conséquent, si ces facteurs impactaient plus les adultes ou les stades immatures des *Culicoides*. Certains paramètres comme la température, la pluie, l'humidité et l'indice de végétation se sont ainsi montrés plus contraignant pour les stades immatures.

En combinant l'ensemble des résultats, on a ainsi constaté que certains caractères bioécologiques conditionnés par ces facteurs climatiques et environnementaux semblaient déterminants pour certaines espèces, confirmant les résultats d'autres auteurs, notamment :

- l'exophilie (Barnard, 1997; Meiswinkel et al., 2000) et un type d'habitat caractérisé par une faible végétation et une forte exposition au soleil (Calvete et al., 2008; Conte et al., 2007; Diarra et al., 2014; Mayo et al., 2016b; Venter et al., 1997) pour *C. imicola* ;

- la disponibilité et la viabilité de l'habitat larvaire (Meiswinkel et al., 2004b) sous contrainte de facteurs externes tels que la température, la pluie ou l'indice de végétation pour *C. bolitinos* ;
- la disponibilité de petits ruminants (Venter et al., 1996a) et un type d'habitat semblable à celui de *C. imicola* (Diarra et al., 2014; Fall et al., 2015a; Rawlings et al., 1998) pour *C. enderleini* ;
- les conditions climatiques de température et de pluie pour *C. kibatiensis* ;
- le besoin d'un climat humide d'altitude et l'endophilie pour *C. grahamii*.

Pour la première fois, les facteurs climatiques et environnementaux qui gouvernent les populations de *C. kibatiensis* et *C. grahamii* ont été étudiés. Pour *C. bolitinos* et *C. enderleini*, il s'agit ici de la première caractérisation de leur dynamique temporelle. Les facteurs climatiques et environnementaux qui semblent déterminant pour ces deux espèces (la pluie, le NDVI, la température et les hôtes) ont aussi été mis en avant lors d'une modélisation de distribution spatiale au Sénégal (Diarra et al., 2018). Pour *C. imicola*, des modèles de distribution spatiale et de dynamique temporelle existent et ont mis en évidence des facteurs climatiques et environnementaux pour les territoires suivant : en Espagne (Acevedo et al., 2010) et sur la péninsule ibérique (Calvete et al., 2008), en Italie (Calistri et al., 2003; Conte et al., 2003; Conte et al., 2007; Conte et al., 2004; Ippoliti et al., 2013; Jan et al., 2013; Van Doninck et al., 2014), en Sicile (Purse et al., 2004), en Sardaigne (Rigot et al., 2012), en Europe (Wittmann et al., 2001), au Maroc (Baylis and Rawlings, 1998), sur le contour du bassin méditerranéen (Baylis et al., 2001; Tatem et al., 2003), au Sénégal (Diarra et al., 2018; Diarra et al., 2015) et en Afrique du sud (Baylis et al., 1999a). La température, la pluie et le NDVI sont les paramètres les plus fréquemment utilisés pour prédire la présence et l'abondance de *C. imicola* mais aucune de ces études ne conclut sur le caractère exophile de l'espèce. De manière globale dans ces études, la température favorise la présence ou l'abondance de *C. imicola*, ce qui coïncide avec nos résultats. Cette espèce fut aussi associée positivement à la pluie en Sardaigne (Rigot et al., 2012), sur la péninsule ibérique (Calvete et al., 2008), au Maroc (Baylis et al., 1998) et pendant la période d'été australe en Afrique du Sud (Baylis et al., 1999a) et négativement en Espagne (Calvete et al., 2008), au Sénégal (Diarra et al., 2015) et durant la période hivernale en Afrique du Sud (Baylis et al., 1999a). Ces différences ont aussi été mises en évidence par Mellor et al. (Mellor et al., 2000) en comparant les abondances saisonnières de *C. imicola* à la saison des pluies dans plusieurs pays. Les raisons de la variabilité des réponses

de *C. imicola* à la pluie dans ces différents pays est difficile à appréhender. A la Réunion, les relations de *C. imicola* à la pluie ont été expliquées par l'impact de ce paramètre sur son activité et la survie des stades immatures. Enfin, beaucoup d'études (Acevedo et al., 2010; Baylis et al., 1998; Baylis et al., 1999a; Calvete et al., 2008; Diarra et al., 2015) ont associé *C. imicola* positivement au NDVI contrairement à nos résultats. Toutefois, les valeurs de NDVI dans ces pays sont à considérer. En effet, en Afrique du Sud, la valeur maximale du NDVI est de 0,60, ce qui correspond à la valeur basse du second quartile dans les données du NDVI à La Réunion. En Italie, Conte et al. (Conte et al., 2003; Conte et al., 2007) associent cette espèce à des valeurs de NDVI de 0,29 et inférieure à 0,49, l'amenant à conclure que *C. imicola* est associé à des milieux faiblement végétalisés. Cette constatation rejoint les caractères bioécologiques mis en avant par nos résultats.

Les observations et les modélisations spatio-temporelles ont montré globalement une faible abondance des populations de *Culicoides*. Seul *C. imicola* tire son épingle du jeu puisque cette dernière espèce peut être localement très abondante, notamment sur la côte sud-ouest de l'île. La modélisation spatio-temporelle a permis de mieux appréhender le contour de cette zone de forte abondance dont les caractéristiques correspondent à son type d'habitat préférentiel (Calvete et al., 2008; Conte et al., 2007; Diarra et al., 2014; Mayo et al., 2016b; Venter et al., 1997). En effet, cette zone se caractérise par une végétation savanicole à semi-xérophile, faiblement végétalisée et fortement exposée au soleil. Les observations ont aussi mis en évidence des espèces associées aux basses altitudes (*C. imicola* et *C. enderleini*) et des espèces associées aux altitudes élevées (*C. kibatiensis* et *C. grahamii*). Cette distribution altitudinale peut être mise en relation avec leurs préférences pour des températures plus chaudes (retrouvées à basses altitudes) ou plus froides (retrouvées à hautes altitudes). Nous avons déjà abordé le lien positif entre *C. imicola* et la température. *Culicoides enderleini*, occupant le même habitat que *C. imicola* (Rawlings et al., 1998), a donc logiquement une distribution altitudinale comparable. *Culicoides kibatiensis* fut retrouvé dans des forêts et prairies de hautes altitudes au Kenya et en Tanzanie (Glick, 1990; Khamala and Kettle, 1971; Walker, 1977) et *C. grahamii* dans des forêts pluvieuses d'Afrique Centrale (Nicholas, 1953). Ces conditions sont retrouvées à hautes altitudes à La Réunion. *Culicoides bolitinos*, quant à lui, occupe préférentiellement un espace intermédiaire de moyenne altitude, comme cela a déjà été observé en Afrique du Sud (Meiswinkel et al., 2004b; Venter and Meiswinkel, 1994). *Culicoides imicola* et *C. kibatiensis*, de par leurs fortes abondances, sont les principaux représentants des espèces de basses altitudes et de hautes altitudes respectivement. Toutefois, ces deux espèces ont de très larges distributions

qui se chevauchent, comme constaté lors de la campagne d'échantillonnage de Mars 2018 et comme prédit par les modèles. Ces larges distributions font qu'au moins l'une ou l'autre de ces deux espèces sont présentes tout au long de l'année dans l'ensemble des élevages de l'île, en plus de la présence éventuelle des trois autres espèces selon l'altitude de l'élevage.

Les variations climatiques saisonnières permettent des contractions ou des extensions des distributions des cinq espèces depuis leurs zones préférentielles. Considérant un élevage situé au cœur de la zone préférentielle d'une espèce et en appui avec les observations du suivi longitudinal, la dynamique temporelle des populations de cette espèce associée à cet élevage tend à être continue ou saisonnière. En s'éloignant vers des zones moins favorables, la dynamique temporelle tend vers une présence ponctuelle ou une absence continue. On a aussi constaté une variabilité interannuelle particulièrement marquée chez *C. bolitinos*. Les écarts constatés de température et de pluviométrie d'une année (<http://www.meteofrance.re>) à l'autre auraient pu modifier la distribution spatio-temporelle de cette espèce. En Afrique du sud, des variations interannuelles ont aussi été constatées dans les populations de *Culicoides*. Les oscillations australes d'El Niño (ENSO) impactent drastiquement la pluviométrie (Baylis et al., 1999b) et *C. imicola* qui pond dans les sols humides peut voir sa population augmenter de 200 fois durant les années de fortes pluies (Meiswinkel et al., 1994).

2.2. Des espèces vectrices avérées, candidates et potentielles

La mise en évidence de larges zones de distribution pour les cinq espèces est inquiétante. En effet, nous pouvons penser que la transmission de BTV et d'EHDV peut se faire dans tous les élevages de l'île et peut avoir lieu tout au long de l'année. Cependant, avant d'arriver à cette conclusion, le rôle vectoriel de chacune des espèces de *Culicoides* de La Réunion doit être vérifié. Comme nous l'avons expliqué en introduction, un rapport de l'OMS (WHO, 1975) propose d'associer trois critères pour considérer l'implication d'une espèce dans la transmission d'un agent pathogène : (i) un comportement trophique tourné vers les hôtes d'intérêt, (ii) la preuve en laboratoire de la compétence vectorielle, c'est-à-dire la capacité intrinsèque d'une espèce à s'infecter, assurer la multiplication du pathogène et le transmettre à un hôte vertébré, et (iii) l'infection naturelle de populations sauvages. Nos résultats de détection de génome viral de BTV et d'EHDV dans les populations de *Culicoides* permettent d'apporter des informations complémentaires ou supplémentaires sur le troisième critère, i.e. l'infection naturelle des populations sauvages. Mais pour affecter à chacune des espèces de *Culicoides* de La Réunion

le terme de « vecteur », nous devons et allons vérifier que les trois critères sont remplis. Selon le nombre de critères remplis, les *Culicoides* seront classifiés en trois catégories comme proposées par Tantely *et al.* (Tantely *et al.*, 2015) pour les moustiques. Si un seul critère est valide, l'espèce de *Culicoides* est qualifiée de vecteur potentiel ; dans le cas de deux critères, l'espèce est qualifiée de vecteur candidat et pour les trois critères, l'espèce est qualifiée de vecteur avéré.

2.2.1. Des *Culicoides* aux comportements trophiques mammophiles

Nous avons largement démontré l'association entre les ruminants domestiques et les 5 espèces de *Culicoides* présentes à l'île de La Réunion. Des comportements trophiques mammophiles sont classiquement décrits en région afrotropicale pour *C. imicola*, *C. bolitinos* et *C. enderlieni* (Bakhoum *et al.*, 2016; Fall *et al.*, 2015a; Fall *et al.*, 2015b; Meiswinkel *et al.*, 2004a; Nevill *et al.*, 1992; Venter *et al.*, 1996a; Venter, 2015). *Culicoides grahamii* a été rapportée comme une espèce zoo-anthropophile en Afrique Centrale et mentionnée comme une nuisance pour les humains (Auriault, 1977; Auriault, 1979; Itoua *et al.*, 1987; Itoua *et al.*, 1986). Une telle nuisance pour l'homme n'est pas observée à La Réunion. Au Kenya, du sang de bovins a été retrouvé dans les individus gorgés de cette espèce (Walker and Boreham, 1976). Enfin, des individus de *C. kibatiensis* gorgés de sang bovins ont été retrouvés au Kenya également (Walker and Boreham, 1976).

2.2.2. Etude d'infection expérimentale sur les espèces de *Culicoides* retrouvées à La Réunion

Les études d'infections expérimentales pour démontrer la compétence vectorielle sont difficiles pour le genre *Culicoides* et largement limitées par des contraintes méthodologiques. Les travaux de Gert Venter en Afrique du Sud concentrent l'essentiel des données concernant les espèces afrotropicales, notamment celles d'intérêt vétérinaire, et confirment que *C. imicola* et *C. bolitinos* peuvent être infectés par BTV (Venter *et al.*, 2006b; Venter *et al.*, 1998; Venter *et al.*, 2011). Paweska *et al.* (Paweska *et al.*, 2002), toujours en Afrique du Sud, et Carpenter *et al.* (Carpenter *et al.*, 2011) en Europe, complètent les travaux de Gert Venter, sur ces deux espèces et pour BTV. Parallèlement, *C. enderleini* s'est montrée susceptible d'être infecté par BTV en conditions expérimentales (Venter *et al.*, 2006b). Pour EHDV, une seule étude a montré que *C. bolitinos* et *C. imicola* pouvaient être infectés par ce virus (Paweska *et al.*, 2005).

En ce qui concerne *C. grahamii* et *C. kibatiensis*, aucune étude d'infection expérimentale par BTV ou EHDV n'a été réalisée.

2.2.3. Infection naturelle des populations sauvages de *Culicoides*

La détection de génome viral dans les populations naturelles est une démarche lourde, couteuse et qui demande un jeu de données conséquent, i.e. des échantillonnages d'individus importants pour obtenir des résultats exploitables vu le relativement faible niveau de circulation des arboviroses au sein des populations d'insectes vecteurs (Venter et al., 2006a). A La Réunion, *C. bolitinos*, *C. imicola* et *C. kibatiensis* ont été retrouvés positifs à BTV et EHDV. *Culicoides enderleini* n'a été retrouvé positif qu'à BTV et *C. grahamii* qu'à EHDV. Les taux réels d'infection de ces espèces, calculés pour la première fois pour des populations de *Culicoides*, étaient en moyenne de 1,57% pour BTV et 0,765% pour EHDV. Les taux minimum d'infection moyens restent comparables, soit 1,215% pour BTV et 0,915% pour EHDV. Nos observations montrent que les espèces les plus abondantes et fréquemment capturées, c'est-à-dire *C. imicola*, *C. kibatiensis* et *C. bolitinos*, sont aussi les espèces les plus fréquemment infectées. Cependant, les taux d'infections entre les espèces et pour les deux virus restent comparables. Comme nous l'avons annoncé au début du chapitre 3, BTV a été détecté, parfois isolé, que chez *C. imicola* en Italie (Goffredo et al., 2015a), en Sardaigne (Foxi et al., 2016) et quelques pays d'Afrique (Blackburn et al., 1985; Goffredo et al., 2015b; Gordon et al., 2015; Mellor et al., 1984; Walker and Davies, 1971), chez *C. enderleini* au Soudan (Mellor et al., 1984) et en Afrique du Sud (Venter et al., 2006b) et chez *C. bolitinos* en Afrique du Sud (Gerdes, 2004). Les taux minimum d'infection n'ont été établis que pour *C. imicola* et étaient de 0,15% en Namibie (Goffredo et al., 2015b) et variaient entre 1% et 3,1% selon les régions d'Italie (Goffredo et al., 2015a). A La Réunion, le taux minimum d'infection est de 0,898% et peut être comparé à ceux d'Italie car la taille des lots testés (maximum de 50 individus) sont les mêmes. On constate que le taux minimum d'infection est légèrement inférieur à La Réunion. Toutefois cette comparaison est à relativiser car la situation épidémiologique n'était pas la même entre La Réunion et l'Italie au moment où les lots ont été constitués. En effet, l'Italie faisait face à des successions d'épizooties de BT en 2012-2014 (période d'échantillonnage) et la circulation de BTV pouvait ainsi être plus intense dans les hôtes et les populations de *Culicoides*.

En ce qui concerne l'EHDV, le virus n'a jamais été retrouvé chez les 5 espèces recensées à La Réunion. Parmi l'ensemble des espèces de *Culicoides*, EHDV (EHDV-4) n'a été isolé que chez *C. schultzei* au Soudan (Mohammed and Mellor, 1990).

Finalement, il s'agit ici de la première détection de BTV dans les populations sauvages de *C. kibatiensis* et d'EHDV chez *C. bolitinos*, *C. grahamii*, *C. imicola* et *C. kibatiensis*.

2.2.4. Des *Culicoides* vecteurs à La Réunion

L'implication de *Culicoides imicola* et *C. bolitinos* dans la transmission de BTV est connue depuis longtemps (Mellor et al., 2000), et comme nous venons de le voir, ces deux espèces réunissaient les trois critères de l'OMS (WHO, 1975) bien avant nos travaux. Nos résultats confirment une fois de plus l'importance de ces deux espèces pour BTV. *Culicoides imicola* et *C. bolitinos* ont aussi été incriminé dans la transmission d'EHDV (Paweska et al., 2005). Cependant, selon les catégories proposées par Tantely *et al.* (Tantely et al., 2015), ces deux espèces ne pouvaient être considérées que comme des vecteurs candidats d'EHDV. L'isolement d'EHDV dans les populations sauvages de ces deux espèces apporte l'argument complémentaire pour les qualifier comme vecteur avéré d'EHDV.

En 1992, Nevill *et al.* (Nevill et al., 1992) estima que les *Culicoides* du groupe Schultzei, dont fait partie *C. enderleini*, avaient une capacité vectorielle potentiellement élevée. Plus tard, les différents travaux menés sur cette espèce (Mellor et al., 1984; Venter et al., 2006b; Venter, 2015) ont confirmé qu'il s'agissait d'une espèce vectrice avérée pour BTV. Nos travaux confirment à nouveau ce statut pour *C. enderleini*. En ce qui concerne l'EHDV, la seule association de cette espèce aux ruminants ne lui confère que le statut de vecteur potentiel.

La grande nouveauté de ces travaux concerne le rôle potentiel de *C. grahamii* et de *C. kibatiensis* dans la transmission des arboviroses. L'association aux ruminants et nos résultats de détection de génome viral montrent que *C. kibatiensis* est un vecteur candidat pour BTV et EHDV. *Culicoides grahamii* est quant à lui un vecteur candidat pour EHDV et vecteur potentiel pour BTV.

La caractérisation du statut vectoriel de chacune des espèces de *Culicoides* de La Réunion permet de mieux apprécier leur importance. Toutefois, l'implication de ces espèces vectrices avérées, candidates ou potentielles dans l'épidémiologie de la BT et de l'EHD à La Réunion dépendra aussi des caractéristiques écologiques et physiologiques qui leurs sont propres et aussi de conditions extrinsèques qui impactent la survie et la réplication de BTV et d'EHDV.

2.3. Implication pour l'épidémiologie de la BT et de l'EHD à La Réunion

Les facteurs environnementaux et climatiques affectent la capacité vectorielle, gouvernant la dynamique et l'intensité du contact hôte-vecteur dans le temps et l'espace

(Mullens et al., 2004). Les 5 espèces de *Culicoides* à La Réunion ont montré des réponses différentes aux facteurs climatiques et environnement, ce qui suggère des implications différentes dans la transmission de BTV et d'EHDV. En effet, chaque espèce vectrice, qu'elle soit avérée, candidate ou potentielle, peut avoir un rôle primaire ou secondaire dans l'épidémiologie de la BT et de l'EHD à La Réunion. Le rôle primaire d'un vecteur s'appuie sur des caractéristiques écologiques et physiologiques définies par Donnelly *et al.* (Donnelly et al., 2002) pour les moustiques : (1) large répartition géographique ; (2) abondance locale élevée, bien que souvent saisonnière ; (3) bonne capacité de dispersion et de colonisation ; (4) adaptation pour exploiter différents environnements artificiels (par exemple bâtiments, rizières et véhicules) ; (5) forte préférence pour la consommation de sang de ruminants et (6) grande sensibilité aux agents pathogènes de ces ruminants. Une septième caractéristique proposée par Montoya-Lerma *et al.* (Montoya-Lerma et al., 2011) est la longévité. Selon cet auteur, dans l'ensemble, la durée de vie d'un vecteur primaire est plus longue que celle d'un vecteur secondaire, ce qui augmente sa probabilité de devenir infecté et infectieux. Dans les caractéristiques définissant un vecteur primaire, nous pouvons considérer que toutes les espèces de *Culicoides* de La Réunion sont adaptées aux environnements des élevages compte tenu qu'elles ont toutes été capturées sur les exploitations, ce qui répond au point (4). Nous considérons aussi que le point (5) se confond avec le premier critère de l'OMS, i.e. un comportement trophique tourné vers les hôtes d'intérêt, et le point (6) avec le second critère de l'OMS, i.e. la capacité intrinsèque d'une espèce à s'infecter, assurer la multiplication du pathogène et le transmettre à un hôte vertébré. Ces deux derniers points ont été discutés dans la section précédente.

Enfin, il faut aussi tenir compte de la virogénèse de BTV et d'EHDV, qui diffère non seulement selon les sérotypes et l'espèce de *Culicoides*, mais aussi selon la température (Carpenter et al., 2011; Paweska et al., 2002; Venter et al., 1998; Venter, 2015). De ce fait, les conditions de température favorables à certaines espèces de *Culicoides* peuvent ne pas permettre la transmission du virus.

Dans les deux sections ci-après, nous présentons les conclusions de ce travail relatives à l'épidémiologie de la BT, puis de l'EHD, dans le contexte réunionnais.

2.3.1. La bluetongue (BT)

Les différentes enquêtes sérologiques montrent que plusieurs sérotypes de BTV circulent de manière enzootique et à bas bruit à La Réunion (Bréard et al., 2005; Cêtre-Sossah et al., 2014; Sailleau et al., 2012) conformément à ce qui est fréquemment observé dans les pays de la ceinture tropicale (Walton, 2004). En effet, les cas cliniques de BT ne sont plus observés dans les élevages de l'île depuis 2003 alors que les enquêtes sérologiques montrent que le virus continue de circuler. Cette transmission persistante de BTV pourrait être assurée efficacement par *C. imicola* qui présente une large distribution et une forte abondance en zone côtière, c'est-à-dire dans les zones les plus chaudes de La Réunion. Sa dynamique spatio-temporelle est par ailleurs ininterrompue dans cette zone. Cette situation est comparable à celle observée en Afrique du Sud, où *C. imicola* est considérée comme le vecteur le plus important pour le BTV et d'autres arbovirus du bétail les zones aux étés chauds et sans gel hivernal (Meiswinkel et al., 2004b; Venter et al., 1996a; Venter, 2015). *Culicoides enderleini* évolue dans les mêmes conditions que *C. imicola* et pourrait participer de la même manière à la transmission du BTV dans les zones littorales. Cependant, son abondance limitée lui confère une capacité vectorielle également limitée et nous le qualifions de vecteur secondaire aux côtés du vecteur primaire, *C. imicola*. À moyenne altitude, *C. imicola* est également présent mais à des abondances beaucoup plus faibles. Par contre, *C. bolitinos* y présente de plus fortes abondances et y est présent toute l'année. Cette dernière peut aisément prendre le relais et assurer ainsi un continuum spatial de transmission de BTV en zone de moyenne altitude bien que les conditions de température soient moins favorables à la réplication du BTV. En Afrique du Sud, *C. bolitinos* est en général 10 fois moins abondant que *C. imicola* mais domine dans les zones d'endémicité de BTV les plus froides notamment en zone de moyenne altitude (Venter and Meiswinkel, 1994; Venter et al., 1996b). Dans ces zones, *C. bolitinos* y est d'ailleurs considéré comme le vecteur principal du BTV (Venter, 2015) et son étroite association avec les bovins renforce sa capacité vectorielle. Le corrélat peut être fait avec La Réunion, et suggère que *C. bolitinos* pourrait être le vecteur primaire du BTV à moyenne altitude. A plus haute altitude, les éléments relatifs à son écologie suggèrent fortement que *C. kibatiensis* pourrait relayer le continuum de transmission du BTV. En effet, cette espèce y est présente de manière ininterrompue et présente un pic d'abondance en saison froide contrairement à *C. imicola* et *C. bolitinos*. Cependant, les conditions de température, notamment en saison froide, ne plaident pas pour la réplication, voire à la survie du BTV. Toutefois, en milieu tempéré, la survie et la persistance de transmission de BTV durant les mois les plus froids (« overwintering ») a déjà été démontré depuis longtemps (Nevill, 1971; Sellers and Mellor, 1993). Wilson et al. (Wilson et al., 2008) et Foxi et al. (Foxi

et al., 2016) reportent différents mécanismes permettant la persistance de BTV durant les mois les plus froids : (1) durée accrue de l'infection des ruminants ; (2) durée de vie des *Culicoides* adultes prolongée après la période de transmission active du virus ; (3) cycle continu et lent ou faible d'infection et de transmission entre les ruminants et les *Culicoides* pendant la période inter-saisonnière. Ainsi, en tenant compte (1) de la longue virémie de BTV chez les bovins (au-delà de 63 jours) (Singer et al., 2001), (2) de la survie accrue des *Culicoides* à basse température (Nevill, 1971; Purse et al., 2015), (3) de l'abondance plus élevée de *C. kibatiensis* en saison froide et (4) de la possibilité de réplication de BTV au sein de *C. kibatiensis* pendant les heures les plus chaudes de la journée, la persistance et un cycle continu de transmission de BTV par *C. kibatiensis* semblent tout à fait possible à haute altitude et même en saison froide et sèche. En ce qui concerne *C. grahamii*, sa faible abondance suppose qu'il s'agit d'un vecteur potentiel secondaire aux côtés de *C. kibatiensis*.

Finalement, un continuum temporel et spatial de transmission pourrait être assuré par la présence continue de *C. imicola* dans les zones de basse altitude, *C. bolitinos* dans les zones de moyenne altitude et un relai qui pourrait être assuré par *C. kibatiensis* dans les zones d'altitude plus élevée, sous réserve de (1) la confirmation de la compétence vectorielle de cette dernière espèce et (2) de la possibilité de réalisation du cycle d'incubation extrinsèque pour les sérotypes de BTV circulants malgré les températures plus fraîches présentes dans les zones d'altitude.

2.3.2. La maladie hémorragique épizootique

En ce qui concerne l'EHDV, une enquête de séroprévalence a montré que ce virus circule dans les élevages bovins, ovins et caprins de l'île, de la côte aux plus hautes altitudes (Cêtre-Sossah et al., 2014). Les cas cliniques d'EHD ont été observés durant la saison chaude et pluvieuse (Bréard et al., 2004; Cêtre-Sossah et al., 2014; Sailleau et al., 2012). Il faut aussi rajouter que les cas cliniques d'EHD en 2011, 2013-2014, et 2015-2016 ont été observés à moyenne et haute altitude (de 700 m à plus de 1800 m d'altitude) (Cêtre-Sossah et al., 2014)(cêtre-Sossah comm. pers.). Compte tenu que 1) les cas cliniques d'EHD surviennent essentiellement en saison chaude et pluvieuse, 2) les pics d'abondance de *C. imicola*, *C. bolitinos* et *C. enderleini* sont aussi observés en saison chaude et pluvieuse, et 3) le niveau d'infection de leurs populations naturelles, ces deux premières espèces apparaissent comme les vecteurs primaires d'EHDV à la Réunion, avec, comme pour le BTV, un rôle plus important pour *C. imicola* à basse altitude, potentiellement secondé par *C. enderleini*, et pour *C. bolitinos* à moyenne altitude. Paweska *et al.* (Paweska et al., 2005) suggère en effet que EHDV et BTV,

en plus de partager les mêmes vecteurs, peuvent circuler en même temps et dans des lieux géographiques similaires. En ce qui concerne la transmission d'EHDV aux plus hautes altitudes, elle pourrait être assurée, comme pour BTV, par *C. kibatiensis*. Toutefois, son pic d'abondance en saison froide ne coïncide pas avec les cas cliniques d'EHD qui s'observent en saison chaude. En se basant sur le seuil minimal de température de 19.5°C permettant la réplication d'EHDV-1 chez *C. sonorensis* (Carpenter et al., 2011), il est peu probable que EHDV puisse circuler de façon continue à haute altitude. Cependant, comme pour BTV, l'EHDV pourrait y persister pendant les mois les plus froids, notamment grâce à la longévité accrue de *C. kibatiensis*. Enfin, en ce qui concerne *C. grahamii*, sa faible abondance encore une fois suggère qu'il s'agit d'un vecteur candidat secondaire à *C. kibatiensis*.

Les résultats soulèvent la question de pourquoi les cas cliniques d'EHD s'observent à haute altitude et avec des variabilités interannuelles. Mecham (Mecham, 1997) dans (Paweska et al., 2005) suggère que la co-circulation de BTV et EHDV peut créer des événements de réassortiments de gènes, qui bien que rare, expliqueraient l'émergence de souches d'EHDV plus virulentes et capables de causer des épizooties occasionnelles chez les bovins. Baylis *et al.* (Baylis et al., 1999b) trouva un lien entre les occurrences interannuelles d'une autre orbivirose, la peste équine, et les variations de pluviométrie dues aux oscillations australes d'El Niño. Ces variations de pluviométrie pourraient impacter fortement les densités de *C. kibatiensis*, qui pourrait alors assurer une transmission plus efficace certaines années, notamment en saison chaude, à haute altitude. Cette situation pourrait aussi être liée aux variations interannuelles d'abondance de *C. bolitinos*. Des coïncidences entre la dynamique spatio-temporelle de *C. bolitinos* et la circulation virale d'EHDV en 2016 sont en effet observées. Lors de l'épizootie d'EHD en 2015-2016, les premiers cas cliniques ont été observés dans l'ouest de l'île. Les cas cliniques se sont déplacés graduellement vers le centre de l'île et les derniers cas ont été recensés sur le côté Est de l'île. Lors de la transition au centre de l'île, seul 4 lots de *C. bolitinos* et un lot de *C. grahamii* furent retrouvés positif à EHDV. Aussi, *C. bolitinos* a montré une variabilité interannuelle forte qui se traduit par une abondance et une distribution plus importante dans les hauts de l'ouest en 2016 qu'en 2017 et 2018. L'augmentation de l'abondance de *C. bolitinos* certaines années pourrait amplifier la transmission d'EHDV. On peut aussi émettre une hypothèse sur l'existence d'un cycle sauvage avec les cerfs rusa puisque cette espèce peut-être infectée par l'EHDV (Jori et al., 2011). En effet, la recrudescence de cas cliniques peut s'expliquer par la réintroduction du virus depuis une zone d'enzootie adjacente (Mellor and Wittmann, 2002). Il existe une population de cerfs sauvages dans les hauts du nord

de l'île composée d'une centaine d'individus en 2017 (https://www.clicanoo.re/Societe/Article/2017/05/14/Chasse-en-vue_467141) et qui pourrait constituer un foyer enzootique d'EHDV. Selon la fédération départementale des chasseurs de la Réunion, des cerfs rusa, principalement échappés d'élevage, seraient présents aussi dans d'autres forêts de l'île mais leur nombre reste inconnu. Les variations interannuelles de la dynamique spatio-temporelle de *C. bolitinos* et/ou de *C. kibatiensis* pourraient permettre de connecter ces populations de cerfs aux bovins situés à haute altitude et d'échanger ainsi des sérotypes d'EHDV. Les bovins sensibles à un sérotype donné pourraient alors développer des symptômes cliniques. Par ailleurs, ce foyer enzootique pourrait aussi se situer au-delà du territoire réunionnais, entre autre à l'Île Maurice par exemple. Les *Culicoides*, considérés comme du plancton aérien, peuvent en effet être transportés par le vent sur plusieurs centaines de kilomètres (Mellor and Wittmann, 2002), notamment au-dessus de la mer, et introduire occasionnellement via des individus infectés de nouveaux sérotypes de virus sur de nouveaux territoires comme cela démontré dans le bassin méditerranéen (Jacquet et al., 2016) et en Europe (Hendrickx et al., 2008). Quoiqu'il en soit, des travaux supplémentaires apparaissent nécessaires pour confirmer ou non l'existence d'un cycle sauvage d'EHDV et apporter de nouveaux éléments sur les mécanismes de persistance de l'EHDV à la Réunion entre 2 crises épizootiques.

Enfin, les résultats montrent que l'EHDV n'a été détecté que dans des lots de *Culicoides* de janvier 2016 à avril 2016. On peut se demander pourquoi on ne retrouve plus de *Culicoides* infectés par EHDV après l'épizootie de 2015-2016 alors que les enquêtes sérologiques suggèrent que le virus circule très bien dans les élevages bovins de l'île (Bréard et al., 2004; Cêtre-Sossah et al., 2014; Sailleau et al., 2012). L'hypothèse la plus probable repose sur des difficultés de détection d'une proportion de *Culicoides* infectés devenue trop faible dans les populations sauvages échantillonnées. Les virémies courtes chez les bovins (< 28 jours) (Savini et al., 2011) suivi d'un nombre important d'immunisations naturelles chez les bovins après l'épizootie peuvent diminuer les possibilités d'infection des *Culicoides*, voire rendre le virus « indisponible » sur de petites zones (fermes ou villages) et pendant un certain laps de temps, comme le souligne (Mellor and Wittmann, 2002).

Pour conclure sur l'EHD et aussi sur la BT, nous avons vu que des espèces vectrices aux écologies variées multiplient les possibilités de circulation pour un agent infectieux, permettant ainsi d'étendre spatialement et temporellement la zone de transmission possible. Les connaissances acquises au cours de ces travaux ont permis de caractériser le rôle vectoriel de

chaque espèce de *Culicoides* à La Réunion et ainsi d'appréhender, de manière explicite ou par des hypothèses, l'épidémiologie de la BT et de l'EHD à La Réunion.

3. Intérêts de la modélisation de la dynamique des *Culicoides* dans la compréhension et la maîtrise du risque BT et EHD

Les méthodes de lutte antivectorielle (modification de l'habitat larvaire, utilisation de répulsifs, d'attractifs, d'adulticides sur animaux ou sur support, usage de larvicide chimique ou biologique) actuellement disponibles pour gérer les arboviroses transmises par les *Culicoides* sont très limitées. En effet, les outils chimiques ou mécaniques de lutte anti-vectorielle ne permettent pas la réduction de l'abondance des populations de *Culicoides* et/ou la diminution du contact hôte-vecteur, en plus d'avoir des impacts sur l'environnement non négligeables pour les applications chimiques et des ratios coût-efficacité en terme de réduction de la transmission très faibles (Carpenter et al., 2008; Harrup et al., 2016; Mehlhorn et al., 2008; Murchie et al., 2019; Venail et al., 2011). De ce fait, la vaccination est considérée comme la méthode la plus efficace pour contrôler les arboviroses transmises par *Culicoides* (Harrup et al., 2016).

Pour le contexte réunionnais, la vaccination présente des limites pour maîtriser le risque BT et EHD. Les vaccins sont souvent dédiés à un sérotype du virus ciblé et ceux qui sont commercialisés actuellement ne permettent une protection que contre 5 des 27 sérotypes de BTV (BTV-1, 2, 4, 8 et 9)(Savini et al., 2008; Zientara et al., 2010) et 1 des 7 sérotypes d'EHDV (EHDV-2)(Spedicato et al., 2016). Sachant les sérotypes circulant à La Réunion pour les deux virus (BTV-2, 3 et 4 (Barré et al., 1985; Bréard et al., 2005) ; EHDV-1, 6 et 7 (Bréard et al., 2004; Cêtre-Sossah et al., 2014; Sailleau et al., 2012) et sans protection croisée, la protection du cheptel par la vaccination n'est pas envisageable. La vaccination peut-être efficace lorsqu'un seul ou deux sérotypes circulent, comme ce fut le cas en Europe du Nord par exemple où de vastes campagnes de vaccination ont permis d'enrayer l'épizootie de BT sérotype 8 et 1 de 2006-2007 (Zientara et al., 2010). Néanmoins, la menace d'incursions futures de BTV demeure tant que le virus (le même sérotype ou d'autres sérotypes) circulent dans des pays voisins, ou au sein d'hôtes réservoirs non ciblés par les programmes de vaccination. En effet, les *Culicoides* peuvent être transportés par les vents sur de longues distances, jusqu'à plusieurs centaines de kilomètres (Burgin et al., 2013). Par exemple, il existe des preuves convaincantes sur le fait que BTV-8 ait été disséminé en 2007 de l'Europe continentale aux régions adjacentes de l'Angleterre par des *Culicoides* transportés par le vent (Gloster et al., 2008). Outre BTV, les *Culicoides* qui

se dispersent peuvent aussi propager d'autres arbovirus d'importance internationale comme celui de la peste équine par exemple (MacLachlan and Guthrie, 2010). Selon Sellers et al. (Sellers et al., 1977), la dispersion du virus de la peste équine du Maroc à l'Espagne en 1966 et de la Turquie à Chypre en 1960 est due au transport par le vent de *Culicoides* infectés. L'introduction de nouveaux sérotypes ou d'autres arbovirus peut aussi trouver une autre voie, notamment via les animaux domestiques ou sauvages par des échanges commerciaux ou pour des parcs zoologiques comme le souligne Tabachnick (Tabachnick, 2010). Par exemple, entre 1987 et 1990 le sérotype 4 du virus de la peste équine a été introduit en Espagne par des zèbres importés de Namibie (Mellor et al., 1990; Rodriguez et al., 1992). Toutefois, la voie d'introduction par les animaux est peu probable à La Réunion, notamment par un arrêté préfectoral interdisant l'importation de ruminants sur pied. Dans l'éventualité de l'incursion d'un arbovirus d'intérêt économique transmis par les *Culicoides*, le contrôle par vaccination dépendra de la capacité du pays à développer rapidement et à diffuser largement le vaccin. Mais dans ces conditions, on comprend que le contrôle par vaccination, s'il est possible, arrive bien tard et dans un but plutôt curatif. Dans ce contexte, des modèles prédictifs de l'abondance des *Culicoides* peuvent trouver un intérêt certain.

3.1. Vers le renforcement de la surveillance des *Culicoides* en Europe

La BT est une maladie réglementée en Europe et depuis l'an 2000, la commission européenne a établi une série de mesures pour le contrôle et la surveillance dans les pays infectés en suivant les recommandations de l'OIE. En plus de la vaccination, la restriction du mouvement des animaux par la création de zones réglementées était une de ces mesures, notamment lors d'épizootie et au cours de la période d'activité des *Culicoides* (Sanders et al., 2019; Searle et al., 2014; Villard et al., 2019a). Les restrictions de mouvements d'animaux pouvaient être levées lors des périodes d'inactivité vectorielle mais la décision nécessitait une bonne connaissance de la dynamique spatio-temporelle des *Culicoides* et qui reposait sur les programmes de surveillance (Villard et al., 2019a).

En Corse, la détection de *C. imicola* en 2000 suivi de l'émergence de BTV-2 la même année a impulsé un programme de surveillance entomologique dans cette île, puis sur le littoral méditerranéen français et dans les départements frontaliers à l'Espagne où l'espèce est présente (Venail et al., 2012). Les objectifs de ce programme étaient d'établir la distribution et la dynamique de *C. imicola* en Corse et de détecter une éventuelle introduction et implantation de

cette espèce en France continentale. Suite à l'épizootie de BT en Europe du Nord en 2006-2007, le programme de surveillance a été étendu, au fur et à mesure, à toute la France (1 à 2 pièges par département, Corse comprise), et à tous les *Culicoides* (Balenghien et al., 2010a; Balenghien et al., 2011; Balenghien et al., 2010b). En 2016-2018, le programme de surveillance a été optimisé à 24 zones vectorielles (Villard et al., 2019a). Ce programme de surveillance entomologique est coordonné par le Cirad par délégation de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). Les informations fournies ont permis à plusieurs départements français d'être déclarés zones saisonnières indemnes de BTV durant les hivers 2016-2017 et 2017-2018, ce qui a permis de lever les restrictions de mouvements pour les animaux sensibles provenant de ces zones (Villard et al., 2019a).

Toutes ces données de surveillance peuvent faire l'objet de modélisation pour mieux définir les périodes d'inactivité vectorielle et renforcer ou alléger le programme de surveillance. Dans cet objectif, Villard *et al.* (Villard et al., 2019b) ont établi la dynamique temporelle des *Culicoides* dans les 24 zones vectorielles en France en se basant sur les données de captures de 2009 à 2012 et en utilisant la température comme variable. Toutefois, ces secteurs géographiques restent de grande taille et peuvent présenter une forte variabilité de relief et par conséquent de facteurs climatiques et environnementaux. Etant capable de gérer un nombre important de zéros d'abondance, l'emploi d'un modèle de haie prend tout son sens ici pour déterminer les périodes sans vecteurs. Les modèles de Villard et al. (Villard et al., 2019a) pourraient être transposés vers des modèles de haie et être renforcés par des variables de pluie, de NDVI, de densité d'hôtes, d'occupation du sol et de type de sol comme facteur édaphique. La pluie et le NDVI sont d'importants paramètres qui impactent la présence et l'abondance des *Culicoides* (Purse et al., 2015) et, comme nous l'avons vu, les plus fréquemment utilisés en plus de la température pour *C. imicola* (Acevedo et al., 2010; Baylis et al., 1999a; Baylis et al., 2001; Baylis and Rawlings, 1998; Calistri et al., 2003; Calvete et al., 2008; Conte et al., 2003; Conte et al., 2007; Conte et al., 2004; Diarra et al., 2018; Diarra et al., 2015; Ippoliti et al., 2013; Jan et al., 2013; Purse et al., 2004; Rigot et al., 2012; Tatem et al., 2003; Van Doninck et al., 2014; Wittmann et al., 2001). Les facteurs environnementaux tels que la densité d'hôtes, l'occupation du sol et le type de sol augmentent la précision des prédictions (Conte et al., 2007; Purse et al., 2012). Ces modèles pourraient être ensuite extrapolés avec Ocelet, pour les zones vectorielles ou à toute la France avec un redimensionnement de l'échelle de prédiction. Cette extrapolation permettrait de définir des zones spatio-temporelles sans vecteur, permettant ainsi d'optimiser la gestion du mouvement des animaux. Cette extrapolation pourrait aussi faire l'objet d'une

amélioration vers un outil accessible au public et/ou aux autorités sanitaires, comme envisagé pour La Réunion, et être complémentaire du programme de surveillance entomologique.

3.2. Vers un outil de sensibilisation et de prévention à La Réunion

Les modèles de dynamiques spatio-temporelles ont été développés pour chaque espèce de *Culicoides* présentes à La Réunion. La grande diversité des abondances marquées par un nombre important de zéros d'abondance a pu être considérée grâce aux modèles de haie. Ceci a permis de mieux appréhender l'épidémiologie de la BT et de l'EHD sur l'île en tenant compte de la diversité écologique de chaque espèce, de la variabilité de leur distribution spatio-temporelle et de leur capacité, potentielle ou non, à pouvoir transmettre BTV et EHDV.

L'impact économique des « bavites » sur la production de ruminants, notamment bovine a soulevé le besoin de connaissance sur les mécanismes de ces maladies. Face à l'enjeu de maîtrise de l'incidence de la FCO et de l'EHD en l'absence de vaccination possible, la modélisation spatio-temporelle des *Culicoides* et l'identification des espèces vectrices ou potentiellement vectrices sont ici une première étape qui a permis d'améliorer la compréhension de l'épidémiologie de la BT et de l'EHD. A ce stade, une étape d'amélioration est encore nécessaire pour pouvoir utiliser les modèles de dynamique des *Culicoides* comme outil. Il s'agit en effet de les rendre accessibles au grand public. Cette étape d'amélioration pourrait être effectuée avec R-Shiny (<https://shiny.rstudio.com/>) qui permet d'intégrer des analyses faites à partir de R (R Team, 2012) en application web interactive et réactive. Une fois cette amélioration effectuée, l'outil pourra être utilisé par le GDS Réunion, dans sa mission d'organisme à vocation sanitaire, et d'autres acteurs de la santé animale. A ce stade, l'outil pourra être similaire à celui déjà existant et opérationnel pour *Ae. albopictus* : ALBORUN (Tran et al., 2018). Cet outil permet à l'Agence Régionale de la Santé (ARS) de La Réunion d'optimiser ses campagnes de lutte anti-vectorielle et de sensibilisation de la population en ciblant les zones à forte abondance comme prioritaires. En ce qui concerne les *Culicoides*, il pourra s'agir d'un outil 1) de prévention et de sensibilisation au risque « bavite », 2) de formation puisque peu d'acteurs de la santé animale comprennent l'épidémiologie des « bavites », ou encore 3) de concertation pour réfléchir à des stratégies et/ou d'expérimentation de maîtrise du risque.

Toutefois, des points sont encore à éclaircir, notamment pour comprendre le mécanisme des épizooties d'EHD. Mais d'ores et déjà, on comprend que le contrôle des « bavites » via la

lutte antivectorielle sera compliqué. Pour des objectifs de maîtrise du risque sanitaire, connaître les limites des possibilités permet de concentrer ses efforts sur les actions les plus efficaces et viables. Pour répondre aux besoins des éleveurs, des filières et des autorités locales, la mesure du risque se devra d'être plus précise en intégrant le calcul du taux de reproduction de base R_0 (Dietz, 1993; Hartemink et al., 2009). Cette amélioration peut déjà intégrer les taux d'infection estimés sur l'ensemble des espèces de l'île. En attendant, les modèles basés sur le R_0 développés pour *C. imicola* et *C. bolitinos* (Turner et al., 2013) pourront faire l'objet d'adaptation pour La Réunion. Cette évolution du modèle permettra de délimiter plus précisément les zones où les épizooties sont possibles, renforçant ainsi l'outil dans son rôle de prévention et de sensibilisation. Ce modèle évolué pourrait être complété par des techniques de surveillance *in situ* de circulation virale comme celle récemment proposées avec des cartes FTA® (Flinders Technology Associates filter paper) appâtées au miel (Hall-Mendelin et al., 2010). Sur la base de l'excrétion de virus par la salive lors de la consommation de miel, les cartes peuvent ensuite être analysées par RT-PCR. Cette approche est en cours de perfectionnement en Europe du Nord pour la détection précoce du virus de Schmallenberg (SBV) (Koenraadt et al., 2014). En Australie, elle a permis de détecter avec succès des arbovirus de moustiques et apparaît prometteuse pour des programmes de surveillance (Flies et al., 2015; Hall-Mendelin et al., 2010).

L'amélioration des modèles de dynamique intégrant le R_0 permettra aussi de simuler le risque que représentent l'introduction et la dispersion de BTV et/ou d'EHDV depuis une zone d'enzootie adjacente. Entre autre, cette amélioration permettrait de vérifier l'hypothèse d'un cycle sauvage d'EHDV avec les cerfs rusa en intégrant des paramètres de dispersion des *Culicoides*, soit à partir d'essais de capture-marquage-recapture (Kirkeby et al., 2013; Kluiters et al., 2015) ou par l'étude de l'aire d'alimentation (Bakhoum et al., 2016). Si l'hypothèse se confirme, des mesures pourront être prises pour enrayer ce foyer enzootique d'EHDV.

4. Le risque BT et EHDV dans la zone du Sud-Ouest de l'Océan Indien par la dispersion des *Culicoides*

Les modélisations de la dynamique des *Culicoides*, l'évolution de ces modèles vers un outil de prévention et de sensibilisation et sa complémentation par des techniques de surveillance *in situ* permettra de mieux appréhender le risque BT et EHDV à La Réunion. Cependant le risque d'incursion de nouveaux sérotypes virulents pour le cheptel de l'île et

depuis les autres îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien ne peut être écarté. Cette inquiétude est notamment renforcée par la détection d'EHDV-1 et d'EHDV-7 en 2011 et en 2013 alors que l'arrêté préfectoral de 2008 interdisant l'importation de ruminants vivants était en cours. La découverte de ces nouveaux sérotypes sur l'île peut résulter d'une absence de détection avant ces dates ou de la sortie du cycle sauvage avec les cerfs Rusa. Cependant, la question d'un processus d'invasion biologique des *Culicoides* par les vents se pose aussi.

L'Île Maurice et La Réunion sont proches. Les *Culicoides*, facilement transportés par les vents (Burgin et al., 2013; Mellor and Wittmann, 2002), pourraient facilement passer d'une île à l'autre. Mais cette constatation peut s'appliquer à l'ensemble des îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien et des scénarios d'invasion biologique par des *Culicoides* potentiellement infectés, comme entre les îles du bassin méditerranéen (Jacquet et al., 2015; Nolan et al., 2008), est tout à fait plausible.

Culicoides imicola est présent sur au moins 4 territoires de la région du Sud-Ouest de l'Océan Indien (Madagascar, La Réunion, l'île Maurice et Mayotte) (Augot et al., 2013; Desvars et al., 2015; Garros et al., 2019; Jori et al., 2011). Les distances géographiques, pour certaines grandes, entre ces territoires insulaires peut conduire à des structurations génétiques marquées entre ces populations. Des travaux de phylogéographie et de génétique de populations à l'échelle de la zone, en incluant des pays de l'Afrique de l'Est où *C. imicola* est présent, permettrait de mettre en évidence si des échanges de gènes ont régulièrement ou rarement lieu entre les différents territoires. Pour ce faire, les travaux de Stéphanie Jacquet (Jacquet, 2015), menés dans le bassin méditerranéen, pourraient être reproduits. En utilisant des marqueurs microsatellites et mitochondriaux, ces travaux lui ont permis de définir la structuration génétique spatiale de *C. imicola* dans le bassin méditerranéen, de proposer des scénarios de colonisation du territoire méditerranéen depuis le continent africain, et de définir la dynamique de dispersion locale et régionale en se basant sur le taux de migration et la distance entre ces populations. Connaissant la situation épidémiologique pour la BT et l'EHD pour les différents territoires (Andriamandimby et al., 2015; Cêtre-Sossah et al., 2014; Dommergues et al., 2019; Jori et al., 2011), la distance géographique, les mouvements du vent et les échanges d'animaux connus, la conduite de travaux similaire à ceux développés par Stéphanie Jacquet permettra de définir un niveau de risque de circulation de nouveaux sérotypes ou d'installation de nouvelles espèces de *Culicoides* dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien, et notamment à La Réunion.

CONCLUSION GENERALE

Le (ou les) espèce(s) vectrice(s) occupe(nt) une place centrale dans l'étude d'une maladie à transmission vectorielle. Les variations des paramètres biologiques des populations peuvent avoir des conséquences sur la dynamique de transmission d'un pathogène. Des observations effectuées durant un peu plus de deux années ont permis d'améliorer les connaissances sur les *Culicoides*, moucheron hémaphages vecteurs de deux orbivirus, la BT et l'EHD, à La Réunion. Grâce à des modèles de haie et au logiciel Ocelet, leurs dynamiques temporelles ont été établies puis extrapolées à l'ensemble des élevages de l'île, permettant ainsi de disposer d'un premier modèle de dynamique spatio-temporelle pour chacune des 5 espèces de *Culicoides* présentes à La Réunion. Ces premiers travaux ont aussi permis d'améliorer les connaissances sur leurs bio-écologies respectives. Couplé à l'étude du taux d'infection des populations sauvages pour les deux virus, BTV et EHDV, le rôle vecteur des 5 espèces a été caractérisé. Ainsi, l'ensemble des résultats confirme que *C. imicola* et *C. bolitinos* sont des vecteurs primaires de BTV mais aussi d'EHDV à La Réunion. Les résultats ont aussi mis en évidence le rôle que pourrait avoir un vecteur candidat, *C. kibatiensis*, pour lequel nous avons détecté pour la première fois les deux virus. Ce trio d'espèces, *C. imicola*, *C. bolitinos* et *C. kibatiensis*, ont toutes les caractéristiques pour assurer efficacement la transmission continue des deux orbivirus dans tous les élevages de l'île et durant toute l'année. A haute altitude, la longévité de *C. kibatiensis* semble être un atout majeur pour la transmission continue des deux virus et mériterait donc de plus amples investigations. La première détection d'EHDV dans les populations sauvages de *C. grahamii* fait de cette espèce un vecteur candidat pour ce virus et les résultats confirment le statut de *C. enderleini* en tant que vecteur avéré de BTV. Toutefois, ces deux dernières espèces, de par leurs abondances et leurs distributions, pourraient avoir un rôle secondaire dans la transmission des deux virus sur l'île. Enfin, des travaux d'infection expérimentale sont encore nécessaires ici pour déterminer la compétence vectorielle de *C. kibatiensis*, *C. grahamii* et de *C. enderleini* pour EHDV, afin de confirmer ou d'infirmer leurs niveau d'implication dans la transmission des deux virus. Par ailleurs, il reste des éléments à éclaircir pour confirmer le caractère épizootique de l'EHD et sur la base des hypothèses proposées, de nouveaux travaux pourraient continuer l'investigation.

Les modèles développés sont une première étape vers le développement d'un outil de sensibilisation et de prévention du risque BT et EHD à La Réunion. L'amélioration de cet outil vers des modèles R0, couplé à une surveillance *in situ* par les cartes FTA® et des modèles de risque d'introduction de nouveaux sérotypes depuis les autres îles du Sud-Ouest de l'Océan

Indien renforcerait la prévention du risque. Ceci est d'autant plus important qu'actuellement le contrôle des « bavites » sur l'île se heurte encore à un manque de moyens efficaces, notamment de moyens de lutte anti-vectorielle qui semblent déjà compromis par la large distribution, l'abondance parfois forte et la complémentarité des 5 espèces de *Culicoides* pour transmettre les virus. Toutefois, quand ces moyens seront disponibles, l'outil, la surveillance *in situ* et les modèles de risque d'introduction permettront de cibler des zones prioritaires pour une utilisation optimale. Aussi, les modèles développés permettront le calibrage de modèles mathématiques dont le rôle sera d'évaluer l'efficacité de ce nouveau moyen de contrôle.

Enfin, ces travaux réalisés sur les *Culicoides* à La Réunion pourraient être étendus à d'autres vecteurs ou contextes. Par exemple, à La Réunion, les stomoxes sont une source de nuisance importante en élevage sans compter leurs rôles dans la transmission mécanique des agents pathogènes de l'anaplasmose et éventuellement de la leucose bovine. Cette dernière maladie fait actuellement l'objet d'un débat sociétal sur l'île et les autorités sanitaires ont grandement besoin d'outils aidant à un contrôle efficace du vecteur potentiel le temps d'améliorer le statut sanitaire du cheptel de l'île. De plus, les modèles développés pourraient aussi être étendus à l'île Maurice où BTV et EHDV sont présents, ce qui permettrait de mieux calibrer le risque d'un échange de sérotype avec La Réunion et d'autres îles alentours.

Pour conclure, ce travail original et multidisciplinaire a permis d'apporter des éléments essentiels à la compréhension de l'épidémiologie des virus transmis par les *Culicoides* à La Réunion. Il a associé des approches de modélisation dynamique à la fois spatiale et temporelle, à des études d'infection des populations naturelles pour 5 espèces afrotropicales. Un nouvel langage de programmation spatiale a été utilisé. Ces travaux et les activités qui seront menées dans les prochains mois pour finaliser certaines analyses pourront à moyen terme servir de base solide pour aider les gestionnaires de la santé animale à améliorer la surveillance et la prévention des maladies transmises par les *Culicoides* dans le département.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Estrada, R., Márquez, A.L., Miranda, M.A., Gortázar, C., Lucientes, J., 2010. A broad assessment of factors determining *Culicoides imicola* abundance: modelling the present and forecasting its future in climate change scenarios. *PLoS one* 5, e14236.
- Ahmed, S., Mahmoud, M.A.E.-F., Viarouge, C., Sailleau, C., Zientara, S., Breard, E., 2019. Presence of bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses in Egypt in 2016 and 2017. *Infect Genet Evol* 73, 221-226.
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M., Rohani, P., 2006. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecol Lett* 9, 467-484.
- Amek, N., Bayoh, N., Hamel, M., Lindblade, K.A., Gimnig, J., Laserson, K.F., Slutsker, L., Smith, T., Vounatsou, P., 2011. Spatio-temporal modeling of sparse geostatistical malaria sporozoite rate data using a zero inflated binomial model. *Spat Spatiotemporal Epidemiol* 2, 283-290.
- Amek, N., Bayoh, N., Hamel, M., Lindblade, K.A., Gimnig, J.E., Odhiambo, F., Laserson, K.F., Slutsker, L., Smith, T., Vounatsou, P., 2012. Spatial and temporal dynamics of malaria transmission in rural Western Kenya. *Parasite Vector* 5, 86.
- Andriamandimby, S.F., Viarouge, C., Ravalohery, J.-P., Reynes, J.-M., Sailleau, C., Tantely, M.L., Elissa, N., Cardinale, E., Sall, A.A., Zientara, S., 2015. Detection in and circulation of Bluetongue virus among domestic ruminants in Madagascar. *Vet Microbiol* 176, 268-273.
- Atkins, D.C., Baldwin, S.A., Zheng, C., Gallop, R.J., Neighbors, C., 2013. A tutorial on count regression and zero-altered count models for longitudinal substance use data. *Psychol Addict Behav* 27, 166.
- Augot, D., Randrianambinintsoa, F., Gasser, A., Depaquit, J., 2013. Record of two species of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) new for Madagascar and molecular study showing the paraphyly of the subgenus *Oecacta* and the *Schultzei* group. *Bull Soc Pathol Exot* 106, 201-205.
- Auriault, M., 1977. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen), 1909, (Diptera, Ceratopogonidae): 1. Rythme d'activité des femelles. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol Off Rech Sci Tech*.
- Auriault, M., 1979. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen, 1909) (Diptera, Ceratopogonidae): 4. Dynamique des populations. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol Off Rech Sci Tech* 17, 31-36.
- Backx, A., Heutink, C., Van Rooij, E., Van Rijn, P., 2007. Clinical signs of bluetongue virus serotype 8 infection in sheep and goats. *Vet Rec* 161, 591.
- Bakhoun, M.T., Fall, M., Seck, M., Gardes, L., Fall, A., Diop, M., Mall, I., Balenghien, T., Baldet, T., Gimonneau, G., 2016. Foraging range of arthropods with veterinary interest: new insights for Afrotropical *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) using the ring method. *Acta Trop* 157, 59-67.
- Balenghien, T., Delécolle, J.-C., Setier-Rio, M.-L., Rakotoarivony, I., Allène, X., Venail, R., Delécolle, D., Lhoir, J., Gardès, L., Chavernac, D., 2010a. Bluetongue-report on entomological surveillance in France in 2010. *Bull Epidemiol* 46, 26-31.
- Balenghien, T., Delecolle, J.C., Setier-Rio, M.-L., Rakotoarivony, I., Allène, X., Venail, R., Delécolle, D., Lhoir, J., Gardès, L., Chavernac, D., 2011. Fièvre catarrhale ovine: bilan de la surveillance entomologique en 2010 en France. *Bull Epidemiol*, 26-31.
- Balenghien, T., Garros, C., Mathieu, B., Setier-Rio, M.-L., Allène, X., Gardes, L., Rakotoarivony, I., Venail, R., Akaddar, A., Drouet, M., 2010b. La surveillance des *Culicoides* en France. *Bull Epidemiol*, 8-9.
- Barnard, B., 1997. Some factors governing the entry of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) into stables. *Onderstepoort J Vet Res* 64, 227-233.
- Barré, N., Erasmus, B., Gautier, A., Reme, A., Valin, R., 1985. La bluetongue, nouvelle maladie des ovins à la Réunion (Océan Indien). *Rev Elev Med Vet Pay* 38.

Baylis, M., Bouayoune, H., Touti, J., El, H.H., 1998. Use of climatic data and satellite imagery to model the abundance of *Culicoides imicola*, the vector of African horse sickness virus, in Morocco. *Med Vet Entomol* 12, 255-266.

Baylis, M., Caminade, C., Turner, J., Jones, A., 2017. The role of climate change in a developing threat: the case of bluetongue in Europe. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz* 36, 467-478.

Baylis, M., Meiswinkel, R., Venter, G., 1999a. A preliminary attempt to use climate data and satellite imagery to model the abundance and distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Africa. *J S Afr Vet Assoc* 70, 80-89.

Baylis, M., Mellor, P., Wittmann, E., Rogers, D., 2001. Prediction of areas around the Mediterranean at risk of bluetongue by modelling the distribution of its vector using satellite imaging. *Vet Rec* 149, 639-643.

Baylis, M., Mellor, P.S., Meiswinkel, R., 1999b. Horse sickness and ENSO in South Africa. *Nature* 397, 574.

Baylis, M., O'Connell, L., Purse, B., 2004. Modelling the distribution of bluetongue vectors. *Vet Ital* 40, 176-181.

Baylis, M., Rawlings, P., 1998. Modelling the distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Morocco and Iberia using climatic data and satellite imagery. *Arch Virol Suppl* 14, 137-153.

Bernard, Q., Jaulhac, B., Boulanger, N., 2015. Skin and arthropods: an effective interaction used by pathogens in vector-borne diseases. *Eur J Dermatol* 25, 18-22.

Blackburn, N., Searle, L., Phelps, R., 1985. Viruses isolated from *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) caught at the veterinary research farm, Mazowe, Zimbabwe. *J Entomol Soc South Afr* 48, 331-336.

Blackwell, A., 2001. Recent advances on the ecology and behaviour of *Culicoides* spp. in Scotland and the prospects for control. *Vet Bull* 71.

Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.-S.S., 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 24, 127-135.

Bonneau, K., DeMaula, C., Mullens, B., MacLachlan, N.J., 2002. Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. *Vet Microbiol* 88, 115-125.

Borkent, A., 2016. World species of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae), 2014. Last update May 16, 2016.

Bourquia, M., Garros, C., Rakotoarivony, I., Gardès, L., Huber, K., Boukhari, I., Delécolle, J.-C., Baldet, T., Mignotte, A., Lhor, Y., 2019. Update of the species checklist of *Culicoides* Latreille, 1809 biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) of Morocco. *Parasite Vector* 12, 459.

Brand, S.P., Keeling, M.J., 2017. The impact of temperature changes on vector-borne disease transmission: *Culicoides* midges and bluetongue virus. *J R Soc Interface* 14, 20160481.

Bréard, E., Sailleau, C., Gourreau, J., 2004. Outbreak of epizootic haemorrhagic disease on the island of Réunion. *Vet Rec* 155, 422-423.

Bréard, E., Sailleau, C., Hamblin, C., Zientara, S., 2005. Bluetongue virus in the French Island of Reunion. *Vet Microbiol* 106, 157-165.

Breiman, L., 2001. Random forests. *Machine learning* 45, 5-32.

Broström, G., Holmberg, H., 2011. glmmML: Generalized linear models with clustering, in: Department of Statistics, U.a.U. (Ed.).

Brugger, K., Rubel, F., 2013a. Bluetongue disease risk assessment based on observed and projected *Culicoides obsoletus* spp. vector densities. *PLoS One* 8, e60330.

Brugger, K., Rubel, F., 2013b. Characterizing the species composition of European *Culicoides* vectors by means of the Köppen-Geiger climate classification. *Parasite Vector* 6, 333.

Burgin, L., Gloster, J., Sanders, C., Mellor, P., Gubbins, S., Carpenter, S., 2013. Investigating incursions of bluetongue virus using a model of long-distance *Culicoides* biting midge dispersal. *Transbound Emerg Dis* 60, 263-272.

Bustamante, D.M., Lord, C.C., 2010. Sources of error in the estimation of mosquito infection rates used to assess risk of arbovirus transmission. *Am J Trop Med Hyg* 82, 1172-1184.

Calistri, P., Goffredo, M., Caporale, V., Meiswinkel, R., 2003. The distribution of *Culicoides imicola* in Italy: application and evaluation of current Mediterranean models based on climate. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 50, 132-138.

Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M., Borrás, D., Calvo, J., Lucientes, J., 2008. Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian Peninsula. *Med Vet Entomol* 22, 124-134.

Caporale, M., Di Gialleonardo, L., Janowicz, A., Wilkie, G., Shaw, A., Savini, G., Van Rijn, P.A., Mertens, P., Di Ventura, M., Palmarini, M., 2014. Virus and host factors affecting the clinical outcome of bluetongue virus infection. *J Virol* 88, 10399-10411.

Carpenter, S., Mellor, P., Torr, S., 2008. Control techniques for *Culicoides* biting midges and their application in the UK and northwestern Palaearctic. *Med Vet Entomol* 22, 175-187.

Carpenter, S., Wilson, A., Barber, J., Veronesi, E., Mellor, P., Venter, G., Gubbins, S., 2011. Temperature dependence of the extrinsic incubation period of orbiviruses in *Culicoides* biting midges. *PloS one* 6, e27987.

Cêtre-Sossah, C., Roger, M., Sailleau, C., Rieau, L., Zientara, S., Bréard, E., Viarouge, C., Beral, M., Esnault, O., Cardinale, E., 2014. Epizootic haemorrhagic disease virus in Reunion Island: Evidence for the circulation of a new serotype and associated risk factors. *Vet Microbiol* 170, 383-390.

Charrel, R.N., de Lamballerie, X., Raoult, D., 2007. Chikungunya outbreaks-the globalization of vectorborne diseases. *N Engl J Med* 356, 769.

Clastrier, J., 1959. Notes sur les cératopogonidés de l'île de La Réunion. *Archives de l'institut pasteur d'Alger* XXXVII, 412-446.

Conte, A., Giovannini, A., Savini, L., Goffredo, M., Calistri, P., Meiswinkel, R., 2003. The effect of climate on the presence of *Culicoides imicola* in Italy. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 50, 139-147.

Conte, A., Goffredo, M., Ippoliti, C., Meiswinkel, R., 2007. Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the *Obsoletus* Complex in Italy. *Vet Parasitol* 150, 333-344.

Conte, A., Ippoliti, C., Calistri, P., Pelini, S., Savini, L., Salini, R., Goffredo, M., Meiswinkel, R., 2004. Towards the identification of potential infectious sites for bluetongue in Italy: a spatial analysis approach based on the distribution of *Culicoides imicola*. *Vet Ital* 40, 311.

Correa, T., Ferreira, J., Riet-Correa, G., Ruas, J., Schild, A., Riet-Correa, F., Guimaraes, A., Felipe-Bauer, M., 2007. Seasonal allergic dermatitis in sheep in southern Brazil caused by *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Vet Parasitol* 145, 181-185.

Cuéllar, A.C., Kjær, L.J., Baum, A., Stockmarr, A., Skovgard, H., Nielsen, S.A., Andersson, M.G., Lindström, A., Chirico, J., Lühken, R., 2018a. Monthly variation in the probability of presence of adult *Culicoides* populations in nine European countries and the implications for targeted surveillance. *Parasite Vector* 11, 608.

Cuéllar, A.C., Kjær, L.J., Kirkeby, C., Skovgard, H., Nielsen, S.A., Stockmarr, A., Andersson, G., Lindstrom, A., Chirico, J., Lühken, R., 2018b. Spatial and temporal variation in the abundance of *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in nine European countries. *Parasite Vector* 11, 112.

Degenne, P., Seen, D.L., Parigot, D., Forax, R., Tran, A., Lahcen, A.A., Curé, O., Jeansoulin, R., 2009. Design of a domain specific language for modelling processes in landscapes. *Ecol Model* 220, 3527-3535.

Desvars, A., Grimaud, Y., Guis, H., Esnault, O., Allene, X., Gardes, L., Balenghien, T., Baldet, T., Delécolle, J.C., Garros, C., 2015. First overview of the *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) livestock associated species of Reunion Island, Indian Ocean. *Acta Trop* 142, 5-19.

Diarra, M., Fall, M., Fall, A.G., Diop, A., Lancelot, R., Seck, M.T., Rakotoarivony, I., Allène, X., Bouyer, J., Guis, H., 2018. Spatial distribution modelling of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midges, potential vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in Senegal. *Parasite Vector* 11, 341.

Diarra, M., Fall, M., Fall, A.G., Diop, A., Seck, M.T., Garros, C., Balenghien, T., Allène, X., Rakotoarivony, I., Lancelot, R., 2014. Seasonal dynamics of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midges, potential vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in the Niayes area of Senegal. *Parasite Vector* 7, 147.

Diarra, M., Fall, M., Lancelot, R., Diop, A., Fall, A.G., Dicko, A., Seck, M.T., Garros, C., Allène, X., Rakotoarivony, I., 2015. Modelling the abundances of two major *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) species in the Niayes area of Senegal. PLoS One 10, e0131021.

Dietz, K., 1993. The estimation of the basic reproduction number for infectious diseases. Stat Methods Med Res 2, 23-41.

Diggle, P.J., Tawn, J.A., Moyeed, R., 1998. Model-based geostatistics. J R Stat Soc 47, 299-350.

Dommergues, L., Viarouge, C., Métras, R., Youssouffi, C., Sailleau, C., Zientara, S., Cardinale, E., Cêtre-Sossah, C., 2019. Evidence of bluetongue and Epizootic Haemorrhagic disease circulation on the island of Mayotte. Acta Trop 191, 24-28.

Donnelly, M.J., Simard, F., Lehmann, T., 2002. Evolutionary studies of malaria vectors. Trends Parasitol 18, 75-80.

Endo, N., Eltahir, E.A., 2018. Modelling and observing the role of wind in *Anopheles* population dynamics around a reservoir. Malar J 17, 48.

Erasmus, B.J., Potgieter, A., 2009. The history of bluetongue. Bluetongue, 7-21.

Esteva, L., Yang, H.M., 2005. Mathematical model to assess the control of *Aedes aegypti* mosquitoes by the sterile insect technique. Math Biosci 198, 132-147.

Ewing, D.A., Cobbold, C.A., Purse, B., Nunn, M., White, S.M., 2016. Modelling the effect of temperature on the seasonal population dynamics of temperate mosquitoes. J Theor Biol 400, 65-79.

Fall, M., Diarra, M., Fall, A.G., Balenghien, T., Seck, M.T., Bouyer, J., Garros, C., Gimonneau, G., Allène, X., Mall, I., 2015a. *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) midges, the vectors of African horse sickness virus—a host/vector contact study in the Niayes area of Senegal. Parasite Vector 8, 39.

Fall, M., Fall, A.G., Seck, M.T., Bouyer, J., Diarra, M., Lancelot, R., Gimonneau, G., Garros, C., Bakhom, M.T., Faye, O., 2015b. Host preferences and circadian rhythm of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae), vectors of African horse sickness and bluetongue viruses in Senegal. Acta Trop 149, 239-245.

Ferguson, N.M., Kien, D.T.H., Clapham, H., Aguas, R., Trung, V.T., Chau, T.N.B., Popovici, J., Ryan, P.A., O'Neill, S.L., McGraw, E.A., 2015. Modeling the impact on virus transmission of *Wolbachia*-mediated blocking of dengue virus infection of *Aedes aegypti*. Sci Transl Med 7, 279ra237-279ra237.

Fischer, D., Thomas, S.M., Suk, J.E., Sudre, B., Hess, A., Tjaden, N.B., Beierkuhnlein, C., Semenza, J.C., 2013. Climate change effects on Chikungunya transmission in Europe: geospatial analysis of vector's climatic suitability and virus' temperature requirements. Int J Health Geogr 12, 51.

Flies, E.J., Toi, C., Weinstein, P., Doggett, S.L., Williams, C.R., 2015. Converting mosquito surveillance to arbovirus surveillance with honey-baited nucleic acid preservation cards. Vector Borne Zoonotic Dis 15, 397-403.

Fontaine, A., Diouf, I., Bakkali, N., Missé, D., Pagès, F., Fusai, T., Rogier, C., Almeras, L., 2011. Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. Parasite Vector 4, 187.

Fontenille, D., 2017. Importance des maladies à transmission vectorielle dans le monde, in: Duvallet, G., Fontenille, D., Robert, V. (Eds.), Entomologie médicale et vétérinaire, Quae & IRD ed, pp. 133-143.

Foxi, C., Delrio, G., Falchi, G., Marche, M.G., Satta, G., Ruiu, L., 2016. Role of different *Culicoides* vectors (Diptera: Ceratopogonidae) in bluetongue virus transmission and overwintering in Sardinia (Italy). Parasite Vector 9, 440.

Freeman, W.M., Walker, S.J., Vrana, K.E., 1999. Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. Biotechniques 26, 112-125.

Gage, K.L., Burkot, T.R., Eisen, R.J., Hayes, E.B., 2008. Climate and vectorborne diseases. Am J Prev Med 35, 436-450.

Garros, C., Balenghien, T., 2017. Les culicoïdes (Diptera: Ceratopogonidae), in: Duvallet, G., Fontenille, D., Robert, V. (Eds.), Entomologie médicale et vétérinaire, Quae & IRD ed, pp. 345-365.

Garros, C., Labuschagne, K., Dommergues, L., Balenghien, T., Muñoz, F., Bakhom, M.T., Cardinale, E., Guis, H., 2019. *Culicoides* Latreille in the sun: faunistic inventory of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in M site Vector 12, 135.

Gerdes, G., 2004. A So ance and unique features of bluetongue. Vet Ital 40

Gethmann, J., Probst, C., Sauter-Louis, C., Conraths, F.J., 2015. Economic analysis of animal disease outbreaks—BSE and Bluetongue disease as examples. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 128, 478-482.

Gilles, J., 2005. Dynamique et génétiques des populations d'insectes vecteurs. Les stomoxes, *Stomoxys calcitrans* et *Stomoxys niger niger* dans les élevages bovins réunionnais. PhD dissertation, Université de La Réunion, p. 140.

Glick, J.I., 1990. *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) of Kenya. *J Med Entomol* 27, 85-195.

Gloster, J., Burgin, L., Witham, C., Athanassiadou, M., Mellor, Y., 2008. Bluetongue in the United Kingdom and northern Europe in 2007 and key issues for 2008. *Vet Rec* 162, 298-302.

Goddard, J., 2009. Infectious diseases and arthropods. Springer Science & Business Media.

Goffredo, M., Catalani, M., Federici, V., Portanti, O., Marini, V., Mancini, G., Quaglia, M., Santilli, A., Teodori, L., Savini, G., 2015a. Vector species of *Culicoides* midges implicated in the 2012–2014 Bluetongue epidemics in Italy. *Vet Ital* 51, 131-138.

Goffredo, M., Monaco, F., Capelli, G., Quaglia, M., Federici, V., Catalani, M., Montarsi, F., Polci, A., Pinoni, C., Calistri, P., 2013. Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in *Culicoides* stored during the bluetongue Italian surveillance program. *Prev Vet Med* 111, 230-236.

Goffredo, M., Savini, G., Quaglia, M., Molini, U., Federici, V., Catalani, M., Portanti, O., Marini, V., Florentius, M.A., Pini, A., 2015b. Orbivirus detection from *Culicoides* collected on African horse sickness outbreaks in Namibia. *Vet Ital* 51, 17-23.

Golender, N., Khinich, Y., Gorohov, A., Abramovitz, I., Bumbarov, V., 2017. Epizootic hemorrhagic disease virus serotype 6 outbreak in Israeli cattle in 2015. *J Vet Diagn Invest* 29, 885-888.

Gordon, S.J., Bolwell, C., Rogers, C., Musuka, G., Kelly, P., Labuschagne, K., Guthrie, A.J., Denison, E., Mellor, P.S., Hamblin, C., 2015. The occurrence of *Culicoides* species, the vectors of arboviruses, at selected trap sites in Zimbabwe. *Onderstepoort J Vet Res* 82, 01-08.

Grömping, U., 2009. Variable importance assessment in regression: linear regression versus random forest. *Am Stat* 63, 308-319.

Gu, W., Lampman, R., Novak, R., 2004. Assessment of arbovirus vector infection rates using variable size pooling. *Med Vet Entomol* 18, 200-204.

Gu, W., Lampman, R., Novak, R.J., 2003. Problems in estimating mosquito infection rates using minimum infection rate. *J Med Entomol* 40, 595-596.

Gubler, D., 2009. Vector-borne diseases. *Rev Sci Tech* 28, 583.

Gubler, D.J., 1998. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerg Infect Dis* 4, 442.

Guichard, S., Guis, H., Tran, A., Garros, C., Balenghien, T., Kriticos, D.J., 2014. Worldwide niche and future potential distribution of *Culicoides imicola*, a major vector of bluetongue and African horse sickness viruses. *PLoS One* 9, e112491.

Guis, H., Caminade, C., Calvete, C., Morse, A.P., Tran, A., Baylis, M., 2011. Modelling the effects of past and future climate on the risk of bluetongue emergence in Europe. *J R Soc Interface* 9, 339-350.

Hajjem, A., 2010. Mixed Effects Trees and Forests for Clustered Data, Department of Management Sciences. Montreal: HEC Montreal.

Hall-Mendelin, S., Ritchie, S.A., Johansen, C.A., Zborowski, P., Cortis, G., Dandridge, S., Hall, R.A., van den Hurk, A.F., 2010. Exploiting mosquito sugar feeding to detect mosquito-borne pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107, 11255-11259.

Harrup, L.E., Miranda, M.A., Carpenter, S., 2016. Advances in control techniques for *Culicoides* and future prospects. *Vet Ital* 52, 247-264.

Hartemink, N., Purse, B., Meiswinkel, R., Brown, H.E., De Koeijer, A., Elbers, A., Boender, G.-J., Rogers, D., Heesterbeek, J., 2009. Mapping the basic reproduction number (R0) for vector-borne diseases: a case study on bluetongue virus. *Epidemics* 1, 153-161.

Hartemink, N., Vanwambeke, S.O., Purse, B.V., Gilbert, M., Van Dyck, H., 2015. Towards a resource-based habitat approach for spatial modelling of vector-borne disease risks. *Biol Rev* 90, 1151-1162.

Hendrickx, G., Gilbert, M., Staubach, C., Elbers, A., Mintiens, K., Gerbier, G., Ducheyne, E., 2008. A wind density model to quantify the airborne spread of *Culicoides* species during north-western Europe bluetongue epidemic, 2006. *Prev Vet Med* 87, 162-181.

Hendry, G., Godwin, G., 1988. Biting midges in Scottish forestry: a costly irritant or a trivial nuisance? *Scotisch Forestry* 42, 113-119.

Hourrigan, J., Klingsporn, A., 1975. Bluetongue: the disease in cattle. *Australian Veterinary Journal* 51, 170-174.

Ippoliti, C., Gilbert, M., Vanhuysse, S., Goffredo, M., Satta, G., Wolff, E., Conte, A., 2013. Can landscape metrics help determine the *Culicoides imicola* distribution in Italy? *Geospatial health* 8, 267-277.

Itoua, A., Cornet, M., VATTIER-BERNARD, G., Trouillet, J., 1987. Les *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) d'Afrique Centrale. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol Off Rech Sci Tech* 25, 127-134.

Itoua, A., Vattier-Bernard, G., Trouillet, J., 1986. [Ceratopogonidae (Diptera) of the Congolese Mayombe. II. Contribution to the study of a *Culicoides* community]. *Annales de parasitologie humaine et comparee* 62, 474-483.

Jacquet, S., 2015. Invasions biologiques et maladies émergentes en santé animale: expansion et colonisation du bassin méditerranéen par *Culicoides imicola* (Diptera Ceratopogonidae), moucheron vecteur d'Orbivirus. Université de Montpellier.

Jacquet, S., Garros, C., Lombaert, E., Walton, C., Restrepo, J., Allene, X., Baldet, T., Cetre-Sossah, C., Chaskopoulou, A., Delecolle, J.C., 2015. Colonization of the Mediterranean Basin by the vector biting midge species *Culicoides imicola*: an old story. *Mol Ecol* 24, 5707-5725.

Jacquet, S., Huber, K., Pagès, N., Talavera, S., Burgin, L.E., Carpenter, S., Sanders, C., Dicko, A.H., Djerbal, M., Goffredo, M., 2016. Range expansion of the bluetongue vector, *Culicoides imicola*, in continental France likely due to rare wind-transport events. *Sci Rep* 6, 27247.

Jacquot, M., Nomikou, K., Palmarini, M., Mertens, P., Biek, R., 2017. Bluetongue virus spread in Europe is a consequence of climatic, landscape and vertebrate host factors as revealed by phylogeographic inference. *Proc Biol Sci* 284, 20170919.

Jan, P., Annamaria, C., Jasper Van, d., Niko, E.C.V., Eva De, C., Maria, G., Bernard De, B., Guy, H., Els, D., 2013. On the relation between soil moisture dynamics and the geographical distribution of *Culicoides imicola*. *Ecohydrology*.

Jenckel, M., Bréard, E., Schulz, C., Sailleau, C., Viarouge, C., Hoffmann, B., Höper, D., Beer, M., Zientara, S., 2015. Complete coding genome sequence of putative novel bluetongue virus serotype 27. *Genome Announc.* 3, e00016-00015.

Jess, S., Thompson, G., Clawson, S., Forsythe, I., Rea, I., Gordon, A., Murchie, A., 2018. Surveillance of biting midges (*Culicoides* spp.) in Northern Ireland: influence of seasonality, surrounding habitat and livestock housing. *Med Vet Entomol* 32, 48-60.

Johansson, M.A., Cummings, D.A., Glass, G.E., 2009. Multiyear climate variability and dengue—El Niño southern oscillation, weather, and dengue incidence in Puerto Rico, Mexico, and Thailand: a longitudinal data analysis. *PLoS Med* 6, e1000168.

Jori, F., Roger, M., Baldet, T., Delécolle, J.-C., Sauzier, J., Jaumally, M., Roger, F., 2011. Orbiviruses in Rusa deer, Mauritius, 2007. *Emerg Infect Dis* 17, 312-313.

Kamomae, Y., Kamomae, M., Ohta, Y., Nabe, M., Kagawa, Y., Ogura, Y., Kato, T., Tanaka, S., Yanase, T., Shirafuji, H., 2018. Epizootic Hemorrhagic Disease Virus Serotype 6 Infection in Cattle, Japan, 2015. *Emerg Infect Dis* 24, 902.

Kampen, H., Werner, D., 2011. Arthropod vectors and their growing importance in Europe, *Progress in Parasitology*. Springer, pp. 259-282.

Kasasa, S., Asoala, V., Gosoni, L., Anto, F., Adjuik, M., Tindana, C., Smith, T., Owusu-Agyei, S., Vounatsou, P., 2013. Spatio-temporal malaria transmission patterns in Navrongo demographic surveillance site, northern Ghana. *Malar J* 12, 63.

Katholi, C.R., Unnasch, T.R., 2006. Important experimental parameters for determining infection rates in arthropod vectors using pool screening approaches. *Am J Trop Med Hyg* 74, 779-785.

- Kelso, J.K., Milne, G.J., 2014. A spatial simulation model for the dispersal of the bluetongue vector *Culicoides brevitarsis* in Australia. *PloS one* 9, e104646.
- Khamala, C.P., Kettle, D., 1971. The *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) of East Africa. *T Roy Ent Soc London* 123, 1-95.
- Kilpatrick, A.M., Daszak, P., Jones, M.J., Marra, P.P., Kramer, L.D., 2006. Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proc. R. Soc. B* 273, 2327-2333.
- Kilpatrick, A.M., Randolph, S.E., 2012. Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. *Lancet* 380, 1946-1955.
- Kirkeby, C., Bødker, R., Stockmarr, A., Lind, P., Heegaard, P.M., 2013. Quantifying dispersal of European *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) vectors between farms using a novel mark-release-recapture technique. *PloS one* 8, e61269.
- Kluiters, G., Swales, H., Baylis, M., 2015. Local dispersal of palaeartic *Culicoides* biting midges estimated by mark-release-recapture. *Parasite Vector* 8, 86.
- Koenraadt, C.J., Balenghien, T., Carpenter, S., Ducheyne, E., Elbers, A.R., Fife, M., Garros, C., Ibáñez-Justicia, A., Kampen, H., Kormelink, R.J., 2014. Bluetongue, Schmallenberg-what is next? *Culicoides*-borne viral diseases in the 21 st Century. *BMC veterinary research* 10, 77.
- Korenberg, E.I., 2000. Seasonal population dynamics of *Ixodes* ticks and tick-borne encephalitis virus. *Exp Appl Acarol* 24, 665-681.
- Lambin, E.F., Tran, A., Vanwambeke, S.O., Linard, C., Soti, V., 2010. Pathogenic landscapes: interactions between land, people, disease vectors, and their animal hosts. *Int J Health Geogr* 9, 54.
- Lancelot, R., Hendrickx, G., guis, H., 2017. Changements globaux et émergence d'infections à transmission vectorielle, in: duvallet, G., Fontenille, D., Robert, V. (Eds.), *Entomologie médicale et vétérinaire*, Quae & IRD ed, p. 145.
- Lefevre, P., Mellor, P., Saegerman, C., 2010. Bluetongue. *Infect Paras Dis Livestock*, 663-688.
- Linley, J.R., Davies, J.B., 1971. Sandflies and tourism in Florida and the Bahamas and Caribbean area. *J Econom Entomol* 64, 264-278.
- Linthicum, K.J., Anyamba, A., Tucker, C.J., Kelley, P.W., Myers, M.F., Peters, C.J., 1999. Climate and satellite indicators to forecast Rift Valley fever epidemics in Kenya. *Science* 285, 397-400.
- Liu-Helmerson, J., Brännström, Å., Sewe, M.O., Semenza, J.C., Rocklöv, J., 2019. Estimating Past, Present, and Future Trends in the Global Distribution and Abundance of the Arbovirus Vector *Aedes aegypti* Under Climate Change Scenarios. *Front Public Health* 7.
- Maclachlan, N., Zientara, S., Savini, G., Daniels, P., 2015. Epizootic haemorrhagic disease. *Rev Sci Tech* 34, 341-351.
- Maclachlan, N.J., Drew, C., Darpel, K., Worwa, G., 2009. The pathology and pathogenesis of bluetongue. *J Comp Pathol* 141, 1-16.
- MacLachlan, N.J., Guthrie, A.J., 2010. Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other orbivirus diseases. *Vet Res* 41, 35.
- Maclachlan, N.J., Zientara, S., Wilson, W.C., Richt, J.A., Savini, G., 2019. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses: Recent developments with these globally re-emerging arboviral infections of ruminants. *Curr Opin Virol* 34, 56-62.
- Marti, R., Catry, T., Demarchi, M., L'Ambert, G., Cros, M., Dehecq, J.-S., Dessay, N., Mangeas, M., Roux, E., Herbreteau, V., 2018. Modélisation spatiale fine de la distribution de moustiques *Aedes albopictus* par forçage météorologique et intégration de données environnementales et *in situ*. CNRS.
- Mayo, C., Mullens, B., Gibbs, E., MacLachlan, N.J., 2016a. Overwintering of Bluetongue virus in temperate zones. *Vet Ital* 52, 243-246.
- Mayo, C., Venter, E.H., Steyn, J., Coetzee, P., van Vuuren, M., Crafford, J., Schütte, C., Venter, G., 2016b. The prevalence of *Culicoides* spp. in 3 geographic areas of South Africa. *Vet Ital* 52, 281-289.
- McCullagh, P., Nelder, J., 1989. *Generalized linear models*. Chapman and Hill.
- McGregor, B.L., Erram, D., Acevedo, C., Alto, B.W., Burkett-Cadena, N.D., 2019. Vector competence of *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) for epizootic hemorrhagic disease virus serotype 2 strains from Canada and Florida. *Viruses* 11, 367.

Mecham, J., 1997. Epizootic Hemorrhagic Disease Virus of Deer; Does It Pose a Risk to US Livestock?, Proceedings of the annual meeting-United States Animal Health Association. United States Animal Health Association, pp. 18-27.

Mehlhorn, H., Schmahl, G., Jochen, D., Schumacher, B., 2008. Butox® 7.5 pour on: a deltamethrin treatment of sheep and cattle: pilot study of killing effects on *Culicoides* species (Ceratopogonidae). *Parasitol Res* 102, 515-518.

Meiswinkel, R., Baylis, M., Labuschagne, K., 2000. Stabling and the protection of horses from *Culicoides bolitinos* (Diptera: Ceratopogonidae), a recently identified vector of African horse sickness. *Bull Entomol Res* 90, 509-515.

Meiswinkel, R., Gomulski, L., Delécolle, J.C., Goffredo, M., Gasperi, G., 2004a. The taxonomy of *Culicoides* vector complexes - unfinished business. *Vet Ital* 40, 151-159.

Meiswinkel, R., Labuschagne, K., Baylis, M., Mellor, P., 2004b. Multiple vectors and their differing ecologies: observations on two bluetongue and African horse sickness vector *Culicoides* species in South Africa. *Vet Ital* 40, 296-302.

Meiswinkel, R., Nevill, E., Venter, G., 1994. Vectors: *Culicoides* spp.. *Infectious Diseases of Livestock with special reference to Southern Africa*. Oxford University Press, Cape Town.

Mellor, P., Boned, J., Hamblin, C., Graham, S., 1990. Isolations of African horse sickness virus from vector insects made during the 1988 epizootic in Spain. *Epidemiol Infect* 105, 447-454.

Mellor, P., Boorman, J., 1995. The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Ann Trop Med Parasit* 89, 1-15.

Mellor, P., Boorman, J., Baylis, M., 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annu Rev Entomol* 45, 307-340.

Mellor, P., Osborne, R., Jennings, D., 1984. Isolation of bluetongue and related viruses from *Culicoides* spp. in the Sudan. *J Hyg-Cambridge* 93, 621-628.

Mellor, P., Wittmann, E., 2002. Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998–2001. *Vet J* 164, 20-37.

Mengistu, T., Haile, A., 2017. Review on the Application of Geographical Information Systems (GIS) in Veterinary Medicine. *Int J Vet Health Sci Res* 5, 176-182.

Miranda, M.Á., 2018. Case studies of vector-borne diseases in livestock: bluetongue virus, Pests and vector-borne diseases in the livestock industry. Wageningen Academic Publishers, pp. 527-535.

Mohammed, M., Mellor, P., 1990. Further studies on bluetongue and bluetongue-related Orbiviruses in the Sudan. *Epidemiol Infect* 105, 619-632.

Moiroux, N., Bio-Bangana, A.S., Djèntonin, A., Chandre, F., Corbel, V., Guis, H., 2013. Modelling the risk of being bitten by malaria vectors in a vector control area in southern Benin, west Africa. *Parasite Vector* 6, 71.

Montoya-Lerma, J., Solarte, Y.A., Giraldo-Calderón, G.I., Quiñones, M.L., Ruiz-López, F., Wilkerson, R.C., González, R., 2011. Malaria vector species in Colombia: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106, 223-238.

Mullens, B., Gerry, A., Lysyk, T., Schmidtman, E., 2004. Environmental effects on vector competence and virogenesis of bluetongue virus in *Culicoides*: interpreting laboratory data in a field context. *Vet Ital* 40, 160-166.

Murchie, A.K., Thompson, G.M., Clawson, S., Brown, A., Gordon, A.W., Jess, S., 2019. Field Evaluation of Deltamethrin and Ivermectin Applications to Cattle on *Culicoides* Host-Alighting, Blood-Feeding, and Emergence. *Viruses* 11, 731.

Nasci, R., Mitchell, C., 1996. Arbovirus titer variation in field-collected mosquitoes. *J Am Mosq Contr Assoc* 12, 167-171.

Nelson, K.E., Williams, C.M., 2014. *Infectious disease epidemiology: theory and practice*, 3 ed. Jones & Bartlett Publishers.

Nevill, E., 1971. Cattle and *Culicoides* biting midges as possible overwintering hosts of bluetongue virus. *Onderstepoort J Vet Res* 38, 65-71.

Nevill, E.M., Erasmus, B.J., Venter, G.J., 1992. A six-year study of viruses associated with *Culicoides* biting midges throughout South Africa (Diptera: Ceratopogonidae). Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses, in: Walton, T.E., I., O.B. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 314-319.

Nicholas, W., 1953. The bionomics of *Culicoides austeni*, vector of *Acanthocheilonema perstans* in the rain-forest of the British Cameroons, together with notes on *C. Grahamii* and other species which may be vectors in the same area. *Ann Trop Med Parasit* 47, 187-206.

Nolan, D., Dallas, J., Piertney, S., Mordue, A., 2008. Incursion and range expansion in the bluetongue vector *Culicoides imicola* in the Mediterranean basin: a phylogeographic analysis. *Med Vet Entomol* 22, 340-351.

Pak, D., Jacobs, S.B., Sakamoto, J.M., 2019. A 117-year retrospective analysis of Pennsylvania tick community dynamics. *Parasite Vector* 12, 189.

Parham, P.E., Waldock, J., Christophides, G.K., Hemming, D., Agosto, F., Evans, K.J., Fefferman, N., Gaff, H., Gumel, A., LaDeau, S., 2015. Climate, environmental and socio-economic change: weighing up the balance in vector-borne disease transmission. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 370, 20130551.

Pawlowsky, E., 1988. Natural nidity of transmissible diseases in relation to landscape epidemiology of zooanthropooses. *The Challenge of Epidemiology*, 401-405.

Paweska, J., Venter, G., Hamblin, C., 2005. A comparison of the susceptibility of *Culicoides imicola* and *C. bolitinos* to oral infection with eight serotypes of epizootic haemorrhagic disease virus. *Med Vet Entomol* 19, 200-207.

Paweska, J., Venter, G., Mellor, P., 2002. Vector competence of South African *Culicoides* species for bluetongue virus serotype 1 (BTV-1) with special reference to the effect of temperature on the rate of virus replication in *C. imicola* and *C. bolitinos*. *Med Vet Entomol* 16, 10-21.

Pleydell, D.R., Bouyer, J., 2019. Biopesticides improve efficiency of the sterile insect technique for controlling mosquito-driven dengue epidemics. *Comm Biol* 2, 201.

Poveda, G., Graham, N.E., Epstein, P.R., Rojas, W., Quiñones, M.L., Velez, I.D., Martens, W.J., 2000. Climate and ENSO variability associated with vector-borne diseases in Colombia. El Niño and the southern oscillation, Multiscale variability and global and regional impacts 1, 183-204.

Purse, B., Brown, H., Harrup, L., Mertens, P., Rogers, D., 2008. Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: the role of biological and climatic processes. *Rev Sci Tech* 27, 427-442.

Purse, B., Carpenter, S., Venter, G., Bellis, G., Mullens, B., 2015. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annu Rev Entomol* 60, 373-392.

Purse, B., Falconer, D., Sullivan, M., Carpenter, S., Mellor, P., Piertney, S., Mordue, A., Albon, S., Gunn, G., Blackwell, A., 2012. Impacts of climate, host and landscape factors on *Culicoides* species in Scotland. *Med Vet Entomol* 26, 168-177.

Purse, B., Mellor, P., Rogers, D., Samuel, A., Mertens, P., Baylis, M., 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat Rev Microbiol* 3, 171-181.

Purse, B., Tatem, A., Caracappa, S., Rogers, D., Mellor, P., Baylis, M., Torina, A., 2004. Modelling the distributions of *Culicoides* bluetongue virus vectors in Sicily in relation to satellite-derived climate variables. *Med Vet Entomol* 18, 90-101.

R Team, R.C., 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2012. ISBN 3-900051-07-0.

Rabeantoandro, S.Z., Rakotofiringa, S.L., delecalle, J.C., 2011. Les cératopogonidae malagasy (Diptères, Nématocères): systématique, écologie et biogéographie. *Colloq Parasitol Vet*.

Raunet, M., 1991. Le milieu physique et les sols de l'île de la Réunion. Conséquences pour la mise en valeur agricole. Cirad.

Rawlings, P., Snow, W., Boorman, J., Denison, E., Hamblin, C., Mellor, P., 1998. *Culicoides* in relation to transmission of African Horse Sickness virus in The Gambia. *Med Vet Entomol* 12, 155-159.

Reisen, W.K., 2010. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu Rev Entomol* 55, 461-483.

Remesar, S., Fernández, P.D., Venzal, J.M., Pérez-Creo, A., Prieto, A., Estrada-Peña, A., López, C.M., Panadero, R., Fernández, G., Díez-Baños, P., 2019. Tick species diversity and population dynamics of *Ixodes ricinus* in Galicia (north-western Spain). *Ticks Tick Borne Dis* 10, 132-137.

Richard, V., Paoaafaite, T., Cao-Lormeau, V.-M., 2016a. Vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes polynesiensis* populations from French Polynesia for chikungunya virus. *PLoS Negl Trop Dis* 10, e0004694.

Richard, V., Paoaafaite, T., Cao-Lormeau, V.-M., 2016b. Vector competence of French Polynesian *Aedes aegypti* and *Aedes polynesiensis* for Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* 10, e0005024.

Rigot, T., Conte, A., Goffredo, M., Ducheyne, E., Hendrickx, G., Gilbert, M., 2012. Predicting the spatio-temporal distribution of *Culicoides imicola* in Sardinia using a discrete-time population model. *Parasite Vector* 5, 270.

Robert, V., 2012. Introduction aux arthropodes nuisants, aux vecteurs et aux maladies à transmission vectorielle, in: Duvallat, G., Gentile, L. (Eds.), *Protection personnelle et antivectorielle*, IRD ed, Marseille, pp. 25-49.

Robert, V., 2017. Introduction à l'entomologie médicale et vétérinaire, in: Duvallat, G., Fontenille, D., Robert, V. (Eds.), *Entomologie médicale et vétérinaire*, Quae & IRD ed, pp. 37-59.

Rodriguez, M., Hooghuis, H., Castaño, M., 1992. African horse sickness in Spain. *Vet Microbiol* 33, 129-142.

Roundy, C.M., Azar, S.R., Rossi, S.L., Huang, J.H., Leal, G., Yun, R., Fernandez-Salas, I., Vitek, C.J., Paploski, I.A., Kitron, U., 2017. Variation in *Aedes aegypti* mosquito competence for Zika virus transmission. *Emerg Infect Dis* 23, 625.

Rudolf, I., Betášová, L., Blažejová, H., Venclíková, K., Straková, P., Šebesta, O., Mendel, J., Bakonyi, T., Schaffner, F., Nowotny, N., 2017. West Nile virus in overwintering mosquitoes, central Europe. *Parasite Vector* 10, 452.

Sailleau, C., Zanella, G., Breard, E., Viarouge, C., Desprat, A., Vitour, D., Adam, M., Lasne, L., Martrenchar, A., Bakkali-Kassimi, L., Costes, L., Zientara, S., 2012. Co-circulation of bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses in cattle in Reunion Island. *Vet Microbiol* 155, 191-197.

Sanders, C.J., Shortall, C.R., England, M., Harrington, R., Purse, B., Burgin, L., Carpenter, S., Gubbins, S., 2019. Long-term shifts in the seasonal abundance of adult *Culicoides* biting midges and their impact on potential arbovirus outbreaks. *J Appl Ecol* 56, 1649-1660.

Savini, G., Afonso, A., Mellor, P., Aradaib, I., Yadin, H., Sanaa, M., Wilson, W., Monaco, F., Domingo, M., 2011. Epizootic haemorrhagic disease. *Res Vet Sci* 91, 1-17.

Savini, G., MacLachlan, N.J., Sanchez-Vizcaino, J.-M., Zientara, S., 2008. Vaccines against bluetongue in Europe. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 31, 101-120.

Schulz, C., Bréard, E., Sailleau, C., Jenckel, M., Viarouge, C., Vitour, D., Palmarini, M., Gallois, M., Höper, D., Hoffmann, B., 2016. Bluetongue virus serotype 27: detection and characterization of two novel variants in Corsica, France. *J Gen Virol* 97, 2073-2083.

Schwartz-Cornil, I., Mertens, P.P., Contreras, V., Hemati, B., Pascale, F., Bréard, E., Mellor, P.S., MacLachlan, N.J., Zientara, S., 2008. Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity. *Vet Res* 39, 1.

Searle, K., Blackwell, A., Falconer, D., Sullivan, M., Butler, A., Purse, B., 2013. Identifying environmental drivers of insect phenology across space and time: *Culicoides* in Scotland as a case study. *Bull entomol Res* 103, 155-170.

Searle, K.R., Barber, J., Stubbins, F., Labuschagne, K., Carpenter, S., Butler, A., Denison, E., Sanders, C., Mellor, P.S., Wilson, A., 2014. Environmental drivers of *Culicoides* phenology: how important is species-specific variation when determining disease policy? *PLoS One* 9, e111876.

Sellers, R., Mellor, P., 1993. Temperature and the persistence of viruses in *Culicoides* spp. during adverse conditions. *Rev Sci Tech OIE* 12, 733-733.

Sellers, R., Pedgley, D., Tucker, M., 1977. Possible spread of African horse sickness on the wind. *Epidemiol Infect* 79, 279-298.

Semenza, J.C., Menne, B., 2009. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis* 9, 365-375.

Semenza, J.C., Suk, J.E., 2017. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiol Lett* 365.

Service, M., Service, M., 1993. Sampling Adults by Animal Bait Catches and by Animal-Baited Traps. *Mosquito ecology: field sampling methods*, 349-498.

Singer, R.S., MacLachlan, N.J., Carpenter, T.E., 2001. Maximal Predicted Duration of Viremia in Bluetongue Virus—Infected Cattle. *J Vet Diagn Invest* 13, 43-49.

Slama, D., Babba, H., Chaker, E., 2017. *Culicoides* spp.(Diptera: Ceratopogonidae) in Tunisia, *Biological Control of Pest and Vector Insects*. IntechOpen, pp. 213-229.

Spedicato, M., Carmine, I., Teodori, L., Leone, A., Portanti, O., Marini, V., Piscicella, M., Lorusso, A., Savini, G., 2016. Innocuity of a commercial live attenuated vaccine for epizootic hemorrhagic disease virus serotype 2 in late-term pregnant cows. *Vaccine* 34, 1430-1435.

Stevens, G., McCluskey, B., King, A., O’Hearn, E., Mayr, G., 2015. Review of the 2012 epizootic hemorrhagic disease outbreak in domestic ruminants in the United States. *PLoS One* 10, e0133359.

Tabachnick, W., 2010. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistystems in a changing world. *J Exp Biol* 213, 946-954.

Takken, W., Bouyer, J., Smallegange, R.C., Garros, C., 2018. Livestock pests and vector-borne diseases—a much neglected subject, *Pests and vector-borne diseases in the livestock industry*. Wageningen Academic Publishers, p. 376.

Tantely, L.M., Boyer, S., Fontenille, D., 2015. A review of mosquitoes associated with Rift Valley fever virus in Madagascar. *Am J Trop Med Hyg* 92, 722-729.

Tatem, A., Baylis, M., Mellor, P., Purse, B., Capela, R., Pena, I., Rogers, D., 2003. Prediction of bluetongue vector distribution in Europe and North Africa using satellite imagery. *Vet Microbiol* 97, 13-29.

Temizel, E.M., Yesilbag, K., Batten, C., Senturk, S., Maan, N.S., Mertens, P.P.C., Batmaz, H., 2009. Epizootic hemorrhagic disease in cattle, Western Turkey. *Emerg Infect Dis* 15, 317.

Tesh, R.B., Bolling, B.G., Beaty, B.J., 2016. Role of Vertical Transmission in Mosquito-borne Arbovirus Maintenance and Evolution. *Arboviruses*, 191.

Thomé, R.C., Yang, H.M., Esteva, L., 2010. Optimal control of *Aedes aegypti* mosquitoes by the sterile insect technique and insecticide. *Math Biosci* 223, 12-23.

Torina, A., Caracappa, S., Mellor, P., Baylis, M., Purse, B., 2004. Spatial distribution of bluetongue virus and its *Culicoides* vectors in Sicily. *Med Vet Entomol* 18, 81-89.

Toussaint, J.-F., Sailleau, C., Mast, J., Houdart, P., Czaplicki, G., Demeestere, L., VandenBussche, F., Van Dessel, W., Goris, N., Bréard, E., 2007a. Bluetongue in Belgium, 2006. *Emerg Infect Dis* 13, 614.

Toussaint, J., Sailleau, C., Breard, E., Zientara, S., De Clercq, K., 2007b. Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. *J Virol Meth* 140, 115-123.

Tran, A., demarchi, M., Mangeas, M., Roux, E., degenne, P., Herbreteau, V., Dehecq, J.S., 2018. ALBORUN, an operational predictive tool to map *Aedes albopictus* mosquito populations in Reunion Island, ISESSAH, Montpellier (France).

Tran, A., Fall, A.G., Biteye, B., Ciss, M., Gimonneau, G., Castets, M., Seck, M.T., Chevalier, V., 2019. Spatial modeling of mosquito vectors for rift valley fever virus in northern Senegal: Integrating satellite-derived meteorological estimates in population dynamics models. *Remote Sensing* 11, 1024.

Turner, J., Bowers, R.G., Baylis, M., 2013. Two-host, two-vector basic reproduction ratio (R0) for bluetongue. *PloS one* 8, e53128.

Van Ark, H., Meiswinkel, R., 1992. Subsampling of large light trap catches of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Onderstepoort J Vet Res* 59, 183-189.

Van Doninck, J., De Baets, B., Peters, J., Hendrickx, G., Ducheyne, E., Verhoest, N., 2014. Modelling the spatial distribution of *Culicoides imicola*: climatic versus remote sensing data. *Remote Sensing* 6, 6604-6619.

Venail, R., Balenghien, T., Guis, H., Tran, A., Setier-Rio, M.-L., Delécolle, J.-C., Mathieu, B., Cetre-Sossah, C., Martinez, D., Languille, J., 2012. Assessing diversity and abundance of vector populations at a national scale: example of *Culicoides* surveillance in France after bluetongue virus emergence, *Arthropods as vectors of emerging diseases*. Springer, pp. 77-102.

Venail, R., Mathieu, B., Setier-Rio, M.-L., Borba, C., Alexandre, M., Viudes, G., Garros, C., Allene, X., Carpenter, S., Baldet, T., 2011. Laboratory and field-based tests of deltamethrin insecticides against adult *Culicoides* biting midges. *J Med Entomol* 48, 351-357.

Venter, G., Koekemoer, J., Paweska, J., 2006a. Investigations on outbreaks of African horse sickness in the surveillance zone in South Africa. *Rev Sci Tech OIE* 25, 1097-1110.

Venter, G., Meiswinkel, R., 1994. The virtual absence of *Culicoides irnicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in a light-trap survey of the colder, high-lying area of the eastern Orange Free State, South Africa, and implications for the transmission of arboviruses. *Onderstepoort J Vet Res* 61, 327-340.

Venter, G., Meiswinkel, R., Nevill, E., Edwardes, M., 1996a. *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) associated with livestock in the Onderstepoort area, Gauteng, South Africa as determined by light-trap collections. *Onderstepoort J Vet Res* 63, 315-325.

Venter, G., Mellor, P., Paweska, J., 2006b. Oral susceptibility of South African stock-associated *Culicoides* species to bluetongue virus. *Med Vet Entomol* 20, 329-334.

Venter, G., Nevill, E., Van der Linde, T., 1996b. Geographical distribution and relative abundance of stock-associated *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Africa in relation to their potential as viral vectors. *Onderstepoort J Vet Res* 63, 25-38.

Venter, G., Nevill, E., Van der Linde, T., 1997. Seasonal abundance and parity of stock-associated *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in different climatic regions in southern Africa in relation to their viral vector potential. *Onderstepoort J Vet Res* 64, 259-271.

Venter, G., Paweska, J., Van Dijk, A., Mellor, P., Tabachnick, W., 1998. Vector competence of *Culicoides bolitinos* and *C. imicola* for South African bluetongue virus serotypes 1, 3 and 4. *Med Vet Entomol* 12, 378-385.

Venter, G., Wright, I., Del Rio, R., Lucientes, J., Miranda, M., 2011. The susceptibility of *Culicoides imicola* and other South African livestock-associated *Culicoides* species to infection with bluetongue virus serotype 8. *Med Vet Entomol* 25, 320-326.

Venter, G.J., 2015. *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) as vectors of bluetongue virus in South Africa-a review. *Vet Ital* 51, 325-333.

Veronesi, E., Henstock, M., Gubbins, S., Batten, C., Manley, R., Barber, J., Hoffmann, B., Beer, M., Attoui, H., Mertens, P.P.C., 2013. Implicating *Culicoides* biting midges as vectors of Schmallenberg virus using semi-quantitative RT-PCR. *PloS one* 8, e57747.

Versteirt, V., Balenghien, T., Tack, W., Wint, W., 2017. A first estimation of *Culicoides imicola* and *Culicoides obsoletus/Culicoides scoticus* seasonality and abundance in Europe. *EFSA Supporting Publications* 14, 1182E.

Viarouge, C., Breard, E., Zientara, S., Vitour, D., Sailleau, C., 2015. Duplex real-time RT-PCR assays for the detection and typing of epizootic haemorrhagic disease virus. *PloS one* 10, e0132540.

Viarouge, C., Lancelot, R., Rives, G., Bréard, E., Miller, M., Baudrimont, X., Doceul, V., Vitour, D., Zientara, S., Sailleau, C., 2014. Identification of bluetongue virus and epizootic hemorrhagic disease virus serotypes in French Guiana in 2011 and 2012. *Vet Microbiol* 174, 78-85.

Viennet, E., Garros, C., Lancelot, R., Allène, X., Gardès, L., Rakotoarivony, I., Crochet, D., Delécolle, J.-C., Mouliia, C., Baldet, T., 2011. Assessment of vector/host contact: comparison of animal-baited traps and UV-light/suction trap for collecting *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae), vectors of Orbiviruses. *Parasite Vector* 4, 119.

Villard, P., Muñoz, F., Balenghien, T., Baldet, T., Lancelot, R., Hénaux, V., 2019a. Modeling *Culicoides* abundance in mainland France: Implications for surveillance. *Parasite Vector* 12, 391.

Villard, P., Muñoz, F., Balenghien, T., Baldet, T., Lancelot, R., Hénaux, V., 2019b. Modeling *Culicoides* abundance in mainland France: Implications for surveillance. *Parasite Vector* 12, 1-10.

Walker, A., Boreham, P., 1976. Blood feeding of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in Kenya in relation to the epidemiology of bluetongue and ephemeral fever. *Bull entomol Res* 66, 181-188.

Walker, A., Davies, F., 1971. A preliminary survey of the epidemiology of bluetongue in Kenya. *J Hyg-Cambridge*.

Walker, A.R., 1977. Seasonal fluctuations of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Kenya. *Bull entomol Res* 67, 217-233.

Walton, T., 2004. The history of bluetongue and a current global overview. *Vet Ital* 40, 31-38.

Weiss, B., Aksoy, S., 2011. Microbiome influences on insect host vector competence. *Trends Parasitol* 27, 514-522.

White, S.M., Sanders, C.J., Shortall, C.R., Purse, B.V., 2017. Mechanistic model for predicting the seasonal abundance of *Culicoides* biting midges and the impacts of insecticide control. *Parasite Vector* 10, 162.

WHO, 1975. Manual on Practical Entomology in Malaria. Division of Malaria and Other Parasitic Diseases, 1975.

William, W., Bülent, A., Thomas, B., Eduardo, B., Marieta, B., Olivier, B., Celine, G., Jolyon, M., Dusan, P., Ducheyne, E., 2018. The importance of vector abundance and seasonality: Results from an expert consultation VectorNet project. *EFSA Supporting Publications* 15, 1491E.

Wilson, A., Darpel, K., Mellor, P.S., 2008. Where does bluetongue virus sleep in the winter? *PLoS Biol* 6, e210.

Wilson, A., Harwood, L., Björnsdottir, S., Marti, E., Day, M., 2001. Detection of IgG and IgE serum antibodies to *Culicoides* salivary gland antigens in horses with insect dermal hypersensitivity (sweet itch). *Equine veterinary journal* 33, 707-713.

Wilson, A.J., Mellor, P.S., 2009. Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364, 2669-2681.

Wirth, W., 1990. The biting midges of Aldabra Atoll, Indian Ocean (Diptera: Ceratopogonidae). *P Entomol Soc Wash* 92, 230-247.

Wirth, W., Messersmith, D., 1977. Notes on the biting midges of the Seychelles (Diptera: Ceratopogonidae)[Insects]. *P Entomol Soc Wash*.

Wittmann, E., Mello, P., Baylis, M., 2002. Effect of temperature on the transmission of orbiviruses by the biting midge, *Culicoides sonorensis*. *Med Vet Entomol* 16, 147-156.

Wittmann, E., Mellor, P., Baylis, M., 2001. Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe. *Rev Sci Tech OIE* 20, 731-740.

Yamashita, W.M., Das, S.S., Chapiro, G., 2018. Numerical modeling of mosquito population dynamics of *Aedes aegypti*. *Parasite Vector* 11, 245.

Yawa, M., Nyangiwe, N., Muchenje, V., Kadzere, C., Mpendulo, T., Marufu, M., 2018. Ecological preferences and seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on and off bovine hosts in the Eastern Cape Province, South Africa. *Exp Appl Acarol* 74, 317-328.

Zeileis, A., Kleiber, C., Jackman, S., 2008. Regression models for count data in R. *J Stat Softw* 27, 1-25.

Zientara, S., MacLachlan, N.J., Calistri, P., Sanchez-Vizcaino, J.-M., Savini, G., 2010. Bluetongue vaccination in Europe. *Expert Rev Vaccines* 9, 989-991.