

Contrôle génétique de la compétence vectorielle des moustiques du genre *Aedes*.

A.-B. Failloux, M. Vazeille-Falcoz, L. Mousson & F. Rodhain

Unité d'écologie des systèmes vectoriels, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France. Tel : 33 (0)1 40 61 36 17, fax: 33 (0)1 40 61 30 89, e-mail : afaillou@pasteur.fr

Journée SPE du 13 octobre 1999 à l'Institut Pasteur à Paris : "Génétique et maladies infectieuses dans l'environnement tropical".

Summary: Genetic Control of Vectorial Competence in *Aedes* Mosquitoes.

The transmission of pathogens by arthropods is dependent on the relationships that exist between the pathogen, the invertebrate host (the vector) and the vertebrate host, each of which is influenced by environmental variations. Particular attention is given to the knowledge of intrinsic factors and the mechanisms controlling the ability of vectors to transmit pathogens (viruses or parasites). Polymorphism in the expression of susceptibility to oral infection has been shown to occur among geographical samples of mosquitoes. It has been proven that intraspecific variations in vector competence are controlled by one or more genes and expressed in variable proportions within a mosquito population. Recent advances in molecular biology have facilitated accessibility of nucleic acid sequence data. These new techniques allow one to analyse the genotype distribution within and among populations. Population genetic studies are currently used to understand the evolution of species differentiation and provide indications on genetic relationships among field vector populations. Estimations of gene flow with respect to vector capacity have provided rich insight into vector species complexes. Knowledge of intraspecific variation is important for the understanding of vector transmission, disease epidemiology and disease control. In this article, two examples are presented to illustrate the contribution of population genetic studies to the understanding of epidemiology of arthropod-borne diseases: *Aedes polynesiensis*, a vector of human lymphatic filariasis and *Aedes aegypti*, the vector of dengue viruses.

Key-words: Vectorial competence - Population genetics - Filariasis - Dengue - *Aedes polynesiensis* - *Aedes aegypti*

Résumé :

La compétence vectorielle représente une mesure du niveau de coadaptation entre un pathogène et un invertébré vecteur. Chaque composante de ce système est soumise à l'influence de différents facteurs autant intrinsèques qu'extrinsèques. Parmi les facteurs intrinsèques, on peut citer la réceptivité à l'infection du vecteur par le pathogène (virus ou parasite). D'importantes variations de capacité vectorielle ont été maintes fois observées dans les populations de vecteurs. Il a été clairement établi que la compétence vectorielle est sous le contrôle d'un ou plusieurs gènes. Le développement actuel d'outils moléculaires a permis de préciser l'organisation des populations. La génétique des populations a pour objectif de comprendre l'évolution de la différenciation génétique et est mise à profit pour appréhender les fluctuations génétiques auxquelles sont soumises les populations de vecteurs. Les estimations de flux géniques ont contribué, de façon décisive, à élucider les différences au niveau infra-spécifique de la capacité vectorielle. Par la génétique des populations, des informations concernant la transmission vectorielle ainsi que l'impact des traitements insecticides sur la structure génétique des populations constituent des compléments indispensables à la compréhension de l'épidémiologie d'une maladie à vecteur. Deux exemples sont présentés pour illustrer cette contribution dans une problématique relevant exclusivement de l'entomologie médicale. Il s'agit de deux pathologies humaines à transmission vectorielle : une parasitose, la filariose de Bancroft, et une arbovirose, la dengue.

Mots-clés : Compétence vectorielle - Génétique des populations - Filariose - Dengue - *Aedes polynesiensis* - *Aedes aegypti*

Introduction

Les maladies à transmission vectorielle figurent parmi les principales causes de morbidité et de mortalité pour l'homme et les animaux. Leurs conséquences en santé publique humaine ainsi que leur impact économique sur la production animale sont considérables. Le paludisme, la filariose, les leishmanioses, l'onchocercose, les trypanosomoses, la dengue, la fièvre jaune ou encore la maladie de Lyme affectent la santé de millions de personnes. Le contrôle de ces pathologies passe nécessairement par la connaissance, la plus complète possible, des vecteurs qui les transmettent. L'un des exemples souvent

cités est la mise en évidence des différentes espèces du complexe *Anopheles maculipennis*. Par des tests de croisement entre "races géographiques" et l'étude des variations cytogénétiques, il a été démontré qu'il existait sept espèces cryptiques, parmi lesquelles seules deux sont capables de transmettre les protozoaires du genre *Plasmodium*. C'est une des causes qui est avancée pour expliquer l'actuel anophélisme sans paludisme qui prévaut en Europe. Cet exemple illustre l'importance de la connaissance des variations au sein de ce qui était considéré, à l'origine, comme une même espèce vectrice. Ces variations sont requises pour appréhender l'épidémiologie de la maladie et proposer ainsi une stratégie de contrôle adaptée.

La compétence vectorielle

Le cycle de transmission d'un pathogène par un insecte vecteur reste intimement dépendant des relations qui lient ce pathogène, son hôte invertébré (le vecteur) et son hôte vertébré. Chaque composante de ce système vectoriel est modelée par des facteurs environnementaux qui composent les facteurs extrinsèques (4, 46), et par des facteurs intrinsèques, parmi lesquels les mécanismes moléculaires et génétiques contrôlant par exemple la capacité des moustiques à transmettre un pathogène. Les facteurs extrinsèques influent sur les chances de contact entre le vecteur et l'hôte vertébré approprié. Ils comprennent, entre autres, la densité et la composition des populations de vecteurs et de l'hôte vertébré. Les facteurs intrinsèques, sous dépendance d'un contrôle génétique, influent sur les préférences trophiques du vecteur, sa capacité à s'infecter après ingestion du repas de sang infecté, puis à assurer le développement du pathogène, enfin à le transmettre au vertébré lors d'une piqûre. De plus, les facteurs environnementaux, tels que la température, agissent sur les facteurs intrinsèques en affectant la physiologie du vecteur et, par voie de conséquence, le développement et/ou la multiplication du pathogène et, probablement, l'expression des facteurs génétiques qui contrôlent la compétence vectorielle (28).

Pendant longtemps, les seules mesures préconisées pour lutter contre une maladie à transmission vectorielle étaient l'éradication des populations de vecteurs ou, plus raisonnablement, la réduction des densités sous un seuil tel que la transmission à l'homme serait faible, voire interrompue. Cependant, les vecteurs développent des résistances vis-à-vis des produits utilisés (22, 47), et le développement de nouvelles molécules reste limité en raison du coût financier qu'il implique. Dès lors, le contrôle des moustiques au moyen d'insecticides devient de plus en plus problématique. Force est de constater aujourd'hui que les moyens de lutte faisant appel à une combinaison d'agents biologiques, d'agents chimiques et génétiques seront considérés avec davantage d'intérêt (40). Le contrôle génétique des vecteurs est donc une perspective qui s'inscrit dans les moyens de lutte à envisager. L'introduction de vecteurs génétiquement modifiés dans les populations naturelles peut, à terme, réduire les potentialités vectorielles de celles-ci (2, 16). Il a été clairement établi que la compétence vectorielle des insectes vis-à-vis de pathogènes, qu'il s'agisse de virus (1, 24) ou de parasites (34, 35, 36), est sous contrôle génétique. Comprendre les mécanismes génétiques associés à la compétence vectorielle est donc nécessaire afin d'évaluer l'influence de différents facteurs extérieurs dans leur expression. Cette information reste primordiale pour le succès d'une lutte antivectorielle.

Les bases génétiques de la compétence vectorielle des moustiques pour les filaires

Les nématodes parasites du système lymphatique humain, tels *Brugia malayi*, *Brugia timori* ou *Wuchereria bancrofti*, sont responsables d'environ 120 millions de cas de filarioses lymphatiques dans le monde, et on estime à environ 1 milliard le nombre de personnes exposées (41). Les efforts pour développer un vaccin contre ces nématodes sont restés jusqu'à présent sans succès (42) et, hormis des traitements

chimiothérapeutiques au moyen de médicaments (diéthyl-carbamazine, ivermectine...), la stratégie qui consiste à contrôler les populations de moustiques compétents au moyen d'insecticides reste le moyen le plus efficace pour freiner la transmission. Face aux problèmes de résistance aux insecticides, une stratégie alternative consisterait à manipuler les gènes impliqués dans le contrôle génétique de la compétence vectorielle chez les populations potentiellement vectrices du parasite (11, 15).

Le moustique du genre *Aedes* le mieux caractérisé génétiquement est *Aedes aegypti*. La construction d'une carte génétique a été entreprise au moyen de 75 marqueurs RFLP distants d'environ 1.8 centi-morgan (49). Des marqueurs isoenzymatiques ont déjà été parfaitement répertoriés chez cette espèce (39). La réceptivité d'*Ae. aegypti* vis-à-vis du nématode *B. malayi* est sous le contrôle d'un gène unique, récessif, lié au sexe. Il s'agit du gène *fm* dont l'expression est modulée par d'autres gènes (34, 35, 36, 59). SEVERSON *et al.* (50) ont identifié 2 QTL (Quantitative Trait Loci) affectant la réceptivité d'*Aedes aegypti* à *Brugia malayi*. Le premier QTL, *fsb* [1, LF178], porte le gène *fm* qui domine le caractère récessif de la réceptivité. L'expression du phénotype "réceptif" dépend du génotype au second QTL, *fsb* [2, LF 98], situé sur le chromosome 2. Bien que les effets biochimiques du gène *fm* soient encore inconnus, il a été suggéré que son action intervient au niveau des tissus de l'hôte hébergeant le parasite durant son développement (37). Ainsi, les facteurs polypeptidiques qui inhibent le développement de *B. malayi* dans les souches réfractaires d'*Aedes aegypti* agissent dans le thorax (59). De même, il serait intéressant de comprendre le fonctionnement de systèmes parasitaires *in natura* en analysant des systèmes tels que celui formé par *Aedes polynesiensis* et *Wuchereria bancrofti*, la filaire de Bancroft. Agir sur la compétence vectorielle de ces populations devrait permettre de contrôler à terme la transmission filarienne.

Les bases génétiques de la compétence vectorielle pour les arbovirus

Les premiers auteurs à suggérer que la transmission des arbovirus par les moustiques serait déterminée génétiquement ont été CRAIG et HICKEY (14) en 1967. Les variations dans l'expression de la réceptivité par voie orale ont été maintes fois décrites au sein des populations naturelles de moustiques vecteurs. En exemple, on peut citer le cas du virus Chikungunya chez *Aedes albopictus* (55), celui des virus de la dengue chez *Ae. aegypti* (24) et du virus de la fièvre jaune chez cette même espèce (1). Les bases génétiques de la compétence vectorielle ont été, par la suite, mises en évidence grâce à des expériences de sélection génétique par croisement. HARDY *et al.* (27) ont sélectionné deux souches de *Culex tarsalis*, l'une sensible et l'autre réfractaire au virus WEE (encéphalite équine de l'Ouest). Il semble que d'autres gènes, hormis celui qui gouverne directement la réceptivité à l'infection, interviendraient en modulant le niveau de réplication virale dans le moustique. De plus, l'expression de ces gènes semble dépendre de la dose de virus ingérée et de la température durant la période d'incubation extrinsèque. Les mêmes expériences effectuées avec des moustiques du genre *Aedes* ont donné des résultats moins concluants. Il s'agit, par exemple, des travaux de GUBLER et ROSEN (23), en 1976, pour le virus de la dengue 2 chez *Ae. albopictus*.

La génétique des populations

Les progrès récents en biologie moléculaire ont permis de disposer d'informations génétiques au niveau des séquences d'ADN et ont apporté un regard nouveau sur les processus démographiques et évolutifs auxquels sont soumises les populations naturelles. La structure géographique représente l'étude de la répartition spatiale et de la fréquence des génotypes au sein des populations et entre populations d'une espèce donnée. Cette définition englobe deux composantes : la structure démographique et la structure génétique (48). La structure démographique relate les processus (par exemple, la naissance, la longévité, l'immigration ou l'émigration) qui influent sur le nombre et la répartition des phénotypes, tels les groupes d'âge ou de sexe. La structure génétique, quant à elle, se décrit comme la répartition de la variation génétique résultant d'événements de migration, de processus de sélection, de mutation et de dérive génétique. Parce que la démographie s'explique par des processus génétiques, les structures démographique et génétiques sont intimement liées. De ce fait, la structure génétique rend compte également des processus démographiques auxquels sont soumises les populations.

Les variations génétiques sont évaluées à partir d'une gamme de plus en plus étoffée d'outils moléculaires. Le choix de la technique est tributaire du problème posé. Deux types de variations génétiques peuvent être étudiés : au niveau chromosomique ou nucléaire d'une part, et au niveau extra-chromosomique (mitochondrial ou chloroplastique) d'autre part. Les marqueurs nucléaires fournissent un nombre quasi illimité de loci à analyser. Pendant plus de trente ans, les allozymes ont été très sollicités pour analyser la structure génétique des insectes (32). Cette technique, rapide et peu coûteuse, a cependant l'inconvénient de révéler des marqueurs peu polymorphes. Les techniques actuelles mises à profit pour estimer les variations génétiques se fondent sur le principe de l'amplification génique par PCR. Parmi elles, quatre techniques sont amplement utilisées dans l'étude de la structure génétique : les microsatellites, les RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les régions ITS (Internal Transcribed Spacer). Les microsatellites sont des séquences répétées en tandem dans les génomes d'organismes eucaryotes. Le génotypage des individus se réalise par amplification du microsatellite à partir d'amorces situées dans les régions conservées encadrant le loci. Les RAPD utilisent des amorces de 8-10 bases qui génèrent de façon aléatoire des fragments par PCR. Leur absence de codominance limite leur utilisation (18). Les RFLP correspondent à des fragments d'ADN génomique coupés de façon spécifique par des enzymes de restriction (5). Les ITS sont des séquences non codantes, moins soumises aux contraintes sélectives et donc sujettes à d'importantes variations (43). Quant à l'ADN mitochondrial, il évolue rapidement sans recombinaison. D'hérédité monoparentale (maternelle), la fréquence d'un haplotype fluctue plus rapidement que celle des gènes nucléaires (3). L'ADN mitochondrial est de ce fait plus sensible aux effets fondateurs (7, 18).

Contrairement à la taxinomie moléculaire qui utilise les variations génétiques pour distinguer les espèces, la génétique des populations recherche les variations génétiques à l'intérieur d'une population et entre populations d'une même espèce. Deux méthodes ont été largement décrites pour étudier la structure génétique : la méthode directe et la méthode indirecte.

La méthode directe utilise les observations des mouvements actuels des individus, alors que la méthode indirecte utilise les données génétiques pour estimer les déplacements des individus dans un passé récent (51). La méthode directe a l'avantage d'étudier les flux de gènes à partir des observations réelles et actuelles mais présente de nombreux inconvénients qui limitent son utilisation. Le succès reproducteur des migrants est, dans la plupart des cas, inférieur à celui des individus résidents. Les mesures directes par la technique de marquage-recapture sont nécessairement limitées dans le temps et l'espace. La seconde approche, indirecte, permet de déduire la structure génétique à partir de données obtenues grâce à l'un des outils décrits précédemment (51, 52).

Le paramètre développé par WRIGHT (60) en 1931 pour évaluer la structure génétique est le F_{st} qui est destiné à mesurer le niveau de subdivision des populations. $F_{st} = (H_T - H_S) / H_T$, où H_T représente l'hétérozygotie attendue d'un individu dans une population totale en panmixie, et où H_S correspond à l'hétérozygotie attendue d'un individu dans une sous-population équivalente en panmixie. F_{st} varie de 0 (absence de différenciation) à 1 (différenciation maximale). Dans le cas des gènes neutres (non soumis à la sélection), F_{st} est utilisé pour estimer les flux géniques à partir de l'équation $F_{st} = 1 / (4Nm + 1)$, Nm correspondant au nombre de migrants par génération arrivant dans une population (N_e : taille efficace de la population; m : taux moyen de migration). Cette relation suppose plusieurs hypothèses : (1) l'existence d'un équilibre entre la dérive génétique et la migration, c'est-à-dire que la perte d'allèles par dérive doit être compensée par le gain d'allèles par migration, (2) l'existence d'un modèle en île où chaque population a une probabilité équivalente d'échanger des migrants avec les autres populations et (3) la neutralité des marqueurs utilisés.

Les insectes comme modèle d'étude en génétique des populations

Les variations génétiques et les flux géniques entre populations reflètent les discontinuités rencontrées dans les habitats naturels des populations d'insectes. Pour les arthropodes, ces discontinuités sont à la fois spatiales et temporelles. La subdivision spatiale peut être liée, par exemple, au fractionnement d'un milieu insulaire (57), aux particularités de certains biotopes tels les caves, les mares (9), ou encore à une stricte inféodation à certains hôtes (33). Les variations temporelles de la disponibilité des ressources de l'habitat peuvent également affecter la structure des populations qui, par voie de conséquence, subissent des fluctuations saisonnières d'effectifs (61). Ainsi, grâce à la génétique des populations, il a été possible de retracer l'histoire de la dissémination du bourdon *Bombus terrestris* dans le pourtour méditerranéen (19) ou encore celle de l'expansion du moustique *Ae. albopictus* (29, 30).

Les flux de gènes renseignent sur les capacités de dispersion du vecteur (distance, direction et taux) qui sont un élément clé à considérer dans une campagne de lutte antivectorielle. Agissant comme force sélective, les insecticides confèrent un avantage aux individus qui portent des gènes de résistance, modelant ainsi la dynamique de dispersion de ces gènes (10). De même, l'examen des flux de gènes entre populations caractérisées par des capacités vectorielles différentes a permis de mettre en évidence un polymorphisme au sein d'espèces. L'estimation des flux de gènes à partir de l'analyse des gènes neutres, utilisés pré-

Tableau I.

Compétence vectorielle de six souches d'*Aedes polynesiensis* infectées expérimentalement par voie orale par *Wuchereria bancrofti* (souche de Tahiti).
Vector competence of six strains of Aedes polynesiensis following the ingestion of Wuchereria bancrofti-infected blood using artificial feeding.

souche	essai	J0			J15		
		femelles infectées		nb moyen de microfilaires par femelle infectée	femelles infectées		nb moyen de larves infestantes par femelle infestante
%	nb	%	nb		%	nb	
Tahiti	1	95	20	8,1 (19)a	78	9	6,6 (7)a
	2	94	17	7,2 (16)	90	19	5,2 (17)
	1+2			7,3+5			5,6+4,0
Raiatea	1	100	22	9,6 (22)	100	9	9,2 (9)
	2	100	19	8,9 (19)	71	21	6,3 (15)
	1+2			9,3+4,4			7,6+3,9
Rangiroa	1	100	20	10,0 (20)	58	12	3,6 (7)
	2	100	22	8,2 (22)	87	12	4,7 (20)
	1+2			9,0+5,8			4,4+2,1
Rurutu	1	100	18	10,9 (18)	43	21	3,3 (9)
	2	100	12	10,7 (12)	82	11	4,2 (9)
	1+2			10,8+5,6			3,6+2,0
Nuku-Hiva	1	100	19	8,4 (19)	65	20	4,5 (13)
	2	100	22	8,4 (22)	92	22	4,3 (20)
	1+2			8,4+4,4			4,4+2,9
Mangareva	1	100	17	9,2+7,1 (17)	46	46	3,6+3,7 (21)

a) nombre de moustiques examinés

férentiellement en génétique des populations, est très sollicitée pour affiner la taxinomie à un niveau infra-spécifique et la dynamique des populations, et ainsi, mettre à jour des problèmes liés aux variations de capacité vectorielle, de résistance aux insecticides ou encore de suivi d'insectes transgéniques.

L'exemple d'*Aedes polynesiensis*, le vecteur de la filaire de Bancroft

Aedes polynesiensis est un moustique endémique à un grand nombre d'îles polynésiennes du Pacifique sud. Cette espèce peut être considérée comme un témoin des migrations humaines lors du peuplement de l'océan Pacifique. Les origines des Polynésiens semblent se situer aux Philippines ou en Indonésie orientale, entre 1500 et 1000 avant J.-C. Leurs migrations à travers la Mélanésie, retracées grâce à la découverte des poteries Lapita, remontent à 1500-500 avant J.-C. Leurs avancées graduelles vers le Pacifique Est s'étalèrent sur plus de 2000 ans; ont été successivement colonisées : les îles Tonga vers 1300 avant J.-C., les îles Samoa vers 1000 avant J.-C., les îles Marquises, les îles de la Société, les îles Hawaii au nord et l'île de Pâques à l'est entre 300 et 700 après J.-C. et, enfin, les îles Cook, les îles Australes et la Nouvelle Zélande entre 700 et 1100 ans après J.-C. (6). Originaire d'Asie du Sud-Est, la filaire de Bancroft, *Wuchereria bancrofti*, a été transportée par les Polynésiens qui ont conquis les îles d'ouest en est dans le Pacifique (31). Une étroite adaptation s'est alors opérée entre le ver parasite et les moustiques endémiques des îles. C'est ainsi que s'est individualisée la forme aperiodique de la filaire de Bancroft, ou variété *pacifica*, endémique des îles de Polynésie et de certains archipels mélanésiens.

Ae. polynesiensis appartient à un groupe d'espèces proches : le groupe *scutellaris*. Exclusivement exophile et exophage, il se développe dans toute une série de petites collections d'eau temporaires. Cette espèce colonise notamment des gîtes caractéristiques des milieux insulaires: les terriers de crabe qui représentent le gîte larvaire le plus important sur les îles d'origine corallienne. A cet environnement, où prédominent ces gîtes endogés, est associé un faciès épidémiologique de la filariose

caractérisé par une transmission de faible intensité, contrairement aux îles hautes, d'origine volcanique, hébergeant des gîtes épigés (creux d'arbre) en fond de vallée, qui connaissent une transmission de forte intensité.

La diversité des écotopes explorés par *Ae. polynesiensis* et la distinction des profils épidémiologiques de la filariose selon un découpage : île haute volcanique à forte transmission filarienne et île basse corallienne à faible transmission filarienne, sont à l'origine de nos études sur la place de la variabilité génétique du vecteur dans la transmission filarienne. Une étude des variations de compétence vectorielle de souches d'*Ae. polynesiensis* de différentes origines géographiques, infectées par une même souche de *W. bancrofti* provenant de filariens de l'île de Tahiti, fut entreprise en utilisant la technique du repas artificiel des femelles au travers d'une membrane de Parafilm soutenant le sang parasité. Deux paramètres ont été estimés : (1) le nombre de microfilaires ingérées par femelle de moustique et (2) le nombre de larves infestantes parvenues à maturité dans le moustique, 15 jours plus tard. Les résultats (tableau I) ont permis de démontrer un meilleur rendement parasitaire, et donc une meilleure efficacité vectorielle, de la souche de moustique infectée par la souche sympatrique de filaire (20).

Pour tenter d'expliquer les résultats obtenus et, en particulier, les fortes valeurs de rendement parasitaire des souches de Tahiti et de Raiatea (archipel de la Société), une étude de la structure génétique des populations d'*Ae. polynesiensis* a été associée, en vue de comprendre la dispersion des populations et, en particulier, de celles qui sont plus réceptives à l'infection filarienne. Cette étude a fait appel au polymorphisme des marqueurs isoenzymatiques évalués sur une trentaine d'échantillons de moustiques récoltés sur 13 îles de Polynésie française. Les résultats de notre étude ont révélé que les flux génétiques entre îles ont tendance à diminuer lorsque la distance séparant ces îles augmente (tableau II). Cependant, dans les îles de la Société, qui correspondent à l'archipel le plus peuplé et le plus développé économiquement, l'importance des échanges génétiques n'est plus corrélée à la distance géographique mais à l'intensité des échanges liés à la fréquence du trafic commercial (figure 1) (21).

Pour tenter d'expliquer les résultats obtenus et, en particulier, les fortes valeurs de rendement parasitaire des souches de Tahiti et de Raiatea (archipel de la Société), une étude de la structure génétique des populations d'*Ae. polynesiensis* a été associée, en vue de comprendre la dispersion des populations et, en particulier, de celles qui sont plus réceptives à l'infection filarienne. Cette étude a fait appel au polymorphisme des marqueurs isoenzymatiques évalués sur une trentaine d'échantillons de moustiques récoltés sur 13 îles de Polynésie française. Les résultats de notre étude ont révélé que les flux génétiques entre îles ont tendance à diminuer lorsque la distance séparant ces îles augmente (tableau II). Cependant, dans les îles de la Société, qui correspondent à l'archipel le plus peuplé et le plus développé économiquement, l'importance des échanges génétiques n'est plus corrélée à la distance géographique mais à l'intensité des échanges liés à la fréquence du trafic commercial (figure 1) (21).

Tableau II.

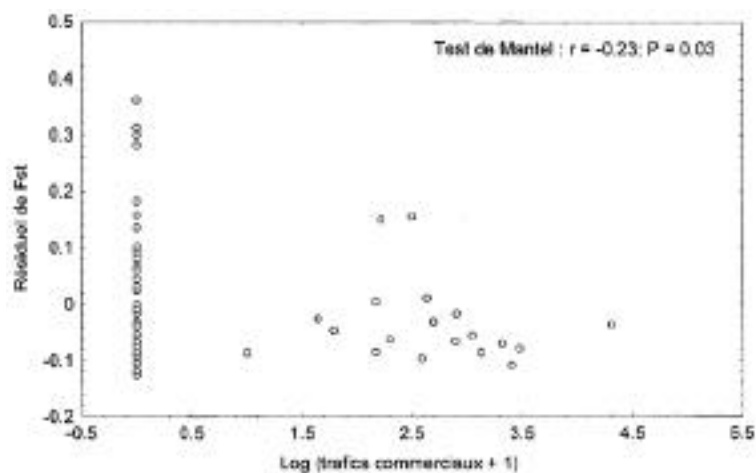
Différenciation génétique d'*Aedes polynesiensis* en Polynésie française (échantillons récoltés entre octobre 1992 et février 1993).
Population structure of Aedes polynesiensis in French Polynesia.

comparaison	N	probabilité d'homogénéité			Fst			Nem
		Got2	Pgm	total	Got2	Pgm	total	
entre échantillons d'une même île								
Tahiti	8	0,004	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁵	0,029	0,059	0,046	5,2
Moorea	3	0,03	0,16	0,03	0,048	0,020	0,033	7,4
Huahine	3	0,23	0,27	0,23	0,023	0,001	0,005	51
Raiatea	4	0,004	0,08	0,003	0,076	0,025	0,047	5,1
Bora-Bora	2	0,08	0,06	0,03	0,072	0,041	0,053	4,5
Rangiroa	3	0,45	0,03	0,07	-0,005	0,043	0,016	15
Manihi	2	0,60	0,68	0,77	-0,004	0,002	0,005	47
entre îles d'un même archipel								
Société	5	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁵	0,045	0,017	0,028	8,7
Tuamotu	5	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁵	0,071	0,406	0,290	0,6
Australes	2	0,06	0,18	0,06	0,069	0,019	0,028	8,7
entre archipels	4	0,0004	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁴	0,018	0,028	0,024	10,2

N : nombre d'échantillons analysés

Figure 1.

Flux génétiques d'*Aedes polynesiensis* en relation avec les trafics commerciaux en Polynésie française.
Genetic exchanges of *Aedes polynesiensis* in relation with global traffic.



L'exemple d'*Aedes aegypti*, vecteur des virus de la dengue

L'agent causal de la dengue est un virus à ARN de la famille des Flaviviridae. Quatre sérotypes sont connus : DEN-1, DEN-2, DEN-3 et DEN-4. Aux 18^{ème} et 19^{ème} siècle, et même durant la première moitié du 20^{ème} siècle, la dengue sévissait en Asie en respectant des périodes inter épidémiques de quelques décennies. Les transports, effectués par bateaux qui véhiculaient moustiques vecteurs et hommes réceptifs, ont été à l'origine de quelques épidémies de faible incidence. Ce profil a changé brutalement au lendemain de la seconde guerre mondiale. L'avènement des moyens de transports rapides ont suffi à disséminer rapidement les virus de la dengue et leurs vecteurs et l'explosion démographique et l'urbanisation incontrôlée ont contribué à sa pérennisation dans la plus grande partie de la ceinture tropicale du globe. Les villes surpeuplées d'Asie, aux conditions sanitaires précaires, hébergent aujourd'hui d'abondantes populations d'*Ae. aegypti*, moustique particulièrement bien adapté à ce type d'environnement fortement anthropisé. L'ensemble de ces facteurs a conduit à l'établissement d'une transmission selon un mode hyperendémique où les quatre sérotypes circulent en même temps. C'est à partir de ce réservoir de virus que des vagues épidémiques atteignent les autres pays du monde tropical. On estime à quelque 100 millions le nombre des cas de dengue survenant chaque année (38). A ce jour, aucun traitement étiologique ni vaccin n'est disponible. Seule la lutte contre le vecteur est capable de réduire les risques de transmission.

Aedes aegypti est un moustique originaire des forêts africaines se nourrissant principalement sur animaux sauvages. Cette forme primitive a évolué et se présente actuellement sous trois formes, en fonction de critères morphologiques et éco-éthologiques : *Ae. aegypti formosus*, sauvage (la forme primitive de coloration sombre), *Ae. aegypti queenslandensis* (coloration très pâle) et *Ae. aegypti aegypti* (coloration intermédiaire). Cette dernière est la forme qui existe dans presque tout le monde tropical et tempéré chaud qu'elle a su conquérir grâce aux transports humains. Parce qu'il est un vecteur majeur d'arbovirus, et en particulier des virus de la dengue, il a fait l'objet de nombreuses études en vue de comprendre l'épidémiologie de cette dernière maladie. Sa variabilité génétique a été explorée par la technique des isoenzymes (45, 53). Sa forte

différenciation génétique semble être associée à sa faible dispersion active, phénomène largement admis dans un environnement urbain où gîtes de ponte artificiels liés aux modalités de stockage de l'eau et surtout aux déchets de consommation, et nourriture (repas sanguin sur homme) sont disponibles en abondance dans un périmètre limité.

Hyperendémicité de la dengue dans le Sud-est asiatique

C'est dans le Sud-est asiatique (Manille, Philippines) que fut décrite pour la première fois, en 1954, la forme grave de la maladie, la dengue hémorragique (26). Elle a été, par la suite, signalée dans le sud du Vietnam et à Singapour en 1960, à Penang en 1962 et en Inde en 1963 (25). La dengue hémorragique survient maintenant dans le sud du Vietnam de façon régulière et l'incidence de la maladie s'intensifie graduellement. Dans la ville de Ho Chi Minh, les habitants accumulent consciemment (jarres de stockage d'eau) ou non intentionnellement (détritus de la consommation) des gîtes larvaires potentiels qui sont à l'origine des fortes densités du vecteur, particulièrement à la saison des pluies.

Nous avons étudié la variabilité de la compétence vectorielle des populations de la région de Ho Chi Minh ville par l'estimation des taux d'infection établis au 14^{ème} jour après infection orale expérimentale des moustiques avec le virus de la dengue 2. Vingt échantillons de moustiques ont été analysés : 9 prélevés au centre de la ville de Ho Chi Minh et 11 dans la banlieue proche. Les résultats révèlent que deux zones se dessinent distinctement : une zone correspondant à l'ensemble des échantillons récoltés dans le centre ville dont la réceptivité à

Figure 2.

Taux d'infection par le virus de la dengue 2 des échantillons d'*Ae. aegypti* de Ho Chi Minh ville (Vietnam). La zone ombrée correspond à une zone où les taux d'infection sont homogènes.
Infection rates of *Aedes aegypti* from Ho Chi Minh City (Vietnam). Samples which display similar oral susceptibility with dengue type 2 virus are grouped within a shaded area.

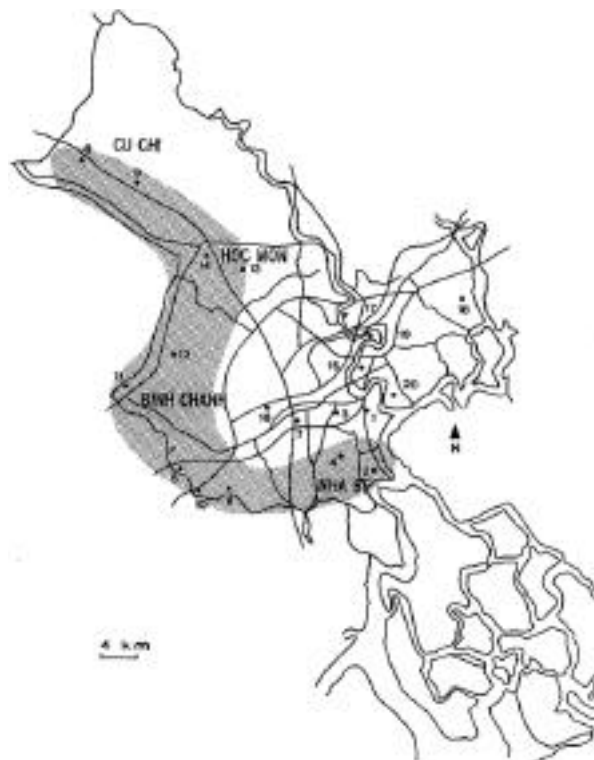


Tableau III.

Différenciation génétique d'*Aedes aegypti* dans la ville de Ho Chi Minh (Vietnam) (échantillons récoltés entre février et mai 1998).
Population differentiation of *Aedes aegypti* in Ho Chi Minh City (Vietnam).

comparaison	N	F _{st}					Nem
		Hk2	Mdh	Pgi	Pgm	total	
échantillons	20	+0,127	+0,021	+0,033	+0,168	+0,099	2,3
centre ville	9	+0,05	+0,036	+0,001	+0,122	+0,071	3,3
banlieue	11	+0,186	+0,009	+0,044	+0,203	+0,125	1,7
Cu Chi	2	+0,045	-0,007	+0,085	+0,057	+0,033	7,3
Hoc Mon	2	+0,329	-0,003	+0,001	+0,03	+0,104	2,1
Binh Chanh	5	+0,152	-0,006	+0,016	+0,280	+0,167	1,2
Nha Be	2	+0,040	-0,209	-0,077	+0,099	+0,051	4,7

N : nombre d'échantillons analysés

l'infection virale apparaît variable d'un site à l'autre, et une deuxième zone, représentée par les moustiques issus de la banlieue, avec des taux d'infection parfaitement comparables entre eux (figure 2). Ces résultats sont en partie confortés par une deuxième approche qui consiste en une analyse de flux de gènes établis à partir des estimations de fréquences alléliques au niveau de plusieurs loci isoenzymatiques. La différenciation est en effet importante entre les moustiques issus du centre ville alors que ceux de la banlieue sont plus homogènes (tableau III). On peut penser que les traitements insecticides, dirigés contre les adultes, effectués lors des périodes épidémiques (saison des pluies) réduisent les densités de moustiques ainsi que leur dispersion et, par voie de conséquence, amplifient la différenciation génétique (56).

Dengue épidémique

A partir des pays du Sud-est asiatique, les vagues épidémiques peuvent atteindre, de proche en proche, toutes les îles du Pacifique où la dengue survient aux saisons de fortes densités de moustiques, c'est-à-dire à la saison des pluies. La Polynésie française, après avoir connu des épidémies sporadiques jusqu'en 1961, date d'ouverture de l'aéroport international à Tahiti, connaît depuis lors un raccourcissement des intervalles inter-épidémiques. Tahiti est considéré comme la porte d'entrée de nouvelles souches virales qui s'établissent de proche en proche dans l'ensemble des îles possédant une liaison aérienne avec l'aéroport international. Le développement des moyens modernes de transport ainsi que le développement urbain et la croissance démographique ont contribué au maintien de la dengue dans cette région du monde. Les quatre sérotypes des virus de dengue ont ainsi émergé sous un mode épidémique : la dengue 1 en 1944 et 1975-76, la dengue 2 en 1971, la dengue 3 en 1964 et 1969, et la dengue 4 en 1979. De 1979 à 1988, le sérotype 4 s'est maintenu de façon endémique à Tahiti (13). La dernière épidémie, en 1996-97, était due au type 2 (12).

La variabilité de la compétence vectorielle d'*Ae. aegypti* vis-à-vis du virus de la dengue 2 a suscité de nombreux travaux (8, 24, 54). Dans notre étude, 16 échantillons d'*Ae. aegypti* de l'île la plus développée de Polynésie française, Tahiti, ont été infectés expérimentalement par voie orale par le sérotype 2 du virus de la dengue. Quatorze jours après le repas infectant, la présence du virus est détectée par immunofluorescence indirecte au niveau du tissu nerveux des moustiques. Les pourcentages de moustiques infectés sont établis pour chaque échantillon, puis comparés selon leur localisation géographique. C'est ainsi que les moustiques de la côte ouest de Tahiti, la plus peuplée, sont hétérogènes quant à leur réceptivité, alors que ceux de la côte est, moins habitée, demeurent homogènes (figure 3). Ces résultats peuvent s'expliquer par les particularités écologiques des deux côtes. La côte ouest, est moins ventée et plus propice à l'installation de petites agglomérations.

Tableau IV.

Différenciation génétique d'*Aedes aegypti* dans l'île de Tahiti (Polynésie française). Influence de la densité de la population humaine. Les échantillons ont été récoltés en avril 1997.
Population differentiation of *Aedes aegypti* from Tahiti and Moorea in French Polynesia according to human population density.

comparaison	N	F _{st}					Nem	
		Hk2	Mdh	Mpi	Pgi	Pgm		
Tahiti	20	+0,283	+0,062	+0,130	+0,174	+0,134	+0,118	1,9
Zone 1 Papeete	11	+0,289	+0,058	+0,135	+0,240	+0,166	+0,134	1,6
Zone 2 > 400 habitants/km ²	4	+0,021	-0,014	+0,024	+0,216	+0,095	+0,049	4,8
Zone 3 < 400 habitants/km ²	5	-0,004	+0,123	+0,024	+0,001	-0,002	+0,076	3,0

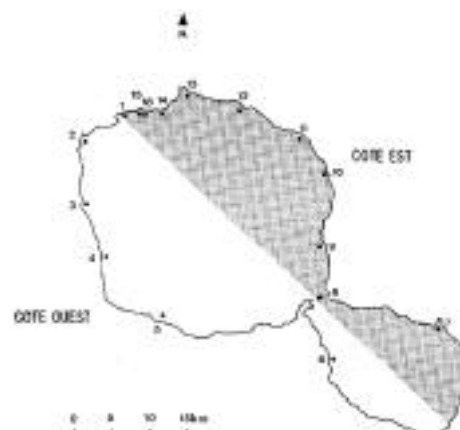
N : nombre d'échantillons analysés

mérations. La côte est, quant à elle, est une côte très accidentée, très ventée, avec une plaine côtière peu favorable à un regroupement des habitations. Ce découpage dans la répartition de la population humaine, lié à des particularités écologiques du milieu, se retrouve dans les pressions insecticides, plus fortement menées dans les agglomérations denses qui hébergent les plus importantes densités d'*Ae. aegypti*. Les fréquents événements d'extinction ainsi entraînés tendent à accentuer la différenciation génétique. Ceci expliquerait que les moustiques de la côte ouest présentent des taux d'infection hétérogènes, à la différence de ceux de la côte est, plus homogènes dans leur réceptivité au virus (58).

Les différences de compétence vectorielle peuvent s'expliquer par des variations génétiques des populations qui réagissent différemment à l'infection par les virus de la dengue. A ce travail, a été associée une étude de génétique des populations. Vingt échantillons de moustiques ont été analysés sur l'île de Tahiti. En comparant les fréquences alléliques obtenues pour différents loci isoenzymatiques, une image de la différenciation a pu être élaborée. Trois zones sont ainsi décelées (tableau IV) : (1) une zone correspondant à l'agglomération urbaine de Tahiti comprenant le chef-lieu, Papeete, et les six districts l'environnant (75 % des habitants de l'île y résident). Les moustiques y sont génétiquement structurés. L'abondance des gîtes potentiels, la forte densité humaine qui y règne, ainsi que les traitements insecticides à répétition qui y sont menés ont eu pour conséquence une accentuation de la différenciation; (2) une zone correspondant aux moustiques récoltés sur la côte est de l'île de Tahiti, où la densité humaine

Figure 3.

Taux d'infection des échantillons d'*Ae. aegypti* récoltés à Tahiti et Moorea (Polynésie française). La zone ombrée correspond à une zone où les taux d'infection vis-à-vis du virus de la dengue 2 sont homogènes.
Infection rates of *Aedes aegypti* from Tahiti and Moorea (French Polynesia). Samples which display similar oral susceptibility with dengue type 2 virus are grouped within a shaded area.



est plus faible et où les conditions écologiques sont différentes, privilégiant les espaces arborés : les flux de gènes y sont plus intenses, et (3) une zone intermédiaire, présentant un écotpe similaire à celui de la côte ouest de Tahiti mais une densité humaine faible. La différenciation des moustiques y est intermédiaire. Cette situation illustre bien la complexité des phénomènes mis en jeu où interagissent la densité humaine, l'urbanisation, les écotopes et les mesures de lutte, et cela à des degrés variables (44).

Conclusions

De nombreuses études de génétique des populations de moustiques vecteurs ont maintes fois permis d'élucider le statut vectoriel des populations naturelles (53). Le développement actuel des techniques d'analyse des génomes permettra d'affiner la caractérisation des individus à un niveau infra-spécifique. La connaissance des mouvements des gènes sélectionnés, tels les gènes de résistance aux insecticides, ou les gènes de réceptivité à un pathogène, ou encore des gènes introduits par transgénèse, demeure une indication primordiale pour prédire le "devenir génétique d'une population" dans son environnement. Ce profil suit une dynamique dictée par des variations spatiales (différents types d'écotopes) et temporelles (fluctuations saisonnières) qu'il est important d'évaluer avant d'agir *in natura*.

Références bibliographiques

1. AITKEN THG, DOWNS WG & SHOPE RE - *Aedes aegypti* strain fitness for yellow fever virus transmission. *Am J Trop Med Hyg*, 1977, **26**, 985-989.
2. ASMAN SM, MCDONALD PT & PROUT T - Field studies of genetic control systems for mosquitoes. *Annu Rev Entomol*, 1981, **26**, 289-318.
3. AVISE JC - Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annu Rev Genet*, 1991, **25**, 45-69.
4. BEAVER PC & JUNG RC - *Animal agents and vectors of human disease*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, 281 pp.
5. BEGUN DJ & AQUADRO CF - African and North American populations of *Drosophila melanogaster* are very different at the DNA level. *Nature*, 1993, **365**, 548-550.
6. BELLWOOD P - *Les Polynésiens, archéologie et histoire*. Les éditions du Pacifique, 1983, 180 p.
7. BIRKY CW, FUERST D & MARUYAMA T - Organelle gene diversity under migration, mutation and drift: equilibrium effects of heteroplasmic cells and comparison of nuclear genes. *Genetics*, 1989, **121**, 613-627.
8. CHEN WJ, WEI HL, HSU EL & CHEN ER - Vector competence of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) to dengue 1 virus on Taiwan: development of the virus in orally and parenterally infected mosquitoes. *J Med Entomol*, 1993, **30**, 524-530.
9. CHEVILLON C, ERITJA R, PASTEUR N & RAYMOND M - Commensalism, adaptation and gene flow: mosquitoes of the *Culex pipiens* complex in different habitats. *Genet Res*, 1995a, **66**, 147-157.
10. CHEVILLON C, PASTEUR N, MARQUINE M & RAYMOND M - Population structure and dynamics of selected genes in the mosquito *Culex pipiens*. *Evolution*, 1995b, **49**, 997-1007.
11. CHRISTENSEN BM & SEVERSON DW - Biochemical and molecular basis of mosquito susceptibility to *Plasmodium* and filarioid nematodes. In: Beckage N, Federici B & Thompson SN (Eds), *Parasites and Pathogens of Insects*. Academic Press NY, 1993, pp. 245-266.
12. CHUNGUE E, DEPARIS X & MURGUE B - Dengue in French Polynesia: major features, surveillance, molecular epidemiology and current situation. *Public Hlth Dialog*, 1998, **5**, 1541-1562.
13. CHUNGUE E, MARCHÉ G, PLICHART R, BOUTIN JP & ROUX J - Comparison of immunoglobulin G enzyme linked immunosorbent assay (IgG-ELISA) and haemagglutinin inhibition (HI) test for the detection of dengue antibodies. Prevalence of dengue Ig-G ELISA antibodies in Tahiti. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1989, **83**, 708-711.
14. CRAIG GB Jr, & HICKEY WA - Genetics of *Aedes aegypti*. In: JW Wright JW & Pal R (Eds), *Genetics of Insect Vectors of Disease*, Elsevier, Amsterdam, 1967, pp 67-131.
15. CRAMPTON J, MORRIS A, LYCETT G, WARREN A & EGGLESTON P - Transgenic mosquitoes : a future vector control strategy? *Parasitol today*, 1990, **6**, 31-36.
16. CRAMPTON JM, GALLER R, SINDEN RE & GRISANTI A - La lutte génétique contre les moustiques. *La Recherche*, 1993, **24**, 1218-1227.
17. DESALLE R & GIDDINGS LV - Discardance of nuclear and mitochondrial DNA phylogenies in Hawaiian *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**, 6902-6906.
18. ERLICH HA & ARNHEIM N - Genetic analysis using the polymerase chain reaction. *Annu Rev Genet*, 1992, **26**, 479-506.
19. ESTOUP A, SOLIGNAC M, CORNUET JM, GOUDET J & SCHOLL A - Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe. *Mol Ecol*, 1996, **5**, 19-31.
20. FAILLOUX AB, RAYMOND M, UNG A, GLAZIOU P, MARTIN PMV & PASTEUR N - Variation in the vector competence of *Aedes polynesiensis* for *Wuchereria bancrofti*. *Parasitology*, 1995, **111**, 19-29.
21. FAILLOUX AB, RAYMOND M, UNG A, CHEVILLON C & PASTEUR N - Genetic differentiation associated with commercial traffic in the Polynesian mosquito, *Aedes polynesiensis* Marks 1951. *Biol J Linn Soc*, 1997, **60**, 107-118.
22. GEORGHIU GP - Overview of insecticide resistance. In: Green MB, Le Baron HM & Moberg WK (Eds), *Managing resistance to agrochemicals*. ACS symposium series, 1990, pp. 18-41.
23. GUBLER DJ & ROSEN L - Variation among geographic strains of *Aedes albopictus* in susceptibility to infection with dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg*, 1976, **25**, 318-325.
24. GUBLER DJ, NALIM S, TAN R, SAIPAN H & SAROSO JS - Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg*, 1979, **28**, 1045-1052.
25. HALSTEAD SB - Mosquito-borne haemorrhagic fevers of South and South-East Asia. *Bull OMS*, 1966, **35**, 3-15.
26. HAMMON W, RUDNICK A, SATHER G, ROGERS KD & MORSE LJ - New hemorrhagic fevers of children in the Philippines and Thailand. *Trans Assoc Am Phys*, 1960, **73**, 140-155.
27. HARDY JL, APPERSON G, ASMAN SM & REEVES WC - Selection of a strain of *Culex tarsalis* highly resistant to infection following ingestion of western equine encephalomyelitis virus. *Am J Trop Med Hyg*, 1978, **27**, 313-321.
28. HARDY JL, HOUK EJ, KRAMER LD & REEVES WC - Intrinsic factors affecting vector competence of mosquitoes for arboviruses. *Annu Rev Entomol*, 1983, **28**, 229-262.
29. KAMBHAMPATI S, BLACK WC, RAI KS & SPRENGER D - Temporal variation in genetic structure of a colonizing species *Aedes albopictus* in the USA. *Heredity*, 1990, **64**, 281-287.
30. KAMBHAMPATI S - Mitochondrial DNA variation within and among populations of the mosquito *Aedes albopictus*. *Genome*, 1991, **34**, 288-292.
31. LAURENCE BR - The global dispersal of Bancroftian filariasis. *Parasitol today*, 1989, **5**, 260-264.
32. LEWONTIN RC - Electrophoresis in the development of evolutionary genetics: milestone or mill stone. *Genetics*, 1991, **128**, 657-662.
33. MAC CAULEY DE - The effect of host plant size variation on the population structure of a specialist herbivore insect *Tetraopes tetraophthalmus*. *Evolution*, 1991, **45**, 1675-1684.
34. MAC DONALD WW - The genetic basis of susceptibility of infection with semi-periodic *Brugia malayi* in *Aedes aegypti*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1962, **56**, 373-382.
35. MAC DONALD WW - Further studies on a strain of *Aedes aegypti* susceptible to infection with semi periodic *Brugia malayi*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1963, **57**, 452-460.
36. MAC DONALD WW & RAMACHANDRAN CP - The influence of the gene fm (filarial susceptibility, *Brugia malayi*) on the susceptibility of *Aedes aegypti* to seven strains of *Brugia*, *Wuchereria* and *Dirofilaria*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1965, **59**, 64-73.
37. MAC GREVY PB, MAC CLELLAND GAH & LAVOPIERRE MMJ - Inheritance of susceptibility to *Dirofilaria immitis* infection in *Aedes aegypti*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1974, **68**, 97-109.

38. MONATH TP - Dengue: the risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**, 2395-2400.
39. MUNSTERMANN LE - Linkage map of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. In: O'Brien SJ (Eds), Genetic maps. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, 1990, pp. 179-183.
40. OMS - Ecology and control of vectors in public health. Technical report, 1975, **561**, 1-35.
41. OTTESEN EA, DUKE BOL, KARAM M & BEHBEHANI K - Strategies and tools for the control/elimination of lymphatic filariasis. *Bull OMS*, 1997, **75**, 491-503.
42. PHILIPP M, DAVIS TB, STOREY N & CARLOW CKS - Immunity in filariasis: perspectives for vaccine development. *Annu Rev Microbiol*, 1988, **42**, 685-716.
43. PALUMBI SR & BAKER CS - Contrasting population structure from nuclear intro sequences and mt DNA of humpback whales. *Mol Biol Evol*, 1994, **11**, 426-435.
44. PAUPY C, VAZEILLE-FALCOZ M, MOUSSON L, RODHAIN F & FAILLOUX AB - *Aedes aegypti* in Tahiti and Moorea (French Polynesia): human population density influences isoenzyme differentiation in the mosquito population. Soumis.
45. POWELL JR - Geographic genetic differentiation and arbovirus competency: *Aedes aegypti* and yellow fever. *Parassitologia*, 1985, **27**, 13-20.
46. REEVES WC - Ecology of mosquitoes in relation to arboviruses. *Annu Rev Entomol*, 1965, **10**, 25-46.
47. RAYMOND M, CALLAGHAN A, FORT P & PASTEUR N - Worldwide migration of amplified insecticide resistance genes in mosquitoes. *Nature*, 1991, **350**, 151-153.
48. RODERICK GK - Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annu Rev Entomol*, 1996, **41**, 325-352.
49. SEVERSON DW, MORI A, ZHANG Y & CHRISTENSEN BM - Linkage map for *Aedes aegypti* using restriction fragment length polymorphisms. *J Hered*, 1993, **84**, 241-247.
50. SEVERSON DW, MORI A, ZHANG Y & CHRISTENSEN BM - Chromosomal mapping of two loci affecting filarial worm susceptibility in *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol*, 1994, **3**, 67-72.
51. SLATKIN M - Gene flow in natural populations. *Annu Rev Ecol Syst*, 1985, **16**, 393-430.
52. SLATKIN M - Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 1987, **236**, 787-792.
53. TABACHNICK WJ & POWELL JR - Genetic structure of the East African domestic populations of *Aedes aegypti*. *Nature*, 1978, **272**, 535-537.
54. TARDIEUX I, POUPEL O, LAPCHIN L & RODHAIN F - Variation among strains of *Aedes aegypti* in susceptibility to oral infection with dengue virus type 2. *Am J Trop Med Hyg*, 1990, **43**, 308-313.
55. TESH RB, GUBLER DJ & ROSEN L - Variation among geographic strains of *Aedes albopictus* in susceptibility to infection with Chikungunya virus. *Am J Trop Med Hyg*, 1976, **25**, 326-335.
56. TRAN KHANH T, VAZEILLE-FALCOZ M, MOUSSON L, TRAN HUU H, RODHAIN F *et al.* - *Aedes aegypti* in Ho Chi Minh city (Vietnam) : Susceptibility to dengue 2 virus and genetic differentiation. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*, (sous presse).
57. TSAGKARAKOU A, NAVAJAS M, LAGNEL J & PASTEUR N - Population structure in the spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Crete based on multiple allozymes. *Hereditas*, 1997, **78**, 84-92.
58. VAZEILLE-FALCOZ M, MOUSSON L, RODHAIN F, CHUNGUE E & FAILLOUX AB - Variation in oral susceptibility to dengue type 2 virus of populations of *Aedes aegypti* from the islands of Tahiti and Moorea, French Polynesia. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, **60**, 292-299.
59. WATTAM AR & CHRISTENSEN BM - Induced polypeptides associated with filarial worm refractoriness in *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**, 6502-6505.
60. WRIGHT S - Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 1931, **16**, 97-159.
61. WADE MJ & MC CAULEY DE - Extinction and colonization: their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution*, 1988, **42**, 995-1005.