

Populations sauvages du vecteur *Triatoma infestans* : le nouveau paradigme de la Maladie de Chagas en Amérique du sud.

Simone Frédérique Brenière, Christian Barnabé, Philippe Brémond, François Noireau

Equipe INCHA, Epidémiologie intégrée de la Maladie de Chagas, UMR MIVEGEC (UM1-2 / CNRS-5290 / IRD-224)

UMR MIVEGEC:

François Noireau (Coordinateur, DR2), (Décédé, relayé par le co-coordonateur en août 2011)
Simone Frédérique Brenière (Co-coordonateur, DR2, Frederique.Breniere@ird.fr),
Christian Barnabé^{1,2} (IR, Christian.Barnabe@ird.fr),
Philippe Brémond^{1,3,8} (CR1, Philippe.Bremond@ird.fr),
Mario Charrière^{1,8} (Ingénieur Génie Rural Eaux et Forêts, charrieremario@yahoo.fr),
Etienne Waleckx^{1,4,7} (Post-doctorant, etiennewalex@yahoo.fr),
Stéphanie Depickère^{1,5} (Post-doctorant, stephanie.depickere@gmail.com).

Etudiants :

Rosio Buitrago^{1,2,6} (Doctorante, rosio8@gmail.com),
Sergio Quisberth^{1,4} (Master, ser_barr@hotmail.com),
Nerida Huaman⁴ (Master, neridanadia@gmail.com),
Marianne Baume^{1,6} (Master, mariabaune@yahoo.fr),
Marinely Bustamante^{1,7} (Master, marinelybustamante@gmail.com).

Professionnels boliviens engagés sur le projet:

Claudia Aliaga^{1,2} (Biologiste, aliagaclau@yahoo.es),
Mario Arrien⁹ (Sociologue), (pas de mail)
Fabian Benavidez⁹ (Sociologue, Fabian_Aymara@yahoo.com),
Hiber Calle^{1,7} (Technicien, hivercalle@gmail.com),
Pamela Cossio⁸ (Agronome), (pas de mail)
Marcelo Monje^{1,3,8} (Informaticien, e_marcelo_monje_salazar@hotmail.com),
Esdenka Perez^{2,4} (Biologiste, esden.biogen@gmail.com),
Renata Salas^{1,4,7} (Biologiste, renabacci2@yahoo.es),
Victor Sossa^{1,3,8} (Biologiste, cruzsur_gamata@hotmail.com).

Partenaires

INLASA (Institut Nacional de Laboratorios de Salud, La Paz) :

Tamara Chavez⁵ (Entomologiste médical, chaveztamy@yahoo.com),
Eda Siñani^{6,7} (Technicienne, edda-sp26@hotmail.com),
Ronald Lopez⁵ (Biologiste, zelopr@hotmail.com).

Programme National Chagas, La Paz :

Mirko Rojas¹ (Entomologiste, rojascortez@gmail.com).

UMSS (Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba), IIBISMED :

Lineth Garcia^{1,2} (Biologiste, lineth.garcia@gmail.com).

SEDES (Servicio Departamental de Salud, La Paz et Santa Cruz) :

Roberto Vargas¹ (Directeur programme Chagas), (pas de mail)
Nestor Suarez¹ (Superviseur technique, nestor_sua@hotmail.com),
Boris Chang¹ (Superviseur technique, borismedic@hotmail.com),
Pablo Vidaurre¹ (Superviseur technique, pevidaurre@hotmail.com),
Elio Mamani¹ (Technicien), (pas de mail).

Fonctions dans le projet: 1) Travaux de terrain, 2) Génétique des populations de parasite, 3) Systèmes d'information géographique, 4) Génétique des populations de vecteur, 5) Sensibilité des populations de vecteur aux insecticides, 6) Origine des repas sanguins des vecteurs, 7) Biologie des vecteurs, 8) Bases de données, 9) Anthropologie.

1. Introduction

En Amérique Latine, environ 10 millions de personnes de 21 pays sont infectées par *Trypanosoma cruzi*, l'agent de la maladie de Chagas, principalement transmis par les déjections infectées de punaises hématophages (Triatominae) qui colonisent l'habitat humain (WHO, 2007; Hotez *et al.*, 2008; Schmunis & Yadon, 2010). Dans les pays du Cône Sud (Argentine, Brésil, Bolivie, Chili, Uruguay, Paraguay), les plus durement frappés, les opérations de contrôle du vecteur principal *Triatoma infestans*, assurées par la pulvérisation péri- et intra-domiciliaire d'insecticide et par l'amélioration de l'habitat, ont été un succès (Moncayo & Silveira, 2009). Néanmoins, dans la région en général et particulièrement en Bolivie, la persistance de l'infestation est de plus en plus souvent observée. Deux phénomènes menaceraient les résultats acquis, l'apparition d'une résistance aux pyréthroides de synthèse utilisés (Picollo *et al.*, 2005; Lardeux *et al.*, 2010), et l'existence de foyers sauvages de *T. infestans* dont la tendance synanthropique est peu connue (Noireau, 2009). *T. infestans* a été longtemps considéré comme une espèce exclusivement domestique, exception faite en Bolivie où des foyers sauvages de *T. infestans* sont connus depuis plusieurs années dans la vallée andine de Cochabamba (écorégion des «Bosques Secos Interandinos», BSIA) (Torrico, 1946; Dujardin *et al.*, 1987). Cette situation et les premières analyses de génétique de *T. infestans* ont amené les chercheurs à avancer les hypothèses d'une origine andine de l'espèce et d'une domestication initiale dans la vallée de Cochabamba (Schofield, 1988; Panzera *et al.*, 2004; Bargues *et al.*, 2006; Cortez *et al.* 2010). Plus récemment, la découverte en Bolivie d'autres foyers sauvages dans les Andes et dans les basses terres de l'écorégion du Gran Chaco (Noireau *et al.*, 1997), ont fait peser une incertitude sur ces hypothèses et sur la réussite du contrôle des vecteurs car ces populations sauvages pouvaient avoir la capacité d'envahir les villages suite à l'élimination des populations domestiques (Noireau *et al.*, 2000, 2005). C'est pourquoi, la clarification de la distribution géographique et de l'implication épidémiologique des populations sauvages de *T. infestans* était l'objectif du projet TiBo qui permettait de se rapprocher du but fixé par l'organisation INCOSUR (Initiative des Pays du Cône Sud pour le contrôle et l'élimination de la maladie de Chagas) portant sur l'interruption de la transmission de *T. cruzi* par *T. infestans* dans la région.

2. Méthodes d'étude

Sur le terrain - La recherche de nouveaux foyers sauvages a été réalisée d'une part sur des sites choisis d'après les informations des habitants et des services de santé (63 sites explorés) et d'autre part, par une approche originale permettant de connaître la distribution des populations sauvages de *T. infestans* en fonction des facteurs environnementaux. Pour ce dernier protocole (TiBoEco), les sites explorés ont été répartis dans les sept écorégions (Bosques Secos Interandinos, BSIA ; Bosque Tucumano Boliviano, BTB ; Bosque Seco Chiquitano BSC ; Chaco Serrano, CS ; Gran Chaco, GC ; Prepuna, PP ; Yungas, YUN) définies selon Ibisch *et al.*, (2008) et comprises dans l'aire d'endémicité de la maladie de Chagas en Bolivie (47 sites explorés). Les captures ont été effectuées en continuité avec l'habitat humain, afin de prioriser l'étude du risque que les populations sauvages peuvent représenter pour l'homme. Chaque aire de piégeage incluait 12 groupes de pièges, répartis sur trois transects et distants de la limite des péri-domiciles de 50 m, 100 m, 150 m et 200 m. Chaque groupe comprenait 4 pièges répartis opportunément dans un cercle de 5 m de rayon. Dans certains sites, environ une dizaine de pièges supplémentaires ont été posés en choisissant des habitats supposés propices à l'infestation par *T. infestans*. Au cours de toutes les explorations le piège « Noireau » a été utilisé (Noireau *et al.*, 2002).

Sur un site sylvestre de capture, à proximité de la ville de La Paz, un suivi entomologique durant un an a été fait en appliquant la méthode de capture-marquage-recapture, jamais utilisée jusqu'ici pour les vecteurs de la maladie de Chagas.

Par ailleurs, cinq aires partagées (espaces sylvestre, péri- et intra-domiciliaire) ont fait l'objet d'un suivi entomologique assuré par la recherche active des triatomes dans les habitations par l'équipe de travail et suite à notre première visite, par la vigilance des habitants durant la période d'étude: deux villages (San Silvestre et Rancho Nuevo) dans l'écorégion du GC, deux villages (Sapini et Thago Thago) et une zone péri-urbaine (Quillacollo) dans l'écorégion des BSIA. Dans les zones sylvestres correspondantes, plusieurs périodes de piégeage ont été appliquées. Plusieurs colonies de *T. infestans* capturés en milieux sylvestre et péri-domestique ont été élevées au laboratoire pour tester leur sensibilité à la deltaméthrine.

Epidémiologie moléculaire - Les outils de biologie moléculaire ont été utilisés pour déterminer l'origine des repas sanguins des triatomes et leur infection par *T. cruzi*. Deux articles publiés ont complété la validation de ces méthodes (Aliaga *et al.* 2011 ; Buitrago *et al.* 2012). Le séquençage de gènes a permis de développer des études de phylogéographie et de génétique des populations de *T. infestans* (séquençage des gènes ITS-2, Marcilla *et al.*, 2001 et Cytochrome (CytB), Lyman *et al.*, 1999). La méthode de PCR multiplex (MMPP, Fernandes *et al.*, 2001) associée au séquençage du gène *Gpi* (Glucose phosphate isomérase, Broutin *et al.*, 2006) a permis de préciser les DTUs (Discrete Typing Units) de *T. cruzi* infectant les triatomes. De plus, l'analyse du polymorphisme de zones microsatellites chez les populations de *T. infestans* et de *T. cruzi* a été réalisée pour évaluer les flux génétiques et la structure des populations de vecteurs et de parasites entre les milieux sylvestre et domestique.

3. Résultats

3. 1. Distribution géographique des populations sauvages de *T. infestans* en Bolivie

Au cours de la recherche systématisée de foyers sauvages dans 7 écorégions (protocole TiBoEco, 2719 pièges posés), 10 nouveaux sites avec *T. infestans*, répartis principalement dans trois écorégions, (PP, 33,3% des sites positifs, BSIA, 36% et GC, 40%) ont été identifiés (publications portant sur des nouveaux foyers des BSIA (Buitrago *et al.* 2010) et du GC (Waleckx *et al.* in press)), montrant une distribution plutôt discontinue des populations sauvages (absence de capture dans la région andine intermédiaire (écorégions du CS et du BTB) entre la PP-BSIA et le GC, exception faite de la capture d'un exemplaire adulte de *T. infestans* dans le BTB. La découverte de 34 sites supplémentaires par recherche dirigée (6042 pièges posés) a confirmé ce résultat. Les données ont clairement montré que les colonies naturelles de *T. infestans* sont plus grandes et plus fréquentes dans les BSIA que dans le GC, où elles sont rares et où très peu de spécimens (1 ou 2) ont généralement été capturés sur un même piège.

Au cours des différentes explorations, d'autres espèces de triatomes ont été capturées : deux du complexe *Triatoma sordida* (*Triatoma sordida* et *Triatoma guasayana*) dans 4 écorégions (GC, 66,6% des sites positifs ; CS, 33,3% ; BSIA, 15,9% ; BTB, 11,1%), deux autres espèces non encore décrites en Bolivie, *Triatoma breyeri* (dans un site de l'écorégion des BSIA qui présente aussi des caractéristique de l'écorégion du CS) et *Triatoma costalimai* (dans un site du BSC), et *Rhodnius sp.* (dans deux sites du BSC).

3. 2. Ecologie des populations sauvages de *T. infestans*

Habitat - Les recherches ont permis de montrer que dans les écorégions de la PP et des BSIA *T. infestans* ne vit pas seulement dans les affleurements rocheux (habitat rupicole) mais aussi dans d'autres écotopes comme les champs de figues de Barbarie, les champs d'épineux et les falaises sédimentaires. En revanche, nos données confirment que l'habitat des *T. infestans* sauvages capturés dans le GC est arboricole, comme observé antérieurement (Noireau *et al.*, 1997), puisque tous les spécimens de *T. infestans* ont été capturés dans des trous d'arbre.

Dynamique des populations et mobilité - Le suivi entomologique durant un an, par la méthode de capture-marquage-recapture, d'une cinquantaine de sites distribués dans un champ semi-anthropisé (Mecapaca, vallée de La Paz, BSIA), a montré la stabilité temporelle de la population locale de *T. infestans*, sa distribution discontinue dans l'espace et le déplacement notable de nymphes et d'adultes sur une période de plusieurs mois.

Sources alimentaires - La méthode moléculaire d'analyse de l'origine des repas sanguins des triatomes a permis d'identifier dans les BSIA et la PP deux hôtes nourriciers majeurs de *T. infestans*: *Octodontomys gliroides* (petit rongeur natif des Andes qui représente 46,4% des hôtes identifiés) et *Galea musteloides* (sorte de petit cobaye, 25,8%). De façon inattendue des repas pris sur homme ont été détectés chez plusieurs spécimens (10,3%). Ceci suggère deux phénomènes possibles : (i) le mouvement d'insectes de l'habitat humain vers le milieu sylvestre après leur repas sanguin, (ii) l'exposition de l'homme à la piqûre des triatomes dans l'environnement extérieur où il développe ses activités. Neuf autres sources alimentaires ont été identifiées (17,5%), 4 petits rongeurs, deux animaux domestiques (l'âne et le chat), un oiseau et un reptile.

Infection par *T. cruzi* - Dans les nouveaux foyers sauvages détectés dans 2 vallées andines du département de La Paz au nord de l'écorégion des BSIA, les taux moyens d'infection des *T. infestans*, évalués par microscopie, ont été de 44,1% et 59,5% dans chaque vallée. Dans les départements de Cochabamba et Potosi (BSIA et PP), les taux d'infection ont aussi été élevés (31,9% et 16,6% respectivement). Dans l'écorégion du GC, beaucoup moins d'exemplaires de *T. infestans* ont été capturés et les conditions de transport ont généralement obligé à conserver sur place les insectes en alcool. Cependant, quelques données tendent à montrer que les taux d'infection sont moins élevés que dans les écorégions des BSIA et de la PP : de 23 spécimens, dont les fèces ont été examinés par microscopie, aucun n'a été positif mais 2 /17 (11,7%) l'ont été par la méthode de PCR multiplex.

Susceptibilité naturelle aux insecticides – Une première publication (Roca Acevedo *et al.*, 2011) a montré une moindre susceptibilité à la deltaméthrine et au fipronil de 3 populations sauvages de *T. infestans*. De nouveaux résultats sur 9 autres colonies ont permis de détecter une colonie résistante à la deltaméthrine et deux autres de moindre susceptibilité que la souche sensible argentine de référence.

3.3. Etude des aires partagées (milieu sylvestre, péri-domestique et domestique): Rancho Nuevo, San Silvestre, Quillacollo, Sapini et Thago Thago

Environnements et distribution des triatomes sauvages – Dans l'écorégion du GC, des spécimens de *T. infestans* (type « dark morph ») ont été capturés seulement dans les environs de San Silvestre mais non de Rancho Nuevo, au cours de la troisième exploration faite à 4 km du village (11,1% des pièges positifs, 6 *T. infestans*, 0,08/piège positif) et le taux d'infection de ces triatomes n'a pas pu être déterminé. Dans l'écorégion des BSIA, l'environnement proche des habitations (50 m à 500 m) est extrêmement infesté par *T. infestans* : à Quillacollo 29,6% des pièges ont été positifs (702 *T. infestans*, 2,1 triatomes / piège positif), à Sapini 20,2% (216 *T. infestans*, 2,4 triatomes / piège

positif), et à Thago Thago 16,8% (318 *T. infestans*, 2,5 triatomes / piège positif). Par ailleurs le taux d'infection des insectes sauvages par *T. cruzi* est très élevé de 40,7% à Quillacollo, 88,5% (Sapini) et intermédiaire à Thago Thago.

Cinétique de ré-infestation - Dans les deux villages du GC dès décembre 2007 jusqu'au mois de janvier 2011, le suivi entomologique (recherche active des triatomes dans les villages), suite à la fumigation de toutes les maisons, a montré que la ré-infestation a atteint des taux très importants tout au long du suivi même si à chaque contrôle, les habitations positives étaient de nouveau traitées. En janvier 2011, 37 mois post-traitement insecticide, le taux de ré-infestation intra-domiciliaire s'est avéré le plus élevé (37,6%) à Rancho Nuevo. A San Silvestre la ré-infestation a été néanmoins persistante (16,6%). Par ailleurs, les taux d'infection des triatomes avant la fumigation ont atteint 28,6% à Rancho Nuevo et 5,3% à San Silvestre (PCR multiplex) et n'ont pas baissé au cours des contrôles. La ré-infestation de ces populations ne peut être expliquée par les populations sauvages environnantes car elles sont extrêmement rares, mais cette situation peut avoir deux causes majeures, celle d'une couverture insecticide incomplète dans les deux villages au cours des contrôles car le nombre d'habitations non surveillées reste important (maisons fermées), celle du développement d'une résistance aux insecticides car nous avons montré que les colonies de *T. infestans* issues des deux villages présentaient des niveaux significatifs de résistance à la deltaméthrine.

Dans la zone péri-urbaine de Quillacollo (BSIA), en septembre 2009, février et juin 2010, des enquêtes entomologiques ont été menées dans 176 maisons choisies au début de l'étude. Durant la période, aucun traitement insecticide n'a été appliqué par les autorités locales car elles manquaient de personnel. Les triatomes ont été exclusivement trouvés en péri-domicile (infestation = 14,7%) et leur taux d'infection a été faible (2,2% chiffre moyen sur les trois enquêtes après examen au microscope des fèces). Dès septembre 2009 et durant 9 mois, il a été demandé aux habitants de collecter les triatomes qu'ils voyaient ; ils ont alors capturé des spécimens de *T. infestans* à l'intérieur de leur maison (infestation intra-domiciliaire, 15/176 = 8,5%) mais aucun n'a été porteur de parasite (examen au microscope). Les deux colonies de *T. infestans* issues d'insectes capturés en péri-domicile ont été sensibles à la deltaméthrine.

Les deux autres aires partagées sont rurales et située à 2000 m d'altitude dans l'écorégion des BSIA. A Sapini (Dépt. de La Paz) une seule visite des habitations (N = 27) a été faite en octobre 2010. Nos résultats ont confirmé les données communiquées par les autorités sanitaires (suivi entomologique de 2000 à 2010) et montré une persistance de la ré-infestation des péri-domiciles (infestation péri-et intra-domiciliaire de 30%) et une pénétration occasionnelle à l'intérieur des maisons malgré les traitements insecticides régulièrement appliqués par les autorités. Le taux d'infection des triatomes que nous avons capturés a été de 25% (examen au microscope). A Thago Thago (Dépt. de Potosi), le suivi entomologique des habitations assuré de septembre 2010 à avril 2011 par les recherches actives et la vigilance des habitants, a aussi démontré une situation analogue de persistance de la ré-infestation péri- et intra-domiciliaire avec des taux d'infestation comparables. Malheureusement les tests insecticides n'ont pas pu être appliqués aux populations domestiques des deux villages.

3. 4. Génétique des populations de vecteurs, évolution et épidémiologie

Phylogéographie de *T. infestans* - L'étude phylogéographique des populations de *T. infestans* sauvages (séquençage des gènes ITS-2 et CytB), révèle une origine andine possible de l'espèce mais plutôt dans l'écorégion du « Chaco Serrano » (CS) intermédiaire entre les écorégions de la PP-BSIA et

GC que dans celle des BSIA (Waleckx et al. 2011) comme suggéré antérieurement ; cependant, les foyers sauvages semblent très rare dans cette écorégion.

Phénomène de domestication – L’observation d’haplotypes communs (CytB) dans les milieux sylvestre et domestique dans les BSIA et le GC (Waleckx et al. 2011 ; Quisberth et al. 2011) a suggéré que les évènements de domestication de l’espèce sont multiples et non issus d’un évènement unique dans les hautes vallées de Cochabamba comme proposé précédemment.

Origine des ré-infestations - Les ré-infestants observés dans les deux villages des aires partagées du GC (Rancho Nuevo et San Silvestre), seraient issus de populations résiduelles (analyse des séquences ITS-2 et CytB). De plus, une forte structuration des populations de *T. infestans* entre les villages a été observée même s’il n’existe pas de barrière géographique. Par ailleurs, ces populations dérivent de populations originaires du GC et de population andines sans doute apportées accidentellement par l’homme lors de mouvements migratoires.

Dans les 3 autres aires partagées sélectionnées de l’écorégion des BSIA (Quillacollo, Sapini et Thago Thago) les flux de gènes entre les populations capturées dans l’espace sylvestre et celles capturées en milieux péri-domestique et domestique ont été analysés à l’aide de 8 marqueurs microsatellites. Dans chaque aire plusieurs populations ont été prises en compte en fonction de critères de proximité et un total de 21 populations a été analysé. A Quillacollo les données ont mis en évidence une forte structuration des populations de *T. infestans* entre milieux sylvestre et péri-domestique avec cependant quelques individus migrants du premier vers le second. A Sapini les données ont montré une absence de différenciation entre les deux milieux, ce qui suggère que les insectes capturés en peri-domicile soient issus du proche environnement. A Thago Thago il s’agit d’une situation différente avec une certaine structuration entre les deux milieux et une migration modérée d’individus entre eux.

3. 5. Typification et génétique des populations de *T. cruzi* chez *T. infestans*

Identification des DTUs - La méthode MMPP de typification rapide et directe de *T. cruzi* dans le tube digestif des triatomes (sans isolement de souches) associée au séquençage du gène de la *Gpi*, appliquée à l’identification des DTUs (6 décrites chez *T. cruzi* : TcI à TcVI), a permis de déterminer que les *T. infestans* sauvages de l’écorégion des BSIA sont majoritairement infectés par TcI (99,1%) et marginalement par TcIII (0,9%), mais peu de données ont pu être obtenues dans les autres écorégions chez les *T. infestans* sauvages : 7 TcI dans la PP, 1 TcIII dans le CS, 1 TcI et 1 TcII dans le GC (publication soumise, Brenière *et al.*, Plos Neglected Tropical Diseases). En revanche, les *T. infestans* domestiques collectés avant et après traitement insecticide dans les deux villages du GC hébergeaient 5 des 6 DTUs. Les DTUs infectants les *T. infestans* domestiques des BSIA et le la PP sont en cours de détermination.

Génétique des populations - Une première analyse de génétique des populations (Barnabé *et al.*, 2011) basée sur le polymorphisme des microsatellites (8 loci) de souches boliviennes et péruviennes majoritairement domestiques et isolées antérieurement, a montré l’intérêt de ce marqueur pour explorer la variabilité génétique intra DTU et a permis d’apporter des informations sur le mode de reproduction (clonal versus par recombinaison). L’analyse récente de 6 populations potentiellement panmictiques (collectées sur de petites surfaces) et correspondant à 79 isolats TcI extraits de *T. infestans* sauvages n’a pas permis de rejeter l’hypothèse de panmixie chez ces populations et pose l’hypothèse d’une reproduction sexuée de *T. cruzi* en milieu sylvestre. Par ailleurs, il existe souvent

une différenciation génétique forte entre ces populations de parasites même si celles des *T. infestans* les hébergeant sont géographiquement peu éloignées.

4. Conclusion

Le projet a mis en évidence la très large distribution des *T. infestans* sauvages en Bolivie, surtout dans les Andes (écorégions des Bosques Secos Interandinos (BSIA) et de la Prepuna (PP)) et le Gran Chaco (GC), où les populations du vecteur, souvent situées à proximité des villages, doivent être considérées comme représentant un risque pour la santé publique. Ce résultat va dans le sens de ce qui est observé au Chili, en Argentine et au Paraguay, où de nouveaux foyers de *T. infestans* sauvages ont récemment été découverts mais dont le rôle épidémiologique est encore peu documenté (Bacigalupo *et al.*, 2006; Ceballos *et al.*, 2009; Rolón *et al.*, 2011).

Les enquêtes entomologiques réalisées par le projet et la vigilance assurée par les habitants dans les cinq aires partagées (3 en BSIA et 2 en GC), comprenant chacune les habitations humaines (domicile et péri-domicile), et l'environnement sylvestre proche, ont permis de mettre en évidence la persistance de la ré-infestation de l'habitat humain. Les analyses de génétique des populations montrent que dans les Andes les populations sauvages se déplacent vers l'habitat et sont à l'origine de la ré-infestation, tandis que dans le Gran Chaco, où les populations sauvages sont peu abondantes, la ré-infestation est due à des populations domestiques résiduelles, liées à la fois à une couverture insecticide incomplète lors des campagnes de lutte et à une résistance des insectes à la deltaméthrine. Par ailleurs, ces analyses ont permis de proposer des arguments en faveur (i) d'une nouvelle aire d'origine (Chaco Serrano) de *T. infestans*, et (ii) d'une domestication ubiquiste de l'espèce.

La recherche de *T. cruzi* dans le tube digestif des triatomes récoltés et les analyses de génétique des populations parasitaires ont mis en évidence un taux d'infection très élevé des populations sauvages andines de *T. infestans*, par la DTU TcI et marginalement par TcIII, ainsi que des populations domestiques ré-infestantes dans le Chaco, par 5 des 6 DTU décrites. Le fait marquant concernant les populations du parasite est le résultat des analyses du polymorphisme microsatellite de populations sauvages chez lesquelles on ne peut rejeter l'hypothèse de panmixie ce qui suggère très fortement l'intervention de la recombinaison dans la reproduction de ces parasites.

Qu'il s'agisse de la large distribution des foyers sauvages de *T. infestans* découverts en particulier dans les Andes, de la ré-infestation de l'habitat humain par le vecteur à partir de l'environnement naturel proche, ou du fort taux d'infection de ces triatomes par *T. cruzi*, nos résultats montrent clairement que les populations sauvages de *T. infestans* sont désormais à prendre en considération dans le contrôle de la maladie de Chagas, en Bolivie comme dans les autres pays du cône Sud où ce vecteur est le principal responsable de la transmission parasitaire. En conséquence, en complément des articles déjà publiés en anglais dans des revues internationales et de ceux en cours de rédaction, il est prévu la diffusion d'un rapport scientifique de fin de projet en espagnol, destiné aux autorités sanitaires boliviennes (Ministère de la Santé, Programme National Chagas, Services Départementaux de Santé concernés) et aux partenaires nationaux du projet (INLASA, IIBISMED), ainsi qu'aux acteurs régionaux impliqués dans la recherche sur la trypanosomiase américaine et son contrôle (Argentine, Chili, Paraguay).

5. Références

- Bacigalupo, A., Torres-Perez, F., Segovia, V., Garcia, A., Correa, J.P., Moreno, L., Arroyo, P., Cattán, P.E., 2006. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 105, 633-641.
- Bargues, M.D., Klisiowicz, D.R., Panzera, F., Noireau, F., Marcilla, A., Perez, R., Rojas, M.G., O'Connor, J.E., Gonzalez-Candelas, F., Galvao, C., Jurberg, J., Carcavallo, R.U., Dujardin, J.P., Mas-Coma, S., 2006. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. *Infect Genet Evol* 6, 46-62.
- Broutin, H., Tarrieu, F., Tibayrenc, M., Oury, B., Barnabé, C., 2006. Phylogenetic analysis of the glucose-6-phosphate isomerase gene in *Trypanosoma cruzi*. *Exp Parasitol* 113, 1-7.
- Ceballos, L.A., Piccinalli, R.V., Berkunsky, I., Kitron, U., Gurtler, R.E., 2009. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J Med Entomol* 46, 1195-1202.
- Cortez, M.R., Monteiro, F.A., Noireau, F., 2010. New insights on the spread of *Triatoma infestans* from Bolivia--implications for Chagas disease emergence in the southern cone. *Infect Genet Evol* 10, 350-353.
- Dujardin, J.P., Tibayrenc, M., Venegas, E., Maldonado, L., Desjeux, P., Ayala, F.J., 1987. Isozyme evidence of lack of speciation between wild and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J Med Entomol* 24, 40-45.
- Fernandes, O., Santos, S.S., Cupolillo, E., Mendonca, B., Derre, R., Junqueira, A.C., Santos, L.C., Sturm, N.R., Naiff, R.D., Barret, T.V., Campbell, D.A., Coura, J.R., 2001. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95, 97-99.
- Hotez, P.J., Bottazzi, M.E., Franco-Paredes, C., Ault, S.K., Periago, M.R., 2008. The neglected tropical diseases of latin america and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Neg Trop Dis* 2, e300.
- Ibisch, P.L., Beck, S.G., Gerckmann, B., Carretero, A., 2008. La Diversidad biológica, in: (eds. Ibisch PL, Mérida G), Biodiversidad: la riqueza de Bolivia. Estado de conocimiento y conservación. FAN Bolivia, Santa Cruz de la Sierra, pp. 47-51.
- Lardeux, F., Depickere, S., Duchon, S., Chavez, T., 2010. Insecticide resistance of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. *T Med Int Health*. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20545921.
- Lyman, D.E., Monteiro, F.A., Escalante, A.A., Cordon-Rosales, C., Wesson, D.M., Dujardin, J.P., Beard, C.B., 1999. Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. *A J Trop Med Hyg* 60, 377-386.
- Marcilla, A., Bargues, M.D., Ramsey, J.M., Magallon-Gastelum, E., Salazar-Schettino, P.M., Abad-Franch, F., Dujardin, J.P., Schofield, C.J., Mas-Coma, S., 2001. The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera : Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Mol Phyl Evol* 18, 136-142.
- Moncayo, A., Silveira, A.C., 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 Suppl 1, 17-30.
- Noireau, F., 2009. Wild *Triatoma infestans*, a potential threat that needs to be monitored. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 Suppl 1, 60-64.
- Noireau, F., Abad-Franch, F., Valente, S.A., Dias-Lima, A., Lopes, C.M., Cunha, V., Valente, V.C., Palomeque, F.S., de Carvalho-Pinto, C.J., Sherlock, I., Aguilar, M., Steindel, M., Grisard, E.C., Jurberg, J., 2002. Trapping Triatominae in silvatic habitats. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97, 61-63.
- Noireau, F., Cortez, M.G., Monteiro, F.A., Jansen, A.M., Torrico, F., 2005. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? *Trends Parasitol* 21, 7-10.
- Noireau, F., Flores, R., Gutierrez, T., Abad-Franch, F., Flores, E., Vargas, F., 2000. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94, 23-27.
- Noireau, F., Flores, R., Gutierrez, T., Dujardin, J.P., 1997. Detection of sylvatic dark morphs of *Triatoma infestans* in the Bolivian Chaco. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92, 583-584.
- Panzera, F., Dujardin, J.P., Nicolini, P., Caraccio, M.N., Rose, V., Tellez, T., Bermudez, H., Bargues, M.D., Mas-Coma, S., O'Connor, J.E., Perez, R., 2004. Genomic changes of Chagas disease vector, South America. *Emerg Infect Dis* 10, 438-446.
- Piccolo, M.I., Vassena, C., Santo Orihuela, P., Barrios, S., Zaidemberg, M., Zerba, E., 2005. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. *J Med Entomol* 42, 637-642.

- Rolón, M., Vega, M.C., Román, F., Gómez, A., Rojas de Arias, A., 2011. First Report of Colonies of Sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, Using a Trained Dog. *PLoS Negl Trop Dis*. 5, e1026.
- Schmunis, G.A., Yadon, Z.E., 2010. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop* 115, 14-21.
- Schofield, C.J., 1988. Parasitology Today readership survey. *Parasitology today* (Personal ed 4, 153-155).
- Torrico, R.A., 1946. Hallazgo de *Eratyrus mucronatus*, infestación natural de "vinchucas" de cerro y *Eutriatoma sordida* en Cochabamba. *An Lab Central Cochabamba* 1, 19-23.
- WHO, 2007. World Health Organization Global health atlas. Available: <http://www.who.int/globalatlas/>. Accessed 2 March 2008.

6. Publications issues du projet

1. Noireau F, **2009**. Wild *Triatoma infestans*, a potential threat that needs to be monitored. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. Jul;104 Suppl 1:60-4.
2. Buitrago R, Waleckx E, Bosseno MF, Zoveda F, Vidaurre P, Salas R, Mamani E, Noireau F, Brenière SF, **2010**. First report of widespread wild populations of *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the valleys of La Paz, Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 82(4): 574-9.
3. Waleckx E, Salas R, Huaman N, Buitrago R, Bosseno MF, Aliaga C, Barnabé C, Rodriguez R, Zoveda F, Monje M, Baune M, Quisberth S, Villena E, Kengne P, Noireau F, Breniere, SF, **2011**. New insights on the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) brought by the genetic analysis of Bolivian sylvatic populations. *Infect Genet Evol* 11: 1045-1057
4. Quisberth S, Waleckx E, Monje M, Chang B, Noireau F, Brenière SF, **2011**. "Andean" and "non-Andean" ITS-2 and mtCytB haplotypes of *Triatoma infestans* are observed in the Gran Chaco (Bolivia): Population genetics and the origin of reinfestation. *Infect Genet Evol* 11(5):1006-14
5. Aliaga C, Brenière SF, Barnabé C, **2011**. Further interest of miniexon multiplex PCR for a rapid typing of *Trypanosoma cruzi* DTU groups. *Infect Genet Evol* 11: 1155-1158
6. Barnabé C, De Meeus T, Noireau F, Bosseno MF, Monje EM, Renaud F, Brenière SF, **2011**. *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (DTUs): Microsatellite loci and population genetics of DTUs TcV and TcI in Bolivia and Peru. *Infect Genet Evol* 11: 1752-1760.
7. Ryelandt J, Noireau F, Lazzari CR, **2011**. A multimodal bait for trapping blood-sucking arthropods. *Acta Trop* 117(2): 131-6.
8. Roca Acevedo G, Cueto GM, Germano M, Orihuela PS, Cortez MR, Noireau F, Picollo MI, Vassena C, **2011**. Susceptibility of sylvatic *Triatoma infestans* from Andean valleys of Bolivia to deltamethrin and fipronil. *J Med Entomol* 48 (4): 828-35.
9. Buitrago R, Depickère S, Bosseno MF, Patzi ES, Waleckx E, Salas R, Aliaga C, Brenière SF, **2012**. Combination of cytochrome b heteroduplex-assay and sequencing for identification of triatomine blood meals. *Infect Genet Evol* 12(1): 21-7.
10. Waleckx E, Depickère S, Salas R, Aliaga C, Monje M, Calle H, Buitrago R, Noireau F, and Brenière SF. New Discoveries of Sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae) throughout the Bolivian Chaco. *Am J Trop Med Hyg*, **In press**.