

ETUDES ISOENZYMATIQUES DU VECTEUR PRINCIPAL
DE LA MALADIE DE CHAGAS : *TRITOMA INFESTANS*
(HEMIPTERA : REDUVIIDAE)

par

J. P. DUJARDIN¹ & M. TIBAYRENC²

¹Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold,
Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique

²IBBA-ORSTOM, c/o Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia

Résumé — Les vecteurs les plus importants de la maladie de Chagas sont *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* et *T. dimidiata*. Notre travail concerne *T. infestans*, qui est pratiquement le seul vecteur domiciliaire en Bolivie.

Sur des territoires d'Amérique du Sud où *T. infestans* est le seul vecteur, on rencontre non seulement différentes formes cliniques de la maladie de Chagas, mais aussi différentes souches isoenzymatiques (zymodèmes) du parasite, *Trypanosoma cruzi*. Il est donc indiqué d'étudier les populations locales du vecteur, afin de tester une corrélation entre leur éventuel polymorphisme et celui du parasite ou de la maladie. En outre, s'il existe des différences de comportement, et il en existe entre certaines populations de *T. infestans*, il faut s'assurer que ces populations appartiennent bien à la même espèce (problème des espèces jumelles).

Dans le cas de *T. infestans*, ni la biosystématique (Usinger, Wygodzinsky and Ryckman, 1966) ni la cytogénétique (Ueshima, 1966) n'ont permis de déceler une spéciation insoupçonnée, ou tout au moins un polymorphisme infraspécifique des populations. L'étude par électrophorèse des isoenzymes a donc été choisie.

Cette étude a porté sur onze enzymes; nos expériences de croisement ont pu établir que ces enzymes correspondent à 19 locus. Les résultats apportés par leur étude en Bolivie et au Pérou (Arequipa) sont les suivants :

1. *Tendance au monomorphisme* : davantage au Pérou qu'en Bolivie, les génotypes individuels se ressemblent (la proportion de locus variables va de 0 à 0,15). Cela constitue une exception parmi les insectes en général, et peut signifier une extension territoriale récente de *T. infestans*. A ce titre, le territoire péruvien a probablement été envahi par *T. infestans* plus récemment que le territoire bolivien.

2. *Différences de fréquences géniques entre les populations locales de T. infestans* : l'électrophorèse des isoenzymes est donc en mesure de détecter un polymorphisme infraspécifique des populations locales à *T. infestans*. Ces variations permettront de tester des corrélations avec divers paramètres épidémiologiques; elles ne signifient pas cependant une spéciation, mais reflètent à la fois les différences climatiques entre les régions (l'altitude varie de 800 à 3.000 m) et le faible pouvoir migrateur de *T. infestans*.

3. *Aucune espèce jumelle n'est mise en évidence sur les territoires étudiés* : en particulier, les populations sauvages et domestiques des *T. infestans* de la région de Cochabamba appartiennent probablement à la même espèce.

KEYWORDS : Chagas' Disease; *Triatoma infestans*; Isoenzymes; Bolivia; Peru.

Introduction

Les techniques qui permettent une meilleure connaissance d'un insecte impliquent généralement l'étude de son génome, que ce soit de façon directe (séquençage de l'ADN), ou indirecte (séquençage des protéines, électrophorèse, cytogénétique ou biosystématique).

L'électrophorèse des isoenzymes permet une approche de la variabilité génétique d'un organisme.

30 JAN. 1996

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 43764

Cote : B ex 1.

Cette méthode est relativement aisée et peu coûteuse; son intérêt en épidémiologie des vecteurs est multiple : dépistage d'espèces jumelles en sympatrie, étude des génotypes éventuellement résistants aux insecticides, étude de l'interrelation hôte-parasite (en l'occurrence, *T. infestans*-*T. cruzi*). D'une manière générale, cette méthode peut apporter des informations dans tout ce qui touche à la biologie du vecteur (démonstration de la possibilité de fécondations multiples d'une même femelle par exemple).

Enfin, l'électrophorèse des isoenzymes apporte une contribution non négligeable à l'étude de l'Evolution, en particulier au problème des mécanismes de la spéciation.

Résultats

I. Génétique formelle

Onze enzymes ont été étudiées. Les études de croisement révèlent que ces enzymes sont sous la commande d'au moins 19 locus, tous monomorphes sauf 3 :

- la phosphoglucomutase (PGM, 2.7.5.1.), diallélique;
- la 6 phosphogluconate déshydrogénase (6PGDH, 1.1.1.44), diallélique;
- l'alpha-glycér phosphate déshydrogénase (α GDH, 1.1.1.8), également diallélique.

Trois locus variables sur 19 représentent une variabilité génétique faible comparée à celle des arthropodes étudiés par les techniques similaires : chez *T. infestans*, le taux de polymorphisme est de 15,7 p. cent. Cette valeur trois fois plus basse que la valeur moyenne (\pm 50 p. cent) suggère que l'expansion territoriale de ce vecteur en Amérique du Sud a pu se produire à une date récente à partir d'une population de petite taille (effet fondateur).

Génétique des populations

En Bolivie, l'hétérozygotie moyenne (observée, et théorique) de *T. infestans* est de 0,04. Cette valeur est quatre fois plus basse que la valeur moyenne chez les arthropodes (0,15) et suggère également un effet fondateur.

1) Comparaison de régions en Bolivie

Chaque population géographique présente des fréquences alléliques particulières. Ces différences entre régions sont probablement le reflet des obstacles géographiques qu'il y a entre elles (allopatrie), et ne suggèrent aucune spéciation.

2) Comparaison Bolivie - Pérou (Arequipa)

Ces deux régions, séparées par une barrière géographique importante (Altiplano et Cordillère), présentent des différences génétiques encore plus importantes. Toutefois, elles sont compatibles avec celles qui séparent des populations locales d'une même espèce.

Au Pérou, les deux indices de variabilité génétique chez *T. infestans* sont une hétérozygotie moyenne observée de 0,015 et un taux de polymorphisme de 0,05. Ces valeurs semblent nettement plus basses que celles des populations de Bolivie, et suggèrent que la population des *T. infestans* est plus récente au Pérou qu'en Bolivie.

3) *Cochabamba (Bolivie) : comparaison isoenzymatique des populations sauvage et domestique de T. infestans (en collaboration avec E. Venegas et L. Maldonado, Universidad Mayor de San Simon, Cochabamba)*

Nous avons pu confirmer l'existence, dans la région de Cochabamba, de *T. infestans* se nourrissant sur des rongeurs sauvages (*Cavia* spp.) et se reproduisant dans leurs terriers.

La comparaison des populations sauvages et domestiques sur 19 loci n'a pas permis de mettre en évidence de « locus-diagnostic » entre elles. Ceci est une forte présomption pour une absence de spéciation, mais pas une preuve. L'absence d'équilibre de Hardy-Weinberg pour les populations sauvages et domestiques considérées ensemble traduit une certaine endogamie pour chaque population.

Conclusion

L'absence d'espèces jumelles dans le territoire bolivien est notre hypothèse actuelle, et s'explique, malgré la grande diversité des habitats, par la colonisation récente du territoire bolivien par *T. infestans*.

C'est la faible variabilité isoenzymatique des populations de *T. infestans* en Bolivie qui suggère son extension récente sur ce grand territoire. Il serait intéressant de voir comment évolue cette variabilité pour les mêmes locus dans les pays voisins : la question de l'origine géographique des *T. infestans* pourrait ainsi recevoir un éclairage nouveau (notre travail suggère par exemple que les populations du Pérou sont plus récentes que celles de Bolivie).

Les différences génétiques rencontrées entre les différentes localités étudiées ne suggèrent pas des phénomènes de spéciation, mais reflètent à la fois les différences climatiques des régions, le faible pouvoir de migration de *T. infestans*, et l'effet de la dérive génique.

A Cochabamba, la population sauvage de *T. infestans*, inféodée aux rongeurs sauvages (*Cavia* sp.), n'est probablement pas une espèce jumelle. Elle pourrait être un écotype conquis récemment par la population domestique de Cochabamba. L'hypothèse inverse selon laquelle cette population sauvage est un reliquat de la population originelle des *T. infestans* reste cependant plausible.

Isoenzymes study of the principal vector of Chagas' disease : *Triatoma infestans* (Hemiptera : Reduviidae).

Summary — The most important vectors of Chagas' disease are *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* and *T. dimidiata*. Our work concerns *T. infestans*, the main « residential » vector in Bolivia.

In South American (and Bolivian) areas where *T. infestans* is the unique vector, different clinical forms of the disease and different zymodemes of its parasite, *Trypanosoma cruzi*, are found. It thus seems worthwhile to study the local populations of this vector, in order to verify a correlation between their possible polymorphism and that of *T. cruzi*, or else that

of the clinical aspect of the disease. Furthermore, if there is a difference in some populations' behavior, and such differences do occur, it is necessary to ascertain whether these populations belong to the same species (sibling species problem).

In the case of *T. infestans*, neither biosystematics (Usinger, Wygodzinski and Ryckman, 1966) nor cytogenetics (Ueshima, 1966) succeeded in detecting an unknown speciation or at least an infraspecific polymorphism. We tested eleven enzymes by isoenzymes electrophoresis method. Crossing experiments showed that these enzymes are controlled by 19 genes. Their study in Bolivia and Peru gave the following results :

1. *Trend to monomorphism* : the genotypes of the *T. infestans* individuals are often similar. In some areas there is no variability; when it occurs, it is very poor (below 15). This is an exception in insects, and perhaps points to a recent geographical extension of this species. Hence, the Peruvian population should be more recent than the Bolivian, where more variability occurs.

2. *Differences in gene frequencies between local populations of T. infestans* : the isoenzymes electrophoresis is able to detect an infraspecific polymorphism. However, these differences do not mean any speciation. They exist because of the drastic climatical differences (altitudes from 800 to 3.000 metres) and the low flying power to *T. infestans*. These differences will allow to test correlations with various epidemiological features.

3. *No sibling species has been found in the investigated areas* : Particularly the wild and domestic populations of *T. infestans* from the Cochabamba region probably belong to the same species.

Estudios sobre las isoenzimas del vector principal de la enfermedad de Chagas : *Triatoma infestans* (Hemiptera : Reduviidae).

Resumen — Los vectores mas importantes de la enfermedad de Chagas son *T. infestans*, *R. prolixus* y *T. dimidiata*. Nuestro trabajo es concerniente al *T. infestans*, el cual es practicamente el unico vector domiciliario en Bolivia.

Sobre los territorios de America del Sur (y de Bolivia) donde *T. infestans* es el unico vector, se encuentran so solamente diferentes aspectos clinicos de la enfermedad de Chagas, si no tambien diferentes cepas del parasito, *Trypanosoma cruzi*. Por esta razon, es interesante estudiar las poblaciones locales del vector, con el fin de probar una corelacion entre su eventual polimorfismo y el polimorfismo del parasito o de la enfermedad. Ademas, si existen diferencias de comportamiento, y tales diferencias existen, entre ciertas poblaciones de *T. infestans*, hay que investigar si esas poblaciones son de la misma especie (problema de las especies gemelas).

En el caso de *T. infestans*, ni la biosistemática (Usinger, Wygodzinsky and Ryckman, 1966) ni la citogenética (Ueshima, 1966), han podido detectar una especiación insupcionada, o por lo menos un polimorfismo infraespecifico. Hemos eligido la electroforesis de las isoenzimas, y hemos analizado once enzimas. Los estudios de cruzamiento pudieron establecer que a las once enzimas corresponden 19 locus. Los resultados de estudios de esos 19 locus en Bolivia y Peru son los siguientes :

1. *Tendencia al monomorfismo* : sobre el territorio Boliviano, y sobretodo en el Peru, los genotipos de *T. infestans* varian muy poco de un individuo a otro (el percentage de locus variables es de 0 a 15). Lo cual significa una excepcion (en los insectos en general), y se puede explicar por una invasion bastante reciente en los territorios de Bolivia y Peru, por *T. infestans*. En este sentido, probablemente Peru fue invadido por *T. infestans* mas recientemente que Bolivia.

2. *Diferencias de frecuencias alélicas entre las poblaciones locales de T. infestans* : la electroforesis de las isoenzimas logra detectar un polimorfismo de las poblaciones de la misma especie *T. infestans*. Esas diferencias van a permitir probar corelaciones con varios parametros epidemiologicos, pero no representan una especiación. Mas bien reflejan las diferencias climaticas entre las regiones, y el poder limitado de *T. infestans* para migrar.

3. *Ninguna especie gemela fue descubierta en Bolivia o Peru* : en particular, las poblaciones salvages y domesticas de los *T. infestans* de Cochabamba pertenecen probablemente a la misma especie.

REFERENCES

- Dujardin, J. P. & Tibayrenc, M. (1985) : Etude de 11 enzymes et données de génétique formelle pour 19 loci enzymatiques chez *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Ann. Soc. belge Méd. trop., sous presse.
- Dujardin, J. P., Tibayrenc, M., Venegas, E., Maldonado, L. & Desjeux, P. (1985) : An isoenzymic comparison between wild and domestic populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) : lack of evidence for speciation. Soumis pour publication.
- Dujardin, J. P. & Tibayrenc, M. (1985) : La définition biologique de l'espèce chez les *Triatominae*. Soumis pour publication.

- Lanham, S. M., Grendon, J. M., Miles, M. A., Pova, M. & Souza, A. A. de (1981) : A comparison of electrophoretic methods for isoenzyme characterization of Trypanosomatids. I : Standard stocks of *Trypanosoma cruzi* zymodemes from Northeast Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., **75** : 742-750.
- Kreutzer, R. D., Posey, F. T. & Brown, P. A. (1977) : A fast and sensitive procedure for identifying genetic variants of phosphoglucosylase in certain genera of mosquitoes. Mosq. News, **37** (3) : 407-409.
- Shaw, C. R. & Prasad, R. (1970) : Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. Biochemical Genetics, **4** : 297-320.
- Tibayrenc, M. (1980) : Note préliminaire sur les isoenzymes de *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae), vecteur majeur de la maladie de Chagas en Amérique Latine. Cah. O. R. S. T. O. M., sér. Ent. Méd. Parasitol., **18** : 71-73.
- Tibayrenc, M., Echalar, L. & Carlier, Y. (1981a) : Données de génétique formelle pour six loci enzymatiques chez *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Cah. O. R. S. T. O. M., sér. Ent. Méd. Parasitol., **19** : 121-123.
- Tibayrenc, M., Echalar, L. & Carlier, Y. (1981b) : Comparaison isoenzymatique de deux populations boliviennes (altitude et plaine) de *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Cah. O. R. S. T. O. M., sér. Ent. Méd. Parasitol., **19** : 125-127.
- Ueshima, N. (1966) : Cytotaxonomy of the *Triatominae* (Reduviidae : Hemiptera). Chromosoma (Berl.) **18** : 97-122.
- Usinger, R. L., Wygodzynsky, P. & Ryckman, R. (1966) : The biosystematics of *Triatominae*. Ann. Rev. Entomol. **11** : 309-330.