

## Dynamique temporelle des infestations naturelles des hétéroptères aquatiques par *Mycobacterium ulcerans* dans deux districts sanitaires à endémicité différente à l'ulcère de Buruli, au Sud de la Côte d'Ivoire

### [ Temporal dynamics of natural infestations of aquatic Heteroptera by *Mycobacterium ulcerans* in two health districts with different endemicity to Buruli ulcer, in southern Côte d'Ivoire ]

Allali Kouadio Bernard<sup>1</sup>, Konan Kouassi Lambert<sup>1</sup>, Coulibaly Zankoungo Ibrahima<sup>1</sup>, Dosso Mireille<sup>2</sup>, and N'Goran Kouakou Elézer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department Environnement et Santé, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département Bactériologie Virologie, UFR Sciences médicales, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 1106, Abidjan, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Laboratoire de Biologie et Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Buruli ulcer (BU) is a human infection caused by *Mycobacterium ulcerans*. This disease currently occurs in 33 countries with tropical, subtropical and temperate climates in the Americas, Asia, the Western Pacific and Africa. In Côte d'Ivoire, the endemic foci of BU are distributed in the central, central-western, western, south-western and north-eastern regions. Our study was to examine insects likely to carry *Mycobacterium ulcerans*. Aquatic Heteroptera were therefore collected from ponds and identified. They were then tested for *Mycobacterium ulcerans* by real-time PCR using a set of primers and probes targeting the IS2404 gene. Thirty-six (36) species of aquatic insects belonging to nine families and 21 genera have been identified. The Naucoridae family has the largest number of species (nine species) or 25%. Real-time PCR tests carried out on monospecific batches (345 batches) revealed 18 positive batches, i.e. 5.22%. Sokrogbo and Vieil Alkodj localities respectively recorded prevalences of 7.62 (16 positive lots out of 210 lots in total) and 1.48% (2 positive lots out of 135 in total). The improvement of our knowledge on the natural infestation of the Heteroptera studied as well as the human presence in the ponds of Vieil Alkodj and Sokrogbo allow us to better understand the risk of contracting Buruli ulcer.

**KEYWORDS:** Aquatic heteroptera, *Mycobacterium ulcerans*, Buruli ulcer, Côte d'Ivoire.

**RESUME:** L'Ulçère de Buruli (UB) est une infection humaine causée par *Mycobacterium ulcerans*. Cette maladie sévit à ce jour, dans 33 pays au climat tropical, subtropical et tempéré des Amériques, d'Asie, du Pacifique occidental et d'Afrique. En Côte d'Ivoire, les foyers endémiques de l'UB se répartissent dans les régions du centre, centre-ouest, de l'ouest, du sud-ouest et du nord-est. Notre étude consistait à examiner les insectes susceptibles de porter *Mycobacterium ulcerans*. Les hétéroptères aquatiques ont donc été récoltés dans des mares et identifiés. Ensuite ils ont été testés pour la recherche de *Mycobacterium ulcerans* par PCR en temps réelle en utilisant un jeu d'amorce et sonde ciblant le gène IS2404. Trente-six (36) espèces d'insectes aquatiques appartenant à neuf familles et 21 genres ont été identifiées. La famille des Naucoridae compte le plus grand nombre d'espèce (neuf espèces) soit 25%. Les tests PCR en temps réel réalisés à partir des lots monospécifiques (345 lots) a révélé 18 lots positifs soit 5,22%. La localité Sokrogbo et Vieil Alkodj ont enregistré respectivement des prévalences de 7,62 (16 lots positifs sur 210 lots au total) et 1,48% (2 lots positifs sur 135 au total). L'amélioration de nos connaissances sur l'infestation naturelle des hétéroptères étudiés ainsi que la présence humaine dans les mares de Vieil Alkodj et Sokrogbo permettent de mieux appréhender le risque de contracter l'ulcère de Buruli.

**MOTS-CLÉFS:** Hétéroptères aquatiques, *Mycobacterium ulcerans*, ulcère de Buruli, Cote d'Ivoire.

## 1 INTRODUCTION

L'Ulçère de Buruli (UB) est une infection épidermique chez les humaines. Elle est causée par la bactérie *Mycobacterium ulcerans* [1]. Cette maladie sévit à ce jour, dans 33 pays au climat tropical, subtropical et tempéré des Amériques, d'Asie, du Pacifique occidental et d'Afrique [2]. Cependant, la plus grande charge de morbidité est toujours présente dans les zones rurales à faible revenu d'Afrique de l'Ouest et du Centre, où 1 750 nouveaux cas ont été notifiés par l'OMS en 2017 [3]. En Côte d'Ivoire, les foyers endémiques de l'UB sont multiples depuis sa première

observation en 1978 [4]. Selon Kangah *et al.* [5], ces foyers se répartissent dans les régions du Centre (Taabo, Yamoussoukro, Tiébissou et Bouaké), du Centre-Ouest (Daloa, Zoukougbeu), de l’Ouest (Zouan-Hounien, Danané, Man), du Sud-Ouest (San-Pedro) et du Nord-Est (Tanda). Malgré cette distribution des cas en Côte d’Ivoire, le mode exact de transmission de la maladie et le (s) réservoir (s) environnemental (aux) de *M. ulcerans* dans ce pays restent à élucider [3]. Cependant, le principal facteur de risque semble être la proximité d’eau à faible débit ou stagnante [6]. Deux voies potentielles d’infestation par *M. ulcerans* ont été décrites: l’ingestion ou l’inhalation de bactéries en aérosol et la pénétration par des lésions cutanées d’un environnement contaminé (par exemple, le sol, l’eau, la végétation, les insectes vecteurs) [7]. Certaines sources de données suggèrent que les insectes aquatiques piqueurs (ordre des Hemiptera) vivant dans les mares et les cours d’eau peuvent agir comme vecteurs (porteurs) de *M. ulcerans* [8], [9]. Notre étude a consisté à examiner les insectes susceptibles de porter cette bactérie.

## 2 MATERIEL ET METHODES

### 2.1 PRESENTATION DE LA ZONE D’ETUDE

Les échantillons d’insectes aquatiques utilisés dans le cadre de ce travail, ont été collectés à Sokrogbo dans le district sanitaire de Tiassalé et à Vieil Aklodj dans le district Sanitaire de Dabou (Figure 1). La sélection des sites d’étude a été faite avec l’appui du Programme National de Lutte Contre l’Ulcère de Buruli de Côte d’Ivoire. Les données relatives au nombre de cas d’Ulcère de Buruli enregistrés dans les établissements de prise en charge dans les différents districts sanitaires de la Côte d’Ivoire, pour les années 2014 et 2015, ont donc été fournies par ce programme. Sokrogbo et Vieil Aklodj situés respectivement dans les districts de Tiassalé et Dabou, dans le sud de la Côte d’Ivoire, sont des localités présentant un taux d’endémicité différent d’ulcère de Buruli. L’incidence et la prévalence sont élevées à Tiassalé, alors que dans le district sanitaire de Dabou, contigu à celui de Tiassalé; à climat égal, très peu de cas sont notifiés

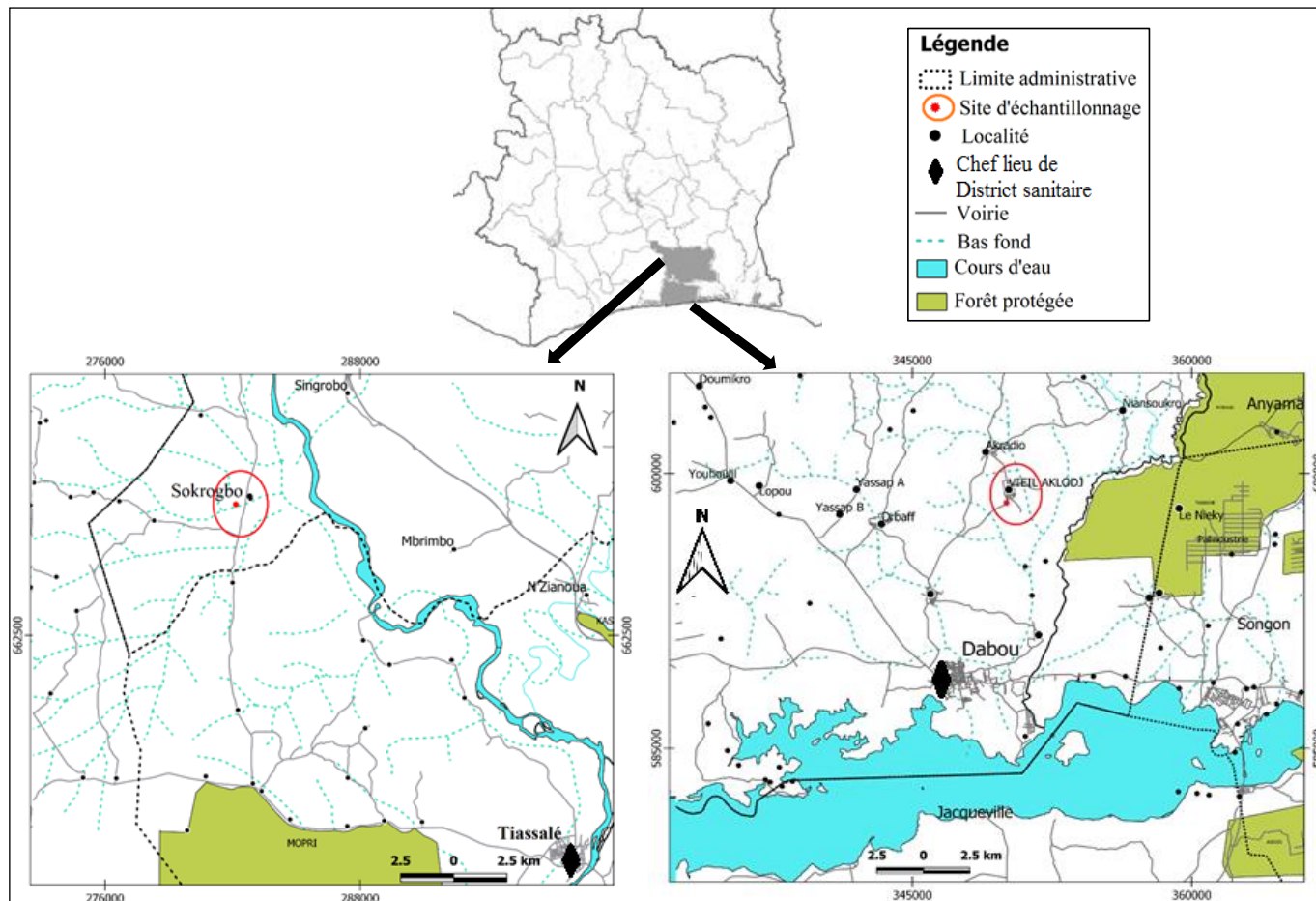


Fig. 1. Localisation de la zone d’étude

## **2.2 METHODOLOGIE D'ETUDE**

### **2.2.1 ECHANTILLONNAGE, PRÉLÈVEMENT, IDENTIFICATION ET BROYAGE CONSERVATION**

Les insectes ont été collectés de janvier à décembre 2016, à l'aide d'un filet épaisseur de type Troubleau, dont les caractéristiques sont les suivantes: mailles de 2 mm, un cadre à ouverture carrée de 30 cm de côté, fixé à un manche en bois plastifié ou en fer dont la longueur varie entre 100 à 150 cm. Le filet en polyester a une profondeur de 48 cm. Pour ce qui est de l'identification et le dénombrement des spécimens, le contenu de chaque pot a été déversé dans un bac émaillé à fond blanc. Ensuite les caractéristiques recherchées étaient les appendices externes tels que les antennes, la longueur du rostre, la forme des pattes antérieures, médianes et postérieures, les hémélytres et la forme du corps. Ainsi, ces caractéristiques ont permis à tous les spécimens d'être identifiés à l'aide des guides de références notamment ceux de Poisson [10] et [11]. Après identification des insectes, des lots monospécifiques de 1 à 10 spécimens pour les insectes de grande taille (15 à 100 mm) et 50 spécimens pour les espèces de petite taille (1 à 4 mm) ont été constitués et conservés dans des tubes de flacon contenant de l'alcool à 70%. Sous une hotte de marque ICN Gelaire, les Hétéroptères ont été broyés dans 2 ml de soude à 50 mM stérile à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Après le broyage, 1 ml de la suspension obtenue est transféré à l'aide d'une micropipette dans un microtube (Eppendorf) stérile de 2 ml portant le numéro de lot (avec un marqueur indélébile).

### **2.2.2 EXTRACTION ET AMPLIFICATION DE L'ACIDE NUCLÉIQUE**

L'extraction de l'ADN des homogenats des lots d'Hétéroptères aquatiques a été effectuée à l'aide du QIAGEN (QIAamp DNA mini kit) conformément aux instructions du fabricant. En ce qui concerne la détection moléculaire, elle a été réalisée par la PCR en temps réel ciblant le gène *IS2404* de *Mycobacterium ulcerans*. Les tests PCR ont été effectués dans un thermocycleur 7500 d'Applied biosystems en utilisant le programme d'amplification suivant: un cycle de 2 min à 50°C, puis d'une dénaturation initiale de 5 min à 95°C, suivi 35 cycles de 15 secondes à 95°C et 1 min à 60°C.

### **2.2.3 ANALYSE STATISTIQUE**

Le test de Shapiro-Wilk (W) au seuil de significativité 5% soit une plus-value  $p < 0,05$  a été effectuée pour vérifier la normalité des données à posteriori. Les tests univariés utilisés sont de deux types. Les tests non paramétriques et les tests paramétriques. Pour les tests non paramétriques, le test de Kruskal-Wallis et le test de comparaisons multiples des rangs, ainsi que le test U de Mann-Whitney ont permis de mesurer le degré de variabilité des richesses spécifiques, des abondances des hétéroptères aquatiques selon les sites, les mois, les saisons et les lots récoltés. Les tests paramétriques utilisés sont l'analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) et le test t de Student pour apprécier le degré de variabilité de la richesse spécifique et de l'abondance des hétéroptères aquatiques selon les sites, les mois, les saisons et les lots récoltés. Le test du coefficient de corrélation de rangs (r) de Spearman traduisant le degré de liaison entre deux variables a été utilisé pour tester la corrélation entre les paramètres physico-chimiques des mares étudiées, la richesse spécifique et l'abondance des hétéroptères aquatiques. Le logiciel STATISTICA 7.1 a été utilisé pour ces analyses.

## **3 RESULTATS ET DISCUSSION**

### **3.1 DIVERSITÉ DU PEUPEMENT DES HÉTÉROPTÈRES DE LA ZONE D'ÉTUDE**

L'investigation des deux mares a permis d'identifier 36 espèces d'insectes aquatiques appartenant à neuf familles et 21 genres (Tableau 1). La famille des Naucoridae (Figure 2) compte le plus grand nombre d'espèce (neuf espèces) soit 25%, elle est suivie des familles des Belostomatidae et des Nepidae qui comptabilisent cinq espèces (13,89 %) chacune. Les familles des Pleidae et des Veleidae ont moins d'espèces et sont représentées par une espèce (2,78 %) chacune. La composition spécifique de Sokrogbo et de Viel Aklodj diffère avec respectivement 33 et 25 espèces.

A Sokrogbo, 33 espèces d'insectes aquatiques réparties dans neuf familles et 21 genres (Tableau 1) ont été recensées. En considérant le nombre d'espèces par famille, dans cette localité, les Naucoridae ont un plus grand nombre d'espèces (neuf espèces), suivie des Belostomatidae (Figure 3). Les Gerridae (deux espèces), les Pleidae et les Veleidae (une espèce chacune) ont le plus petit nombre d'espèces. Aussi, le nombre d'espèces par famille diffère significativement à Sokrogbo (Test de Kruskal-Wallis:  $H(8, N= 64) = 16,32688; p = 0,037$ ).

Viel Aklodj regorge 25 espèces de neuf familles et 15 genres (Tableau 1). Les Naucoridae avec six espèces et les Nepidae avec cinq espèces, sont les mieux représentées du peuplement dans cette localité; les familles des Pleidae, Ranatridae et Veleidae (une espèce chacune) ont moins d'espèces d'insectes aquatiques. Cette différence de nombre d'espèces est significative selon les familles (Test de Kruskal-Wallis:  $H(8, N= 55) = 24,43170; p = 0,001$ ).

Tableau 1. Liste taxonomique des Héétéoptère échantillonnés dans les marres des localités étudiées

Familles	Genres	Espèces	Sokrogbo	Vieil Akloj
Naucoridae	<i>Heleocoris</i>	<i>Heleocoris breviceps</i>	X	X
		<i>Heleocoris sp</i>	X	X
	<i>Laccocoris</i>	<i>Laccocoris sp</i>	X	
	<i>Macrocoris</i>	<i>Macrocoris laticollis</i>	X	X
		<i>Macrocoris flavicollis</i>	X	X
	<i>Naucoris</i>	<i>Naucoris maculatus</i>	X	
		<i>Naucoris laticollis</i>	X	
		<i>Naucoris sp</i>	X	X
<i>Neomacrocoris</i>	<i>Neomacrocoris sp</i>	X	X	
Belostomatidae	<i>Diplonychus</i>	<i>Diplonychus annulata</i>	X	
		<i>Diplonychus nepoides</i>	X	X
		<i>Diplonychus sp</i>	X	X
	<i>Belostoma</i>	<i>Belostoma cordofana</i>	X	
	<i>Lethocerus</i>	<i>Lethocerus sp</i>	X	
Nepidae	<i>Laccotrephes</i>	<i>Laccotrephes ater</i>	X	X
		<i>Laccotrephes brachialis</i>	X	X
		<i>Laccotrephes ruber</i>	X	X
		<i>Laccotrephes sp</i>	X	X
		<i>Laccotrephes fabricii</i>		X
Notonectidae	<i>Anisops</i>	<i>Anisops sardea</i>	X	X
		<i>Anisops stali</i>	X	
		<i>Anisops sp</i>	X	X
	<i>Sigara</i>	<i>Sigara sp</i>	X	X
Corixidae	<i>Stenocorisea</i>	<i>Stenocorisea protrusa</i>	X	
	<i>Micronecta</i>	<i>Micronecta scutellaris</i>	X	X
		<i>Micronecta sp</i>	X	X
<i>Sigara</i>	<i>Sigara sp</i>	X		
Gerridae	<i>Eurymatra</i>	<i>Eurymatra sp</i>	X	X
	<i>Limnogonus</i>	<i>Limnogonus chopardi</i>	X	
		<i>Limnogonus sp</i>	X	X
<i>Rhogardotarsus</i>	<i>Rhogardotarsus hutchinsoni</i>	X	X	
Ranatradae	<i>Ranatra</i>	<i>Ranatra fusca</i>	X	
		<i>Ranatra sp</i>		X
	<i>Cercotmetus</i>	<i>Cercotmetus sp</i>		X
Pleidae	<i>Plea</i>	<i>Plea pullula</i>	X	X
Veleidae	<i>Microvelia</i>	<i>Microvelia sp</i>	X	X

X: présence de l'espèce dans la localité correspondante

### 3.2 CARACTÉRISTIQUES DES LOTS MONOSPÉCIFIQUES CONSTITUÉS

Au total 345 lots monospécifiques dont 135 (39,13%) à Vieil Akloj et 210 (60,87%) à Sokrogbo ont été constitués au cours des collectes d'Hétéoptères aquatiques dans les deux mares (Tableau 2). Les lots constitués à Sokrogbo sont significativement supérieurs à ceux collectés à Vieil Akloj (Test t de de Student:  $t = -2,397$ ;  $ddl = 22$ ;  $p = 0,025$ ). En considérant les espèces, *Micronecta scutellaris* (66 lots; 19,13%) et *Diplonychus nepoides* (52 lots; 15,07%) ont les lots les mieux représentés. Elles sont suivies de *Ranatra fusca* (36 lots; 8,28%) et de *Diplonychus sp* (31 lots; 57,13%). Aucune différence significative n'a été constaté entre les lots selon les espèces (Test de Kruskal-Wallis:  $H(35, N= 72) = 18,43544$ ;  $p = 0,990$ ). Les mois de mai et novembre enregistrent le plus grand nombre de lots 41 (9,42%). Ils sont suivis de janvier (34 lots; 7,82%), juin (30 lots; 7,0%), octobre (36 lots; 8,28%) et décembre (35 lots; 8,05). Les mois les moins prolifiques en lots monospécifiques d'hétéoptères aquatiques étaient mars (9 lots; 2,07%) et avril (12 lots; 2,76%) (Figure 4). Toutefois, les lots constitués au cours des mois n'ont pas varié significativement ( $SC = 575,125$ ;  $ddl = 11$ ;  $MC = 52,28$ ;  $F = 1,127$ ;  $p = 0,417$ ). Par ailleurs, 121 lots (35,07%) ont été constitués à la saison sèche et 224 (64,93%) lots à la saison pluvieuse avec une différence non significative (Test t de de Student:  $t = 1,326$ ;  $ddl = 22$ ;  $p = 0,198$ ). A Sokrogbo, les 210 Hétéoptères aquatiques collectés ont été regroupé en 33 espèces dont *M. scutellaris* (44 lots; 20,95%) a été l'espèce la plus abondante, suivie de *R. fusca* (21 lots; 10,0%) et de *D. nepoides* (20 lots; 9,52%). Toutefois, le nombre de lots constitués ne varie pas significativement d'une espèce à une autre (Test de Kruskal-Wallis:  $H(35, N= 36) = 35,0$ ;  $p = 0,468$ ). En considérant le nombre de lots constitués au cours des mois, les mois mars et d'avril ont produit le plus faible nombre de lots avec 3 lots chacun (1,43%) (Figure 5). Par contre le mois de

novembre a enregistré le plus grand nombre de lots avec 30 lots (14,29%). Toutefois, le nombre de lots selon le mois n'a pas varié significativement aux cours des sessions de récolte (Test de Kruskal-Wallis:  $H(11, N = 102) = 17,47466$ ;  $p = 0,094$ ). Au total, 135 lots monospécifiques ont été constitués. Ces lots ont été regroupés en 25 espèces en tout, dont *Diplonychus nepoides* est l'espèce la plus abondante avec 32 lots (23,70%). Cette espèce est suivie de *M. scutellaris* (22 lots, 16,30%), de *Diplonychus sp* (20 lots; 14,81%), de *Ranatra fusca* (15 lots; 11,11%) et *Laccotrephes ater* (12 lots; 8,89%). Toutefois le nombre de lots selon les espèces ne diffère pas significativement (Test de Kruskal-Wallis:  $H(35, N = 36) = 35,00000$ ;  $p = 0,468$ ). Le mois de février a enregistré le plus faible nombre de lots (5 lots; 3,70%), alors que le mois de janvier a eu la plus importante valeur de lots constitués avec 16 lots (11,85%) (Figure 6). Mais le nombre de lots constitués selon les mois n'a pas varié significativement (Test de Kruskal-Wallis:  $H(11, N = 78) = 6,075141$ ;  $p = 0,868$ ).

### 3.3 TAUX D'INFESTATION NATURELLE DES HÉTÉROPTÈRES AQUATIQUES PAR M. ULGERANS

Les tests PCR (Figure 7) en temps réel réalisés à partir des lots monospécifiques (345 lots) constitués a révélé 18 lots positifs (5,22%). Les analyses de variances indiquent une différence significative entre les lots positifs et les lots négatifs constitués pendant les sessions de collecte (Test U de Mann-Whitney:  $U = 82,5$ ;  $Z = 6,368$ ;  $p < 0,0001$ ).

**Tableau 2. Proportion des lots monospécifiques infectés par *M. ulcerans* dans les deux localités investiguées**

Espèces	Sokrogbo		Vieil Aklodj		Global	
	N (%)	n (%)	N (%)	n (%)	N (%)	n (%)
<i>Heleocoris breviceps</i>	4 (1,91)	0	1 (0,74)	0	5 (1,45)	0
<i>Heleocoris sp</i>	7 (3,33)	0	1 (0,74)	0	8 (2,32)	0
<i>Laccocoris sp</i>	5 (2,38)	2 (40,0)	0	0	5 (1,45)	2 (40,0)
<i>Macrocoris laticollis</i>	2 (0,95)	0	0	0	2 (0,58)	0
<i>Macrocoris flavicollis</i>	1 (0,48)	0	1 (0,74)	0	2 (0,58)	0
<i>Naucoris maculatus</i>	1 (0,48)	0	0	0	1 (0,29)	0
<i>Naucoris laticollis</i>	2 (0,95)	1 (50,0)	2 (1,48)	0	4 (1,16)	1 (25,0)
<i>Naucoris sp</i>	3 (1,43)	0	2 (1,48)	0	5 (1,45)	0
<i>Neomacrocoris sp</i>	1 (0,48)	0	1 (0,74)	0	2 (0,58)	0
<i>Diplonychus annulata</i>	1 (0,48)	0	0	0	1 (0,29)	0
<i>Diplonychus nepoides</i>	20 (9,52)	4 (20,0)	32 (23,7)	1 (3,12)	52 (15,07)	5 (9,61)
<i>Diplonychus sp</i>	11 (5,24)	4 (36,36)	20 (14,81)	0	31 (8,98)	4 (12,90)
<i>Belostoma cardofana</i>	3 (1,43)	0	0	0	3 (0,87)	0
<i>Lethocerus sp</i>	4 (1,91)	0	0	0	4 (1,16)	0
<i>Laccotrephes ater</i>	6 (2,86)	0	12 (8,89)	0	18 (5,22)	0
<i>Laccotrephes brachialis</i>	1 (0,48)	0	2 (1,48)	0	3 (0,87)	0
<i>Laccotrephes ruber</i>	1 (0,48)	0	4 (2,96)	0	5 (1,45)	0
<i>Laccotrephes sp</i>	2 (0,95)	0	5 (3,7)	0	7 (2,02)	0
<i>Laccotrephes fabricii</i>	0	0	3 (2,22)	0	3 (0,87)	0
<i>Anisops sardea</i>	10 (4,76)	0	1 (0,74)	0	11 (3,19)	0
<i>Anisops stali</i>	7 (3,33)	0	0	0	7 (2,02)	0
<i>Anisops sp</i>	15 (7,14)	0	1 (0,74)	0	16 (4,64)	0
<i>Enithares sp</i>	4 (1,91)	0	1 (0,74)	0	5 (1,45)	0
<i>Stenocorisea protrusa</i>	2 (0,95)	0	0	0	2 (0,58)	0
<i>Micronecta scutellaris</i>	44 (20,95)	2 (4,54)	22 (16,3)	1 (4,54)	66 (19,13)	3 (4,54)
<i>Micronecta sp</i>	8 (3,81)	0	2 (1,48)	0	10 (2,90)	0
<i>Sigara sp</i>	1 (0,48)	0	0	0	1 (0,29)	0
<i>Eurymatra sp</i>	2 (0,95)	0	1 (0,74)	0	3 (8,87)	0
<i>Limnogonus chopardi</i>	1 (0,48)	0	0	0	1 (0,29)	0
<i>Limnogonus sp</i>	0	0	1 (0,74)	0	1 (0,29)	0
<i>Rhogardotarsus hutchinsoni</i>	0	0	1 (0,74)	0	1 (0,29)	0
<i>Ranatra fusca</i>	21 (10,0)	0	15 (11,11)	0	36 (10,43)	0
<i>Ranatra sp</i>	1 (0,48)	0	0	0	1 (0,29)	0
<i>Cercotmetus sp</i>	11 (5,24)	0	1 (0,74)	0	12 (3,47)	0
<i>Plea pullula</i>	7 (3,33)	2 (28,57)	2 (1,48)	0	9 (2,61)	2 (22,22)
<i>Microvelia sp</i>	1 (0,48)	1 (100,0)	1 (0,74)	0	2 (0,58)	1 (50,0)
<b>Total</b>	<b>210 (100,0)</b>	<b>16 (7,62)</b>	<b>135 (100,0)</b>	<b>2 (1,48)</b>	<b>345 (100,0)</b>	<b>18 (5,22)</b>

N: nombre de lots monospécifiques constitués, n: nombre de lots monospécifiques infectés, %: proportion de lots monospécifiques infectés / proportion de lots monospécifiques constitués.



Fig. 2. Photographie d'un spécimen représentant un Naucoridae



Fig. 3. Photographie d'un spécimen représentant un Belostomatidae

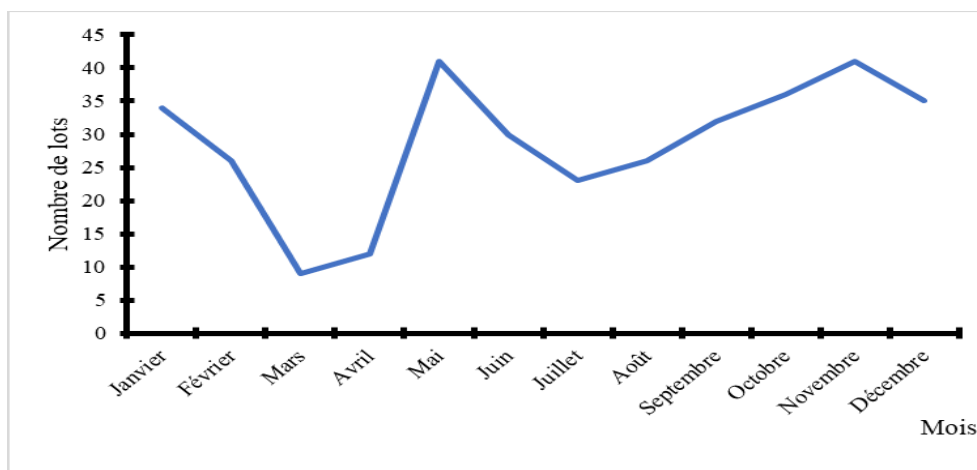


Fig. 4. Répartition globale des lots constitués en fonction des mois de façon globale

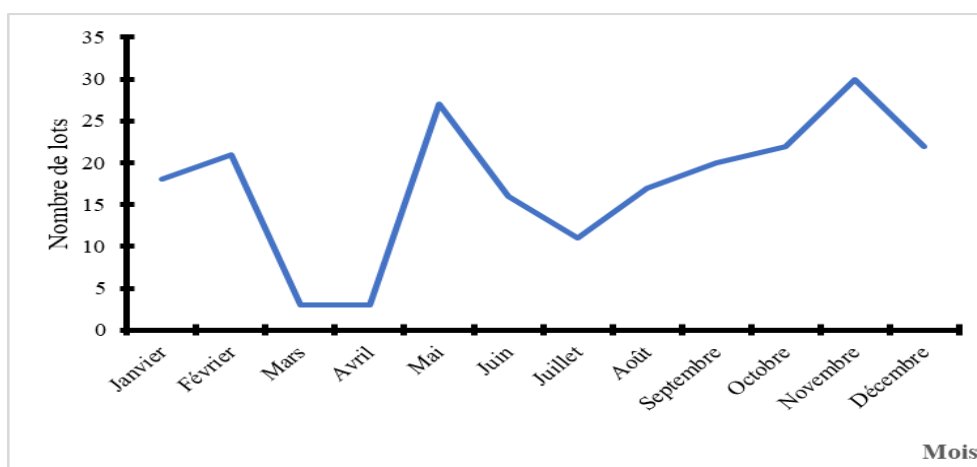


Fig. 5. Répartition des lots constitués en fonction des mois à Sokrogo

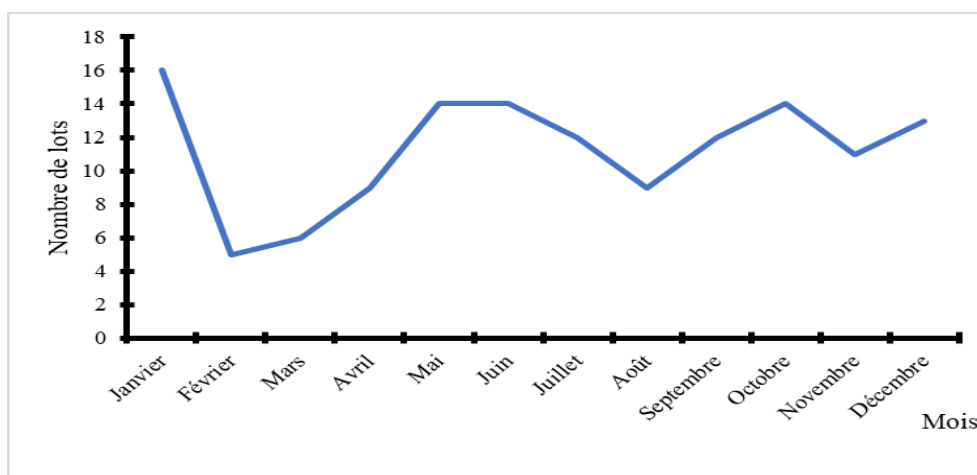
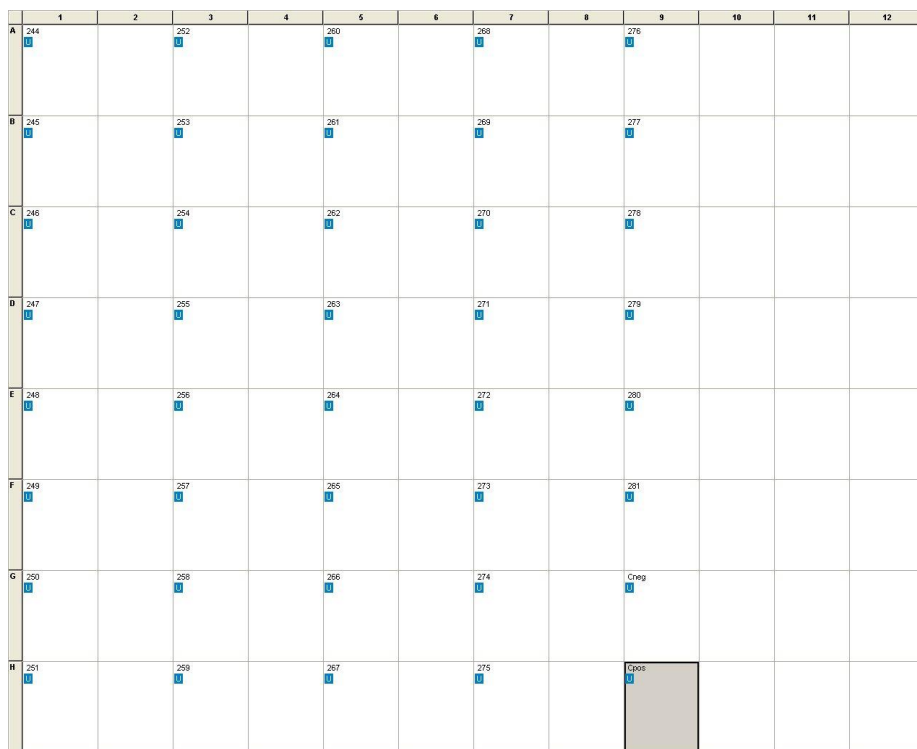


Fig. 6. Répartition des lots constitués en fonction des mois à Vieil Aklodj



Amplification Plot

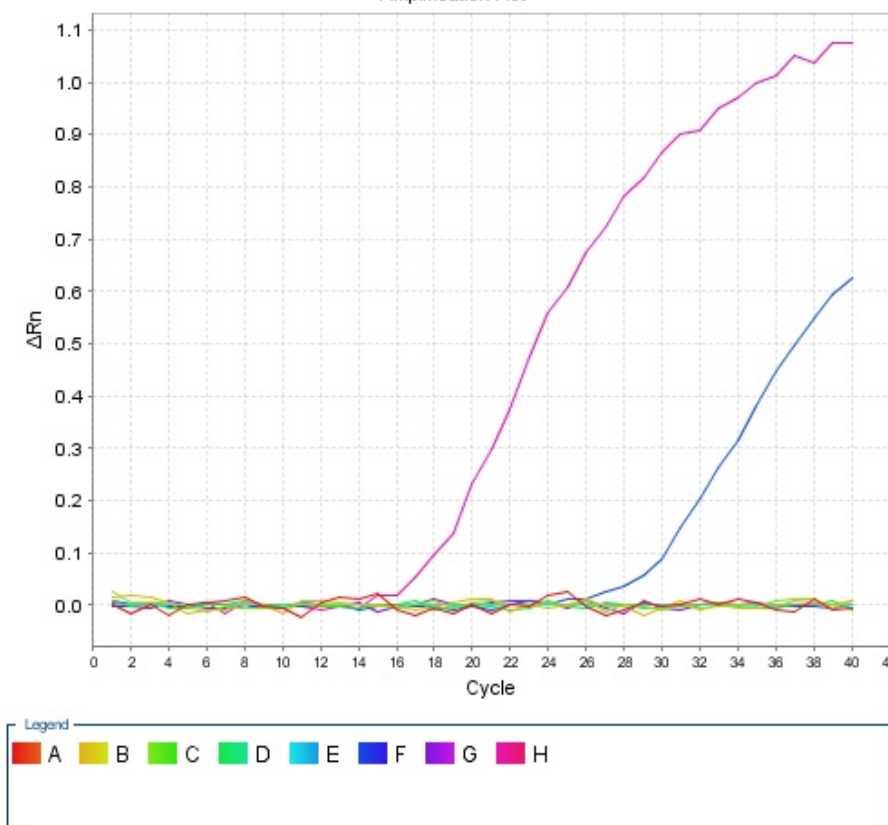


Fig. 7. Image d'une PCR en temps réel

Les lots détectés positifs à *M. ulcerans* sont très inférieurs par rapport aux lots négatif (327 lots; 94,78%). Suivant les localités, Sokrogbo et Vieil Alkodj ont enregistré respectivement des prévalences de 7,62 (16 lots positifs sur 210 lots au total) et 1,48% (2 lots positifs sur 135 au total). Les résultats montrent que sur les 36 espèces d'Hétéroptères aquatiques, sept espèces sont révélés positifs soit un taux de 19,44 %. Il s'agit de deux espèces de la famille des Belostomatidae (*D. nepoides*, *Diplonychus sp*) deux espèces de la famille des Naucoridae (*Laccocoris sp*, *Naucoris sp*), une espèce de la famille des Corixidae (*M. scutellaris*), une espèce de la famille des Veleidae (*Microvellia sp*) et une espèce de la famille des



Pleidae (*P. pullula*) (Tableau 2). Le taux de positivité a varié de 40 à 50% chez *Laccoris sp* et *Microvelia sp.*, de 20 à 22,22% chez *Naucoris sp* et *Plea pullula* et de 4,55 à 12,90% chez *M. scutellaris*, *D. nepoides* et *Diplonychus sp* (Figure 8).

**3.4 DYNAMIQUE DES INFESTATIONS DES HÉTÉROPTÈRES AQUATIQUES**

Sur la base des lots constitués à partir des collectes mensuelles, les mois de janvier et de septembre ont enregistré le plus grand nombre de lots positifs avec respectivement 11,76% (4 lots sur 34 au total) et 12,50% (4 lots sur 32 au total). Par contre, aucun lot positif n'a été enregistré au cours des de mars, avril, mai et juin. Le nombre de lots positifs n'a pas significativement varié au cours des mois (Test de Kruskal-Wallis: H (11, N= 432) =8,866515; p = 0,634) (Figure 8). À Vieil Akloj seuls les mois de juillet et de septembre ont enregistré des lots positifs avec un seul lot chacun. Par contre, à Sokrogbo, les mois de mars, avril, mai et juin n'ont enregistré aucun lot positif. Dans ce même site, le plus grand nombre de lots positifs a été obtenu au mois de janvier avec quatre lots positifs soit 25% (4 lots sur 16 au total) du total des lots positifs. Le nombre de lots positifs (un lot positif) obtenus dans le mois de juillet à Vieil Akloj est le même que celui obtenu à Sokrogbo au cours de ce même mois. Par contre, en septembre le nombre de lots positifs à Sokrogbo (trois lots soit, 18,75 % du nombre total de lots positifs de Sokrogbo) reste supérieur au nombre de lots positifs (un lot, soit 50 % du nombre total de lots positifs) de Vieil Akloj (Figure 9).

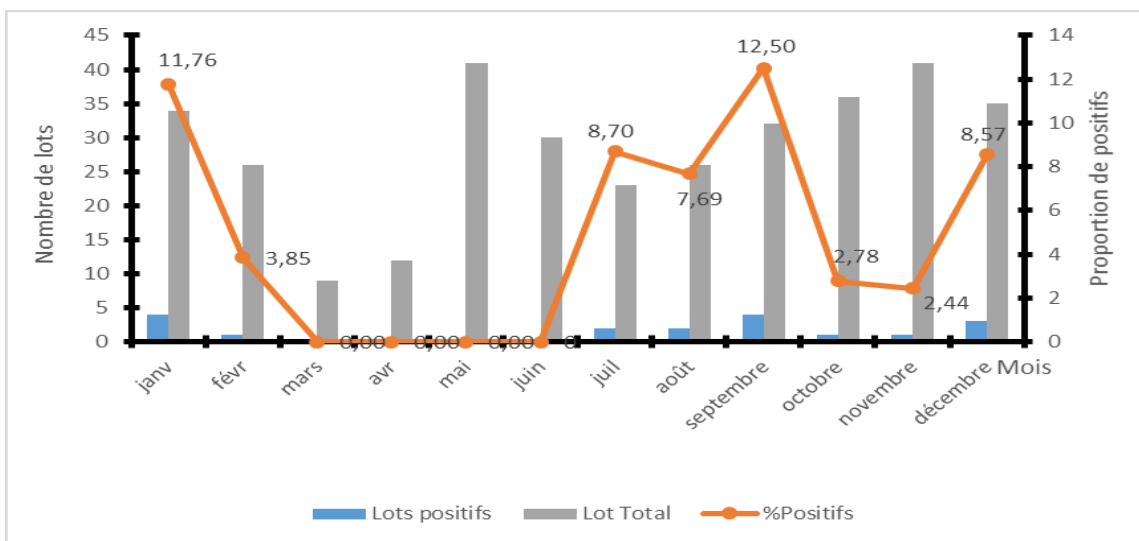


Fig. 8. Proportion de lots infectés par *Mycobacterium ulcerans* par mois

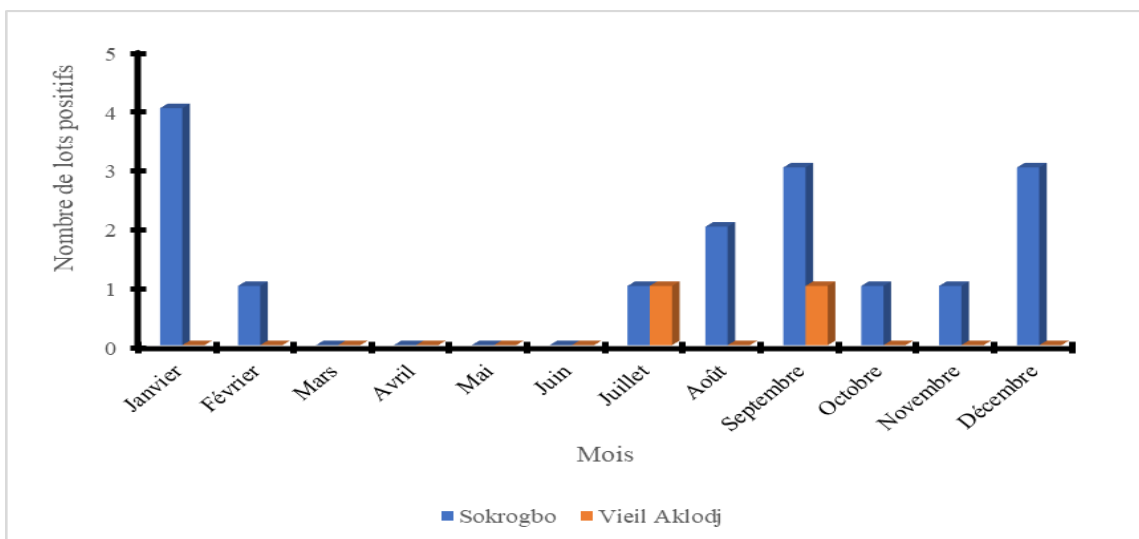


Fig. 9. Nombre total de lots infectés par *Mycobacterium ulcerans* par mois et par site

**4 DISCUSSION**

Le présent travail fait état de 36 espèces d'Hétéroptères aquatiques inventoriés dans les deux mares. En effet, l'identification des insectes aquatiques basée sur des caractères morphologiques et morphométriques externes inscrit dans des ouvrages plus élaborés ont contribué à la

nomination de 36 espèces d’Hétéroptères aquatiques. Cela est attesté par les travaux réalisés par Konan *et al.* [12] qui ont obtenus 19 espèces, soit environ la moitié des nôtres. Les échantillonnages ont permis d’identifier neuf familles d’Hétéroptères aquatiques qui constituent la moitié des 18 familles décrites par Dejoux *et al.* [13] en Côte d’Ivoire. Ce résultat pourrait s’expliquer d’une part, du fait que ce travail a été réalisé en milieu anthropisé où l’action de l’homme aurait modifié considérablement le milieu aquatique et l’écologie de plusieurs familles. D’autre part, la présente étude a été conduite dans seulement deux mares de Côte d’Ivoire. Ces résultats concordent avec ceux de Kulkarni *et al.* [14] qui ont également identifié neuf familles dans une mare temporaire dont la présence de l’eau est liée à la saison. Konan *et al.* [12] ont retrouvé huit familles dans une étude similaire réalisée en Côte d’Ivoire. Nos investigations ont montré que la famille des Naucoridae renfermait le plus grand nombre d’espèce (neuf espèces). En effet, cette famille est l’une des plus diversifiées au monde [15]. Aussi, les Naucoridae sont des prédateurs féroces des animaux aquatiques (têtards, larves d’insectes...) et ont un comportement migratoire et grégaire [16]. Cela les rendrait plus accessibles à la récolte par rapport aux espèces d’autres familles. Nos résultats sont contraires aux travaux de Konan *et al.* [12] chez qui les Belostomatidae constituent la famille ayant le plus grand nombre d’espèce dans une étude similaire. Ce constat s’expliquerait par le fait que les clés d’identification existantes permettaient de décrire les spécimens de cette famille jusqu’au nom d’espèce contrairement à certains spécimens d’autres familles. L’espèce la plus représentée du peuplement est *Micronecta. scutellaris* (42,66%), suivie par ordre d’importance de *Diplonychus nepoides* (14,80%) et de *Diplonychus sp* (11,69%). Les espèces moins abondantes étaient *Rhogardotarsus hutchinsoni*, *Macrocoris flavicollis*, *Macrocoris laticollis*, *Naucoris maculatus* et *Neomacrocoris sp* avec deux individus chacune (0,08%). Ces observations pour *Micronecta. scutellaris* et de *Diplonychus nepoides* peuvent s’expliquer par leur capacité à former un banc sur la berge et se disperser très peu même lorsque le plan d’eau est perturbé, facilitant la récolte d’un grand nombre de spécimens de ces espèces. Par contre pour *R. hutchinsoni*, *M. flavicollis*, *M. laticollis*, et *N.s maculatus*, leur faible nombre pourrait être attribuable à leur écologie. En effet, dans les mares, la première est une espèce pélagique tandis que les dernières sont benthiques. D’autres auteurs expliquent cette faible abondance par le fait que certaines espèces voient leurs femelles aller sur plusieurs sites pour pondre et notamment sur des supports émergés. Le nombre d’œufs est moindre dans ces conditions et si le milieu n’est pas favorable, les individus d’un site peuvent très bien ne pas survivre [17]. Les prédateurs sont divers, dont les Gerridae (*R. hutchinsoni*) eux-mêmes, qui peuvent être cannibales existants, notamment envers les plus jeunes [18], [19].

Des lots de *M. scutellaris*, *D. nepoides* et *R. fusca* ont été constitués pendant toutes les périodes d’échantillonnage. Ces trois taxons sont donc des Hétéroptères aquatiques que l’on peut rencontrer à tout moment dans les collections d’eau des mares de Vieil Akloj et Sokrogbo. C’est pourquoi, ils constituent le groupe d’Hétéroptères aquatiques avec lesquels le plus grand nombre de lots monospécifiques a été formé. La présente étude met en évidence le taux de contamination des Hétéroptères aquatiques par *M. ulcerans* au cours du temps à Vieil Akloj et Sokrogbo. Les marqueurs génétiques de *M. ulcerans* ont été détectés tous les mois sauf les mois de mars, avril, mai et juin avec une prévalence globale de 5,22% et des prévalences locales de 7,62% et 1,48% respectivement à Sokrogbo et Vieil Akloj. Les résultats ont montré que la séquence d’insertion IS 2404 de *M. ulcerans* et la Kétoreductase ont été mises en évidence dans 40 à 50% des lots de *Laccoris sp* et *Microvella sp.*, dans 20 à 22,22% des lots de *Naucoris sp* et *P. pullula* et dans 4,55 à 12,90% des lots *M. scutellaris*, *D. nepoides* et *Diplonychus sp*. Konan *et al.* (2015) [12] obtenait les mêmes résultats chez *Diplonychus sp*. Ces résultats sont comparables à ceux de Portaels [20] qui ont mis en évidence *M. ulcerans* chez les punaises aquatiques dans des localités Béninoises et Ghanéennes, endémiques à l’ulcère de Buruli. Marsollier *et al.* [21] ont également mis en évidence en Côte d’Ivoire, *M. ulcerans* chez des Hétéroptères aquatiques de la famille des Naucoridae prélevés dans une rivière située dans la région de Daloa, une région endémique à l’ulcère de Buruli à l’image de Tiassalé. Les Hétéroptères aquatiques sont alors capables d’héberger cette mycobactérie de l’environnement et donc de devenir des hôtes intermédiaires de *M. ulcerans* [22]. Cette hypothèse a été également confirmée par Doannio *et al.* [23] qui ont mis en évidence *M. ulcerans* chez *Micronecta sp* et *Diplonychus sp* en Côte d’Ivoire et ont tiré les conclusions selon lesquelles ces punaises pourraient être hôtes et vecteurs potentiels de *M. ulcerans* à l’homme en Côte d’Ivoire. Parmi les lots positifs de la présente étude, sept taxons ont été identifiés. Ce sont *M. scutellaris*, *D. nepoides*, *Diplonychus sp*, *Laccocoris sp*, *Microvella sp*, *Naucoris sp* et *P. pullula*. En effet, depuis les travaux de Doannio [23] et Konan [12] ce sont *Diplonychus sp*, *Naucoris sp* et *Micronecta sp* qui ont été identifiées comme porteurs de *M. ulcerans*. Notre étude fait la mise à jour des Hétéroptères aquatiques porteurs de *M. ulcerans* prouvant ainsi que d’autres espèces d’hétéroptères telle que *Microvella sp* et *P. pullula* peuvent héberger *M. ulcerans*. Des espèces d’hétéroptères aquatiques où *M. ulcerans* a été confirmé, *M. scutellaris*, *D.nepoides* et *R. fusca* ont été les espèces les plus dominantes sur l’ensemble. Toutefois, seules deux espèces (*Laccocoris sp* et *Microvella sp*) ont entre 40 et 50% de lots positifs contre 100% de lots positifs chez *Diplonychus sp* dans les travaux de Konan [12] Ce résultat pourrait s’expliquer par le fait que les genres auxquels appartiennent ces espèces fréquentent les profondeurs des mares pour des objectifs de prédation. Ce qui favoriserait leur contact avec la mycobactérie. *M. ulcerans* a été mis en évidence dans les deux mares et sur ceux-ci, *D. nepoides* et *M. scutellaris* étaient communes aux deux sites. Cette observation atteste que les mares de Vieil Akloj et Sokrogbo abritent *M. ulcerans* et pourraient être considérées comme des mares épidémiologiquement dangereuses. La bactérie pourrait de ce fait entrer en contact avec les sujets qui utiliseraient ces mares sans protection. Le plus grand nombre de lots d’hétéroptères positif à *M. ulcerans* a été obtenu à Sokrogbo (16 lots sur 18 au total). Bien que *M. ulcerans* ait été trouvé chez les genres *Diplonychus* et *Micronecta* dans les deux sites, les genres *Laccocoris* et *Naucoris*, spécifiques à Sokrogbo pourraient également être impliqués dans la transmission du bacille. A l’opposé, ces hétéroptères pourraient s’avérer utiles dans la lutte biologique contre les larves de moustiques, des déprédateurs du riz et des mollusques nuisibles. Les activités humaines et le risque de contamination lié à la présence de *M. ulcerans* dans certaines mares peuvent à présent être élucidés. Lors des échantillonnages, des présences humaines ont été observées dans les mares prospectées. Ces personnes rencontrées menaient une activité quotidienne qui est soit la collecte d’eau de boisson, soit la lessive, soit la natation, soit la pêche, etc. Toutes ces activités les mettent directement en contact avec les mares dans lesquelles ont été retrouvés des hétéroptères hébergeant *M. ulcerans*. Il est prouvé que ces activités humaines dans les plans d’eau dégradent leurs qualités en générale et compositions physico-chimiques en particulier [24]. Cette pollution chimique des mares pourrait avoir des répercussions sur la sélection et le maintien des hétéroptères retrouvés dans ce travail. C’est dans la mare de Sokrogbo que ce phénomène est le plus élucidé.

## 5 CONCLUSION

A l'issu de la présente étude, nous retenons que la liste des Hétéroptères aquatiques collectés à Sokrogbo et à Vieil Akloj comporte un nombre relativement important de famille (neuf familles soit 50%) décrites en Côte d'Ivoire. Sa composition spécifique diffère selon les mares investiguées. Parmi les espèces obtenues, celles incriminées comme hôtes et vecteurs potentiels de *M. ulcerans* dans la littérature ont été rencontrées dans les deux mares. Il s'agit de *Micronecta scutellaris*, *Diplonychus nepoides* et *Diplonychus sp.* Nos investigations ont révélé également la potentielle implication de d'autres espèces d'Hétéroptères aquatiques telles que *Laccocoris sp*, *Microvelia sp*, *Naucauris sp* et *Plea pullula* dans la transmission de l'ulcère de Buruli. L'amélioration de nos connaissances sur l'infestation naturelle des hétéroptères étudiés ainsi que la présence humaine dans les mares de Vieil Akloj et Sokrogbo permettent à présent de mieux appréhender le risque de contracter l'ulcère de Buruli.

## REFERENCES

- [1] Vincent Q., 2016. Epidémiologie et génétique humaine de l'ulcère de Buruli. *Thèse d'Université Option épidémiologie clinique* 230 pages.
- [2] Singh, A. 2019. Investigation of potential environmental reservoirs of mycobacterium ulcerans in North Queensland. *Masters (Research) Thesis, James Cook University*, 66 p.
- [3] Vandellannoote K., Phanzu D. M., Kibadi K., Eddyani M., Meehan C. J. & De Jong B. C., 2019. *Mycobacterium ulcerans* Population Genomics to Inform on the Spread of Buruli Ulcer across Central Africa. 4 (1): 472-18.
- [4] Perraudin M. I, Herrault A. & Desbois J. C. 1980. Ulcère cutané à *Mycobacterium ulcerans* (ulcère de Buruli). *Ann. Péd.*, 27: 687-692.
- [5] Kanga JM, Kacou ED, Kouamé K, Kassi K, Kaloga M, Yao JK, Dion-Lainé M, Avoaka LE, Yoboué-Yao P, Sangaré A, Ecra JE, Ahogo C, Djédjé MS, Kadiré AJ & Ayé C. 2006. La lutte contre l'ulcère de Buruli. Expérience de la Côte-d'Ivoire. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 99 (1): 34-38.
- [6] Jacobsen K. H. & Padgett J.J. 2010. Risk factors for *Mycobacterium ulcerans* infection *International Journal of Infectious Diseases*, 14 (8): 677-681.
- [7] Amofah, G., Bonsu, F., Tetteh, C., Okrah, J., Asamoah, K., Asiedu, K., & Addy, J., 2002. Buruli ulcer in Ghana: results of a national case search. *Emergency Infection Diseases* 8: 167-170.
- [8] Amofah, G. K., Sagoe-Moses, C., Adjei-Acquah, C., and Frimpong & E. H. 1993. Epidemiology of Buruli ulcer in Amansie West district, Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 87: 644-645.
- [9] Andersen, N. M., & Weir, T. A. 2004. Australian Water Bugs (Hemiptera-Heteroptera, Gerrromorpha and Nepomorpha): *Their Biology and Identification vol. 14. CSIRO Publishing.*
- [10] Poisson, R. 1957. Hétéroptères aquatiques, Faune de France. *Editions Paul lechevalier, 12 Rue de Tournon (Vie)*. 267 pages.
- [11] Nieser N., 1978. Heteroptera. *In Limnofauna Europaea*, p.280 -285.
- [12] Konan K. L., Doannio J. M. C., Coulibaly N. D., Ekaza E., Marion E., Assé H., Kouassi D., N'Goran K. E., Dosso M., Marsollier L & Aubry J. 2015. Mise en évidence de la séquence d'insertion IS2404 et de la kétoreductase (Kr) produite par *Mycobacterium ulcerans* chez les Hétéroptères aquatiques prélevés dans l'environnement dans les districts sanitaires de Dabou et Tiassalé (Côte d'Ivoire). *Médecine et Santé Tropicales*, 25: 44-51.
- [13] Dejoux C., Elouard J. M., Forge P. & Maslin J. L., 1981. Catalogue iconographique des insectes aquatiques de Côte d'Ivoire. *Rapport n°42, Document ORSTOM*. 178.
- [14] Kulkarni M.R., Padhye S., Vanjare A.I., Jakhalekar S.S., Shinde Y.S., Paripatyadar S.V., Sheth S., Kulkarni S., Phuge S.K., Bhakare K., Kulkarni A.S., Pai K. & Ghate H. V. 2015. Documenting the fauna of a small temporary pond from Pune, Maharashtra, India. *Journal of Threatened Taxa*, 7 (6): 7196 –7210. DOI: 10.11609/JoTT.04190.7196-210.
- [15] Stys, P. & Jansson, A., 1988. Check-list of recent family-group and genus-group names of Nepomorpha (Heteroptera) of the world. — *Acta Entomol. Fennica* 50: 1-44.
- [16] Ajeegah G. A., Kekeunou S., Njiawouo P. E., Foto M. S., 2014. Morphologie et abondance des stades de développement d'Ilyocoris cimicoides Linné 1758 (Heteroptera: Naucoridae) dans un lac anthropisé en zone tropicale (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* 79: 6926 – 6937.
- [17] Kaitala V., Kaitala A. & Getz W. M., 1989. Evolutionary stable dispersal of a waterstrider in a temporally and spatially heterogeneous environment. *Evolutionary Ecology*, 3: 283-287, 290-293, 296-297.
- [18] Dethier M., 1986. Hétéroptères aquatiques et ripicoles. Genres et principales espèces in Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises. *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*; 54; 10.
- [19] Nummelin M., 1989. Cannibalism in waterstriders (Heteroptera: Gerridae): is there kin recognition? *Oikos*, 56 (1): 87-90.
- [20] Portaels F., Elsen P., Guimaraes-Peres A., Fonteyne P. A. & Meyers W. M. 1999. Insects in the transmission of *Mycobacterium ulcerans* infection. *Lancet*, 353: 986.
- [21] Marsollier L, Aubry J, Saint-André J.-P., Robert R., Legras P., Manceau A. L., Bourdon S., Audrain C. & Carbonnelle B. 2003. Écologie et mode de transmission de *Mycobacterium ulcerans* Ecology and transmission of *Mycobacterium ulcerans*. *Pathologie Biologie*, 51: 490–495.

- [22] Marion E., Deshayes C., Chauty A., Cassisa V., Tchibozo S., Cottin J., Doannio J., Marot A & Marsollier L. 2011. Détection des signatures moléculaires de *Mycobacterium ulcerans* chez des punaises aquatiques capturées au Bénin en dehors de leur environnement aquatique. *Medecine Tropicale*, 71: 169-172.
- [23] Doannio JMC, Konan KL, Nansou FD, Koné AB, Konan YL, Sankaré Y, Ekaza E, Coulibaly ND, Odéhoury KP, Dosso M, Sess ED, Marsollier L & Aubry J. 2011. *Micronecta* sp (Corixidae) et *Diplonychus* sp (Belostomatidae), deux hémiptères aquatiques hôtes et/ou vecteurs potentiels de *Mycobacterium ulcerans* agent pathogène de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). *Medecine Tropicale*, 71: 53-57.
- [24] Gohourou F, Yao-Kouassi Q. C., Ahua E. A. 2021. Activités humaines et dégradation des eaux en milieu littoral: cas de la ville de Sans-Pédro (sud-ouest de la Côte d'Ivoire). *HAL*, 327–341.