

Détection des Signatures Moléculaires de *Mycobacterium ulcerans* chez les Hétéroptères aquatiques Prélevés dans les Rizières Urbaines en Côte d'Ivoire

Konan K.L.

Coulibaly N.D.

Allali K.B.

Akaffou M.H.

Kouamé-Diaha C.A.

Coulibaly Z.I.

Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

Doannio J.M.C.

Université Péléforo Gbon Coulibaly de Korhogo

N'Goran K.E.

UFR Biosciences,

Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

Dosso M.

Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

Doi: [10.19044/esipreprint.2.2024.p326](https://doi.org/10.19044/esipreprint.2.2024.p326)

Approved: 14 February 2024

Posted: 18 February 2024

Copyright 2024 Author(s)

Under Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

Cite As:

Konan K. L., Coulibaly N. D., Allali K.B., Akaffou M. H., Kouamé-Diaha C.A., Coulibaly Z. I., Doannio J.M.C., N'Goran K.E. & Dosso M. (2024). *Détection des Signatures Moléculaires de Mycobacterium ulcerans* chez les Hétéroptères aquatiques Prélevés dans les Rizières Urbaines en Côte d'Ivoire. ESI Preprints.

<https://doi.org/10.19044/esipreprint.2.2024.p326>

Resume

Certaines villes de Côte d'Ivoire regorgent des rizières en activité jouxtant les habitations. Elles pourraient être des réservoirs et augmenter les risques de propagation de l'agent pathogène de l'ulcère de Buruli. Cette étude se propose de faire l'inventaire des hétéroptères aquatiques (hôtes et vecteurs de *Mycobacterium ulcerans*) présents dans ces rizières. Ils ont été récoltés dans la végétation aquatique des rizières avec un filet épuisette de type Troubleau. Ils ont été identifiés au laboratoire sous une loupe binoculaire, à l'aide d'ouvrages d'identification. Au total, 481 spécimens,

répartis en 7 familles (Belostomatidae, Ranatridae, Naucoridae, Nepidae, Corixidae, Notonectidae et Gerridae) ont été récoltés. Les Belostomatidae, avec 65,90% (n=317) ont dominé le peuplement. Les Gerridae (n=3) ont été les plus faibles ($p < 0,001$). Sur 24 espèces identifiées, *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) a été la plus abondante dans les rizières ($p < 0,001$). L'indice de Shannon a varié entre 0,74 et 1,87. La richesse spécifique estimée à partir de l'indice de Margalef a donné des valeurs comprises entre 0,82 et 2,39. La composition et la diversité du peuplement ont montré que la diversité dans les rizières était faible ; mais une espèce domine. *Mycobacterium ulcerans* a été détectée 34 lots monospécifiques appartenant à 6 familles et 12 espèces. Dans toutes les rizières, les Belostomatidae et *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) ont été les plus colonisées avec respectivement 17 et 9 lots positifs. *Mycobacterium ulcerans* retrouvée chez les hétéroptères des rizières urbaines pourrait assurer sa dissémination vers les habitations aux alentours et augmenter le risque de contamination.

Mot-cles: Hétéroptères aquatiques, *Mycobacterium ulcerans*, riziculture urbaine, Côte d'Ivoire, transmission

Detection of Molecular Signatures of *Mycobacterium ulcerans* in Aquatic Heteroptera Collected from Urban Rice Fields in Côte d'Ivoire

Konan K.L.

Coulibaly N.D.

Allali K.B.

Akaffou M.H.

Kouamé-Diaha C.A.

Coulibaly Z.I.

Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

Doannio J.M.C.

Université Péléforo Gbon Coulibaly de Korhogo

N'Goran K.E.

UFR Biosciences,

Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

Dosso M.

Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

Abstract

In interior of some cities in Côte d'Ivoire, active rice fields are adjacent to houses. These could be reservoirs and increase the risks of propagation of the Buruli ulcer pathogen. The aim of this study is to make an inventory of aquatic heteropterans; hosts and vectors of *Mycobacterium ulcerans* present in these rice fields. Heteropterans were collected in aquatic vegetation of the rice fields of 8 towns with a Troubleau type net. They were identified in laboratory under a binocular magnifying glass, using identification books. A total of 481 specimens, divided into 7 families (Belostomatidae, Ranatridae, Naucoridae, Nepidae, Corixidae, Notonectidae and Gerridae) were collected. Belostomatidae, with 65.90% (n=317) dominated the stand. The Gerridae family (n=3) was the lowest (p<0.001). Twenty-four (24) species were identified and *Diplonychus nepoides* (Belostomatidae) was the most abundant in all rice fields (p<0.001). Shannon index ranged from 0.74 to 1.87. Species richness estimated from Margalef index gave values between 0.82 and 2.39. Stand composition and diversity showed that diversity in the rice fields was low; but one specie dominated the stand. *Mycobacterium ulcerans* was detected in 34 monospecific batches belonging to 6 families and 12 species. In all rice fields, Belostomatidae and *Diplonychus nepoides* (Belostomatidae) were most colonized with 17 and 9 positive lots, respectively. *Mycobacterium*

ulcerans found in aquatic heteropterans in urban rice fields could ensure its dissemination from the aquatic environment to the surrounding houses and increase the risk of contamination.

Keywords: Aquatic Heteroptera, *Mycobacterium ulcerans*, urban rice cultivation, Côte d'Ivoire, transmission

Introduction

L'ulcère de Buruli est une maladie tropicale négligée due à *Mycobacterium ulcerans*, une bactérie de l'environnement. Elle provoque des souffrances et des incapacités considérables, notamment chez l'enfant de moins de 15 ans. Ses conséquences néfastes tendent à aggraver la pauvreté dans les communautés atteintes (Coulibaly et al., 2015). Les jeunes semblent présenter plus de lésions sur les membres inférieurs. Ils ont plus de risques d'avoir des lésions multiples. Les adultes présentent plutôt des atteintes des membres supérieurs (Marion et al., 2013). Ces différences pourraient être dues aux activités dans l'environnement telles que la pêche, la riziculture, la baignade et le lavage du linge (Debacker et al., 2004). La Côte d'Ivoire, malgré la baisse de l'incidence, demeure le pays le plus touché au monde avec environ 376 nouveaux cas par an (WHO, 2017). Mais, en 2021, avec 239 cas, la Côte d'Ivoire est devenue le troisième pays le plus affecté au monde après l'Australie et la République Démocratique du Congo qui ont respectivement 291 et 259 cas (WHO, 2022). Le taux de prévalence de l'ulcère de Buruli augmente aux alentours des barrages et aux îlots forestiers dû aux nombreuses activités agricoles. Ce taux est très fort dans la vallée du Bandama (région des lacs) et est d'environ 100 malades pour 100 000 habitants à moins de 5 km des barrages (Brou, 2006). Cette zone fournit près de 40% de la production nationale de riz irrigué grâce aux barrages de dérivation (Centre de Cartographie et de Télédétection [CCT], 1999). Corrélativement à la densité des barrages, les régions rizicoles enregistrent un fort taux de prévalence comme l'indique la situation de la région des lacs. L'évolution des paysages, les changements des paramètres climatiques et les pratiques créent des conditions écologiques favorables à la transmission de la maladie (Bourque, 2000; Guégan & Simard, 2015). A l'intérieur de certaines villes de Côte d'Ivoire, il existe plusieurs bas-fonds qui sont aménagés pour l'agriculture et particulièrement la culture du riz (Konan, 2017). Ces espaces, potentiellement à risque, se situent à quelques mètres des habitations. Ils sont fréquentés par les riziculteurs et les maraîchers, ainsi que par la population résidant dans les quartiers limitrophes. Or les hétéroptères aquatiques peuvent pulluler dans pratiquement toutes les collections d'eau (López & Hernández, 2001). Certains ont d'excellentes capacités de dispersion (Ajeegah et al., 2014 ; Mary, 2017) et pourraient être présents dans ces

rizières. Leur comportement migratoire favoriserait la dissémination et la transmission de *M. ulcerans*, hors de l'environnement aquatique (López & Hernández, 2001, Marion et al., 2011). Ces rizières localisées en pleine ville seraient-elles un facteur de risque de l'ulcère de Buruli dans ces localités ? Peu de données existent sur la relation entre les rizières situées en pleine ville et l'ulcère de Buruli ; contrairement au paludisme et la schistosomose (Bolee et al., 2009). Cette étude entomologique sur les vecteurs potentiels a été envisagée pour collecter des données sur la relation entre les rizières urbaines et les hétéroptères aquatiques impliqués dans la transmission *M. ulcerans*, agent pathogène de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire.

1. Méthodologie

1.1. Site d'étude

Cette étude a été réalisée dans les villes de Dabou, Didiévi, Sakassou, Bouaké, Béoumi, Dabakala, Odienné et Zouan-Hounien (Figure 1). Le critère de choix de ces villes est basé sur la présence d'une riziculture en activité à l'intérieur de la ville.

Description des sites d'étude

Dabou est une ville située au sud de la Côte d'Ivoire, à environ 50 km d'Abidjan, entre 05°19' de latitude Nord et 04°23' de longitude Ouest. Le climat présente un cycle bimodal marqué par 4 saisons : une grande et une petite saisons des pluies (avril à juillet et mi-septembre à novembre) et une grande et une petite saisons sèches (décembre à mars et août à mi-septembre) (Kouadio et al., 2003). La pluviométrie annuelle varie entre 1400 et 2300 mm. Le réseau hydrographique est composé de l'Agnéby et ses affluents, le M'borou et le M'pedo. L'agriculture est dominée par les cultures industrielles (hévée) et maraichères (riz, tomate, ...)

Didiévi est une ville située au centre de la Côte d'Ivoire, à environ 295 Km d'Abidjan, entre 7°00' et 7°35' de latitude Nord et 4°55' et 4°40' de longitude Ouest. Le climat est de type "Baouléen" ou tropical humide de transition entre le climat équatorial humide du sud de la Côte d'Ivoire et le climat tropical humide à deux saisons qui prévaut dans le nord. La pluviosité annuelle moyenne est de 1000 à 1400 mm. Le réseau hydrographique appartient au bassin versant du N'zi qui est un affluent du Bandama. Les principaux cours d'eau sont : le Kan Ba, le Moumou, le N'do, le Kassie et Ahougnan N'zue, le Te Houe. L'agriculture est subdivisée en deux types de culture : les cultures vivrières (l'igname, le manioc, le riz, le maïs, l'arachide) et les cultures pérennes (l'anacarde, le café et le cacao).

Sakassou est une ville située au centre de la Côte d'Ivoire, à environ 310 km d'Abidjan, entre 7°26'44.78'' de Latitude Nord et 5°17'26.51'' de Longitude Ouest. Le climat appartient au régime de transition équatorial

atténué (climat baouléen). Il est caractérisé par 4 saisons avec un régime pluviométrique bimodal comprenant 2 saisons de pluies : grande saison des pluies (mi-mars à mi-juillet), intercalées de 2 saisons sèches : grande saison sèche (novembre à mi-février). Le réseau hydrographique est composé de la rivière Kan et le lac de Kossou. La hauteur de la pluie annuelle varie entre 790 et 1372 mm. L'agriculture est dominée par les cultures de rente (l'anacarde, le coton, le cacao) et les cultures vivrières (l'igname, le manioc, le riz et les maraichers).

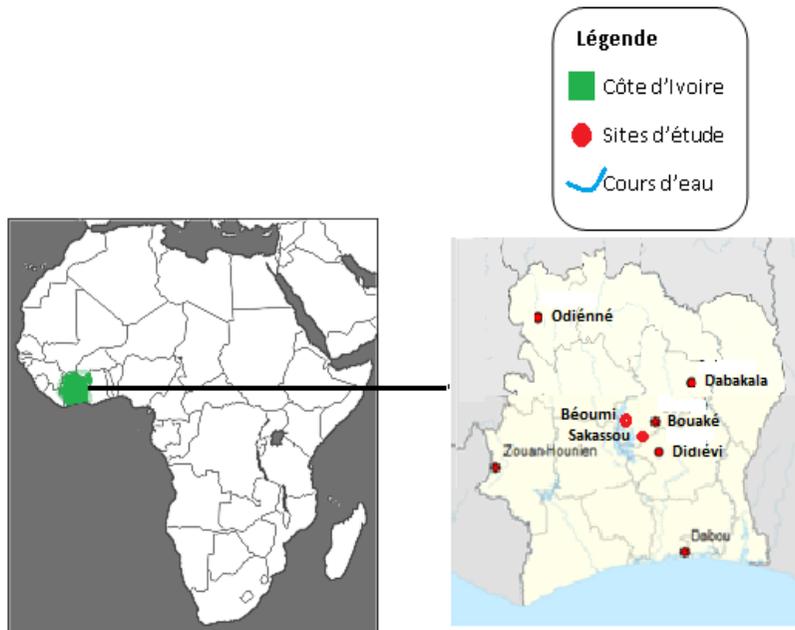


Figure 1. Localisation des sites d'étude

Bèoumi est une ville située au centre-nord de la Côte d'Ivoire, à environ 353 km d'Abidjan, entre le $7^{\circ} 40' 19''$ de Latitude nord et $5^{\circ} 34' 48''$ de Longitude ouest. Le climat appartient au régime équatorial de transition atténué, appelé localement « Climat Baouléen ». Il est caractérisé par 4 saisons. La pluviométrie moyenne annuelle oscille autour de 900 à 1200 mm. L'hydrographie est dominée par le Kan (un affluent du fleuve Bandama), des ruisseaux et lacs constituant un plan d'eau important au développement des activités. L'agriculture, principale activité des populations, est essentiellement dominée par les cultures vivrières (igname, banane plantain, riz, maïs). Les cultures de rente sont : l'anacarde, le café et le cacao.

Bouaké est une ville située au centre-nord de la Côte d'Ivoire, à environ 350 km d'Abidjan, entre $7^{\circ}69'$ de latitude Nord et $5^{\circ}03'$ de longitude Ouest. La ville de Bouaké est influencée par un climat tropical humide

(Climat Baouléen). On distingue deux saisons : la saison des pluies allant de mai à novembre et la saison sèche allant de novembre à mai. Bouaké est arrosée par le Bandama blanc et ses affluents (la Loka, le Kan et le N'Zi). L'agriculture est essentiellement dominée par l'anacarde, l'igname et l'arachide.

Dabakala est une ville située au centre nord de la Côte d'Ivoire, à environ 498 km d'Abidjan, entre 8° 22' de latitude nord et 4° 26' de longitude ouest. Le climat est à cheval sur le climat Baouléen et le climat Soudanais avec prédominance du climat soudanais. On distingue deux saisons bien différenciées. De mai à octobre, correspond la saison des pluies. De novembre à mi-avril, c'est la saison sèche. Les hauteurs annuelles sont comprises entre 759 et 1371 mm. Le réseau hydrographique est composé principalement de la Comoé et du N'Zi et secondairement du Sagbo, m'Bé, Kinkéni et Niargo. L'agriculture est surtout orientée vers la culture d'anacarde et de la mangue. Les cultures vivrières sont : le mil, le riz, le manioc, etc.

Zouan-Hounien est une ville située à l'ouest de la Côte d'Ivoire, à environ 675 km d'Abidjan, entre 6° 55' 00" de latitude Nord et 8° 13' 00" de longitude Ouest. La région de Zouan-Hounien fait partie de la région des montagnes de la Côte d'Ivoire. Zouan-Hounien se trouve en zone forestière et appartient au climat de montagne, marqué par deux saisons : une saison pluvieuse de Mai à Octobre et une saison sèche de Novembre à Mars (Brou et al., 2017). Les précipitations annuelles sont en moyenne de 1866 mm. Les précipitations les plus importantes sont enregistrées en Septembre et sont de 357 mm en moyenne. L'agriculture est la principale activité de la région.

Odienné est une ville située au nord de la Côte d'Ivoire, à environ 867 km d'Abidjan ; entre 9° 30' 05" de latitude nord et 7° 33' 45" de longitude ouest. Le climat est de type tropical (soudanais). On y relève deux saisons : la grande saison sèche (octobre-mai), et la grande saison des pluies ; de juin à septembre (Kouakou et al., 2017). Les précipitations moyennes annuelles sont généralement inférieures à 1300 mm. Le réseau hydrographique est composé par le Gbanfla, le Baoulé, le fleuve Sassandra avec son affluent le Tiemba, et le Dion. L'agriculture est basée sur les produits de rente (le coton, l'anacarde, le soja, le karité, le bois, etc.). Les produits vivriers sont les céréales (riz, maïs, mil et sorgho, l'igname et au manioc).

1.2. Récolte des insectes aquatiques

Les insectes aquatiques ont été prélevés dans la végétation aquatique des rizières à l'aide d'un filet épaisseur de type troubleau, dont les mailles ont un diamètre de 5 millimètres. Le temps imparti pour le prélèvement des hétéroptères aquatiques dans chaque rizière a été de 30 minutes. Dans la

portion de rizière choisie, 10 coups de filet ont été donnés dans la végétation aquatique, au niveau de la vase de fond, en promenant le filet sur une distance de 30 cm pendant 30 secondes (Subramanian & Sivaramakrishnan, 2007). Chaque coup de filet a été ramené sur la berge et le contenu transvasé dans un bac contenant de l'eau. A l'issue de ce temps, un premier tri a été réalisé in situ et a permis de conditionner tous les êtres vivants dans des bocaux contenant de l'eau et des substrats des différentes rizières avant d'être ramenés au laboratoire.

1.3. Identification des hétéroptères aquatiques

Elle a été faite sous loupe binoculaire suivant les caractéristiques morphologiques et à l'aide des ouvrages d'identification (Andersen & Weir, 2004 ; Dethier, 1981 ; Dethier, 1986 ; Iglesias et al., 2008 ; Nieser, 1975 ; Poisson, 1957). Après l'identification, des lots monospécifiques de 1 à 10 individus ont été constitués pour la recherche des signatures moléculaires de *Mycobacterium ulcerans* ; en particulier les séquences d'insertion *IS2404* et la kétoréductase sécrétée par celui-ci.

1.4. Détection de la séquence *IS2404* et de la *Kr* de *M. ulcerans* chez les insectes

Le thorax et la tête des insectes de lot ont été broyés au Potter dans 2 ml de soude à 50 mM. Après une incubation à 100°C pendant 15 min, la neutralisation de la soude est réalisée par un mélange Tris- HCl à 0,1N pH8. Le matériel génétique ainsi extrait a été purifié selon le protocole du kit Mobio. La détection de la séquence d'insertion *IS2404* et de la *Kr* a été réalisée à partir de l'ADN extrait de lots d'insectes par PCR en temps réel (Ngazoa-Kakou et al., 2003). Les PCR en temps réel ont été réalisées sur un ABI 7300 Real time PCR system (Applied Biosystem) dans les conditions ci-après définies : un cycle de 2 min à 50°C, puis d'une dénaturation initiale de 5 min à 95°C, suivi 35 cycles de 15 sec à 95°C et 1 min à 60°C. La collecte de la fluorescence se fait au cours de l'incubation pour les phases simultanées de fixation des amorces et d'élongation (60°C pendant 1 min). Ces dernières réactions ont été effectuées dans un volume final de 25 µl contenant 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8,3 ; 1,5 mM MgCl₂ ; 0,2 mM de chaque désoxynucléotide triphosphate (dNTPs), 0,3 µM de chaque amorce, 0,25 µM de sonde, 0,5 µl de l'atténuateur de bruit de fond (Rox Dye pure), 1 U de *Taq* DNA Polymerase (Promega) et 5 µl d'ADN total extrait.

1.5. Analyse des résultats

Richesse spécifique estimée à partir de Indice de Margalef : $H = S-1 / \ln N$ (S = nombre total d'espèces ; N = nombre total d'individus de l'échantillon ou de la population étudiée)

Indice de Shannon : Formule : $H' = - \sum p_i \ln p_i$ (i : une espèce du milieu d'étude ; p_i : Proportion d'une espèce i par rapport à toutes les espèces (S) du milieu (n_i/N) ; où n_i est le nombre d'individus pour l'espèce i et N est l'effectif total (les individus de toutes les espèces))

Indice de Simpson : Formule : $D = \sum N_i(N_i-1)/N(N-1)$; (N_i : nombre d'individus de l'espèce donnée. N : nombre total d'individus).

Les données recueillies ont été analysées à l'aide du **logiciel XLSTAT 2016.02.28451**. Les tests de Khi-deux ont été utilisés pour comparer les proportions et les moyennes, pour un niveau de signification de 5%.

2. Résultats

2.1. Composition spécifique des hétéroptères aquatiques des rizicultures urbaines

Au total 481 hétéroptères aquatiques ont été récoltés. Le plus grand nombre d'hétéroptères aquatiques a été obtenu dans les villes de Sakassou et Zouan-Hounien avec respectivement 108 (22,45%) et 105 (21,83%). Les nombres les plus faibles d'hétéroptères ont été observés à Dabakala où 23 spécimens (4,78%) ont été dénombrés ($p < 0,0001$). Sept (7) familles ont été identifiées. Ce sont les Belostomatidae, Notonectidae, Ranatridae, Naucoridae, Corixidae, Nepidae et Gerridae. La famille des Belostomatidae a fourni le plus grand nombre de spécimens. En effet, 317 insectes, soit 65,90% du peuplement des rizières ont été composés des individus de cette famille ($p < 0,001$). Les hétéroptères aquatiques les moins représentés dans les rizières ont été les Gerridae avec une proportion de 0,62%. Les Belostomatidae ont également été récoltés dans toutes les rizières des différentes villes. Ils ont par ailleurs été les plus abondants partout. Ils l'ont été davantage dans la rizière de la ville de Sakassou où 84 spécimens ont été récoltés (Figure 2). Quant aux Gerridae, ils n'ont été récoltés que dans les rizières de Sakassou et d'Odienné avec respectivement 2 et 1 spécimens. A côté des Belostomatidae, les familles des Notonectidae et Ranatridae ont été retrouvées dans la quasi-totalité des rizières à l'intérieur des villes. Ce sont dans les villes de Dabou (Notonectidae) et Odienné (Ranatridae) qu'elles n'ont pas été prélevées (Figure 2).

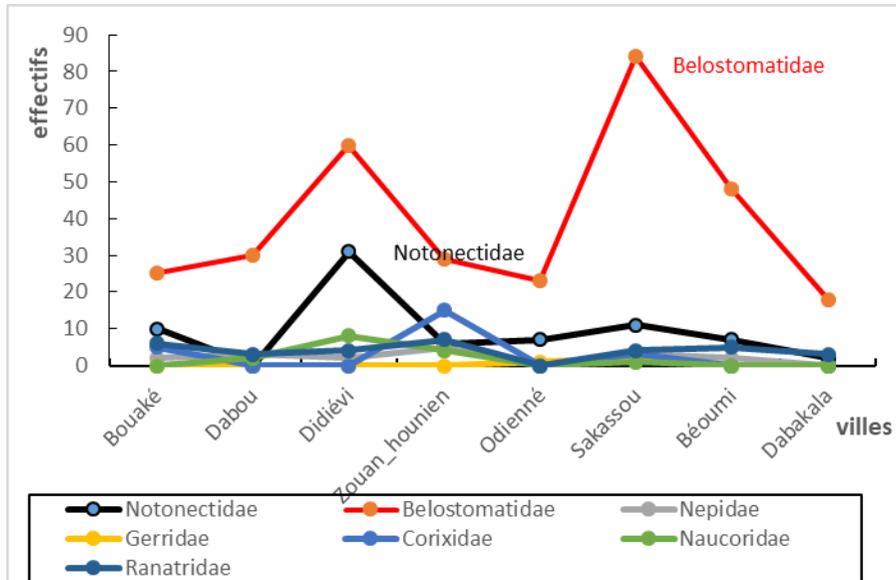


Figure 2. Répartition des hétéroptères aquatiques prélevés dans rizières des différentes villes

Au niveau spécifique, 24 espèces ont été identifiées sur l'ensemble des 481 spécimens récoltés. La richesse spécifique évaluée à partir de l'indice de Margalef (Mg) a donné une valeur de Mg égale à 3,72. Ce qui se traduit de façon générale par une diversité spécifique moyenne. Cet indice a été de même supérieur à 2 dans les rizières de Zouan-Hounien et Sakassou. Dans ces 2 localités la diversité est moyenne. En effet, dans ces 2 villes, le nombre d'espèces obtenu a été le plus élevé avec respectivement 11 et 12 espèces identifiées. Dans les 6 autres par contre, la diversité est inférieure à 2 et donc faible. Le plus faible nombre d'espèces a été obtenu dans la rizière de Dabou et Odienné avec chacune 4 espèces. Pour ce qui est de l'abondance relative, les espèces *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) et *Diplonychus sp* (Belostomatidae) ont été les plus abondants numériquement et ont également dominé le peuplement de toutes les rizières urbaines ($p < 0,0001$). Elles ont eu en effet, des effectifs respectifs de 160 et 147 insectes. L'espèce *Diplonychus nepoïdes* a été récoltée dans toutes les rizières des différentes villes échantillonnées (Figure 3). De même, l'espèce *Ranatra fusca* (Ranatridae), bien que moins abondante que *Diplonychus nepoïdes* a été récoltée dans presque toutes les rizières urbaines, sauf celle d'Odienné. Les espèces avec les plus faibles effectifs ou rares dans les rizières ont été *Lethocerus sp* (Belostomatidae), *Limnogonus sp* (Gerridae), *Naucoris maculata* (Naucoridae) et *Laccotrephes brachialis* (Nepidae) qui ont eu chacune 1 spécimen (Figure 3).

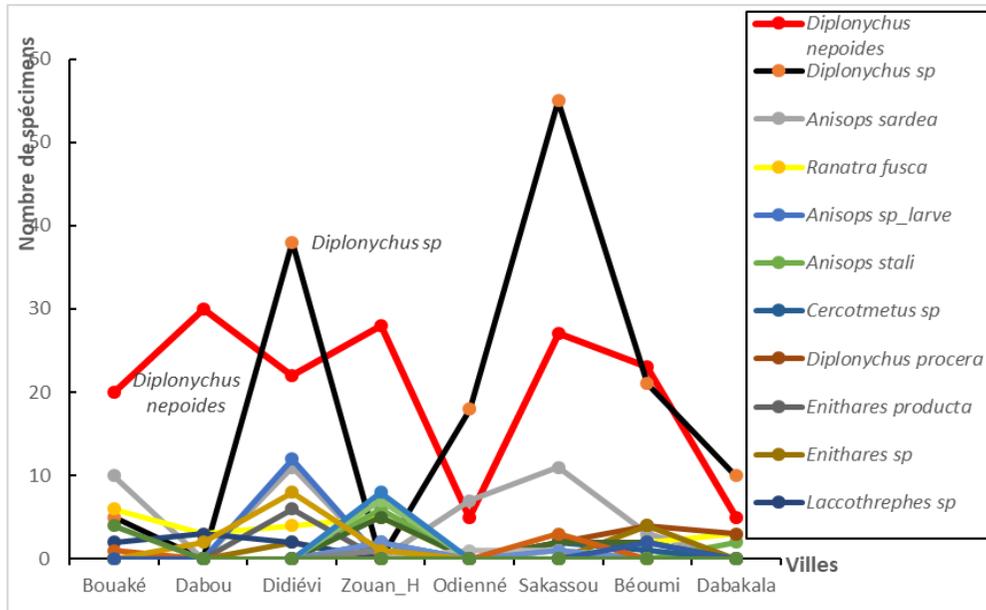


Figure 3. Composition spécifique des hétéroptères aquatiques prélevés dans les rizières à l'intérieur de certaines villes

2.2. Diversité spécifique dans les rizières urbaines étudiées

Pour mesurer la diversité de chaque rizière étudiée, 4 indices ont été calculés ce sont les indices de : Shannon (H'), Simpson (D), Hill et Margalef (Figure 4). L'indice de Shannon calculé a donné les valeurs les plus élevées à Zouan-Hounien et Béoumi, avec respectivement 1,87 et 1,67. Les hétéroptères aquatiques prélevés dans les rizières de ces 2 localités ont été les plus diversifiés en espèces. La valeur la plus faible a été enregistrée dans la rizière de la ville de Dabou, avec $H'=0,74$. Dans cette ville, la richesse spécifique observée a été faible. L'espèce *Diplonychus nepoides* a largement dominé le peuplement avec 79% des spécimens récoltés. Quant à l'indice de diversité de Simpson, il indique que la rizière de Didiévi a eu la diversité la plus élevée ($D=0,20$) ; tandis que celle de Dabou est celle ayant la plus faible diversité ($D=0,78$) (figure 4). A Dabou, une seule espèce ; *Diplonychus nepoides* a été la plus abondante que toutes les autres. Hormis la rizière de Dabou où l'indice de Simpson a été faible, les indices dans les autres localités ont été sensiblement égaux ou la différence n'est pas tellement variable. Quant à l'indice de Hill, les valeurs obtenues dans l'ensemble des localités se rapprochent de 1. La diversité a, par conséquent été faible dans l'ensemble. La richesse spécifique quant à elle a donné le plus grand nombre d'espèces à Sakassou et Zouan-Hounien, avec respectivement 12 et 11 espèces. Ainsi, les valeurs les plus grandes de la diversité de Margalef ont été obtenues à Zouan-Hounien, ($Mg=2,39$). Il y a une forte diversité dans la

rizière de la ville de Zouan-Hounien (Figure 4). La ville de Dabou a présenté la plus faible diversité spécifique ($Mg=0,82$).

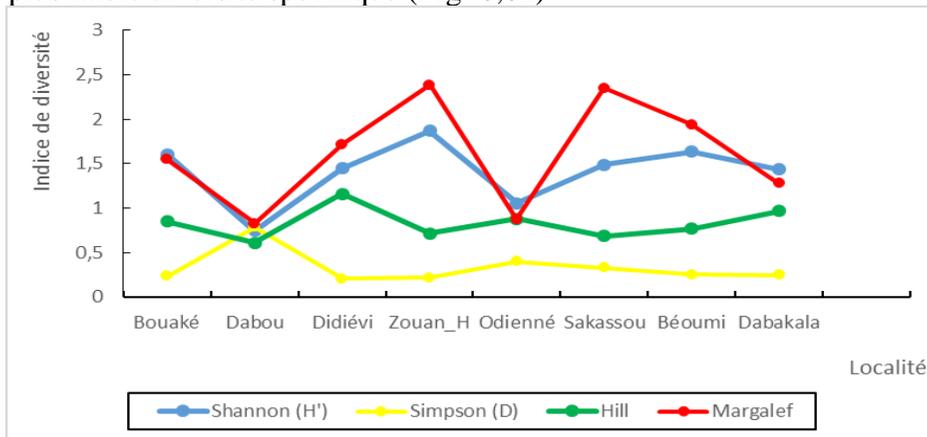


Figure 4. Indice de diversité dans les rizières des localités étudiées

2.3. Détection de la séquence *IS2404* et de la *Kr* de *M. ulcerans* chez les hétéroptères aquatiques des rizières urbaines

Quatre-vingt-un (81) lots monospécifiques ont été formés avec les 481 hétéroptères aquatiques récoltés dans les rizières urbaines. Le plus grand nombre de lots monospécifiques constitué provient de la famille des Belostomatidae avec 28 lots, pour une proportion de 35% ($p < 0,0001$). Quant aux familles des Notonectidae et Ranatridae, 13 lots pour chacune d'elles ont été formés. Le plus petit nombre de lots est issu de la famille des Gerridae où seulement 3 (4%) lots ont été constitués (Tableau 1). La signature moléculaire de *Mycobacterium ulcerans* a été détectée dans 34 lots monospécifiques, soit une proportion de 42% (Tableau 1). Parmi les lots positifs, 17, soit 50% ont été détectés dans les insectes de la famille des Belostomatidae. Le taux d'infection dans cette famille a été de 61%. En revanche, aucun lot positif n'a été obtenu dans les lots de la famille des Gerridae. Quant aux 5 autres familles identifiées, les lots positifs ont varié entre 2 et 6, dont 6 lots positifs et un taux d'infection de 46% pour la famille des Ranatridae.

Au niveau spécifique, la signature moléculaire de *M. ulcerans* a été détectée chez 12 espèces inventoriées, soit 50% des espèces identifiées ont été porteuses de la mycobactérie. Parmi celles-ci, le plus grand nombre de lots positifs a été dénombré chez les espèces *Diplonychus nepoides* (9 lots) et *Diplonychus sp* (8 lots), appartenant toutes les deux à la famille des Belostomatidae ($p < 0,0001$). A côté de celles-ci, 5 lots positifs (14,7%) ont été retrouvés chez l'espèce *Ranatra fusca* appartenant à la famille des Ranatridae. Chez les 9 autres espèces le nombre de lots positifs a varié entre 1 et 3, avec le plus petit nombre de lots positifs ($n=1$), chez les espèces

Enithares producta, *Laccotrephes ater*, *Micronecta haploides*, *Micronecta scutellaris*, *Naucoris maculata*, *Naucoris sp.*, *Ranatra fusca* et *Ranatra quadridentata* (Tableau 2).

Tableau 1. Détection de *Mycobacterium ulcerans* dans les lots monospécifiques d'hétéroptères aquatiques récoltés dans les rizières urbaines

Famille	lots formés	présence de <i>M. ulcerans</i>	Espèces	Séquence IS2404
Belostomatidae	28	17	<i>Diplonychus nepoides</i>	9
			<i>Diplonychus sp</i>	8
Corixidae	5	2	<i>Micronecta scutellaris</i>	1
			<i>Micronecta haploides</i>	1
Gerridae	3	0		0
Naucoridae	8	2	<i>Naucoris maculata</i>	1
			<i>Naucoris sp</i>	1
Nepidae	11	3	<i>Laccotrephes ater</i>	3
Notonectidae	13	4	<i>Anisops sardea</i>	2
			<i>Anisops sp_larve</i>	1
			<i>Enithares producta</i>	1
Ranatridae	13	6	<i>Ranatra fusca</i>	5
			<i>Ranatra quadridentata</i>	1

Il faut également noter que dans toutes les rizières urbaines échantillonnées, autrement dit, dans toutes les localités visitées, la signature moléculaire de *M. ulcerans* a été détectée. Ainsi, le plus grand nombre de lots positifs a-t-il été obtenu dans les villes de Zouan-Hounien et de Didiévi où respectivement 9 (26,46%) et 8 (23,52%) lots positifs ont été dénombrés ($p < 0,00001$) (figure 5). Contrairement à ces 2 villes, Dabou a eu le plus faible nombre de lots positifs où 1 seul lot positif (2,94%) a été déterminé.

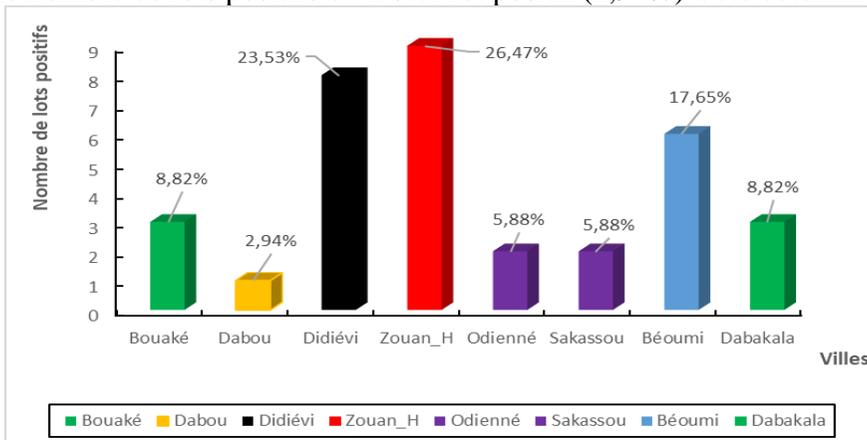


Figure 5. Proportion de lots positifs à *Mycobacterium ulcerans* dans les villes prospectées

3. Discussion

Les rizières et particulièrement celles qui se trouvent à l'intérieur des villes ; souvent à proximité des maisons regorgent de nombreux hétéroptères aquatiques. C'est le cas des 8 villes dans lesquelles cette étude sur les rizières urbaines a été effectuée. La présence et l'abondance des hétéroptères dans ces collections d'eau sont variables en fonction de chaque localité. Dans certaines rizières telles que celle de Sakassou et Zouan-Hounien, de fortes colonies d'hétéroptères sont présentes, alors qu'à Dabakala, bien qu'ils sont présents, leur abondance relative a été très faible. Cette différence d'abondance pourrait être expliquée par l'état phénologique du riz d'une part (Shalan & Canyon, 2009) et d'autre part, de leur tolérance à la qualité de l'eau, des paramètres physico-chimiques de l'eau (Konan et al., 2020 ; Lopèz & Hernandez, 2001), des éléments minéraux et les résidus des produits phytosanitaires qui s'y trouvent (Ajeegah et al., 2014 ; Ben Moussa et al., 2014). Mais quant à Mogi et Miyagi (1990), ils ont affirmé que la présence et l'abondance dans les rizières pourraient être réduites avec les différents stades du riz. La présence d'autres végétaux aquatiques dont ils ont besoin pour assurer leur survie. La présence des hétéroptères dans les rizières se trouvant en pleine ville, vient illustrer celle de Hernandez et al. (2001) qui ont affirmé que les hétéroptères aquatiques colonisent toutes les collections d'eau, qu'elles soient temporaires, permanentes, stagnantes ou à faible débit. La présence des hétéroptères dans les rizières urbaines pourrait être salutaire, car ils jouent un rôle prépondérant dans la régulation des populations préimaginales des moustiques et particulièrement les larves d'*Anopheles* dont les rizières sont des gîtes préférentiels (Shalan & Canyon, 2009). Les rizières urbaines étudiées ont été riches en hétéroptères aquatiques en effet, 7 familles ont été identifiées. Ces résultats confirment ceux obtenus par Konan et al. (2015) qui ont obtenus 8 familles dans les collections d'eau stagnante près des villages dont les Belostomatidae ont été prélevées dans toutes les rizières et ont été les plus nombreux numériquement. Avec 65,90%, la famille des Belostomatidae a été la plus nombreuse en termes d'individus. Cette famille a également été récoltée dans toutes les rizières des différentes localités, avec des abondances numériques les plus élevées. Elle est la mieux représentée dans les milieux aquatiques de Côte d'Ivoire et particulièrement dans les rizières. Duviard et al. (1974) ont également montré que les espèces de la famille des Belostomatidae étaient les plus nombreux lors d'une étude sur l'attractivité des hétéroptères par la lumière. Cette abondance pourrait être également due à leur grande capacité d'adaptation et de colonisation de différents types de milieux aquatiques. Ils ont également montré que *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) était la plus abondante. Nos résultats corroborent ceux de Duviard et al. (1974). En effet, nos résultats ont montré que c'est cette espèce qui a été la plus dominante car *Diplonychus sp* étant

constituée en grande partie des larves de premier et deuxième stades, n'ont pas tous les caractères morphologiques distincts et donc difficile à identifier (Dejoux et al., 1981). C'est par défaut qu'elles ont toutes été appelées *Diplonychus sp.* Le plus grand nombre d'espèces d'Hétéroptères aquatiques a été obtenu à Sakassou et à Zouan-Hounien. En revanche, la richesse spécifique estimée à partir de l'indice de Margalef a permis de montrer une plus grande diversité à Zouan-Hounien. Cela est confirmé par l'indice de diversité de Shannon où sa valeur a été la plus élevée. Il existe plusieurs espèces d'Hétéroptères aquatiques dans la rizière de Zouan-Hounien. Parmi ces espèces, une seule domine le peuplement. *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae), est l'espèce qui domine dans la rizière de Zouan-Hounien et dans les autres rizières. L'indice d'équitabilité a également montré une valeur plus élevée à Zouan-Hounien. Les Hétéroptères aquatiques ont été plus diversifiés en espèces que les autres rizières urbaines. Quant à l'indice de Simpson, il a montré une forte diversité dans la rizière de Zouan-Hounien, alors que celle de Dabou a été la plus faible. Les valeurs des indices de diversité obtenues permettraient de dire que le peuplement des hétéroptères aquatiques étudiés serait relativement diversifié. Mais l'indice de Shannon est faible car varie entre 0,74 et 1,87. Les hétéroptères aquatiques dans les rizières ne sont pas diversifiés ; la distribution des espèces n'est donc pas en équilibre et stable. Cela pourrait faire penser que les conditions du milieu ne seraient pas favorables à leur développement (Nichane & Khelil, 2014). Certains individus n'ont pas été identifiés jusqu'à l'espèce. Parmi eux, il y a *Diplonychus sp* dont la quasi-totalité des spécimens étaient des larves dont les caractéristiques morphologiques externes n'ont pas permis de les classer au sein d'une espèce donnée. Cela a réduit aussi le nombre d'espèces de même que la dominance d'une telle ou telle espèce. Cette population jeune réduirait selon Kouassi et al. (2021) la richesse spécifique et par conséquent rendrait la diversité spécifique faible. Cette faible diversité pourrait être également due à la quantité et à la qualité de l'eau dans les rizières qui conditionneraient le maintien de certaines espèces au détriment des autres et ainsi leur dominance dans le peuplement (Iltis, 1974, Kouassi et al., 2021). Les signatures moléculaires de l'agent causal de l'ulcère de Buruli ont été détectées dans 42% des lots monospécifiques formés à partir des hétéroptères aquatiques prélevés dans les rizières situées dans certaines villes de Côte d'Ivoire. Parmi ces hétéroptères aquatiques, ceux de la famille des Belostomatidae et particulièrement l'espèce *Diplonychus nepoïdes* ont donné le plus grand nombre de lots positifs. Ces résultats confirment ceux obtenus par Konan et al. (2015). Ils ont montré lors de leurs études que la famille des Belostomatidae prélevée dans les collections d'eau stagnante dans le bassin versant du fleuve Bandama et fréquentées par les populations était la plus contaminée (Konan et al., 2015). Quant à Zingue et collaborateurs, ils ont

montré que *Mycobacterium ulcerans* était non seulement présent dans les rizières mais également chez les insectes du genre *Diplonychus* et certaines familles comme les Ranatridae, Nepidae et Corixidae (Zingue et al., 2018). Nos résultats viennent confirmer ceux de Zingue et al. (2018) dans la mesure où nous avons identifié 6 familles (Belostomatidae, Corixidae, Naucoridae, Nepidae, Ranatridae et Notnectidae) porteuses de la Mycobactérie. Ils ont donc conclu que ces réservoirs (Hétéroptères aquatiques) constituaient des facteurs de risque de contamination de l'ulcère de Buruli dans les rizières et autres zones marécageuses. A cela, Gouzilé et al. (2016) ont montré que les bas-fonds rizicoles font partie de la classe de risque élevé de l'ulcère de Buruli par la présence de l'eau, sont des critères favorisant le risque de l'ulcère de Buruli. Une autre étude a montré que l'ulcère de Buruli survient dans les régions situées à proximité des zones irriguées utilisées par les populations pour la production du riz (Abel et al., 2018 ; Boccarossa & Fleuret, 2020). Certains Hétéroptères aquatiques tels que *Diplonychus nepoïdes* ont une bonne capacité de vol et attirés par les sources lumineuses la nuit pourraient disséminer *Mycobacterium ulcerans* vers d'autres endroits où elle n'était pas présente. Ils peuvent aussi l'amener dans les habitations situées à proximité de ces rizières et aussi dans son rayon de vol. Ainsi, selon Ablorday et al. (2015), des réservoirs mobiles pourraient être responsables de l'introduction de *M. ulcerans* vers d'autres milieux.

Conclusion

L'étude dans les rizières présentes à l'intérieur de certaines villes de Côte d'Ivoire a montré la présence de nombreux hétéroptères aquatiques. En effet, les hétéroptères de la famille des Belostomatidae ont été récoltés dans toutes les rizières et les plus abondants aussi bien au niveau des différentes familles que des localités visitées. De ces rizières, 7 familles et 24 espèces ont été identifiées. L'espèce *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) a été l'espèce la plus abondamment récoltée dans toutes les rizières. La recherche par PCR de *Mycobacterium ulcerans*, agent causal de l'ulcère de Buruli a permis de détecter sa signature moléculaire dans 34 des 81 lots monospécifiques constitués. De ces lots positifs, la famille des Belostomatidae et particulièrement l'espèce *Diplonychus nepoïdes* (Belostomatidae) ont été les plus contaminées par *Mycobacterium ulcerans*. Dans chaque ville, la mycobactérie a été détectée dans les tissus de cette espèce. *Diplonychus nepoïdes* pourrait être l'un des vecteurs de la mycobactérie et servir alors de modèle expérimental au laboratoire pour la recherche du mode de contamination de l'ulcère de Buruli. Elle pourrait également être utilisée comme indicateur de facteur de risque de contamination et de dissémination de *Mycobacterium ulcerans* du fait de sa capacité de vol, d'adaptation et son attractivité par les sources lumineuses.

La présence des rizières à l'intérieur des villes pourrait être des facteurs de risque très élevés de contamination de l'ulcère de Buruli dans ces villes. Cette étude pourrait enfin permettre de mettre en place des mesures préventives permettant aux populations vivant à proximité de ces milieux d'éviter tout contact homme-hétéroptères aquatiques.

Remerciements

Les auteurs remercient le ministère de la santé, de l'hygiène publique et de la couverture maladie universelle qui nous a associé aux activités de lutte contre le paludisme dans ces différentes villes. Ils remercient également tous les techniciens de l'INHP qui ont contribué à la réalisation de cette étude ; en particulier Mrs Diallo Adama, Ban M. Sylvestre et Koné Arsène

Conflit d'intérêts : Les auteurs n'ont signalé aucun conflit d'intérêts.

Disponibilité des données : Toutes les données sont incluses dans le contenu de l'article.

Déclaration de financement : Les auteurs n'ont obtenu aucun financement pour cette recherche.

Références:

1. Abel, A., Yao, F. K., Combo, M. K., Archille, D. G. & Issiaka, K. (2018). Sociogéographie des Malades de L'ulcère de Buruli au Centre Saint Michel de Zoukougbeu dans le District Sanitaire de Daloa (Centre Ouest Ivoirien). *European Journal of Social Sciences*, 57(3), 268-276. <http://www.europeanjournalofsocialsciences.com/>
2. Ablordey, A.S., Vandelannoote, K., Frimpong, I. A., Ahortor, E. K., Amissah, N. A., Eddyani, M., Durnez, L., Portaels, F., De Jong, B. C., Leirs, H., Porter, J. L., Mangas, K. M., Lam, M. M. C., Buultjens, A., Seemann, T., Tobias, N.J., & Stinear, T.P. (2015). Whole genome comparisons suggest random distribution of *Mycobacterium ulcerans* genotypes in a Buruli ulcer endemic region of Ghana. *PLoS Negl Trop Dis* 9:e0003681. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003681>
3. Ajeagah, G. A., Kekeunou S., Njiawouo, P. E. N., Foto M. S. (2014). Morphologie et abondance des stades développement d'*Ilyocoris cimicoides* Linne 1758 dans un lac anthropisé en zone tropicale (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 79, 6926 – 6937. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v79i1.7>
4. Andersen, N. M., & Weir, T. A. (2004). Australian water Bugs. Their Biology and Identification (Hemiptera-heteroptera, Gerromorpha and

- Nepomorpha). Aseries facing global biodiversity in insects. *Entomograph*, 14, 344 pages.
5. Ben moussa, A., Chahlaoui, A., Rour, E., & Chahboune, M. (2014). Diversité taxonomique et structure de la macrofaune benthique des eaux superficielles de l'oued khoumane. Moulay idriss Zerhoun, Maroc (Taxonomic diversity and structure of benthic macrofauna of surface water of Khoumane River. Moulay idriss Zerhoun, Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* 5(1), 183-198.
 6. Boccarossa, A., & Fleuret, S. (2020). Observer et comparer les points d'eau fréquentés en milieu villageois : vers une meilleure compréhension des mécanismes de transmission de la maladie de l'ulcère de Buruli au sud-est du Bénin. *Revue francophone sur la santé et les territoires*. <https://doi.org/10.4000/rfst.535>
 7. Boelee, E., Cecchi, P., & Kone, A. (2009). Health impacts of small reservoirs in Burkina Faso. Colombo, Sri Lanka. *International Water Management Institute*. 50p. (IWMI Working Paper 136). doi:10.3910/2009.20
 8. Bourque, A. (2000). Les changements climatiques et leurs impacts. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement* ; 1, (2) ; URL : <http://journals.openedition.org/vertigo/4042>. <https://doi.org/10.4000/vertigo.4042>
 9. Brou, A. L., Kouassi, L. K., Konan, S. K., Kouadio, A. Z., Konan, F. K., & Kamagate. B. (2017). Modélisation Pluie-Débit à l'aide des Réseaux de Neurones Artificiels Multicouches sur le Bassin Versant du Fleuve Cavally à la station d'Ity (Zouan-Hounien, Côte d'Ivoire). *Journal International Sciences et Technique de l'Eau et de l'Environnement*, 2(5), 19-23.
 10. Brou, T., Broutin, H., Dosso, M., & Guegan, J. F. (2006). Impact des modifications d'habitats (déforestation, aménagement hydro-agricoles, extension des cultures) sur la santé des populations rurales : cas de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. *Climate Variability and Change-Hydrological Impacts*, 308 : 685-690
 11. CCT. (1999). Projet sectoriel forestier–Bilan forêt, carte 1/20 000, Abidjan. CNRT. 182 p.
 12. Coulibaly, B., Dibi, K.P., Diobo, K.S., & Koli, B. Z. (2015). Répercussions socio-économiques de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. Exemple de la région du Bélier et du District autonome de Yamoussoukro. *Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement*, (2)
 13. Debacker, M., Aguiar J., Steunou, C., Zinsou, C., Meyers, W. M., Scott, J. T., Dramaix, M., & Portaels, F. (2004). *Mycobacterium*

- ulcerans* disease: role of age and gender in incidence and morbidity. *Trop Med Int Health*, 9, 1297-304.
14. 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 pages.
 15. Dethier, M. (1986). Hétéroptères aquatique 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).
 16. Dethier, M., (1981b). Introduction à la morphologie, la biologie et la classification des Hétéroptères. *Bulletin Romand d'Entomologie*, 1, 11-16.
 17. Gouzile, A.P., Soro, G.E., Kouadio, Z.A., & Goula Bi, T.A. (2016). Evaluation des risques hydro-climatiques et environnementaux liés à l'occurrence de l'ulcère de Buruli dans la région de la Marahoué (Côte d'Ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 10(4), 1637-1650. <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i4.16>
 18. Guégan, J. F., & Simard F. (2015). Changements environnementaux et maladies infectieuses : mieux coordonner la surveillance. *In* Climat et santé. adsp, (93) ; 36 pages.
 19. Iglesias, M. S., Gaspe, M. S., & Valverde, A. C. (2008). A Longitudinal Study of Two Species of *Belostoma* Latreille (Heteroptera: Belostomatidae): Allometry and Ontogeny. *Neotropical Entomology*, 37(6), 662-667. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2008000600006>
 20. Iltis, A. (1974). Phytoplancton des eaux natronées du Kanem (Tchad). VII. Structure des peuplements. *Cahier O.R.S.T.O.M., sér. Hydrobiologie*, 8(1), 51-76.
 21. Konan, J. M. K. A. (2017). Compétition entre bâti et agriculture dans la conquête des bas-fonds de la ville de Bouaké : le savoir-faire ou les actions stratégiques des citoyens-agriculteurs pour préserver les espaces agricoles. *Vertigo-la revue électronique en sciences de l'environnement*. <https://journals.openedition.org/vertigo/18302>
 22. Konan, K. S., Kouassi, K. L., Konan, K. F., Yapo, A. S., & Brou, L. A. (2020). Impacts de l'orpillage sur la morphologie et la qualité des eaux du fleuve Cavally (Zouan-Hounien, Côte d'Ivoire). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 28(2), 515-524. <http://www.ijias.issr-journals.org/>
 23. Konan, K.L., Fofana, D., Koné, A.B., Konan Y.L., Assé, H., Kouassi, D., Dosso, M, Marsollier, L., Aubry, J., N'goran, K.E. & Doannio, J. M. C. (2015). Inventory of aquatic Heteroptera in ponds near the

- villages of six health districts, endemic to buruli ulcer in Côte d'Ivoire (west Africa). *The Experiment*, 31(1), 2012-2021.
24. Kouadio, K.Y., Ochou A. D., & Servain, J. (2003). Tropical Atlantic variability in Côte d'Ivoire. *Geophysical Research Letters*. 30 , 1-5. <https://doi.org/10.1029/2002GL015290>
 25. Kouakou, K. E., Moussa, H., Kouassi, A. M., Goula, B. T. A., & Savane, I. (2017). Redefinition of homogeneous climatic zones in Cote d'Ivoire in a context of climate change. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 8(11), 453-462.
 26. Kouassi, B. A. T., Komoe, K., & Coulibaly, N. S. (2021). Composition spécifique et diversité des microalgues de la retenue de Bacon, au Sud de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 48(3), 8712-8721. <https://doi.org/10.35759/JAnmPISci.v48-3.2>
 27. López, T., & Hernández, J. M. (2001). Répartition des hétéroptères aquatiques (Gerromorpha et Nepomorpha) de la province de Madrid (Espagne). *Milieu et vie*, 51 (3), 113-121.
 28. Marion, E., Deshayes, C., Chauty, A., Cassisa, V., Tchiboza, 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. *Med Trop*, 71, 169-172.
 29. Marion, E., Eyangoh, S., Yeramian, E., Doannio, J., Landier, J., Aubry, J., Fontanet, A., Rogier, C., Cassisa, V. Cottin, J., Marot, A., Eveillard, M., Kamdem, Y., Legras, P., Deshayes, C., Saint-André, J. P., & Marsollier, L. (2010). Seasonal and Regional Dynamics of *M. ulcerans* Transmission in Environmental Context: Deciphering the Role of Water Bugs as Hosts and Vectors. *PLoS Negl Trop Dis* 4(7): e731. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000731>
 30. Marion, E., Landier, J., Eyangoh, S., & Marsollier, L. (2013). L'ulcère de Buruli – Un modèle de recherche transversale dynamique au sein du réseau des Instituts Pasteur. *Med Sci (Paris)*, 29(10), 912–917. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132910021>
 31. Mary, N. (2017). Les macro-invertébrés benthiques des cours d'eau de la Nouvelle-Calédonie. Guide d'identification. Version révisée. DAVAR Nouvelle-Calédonie, OEIL,
 32. Mogi, M. & Miyagi, I. (1990). Colonization of rice fields by mosquitoes (Diptera : Culicidae) and larvivorous predators in a synchronous rice cultivation areas in the Philippines. *Journal of Medical Entomology*, 27(4), 530-536.
 33. Ngazoa-Kakou ES, Ekaza E, Aka N, Coulibaly-N'golo D, Coulibaly B, Dosso M., 2003. Evaluation of real-time PCR for *Mycobacterium*

- ulcerans* in endemic region in Côte d'Ivoire. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (16), 2211-6.
34. Nichane, M., & Khelil, M. A. (2014). Arthropodofaune recensée par la méthode des pots barber dans la forêt de Tamerchalet (Marsa Ben M'hidi – Tlemcen). *Rev. Ivoir. Sci. Technol.*, 24, 93 – 111.
 35. Nieser, N. (1975). The water bugs (Heteroptera: Nepomorpha) of the Guyana region. In *Studies on the fauna of Suriname and other Guyanas. Springer Netherlands*, 16(59), 1-336. DOI: 10.1007/978-94-017-7118-4_1
 36. Poisson, R. (1957). Hétéroptères aquatiques, Faune de France, 61. *Editions Paul lechevalier, 12 Rue de Tournon (VI^e)*. 267 pages.
 37. Shaalan, E. A-S., & Canyon, D. V. (2009). Aquatic insect predators and mosquito control. *Tropical Biomedicine* 26(3), 223–261 PMID: 20237438
 38. Subramanian, K.A. & Sivaramakrishnan, K.G. (2007). Aquatic Insects for Biomonitoring Freshwater Ecosystems - A Methodology Manual. *Asoka Trust for Research in Ecology and Environment*, Bangalore, India, 31pp.
 39. WHO. (2017). Global Health Observatory data repository : Number of new reported cases Data by country. <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A1631>
 40. WHO. (2022). Global Health Observatory data repository-Number of new reported cases data by country. <https://apps.who.int/gho/data/node.main.A1631>
 41. Zingue, D., Bouam, A., Tian, R. B. D., & Drancourt, M. (2018). Buruli Ulcer, a Prototype for Ecosystem-Related Infection, Caused by *Mycobacterium ulcerans*. *Clinical Microbiology Reviews*, (31), Issue 1 e00045-17