



HAL
open science

Analyse écologique des points chauds de choléra en Afrique.

Doudou Batumbo Boloweti

► **To cite this version:**

Doudou Batumbo Boloweti. Analyse écologique des points chauds de choléra en Afrique.. Ecologie, Environnement. Université Bourgogne Franche-Comté; Université de Kinshasa, 2021. Français. NNT : 2021UBFCE031 . tel-03630433

HAL Id: tel-03630433

<https://theses.hal.science/tel-03630433>

Submitted on 5 Apr 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE COMTE
ECOLE DOCTORALE ENVIRONNEMENT SANTE

Thèse en vue de l'obtention du titre de docteur en

SCIENCES DE LA VIE ET DE L'ENVIRONNEMENT

**ANALYSE ECOLOGIQUE DES POINTS CHAUDS DE CHOLERA
EN AFRIQUE.**

Présentée et soutenue publiquement par

Doudou BATUMBO BOLOWETI

Le 13 juillet 2021

Sous la direction de **Gudrun BORNETTE** et **Jean-Jacques MUYEMBE**

Membres du jury

Rapporteur : Christian RACCURT, Professeur, Université Quisqueya, Haïti

Rapporteur : Pascal HANDSCHUMACHER, Chargé de recherche, UMR 1252 SESSTIM IRD, France

Examineurs : Jean François GUEGAN, Directeur CNRS, UMR MIGEVEC, France ; Patrick Giraudoux, Professeur, UMR 6249 Chrono-Environnement, UBFC, France et Catherine DENIEL, UMR CNRS 6524, Laboratoire Magma et Volcans, Université Blaise Pascal-CNRS-IRD, Clermont Ferrand, France.

Directrice de thèse : Gudrun BORNETTE, Directrice CNRS, UMR 6249 Chrono-Environnement, France

Directeur de thèse : Jean Jacques MUYEMBE, Professeur, Université de Kinshasa, RDC

Co-encadrant de thèse : Didier BOMPANGUE, Professeur associé, Université de Kinshasa/RDC et chercheur associé UMR 6249 Chrono-Environnement/France.



Remerciements/Dédicaces

A la fin de ce travail, je souhaite adresser mes vifs remerciements aux personnes qui m'ont aidé et qui n'ont ménagé aucun effort dans l'élaboration de ce présent travail. Tout d'abord à nos Directeurs de thèse Gudrun BORNETTE et Jean Jacques MUYEMBE TAMFUM qui ont accepté de diriger ce travail malgré leurs multiples occupations. Je tiens à remercier plus particulièrement Gudrun dont l'encadrement nous a été d'une aide exceptionnelle.

Après les Directeurs, naturellement, j'aimerais remercier de tout cœur mes encadrants de thèse, les Professeurs Didier BOMPANGUE NKOKO et Roger KIZUNGU VUMILIA pour l'encadrement, la confiance et les encouragements tout au long de cette thèse.

Aussi, je garde une pensée pieuse et pleine de reconnaissance au Professeur Patrick GIRAUDOUX, dont l'appui en statistiques a été essentiel et nous a grandement aidé à voir le bout du tunnel. Nous vous disons merci pour vos sacrifices. Je n'oublierai pas les Professeurs Frederic MAUNY et Emmanuel GARNIER de Chrono-environnement pour leur appui scientifique durant cette thèse.

J'adresse également une pensée pleine de gratitude à madame Catherine DENIEL, du laboratoire Magmas et Volcans, Université Blaise Pascal-CNRS-IRD, Clermont Ferrand, pour m'avoir initié au fonctionnement des volcans et pour ses orientations pertinentes tout au long de cette thèse.

Je remercie les membres du comité de pilotage de la thèse pour leur accompagnement durant cette thèse : Hélène CELLE-JEANTON, Hélène MASCLAUX et Jean Hughes HENRYS.

Mes remerciements s'adressent également à tous les responsables du laboratoire Chrono-environnement de Besançon pour m'avoir accueilli en son sein, cadre idéal qui m'a permis de réaliser ce travail.

Mes remerciements s'adressent également au Directeur de recherche de l'Observatoire Volcanologique de Goma (OVG), monsieur Célestin MAHINDA KASEREKA, qui a accepté la collaboration et qui nous accueilli plusieurs fois pour des échanges dans cette structure respective.

Merci à tous mes collègues de l'Unité de Recherche et de Formation sur l'Ecologie et le Contrôle des Maladies Infectieuses (URF-ECMI), Service de Microbiologie, Département de Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université de Kinshasa pour le soutien, les encouragements et leurs apports durant ces années de travail. Je pense particulièrement à madame Fanny MVIOKI et Farida MWANZA, Annie MUTOMBO, aux docteurs Tonton VITA, Nadège TATY, Bien Aimé MANDJA, Germain KAPOUR, Harry KAYEMBE, Guyguy KAMWIZIKU, Julien NTAONGO, Erick BOKABO et sans oublier Serge MAZAMAYI avec qui beaucoup de choses sont partagées. Nous pensons également à Papy ANSOBI, Josué INDEKO ainsi que Fulgence NGIAMA, Nathan SEFELE et Beni SALEH.

A mes amis et collègues du laboratoire Santé et environnement d'Haïti pour leur soutien. Je pense à Kenny MOISE et Melody ACHILLE.

Merci également à mes collègues du laboratoire de l'ISTM de Bukavu pour leurs apports à ce travail de thèse, particulièrement à madame Professeur WIMBA KAYANGE Louisette et monsieur Aksanti Lwango Antoine.

Ce travail de recherche est dédié :

A ma très chère mère Thérèse BEMBANGA MPIA, qui n'a cessé d'être pour moi une véritable source de bénédictions durant ces cinq ans de thèse. A mon défunt père Edouard BATUMBO BILE MPETI, qui aurait pu être fier pour l'aboutissement de ce grand travail (que la paix soit sur son âme et sur celles de tous les défunts).

A mes frères, sœurs, cousin(e)s, neveux, nièces, oncles et tantes pour l'attention et le soutien que vous avez apporté au quotidien même à distance dans ma vie et surtout pendant cette période de recherche et de formation.

A ma défunte petite sœur MPIA BATUMBO, qui hélas malgré ses sacrifices, a été arraché très tôt à la vie et n'a pas vu le couronnement de ce travail.

J'adresse également ma reconnaissance à toute ma famille chrétienne pour leur soutien depuis toujours. Je pense plus particulièrement aux pasteurs Billy MBO ELUNDJA, Barthelemy KAMBALE Et Marc MPUTUNGOLO.

A mes collègues du ministère de la santé de la RDC pour leur attachement et soutien durant toutes ces années de formation, nous pensons aux Directeurs BOKABO BONSE et Gédéon Samba, aux Docteurs Aimé KINGILI, EMOMO, JC MUTOMBO, JP BASAKE, José MBOTO, Espoir MOKWA, Godé BOKWANGO, MPUTU EKANGA, Junior NYEMABO et autres que je n'ai pu citer, la liste étant longue.

Enfin, le travail est dédié aux familles BOMPANGUE, PINDI, à tous mes ami(e)s et connaissances de la RD. Congo, de la Belgique, de la France et de partout ; chacun se reconnaîtra dans ce travail où qu'il soit pour son soutien aux multiples dimensions durant ces années de recherche.

Epigraphe

« Exige beaucoup de toi-même et attends peu des autres. Ainsi tu réussiras dans tes entreprises »

Doudou BATUMBO BOLOWETI

Table des matières

Résumé	8
Objet général et plan de la thèse	9
Chapitre 1. Introduction-Etat de l'Art.....	13
1. Généralités sur le Choléra.....	13
✓ 1.1 Agent pathogène	13
1.1.1 Découverte et caractéristiques de la bactérie	13
1.1.2 Classification et souches de la bactérie	14
1.1.2.1 Classification des vibrions	14
1.1.2.2 Les souches de <i>Vibrio cholerae</i>	15
1.1.3 Pouvoir pathogène du <i>Vibrio cholerae</i>	17
✓ 1.2 Modes de transmission du choléra	18
✓ 1.3 Physiopathologie et tableau clinique du choléra	21
1.3.1. Physiopathologie	21
1.3.2. Manifestations cliniques	23
✓ 1.4 Diagnostic bactériologique du choléra.....	24
2. Ecologie des Vibrions pathogènes	28
✓ 2.1 Habitat de <i>Vibrio cholerae</i>	28
✓ 2.2 Contrôles biologiques de <i>Vibrio cholerae</i>	30
✓ 2.3 Contrôle descendant de <i>V. cholerae</i> par les prédateurs micro-brouteurs	32
✓ 2.4 Déterminants environnementaux de <i>V. cholerae</i>	32
2.4.1 Déterminants abiotiques.....	32
2.4.2 Déterminants biotiques.....	34
✓ Association avec les micro-crustacés:	36
✓ Association aux algues :	36
✓ Association aux poissons :	36
3. Situation épidémiologique du choléra.....	37
✓ 3.1 Les Sept pandémies du choléra.....	38
✓ 3.2 Histoire du choléra en Afrique	38
✓ 3.3 Situation épidémiologique du choléra lors de ces dix dernières années en Afrique.....	42
4. Débats d'idées sur l'endémicité du choléra dans un espace géographique	44
5. Les Verrous scientifiques, questions de recherche, hypothèses et objectifs de l'étude	47
6. Hypothèses de la thèse	48
7. Les Objectifs de la Recherche	49
Chapitre 2. Matériels et Méthodes	51
2.1 Sites d'étude	51
✓ 2.1.1. Le continent africain.....	51

✓ 2.1.2. La vallée du rift et le lac Kivu.....	52
2.2. Collecte et organisation des données.....	58
2.2.1 Données épidémiologiques.....	58
2.2.1.1 Afrique (1970-2019).....	58
2.2.1.2 RDC (2000-2019).....	59
2.2.2 Les Données de confirmation biologique.....	61
2.2.3 Enquête épidémiologique de terrain.....	62
2.2.4 Données environnementales.....	62
2.2.4.1 Physico-chimie des travaux d'eaux.....	62
2.2.4.1.1 A l'échelle du continent Africain	62
2.2.4.1.2 A l'échelle des ZS	63
2.2.4.2 Données météorologiques.....	64
2.2.4.3 Activité volcanique du volcan Nyiragongo (2007-2012 ; 2016-2017)....	64
Chapitre 3. Dynamique et facteurs de risque de la septième pandémie de choléra en Afrique.....	66
Article 1 : Dynamics and risk factors of the seventh cholera pandemic in Africa.....	67
Chapitre 4. L'activité volcanique contrôle les épidémies de choléra.....	91
Article 2. Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift.....	92
Chapitre 5. Facteurs de risque individuels de transmission du choléra à Bukavu (République démocratique du Congo) : influence relative de la transmission environnementale et humaine.	113
Article 3 : Individual risk factors for cholera transmission in Bukavu (Democratic Republic of the Congo) : relative influence of environmental and human transmission.	114
Chapitre 6. Discussion Générale et Perspectives	142
1. Principaux résultats apportés par cette étude.....	142
2. Limites de l'étude.....	148
3. Perspectives.....	149
4. Perspectives opérationnelles.....	152
Références Bibliographiques	154
Liste de publications et communications relatives aux travaux de recherche de la thèse.	169
Liste des tableaux.....	174
Table des figures	175
Annexe.....	177

Résumé

Le choléra est une maladie diarrhéique aigue sévère causée par *Vibrio cholerae*, bactérie Gram négatif qui colonise les eaux de surface, chaudes, salines, alcalines, souvent en association avec le phyto ou le zooplancton. Après 50 ans d'introduction du choléra en Afrique, la maladie affecte de manière très forte les pays d'Afrique. Le travail de doctorat a eu pour objectif de tenter d'élucider les causes de l'endémicité du choléra en Afrique et à l'échelle d'un secteur du rift, le lac Kivu et la zone de santé de Katana, située en république démocratique du Congo.

Une carte des espaces vulnérables aux épidémies de choléra a été élaborée pour le continent africain qui montre un plus grand nombre de territoires vulnérables au niveau de la vallée du Rift et autour du bassin du lac Tchad. Cette première étude a mis en évidence la relation entre l'existence de masses d'eau salées (lagunes, lacs, cours d'eau) et l'endémicité de la maladie. Dans ces conditions environnementales, le risque cholérique est exacerbé, d'autant plus lorsque les pays sont économiquement faibles, et politiquement instables. En Afrique continentale, l'étude a permis de montrer une bonne superposition entre les secteurs de forte activité volcano-tectonique (Vallée du Rift Africain) et l'endémicité du choléra. L'étude de la dynamique du choléra dans une zone de santé de la vallée du Rift (la zone de santé de Katana en République Démocratique du Congo) a démontré que l'activité volcanique joue un grand rôle dans la survenue et le maintien des épidémies de choléra. Ainsi, le travail a pu démontrer que l'activité volcano-tectonique (mesurée par la concentration en SO₂ du panache de fumée du volcan Nyiragongo) régissait la température et la salinité des eaux du lac Kivu, et la présence du bacille dans l'eau du lac et les poissons. L'étude a pu montrer également que la présence du bacille dans le lac était très fortement corrélée aux données épidémiologiques des cas de choléra de la zone de Katana. Une seconde étude portant sur les pratiques des habitants de Bukavu, au sud du lac Kivu a pu démontrer que la contamination individuelle au choléra est prioritairement liée à la manipulation et consommation des produits du lac (eau ou poissons).

Ce travail de doctorat a permis de cibler des espaces vulnérables de choléra en Afrique, et l'impact de l'activité volcanique dans la dynamique du choléra en Afrique continentale, Ces

informations sont indispensables pour bâtir des stratégies efficaces et ciblées de lutte contre le choléra dans le continent Africain conformément à la feuille de route mondiale élaboré par le groupe de travail mondial sur la lutte contre le choléra en 2017.

Mots clés : choléra, Afrique, Vallée du Rift Africain, bassin du lac Tchad, République Démocratique du Congo, volcan, facteurs environnementaux.

Objet général et plan de la thèse

Les maladies infectieuses constituent une menace importante pour l'humanité. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), elles sont redevenues la première cause de mortalité chez les enfants et les jeunes adultes dans le monde. Ces maladies provoquent plus de 13 millions de décès chaque année, dont la majorité se produisent dans les pays en développement (Huerre & Hofman, 2000). Parmi elles, certaines maladies, qui étaient en bonne voie de contrôle ou d'élimination, présentent de nouvelles réémergences, et une tendance à une plus large extension géographique. Il s'agit notamment du paludisme, qui touche près de 500 millions de personnes dans le monde, de la tuberculose, qui est la cause de décès d'environ 3 millions de personnes chaque année, ou encore du choléra, qui reste endémique dans de nombreux pays en développement (Huerre & Hofman, 2000). Le choléra est une maladie diarrhéique aqueuse aiguë causée par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par les souches toxigènes de *Vibrio cholerae* de sérogroupes O1 ou O139 (Ghouth, 2020). Le réservoir des bacilles est environnemental en période inter-épidémique et essentiellement humain en période épidémique (Sirajul Islam et al., 2020). Le réservoir humain entre en jeu en cas d'épidémie, il comprend les malades, les cadavres de sujets morts de choléra, manipulés pour leur mise en terre, et les porteurs sains asymptomatiques.

La septième pandémie de choléra a provoqué une forte morbidité dans le monde entier depuis plus de 50 ans, avec la morbidité la plus élevée en Afrique, en Amérique et en Asie du Sud. Des épidémies de choléra explosives ont été observées ces dix dernières années dans plusieurs pays africains.

Dans le cadre de ce travail doctoral, j'ai tenté de comprendre et d'identifier les différents facteurs expliquant la persistance des épidémies de choléra dans la vallée du Rift Africain, une région à forte endémicité sur le continent. J'ai abordé cette problématique selon deux angles : (1) en recherchant les sites présentant au moins pour une partie du temps les caractéristiques de la niche environnementale de *Vibrio cholerae* et en reliant ces caractéristiques aux flambées épidémiques de choléra (2) en recherchant les pratiques anthropiques qui favorisent la contamination des sujets et la diffusion du bacille.

Ce travail est organisé en 6 chapitres.

- Le premier chapitre fait une synthèse des connaissances sur le sujet. Plus précisément, les caractéristiques de la maladie et de son germe causal sont détaillées, ainsi que les caractéristiques de la niche écologique du bacille. L'état des connaissances sur les facteurs contribuant à la persistance de la maladie dans certaines zones géographiques dans le monde, et en particulier dans le Rift Africain, est également détaillé dans ce chapitre.
- Dans le deuxième chapitre, les sites retenus dans l'étude et les données utilisées sont décrits. En particulier, les caractéristiques géographiques, sociales, et démographiques de l'Afrique en général, de la vallée du Rift Africain en particulier sont décrites. Les méthodes de collecte des données, leur organisation sont synthétisées dans ce chapitre.

Les chapitres 3 à 5 sont constitués par les 3 articles scientifiques constituant le cœur des résultats de la thèse :

- Le troisième chapitre cherche à identifier les clusters spatiaux à haut risque du choléra à l'échelle des pays d'Afrique. A cet effet, une analyse utilisant la méthode de balayage de fenêtre mobile de Kulldorff a été utilisée. Aussi, une cartographie des espaces qui seraient les probables niches du *Vibrio cholerae* dans le continent Africain à partir des données de salinité des masses d'eau obtenues par la revue de la littérature et un modèle pour identifier les facteurs impliqués dans la survenue des épidémies dans les différents pays de l'Afrique. Les analyses du chapitre 3 sont également présentées sous

forme d'un article scientifique à publier en langue anglaise, précédé d'un résumé en français.

- Le quatrième chapitre établit les relations entre l'occurrence de cas de choléra dans le secteur du lac Kivu, et l'activité volcanique du Nyiragongo. Il démontre que l'activité volcanique est fortement corrélée aux caractéristiques physico-chimiques des eaux de surface du lac (en particulier température et conductivité/salinité), et la charge en *vibrio* des eaux de surface et des poissons, et que ces caractéristiques sont fortement corrélées à la dynamique des épidémies dans la zone riveraine de Katana. Le chapitre 4 fait l'objet d'un Article scientifique publié dans *PLOS Neglected Tropical Diseases*.
- Le cinquième chapitre cherche à identifier les facteurs individuels de contamination au choléra. A cet effet, une étude cas-témoins a été réalisée dans la ville de Bukavu. Il était question de vérifier l'hypothèse nulle (H_0) selon laquelle la contamination au choléra pourrait-être liée à certains facteurs tels que l'utilisation de l'eau du lac comme principale source d'eau de boisson, la consommation fréquente des produits pêchés dans le lac Kivu, la consommation fréquente de la nourriture mal conservée vendue dans les rues ainsi que de l'eau impropre vendue en sachet. Les méthodes de régression multiples couplées à celles des arbres de régression ont été utilisées pour vérifier le lien entre la contamination au choléra avec les différentes covariables. Le chapitre 5 fait l'objet d'un article scientifique en voie de soumission dans *PLOS One*.
- Enfin, le sixième chapitre consiste en une discussion globale, et reprend, dans un premier temps, les principaux résultats obtenus qui ont été soumis à une analyse critique en tenant compte des connaissances scientifiques actuelles. Dans un deuxième temps, il formule des recommandations opérationnelles et propose des perspectives pour améliorer la compréhension sur la lutte contre le choléra en Afrique et plus particulièrement en RDC.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION - ETAT DE L'ART

Chapitre 1. Introduction-Etat de l'Art

1. Généralités sur le Choléra

1.1 Agent pathogène

Le choléra est une maladie très contagieuse provoquée par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par une bactérie, *Vibrio cholerae*. Cette bactérie produit une entérotoxine entraînant des diarrhées et pouvant aboutir à une déshydratation sévère et à la mort en l'absence de traitement (Moreno et al., 2015; Diop et al., 2012; Ivers & Walton, 2012). Ce sont des bacilles généralement isolés, Gram négatif, droits ou incurvés, majoritairement mobiles (Bueno et al., 2020). Ils sont chimio-organotrophes, aérobies-anaérobies facultatifs et possèdent un métabolisme respiratoire et fermentatif ainsi que, pour la plupart des espèces, une oxydase. Ce sont des bactéries halophiles, isolées d'environnements aquatiques et généralement capables de croître sur milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose (TCBS ; CDC, 2013).

1.1.1 Découverte et caractéristiques de la bactérie

Vibrio cholerae (appelé vibron cholérique ou bacille virgule, figure 1) a été initialement observé en 1854 par Filippo Pacini mais a été isolé plus tard par Robert Koch en 1883 (Koch, 1884). C'est une protéobactérie gram négative, appartenant à la famille des *Vibrionaceae*. Elle mesure environ 1,3 microns, a une forme de bâtonnet incurvé et possède une flagelle polaire unique qui lui confère une grande mobilité (Dunoyer, 2013).



Figure 1. Photographie électronique du *Vibrio cholerae*. Source :

http://www.nature.com/nature/journal/v406/n6795/fig_tab/406469a0_F1.html. Reprint license number 2273550511527.

1.1.2 Classification et souches de la bactérie

1.1.2.1 Classification des vibrions

Les Vibrionaceae constituent un groupe très varié qui comprend des bactéries pathogènes et non pathogènes (Reen et al., 2006). Les Vibrionaceae font partie du microbiote marin et fluvial et on les trouve aussi bien en vie libre qu'en association avec des surfaces biotiques et abiotiques (Reen et al., 2006).

La famille des Vibrionaceae comprend huit genres, dont les mieux étudiés sont *Vibrio* et *Photobacterium*. Ces genres ont un éventail étonnamment large d'hôtes, et vont des pathogènes aux symbiotes. Le genre *Photobacterium* comprend les espèces telles que *Photobacterium phosphoreum* qui est un symbiote bioluminescent des méduses. Aucune de ces espèces de ce genre n'est pathogène ou symbiote obligatoire, car elles vivent en liberté dans leur environnement naturel (Range, 2012).

Le genre *Vibrio* regroupe *Vibrio cholerae* et les autres vibrions. Les espèces du genre *Vibrio* regroupe des pathogènes et des saprophytes (Reen et al., 2006).

Parmi les autres vibrions pathogènes de l'homme, sont répertoriées :

- *Vibrio vulnificus*, qui provoque des septicémies chez l'homme lors de blessures et de manipulation de mollusques et de crustacés,
- *Vibrio parahaemolyticus*, principalement transmise lors de la consommation de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits, il est responsable de gastro-entérites aiguës chez l'homme (Range, 2012).

Il existe également d'autres espèces pathogènes, qui causent des maladies chez certaines espèces animales. Beaucoup d'entre elles revêtent une importance particulière car elles rendent malade et tuent des espèces liées à l'aquaculture, et entraînent des pertes économiques importantes pour le secteur. Les espèces suivantes peuvent-être concernées :

- *Vibrio anguillarum*, qui provoque la vibriose chez le saumon d'élevage,
- *Vibrio tubiashi*, qui tue les huîtres du Pacifique (Range, 2012).

- *Vibrio harveyi*, qui provoque la vibriose chez les crevettes (Range, 2012).

Par ailleurs, d'autres espèces ont un effet négatif sur l'industrie alimentaire en établissant une symbiose avec leurs hôtes. C'est le cas du poisson-globe et de son symbiote *Vibrio alginolyticus* (Arakawa et al., 2010). La chair du poisson globe est très toxique pour l'homme, à l'exception de certaines parties ; cependant, les parties comestibles sont un met délicat dans des pays comme le Japon, où il est connu sous le nom de fugu. Certaines espèces de poisson globe sont toxiques en raison d'une toxine produite par son symbiote *Vibrio alginolyticus* (Arakawa et al., 2010), qui protège son hôte des prédateurs dans son environnement naturel (Range, 2012).

Certaines souches pathogènes présentent des risques écologiques. C'est le cas de *Vibrio mediterranei*, *Vibrio shiloi*, et *Vibrio corallilyticus*, qui seraient les principales causes du blanchiment des coraux. Ces vibrions attaquent les endosymbiontes (zooxanthelles) du corail, et la perte de ces symbiotes pigmentés entraîne le blanchiment du corail (Range, 2012).

Parmi les espèces saprophytes, *Vibrio harveyi* et *Vibrio fischeri* sont les plus souvent cités. *V. fischeri*, est une espèce bioluminescente, qui établit une relation symbiotique avec le calmar hawaïen *Euprymna scolopes*. Il colonise l'organe lumineux du calmar et fournit une luminescence qui, pense-t-on, confère à son hôte une protection contre les prédateurs en annulant son ombre lunaire (Range, 2012).

1.1.2.2 Les souches de *Vibrio cholerae*

Actuellement, près de 200 sérogroupes ont été recensés et classifiés selon la structure du lipopolysaccharide antigénique "O" (LPS). Seuls les sérogroupes O1 et O139 sont pathogènes pour l'homme et responsables des épidémies de choléra (Dan-Nwafor et al., 2019; Lekshmi et al., 2018). En effet, ces deux sérogroupes sécrètent la toxine cholérique qui est à l'origine des manifestations cliniques du choléra (Qadri et al., 1999).

Les souches qui ne sont pas agglutinées par les sérums anti-O1 et anti-O139, et qui présentent les caractères biochimiques propres à l'espèce *Vibrio cholerae*, mais ne sont pas impliquées dans les épidémies de choléra sont appelées *Vibrio cholerae* non O1 et non O139. Ces souches

sont impliquées dans la survenue des diarrhées non cholériques chez l'homme, mais peuvent provoquer des diarrhées sanglantes, des gastro-entérites et des infections extra-intestinales (Bag et al., 2008; Dalsgaard et al., 1995).

Les souches du sérogroupe O1 de *Vibrio cholerae* comprennent deux biotypes principaux, classique et El Tor, qui se distinguent par des traits phénotypiques, biochimiques et génétiques majeurs (Safa et al., 2010). Le biotype classique *Vibrio cholerae* O1 a causé les six premières pandémies de choléra et le biotype El Tor est responsable de la septième pandémie, en cours depuis 1961 (Calia et al., 1998). Au sein de chaque biotypes, les souches O1 de *Vibrio cholerae* comportent trois sérotypes : Ogawa, Inaba, et Hikojima (Stroeher et al., 1992).

Le sérogroupe O139 est apparu en 1992 dans le détroit du Bengale. Selon de nombreux chercheurs, *V. cholerae* O139 est probablement issu de la souche El Tor du *V. cholerae* O1 qui a été le siège de recombinaisons ayant entraîné la substitution du groupe de gènes codant pour le sérogroupe O1 par le groupe de gènes codant pour le sérogroupe O139 (Calia et al., 1998). Deux éléments génétiques différencient *V. cholerae* O139 et *V. cholerae* O1 : un élément transmissible qui médiate la résistance au triméthoprime, au sulfaméthoxazole et à la streptomycine, et la présence du vibriophage de type AK (Calia et al., 1998).

Les souches de *Vibrio cholerae* appartenant à un même biotype et même sérotype peuvent être différenciées par leur susceptibilité aux bactériophages qui induisent les îlots de pathogénicités dans le matériel génétique de la bactérie (Faruque et al., 2005).

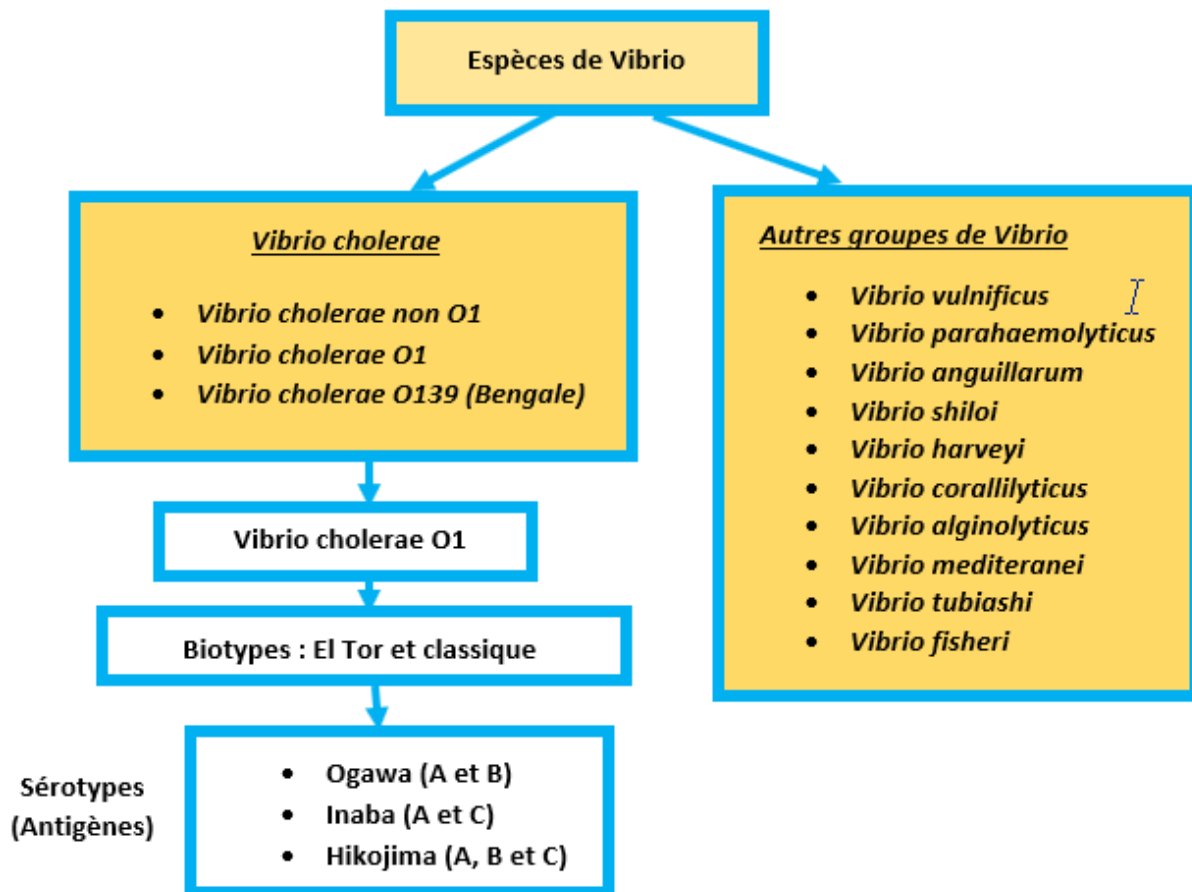


Figure 2. Classification des types de souches de Vibrio

1.1.3 Pouvoir pathogène du *Vibrio cholerae*

Cette bactérie en elle-même n'est pas pathogène. L'acquisition des caractères pathogènes de *V. cholerae* serait le fruit de l'inclusion dans le génome bactérien de génomes viraux (Bhattacharya et al., 2016; Calia et al., 1998; Hounmanou et al., 2019; Pham et al., 2018). Deux bactériophages sont impliqués et confèrent au *V. cholerae* un ensemble de caractères de virulence, incluant des facteurs favorisant sa fixation sur la muqueuse intestinale et une toxine provoquant les symptômes du choléra.

La capacité d'une souche de *V. cholerae* à provoquer le choléra chez l'homme dépend donc de deux ensembles de gènes appelés îlots de pathogénicité provenant des bactériophages VPI Φ et CTX Φ (Waldor & Mekalanos, 1996). Le premier îlot, appelé Toxin Coregulated Pilus (TCP), est en fait le génome du bactériophage VPI Φ , qui se transmet d'un *V. cholerae* à un

autre (Waldor & Mekalanos, 1996), et contient les gènes responsables de la synthèse de facteurs permettant la colonisation des muqueuses intestinales de l'homme (Faruque & Mekalanos, 2003). Le deuxième ensemble de gènes de virulence correspond au génome du bactériophage CTX Φ , qui code pour l'entérotoxine cholérique (CT), responsable des symptômes du choléra (diarrhée aqueuse de riz cholérique, déshydratation, etc ; Silva & Benitez, 2016). Une fois dans l'intestin, les vibrions sécrètent des entérotoxines (toxines cholériques), principales responsables de l'importante déshydratation qui caractérise l'infection. Les pertes d'eau et d'électrolytes peuvent atteindre jusqu'à 15 litres par jour (Quilici, 2011).

La bactérie ingérée par l'humain colonise l'intestin grêle et produit une entérotoxine (sous-unités A et B de la toxine du choléra, ctx AB) (Dalusi et al., 2015; Kirchberger et al., 2016). Les différentes souches pathogènes de *Vibrio cholerae* libèrent par la suite de nouveaux bactériophages d'une part dans le tube digestif de l'hôte humain, et d'autre part dans l'environnement aquatique (Faruque-et al., 1998; Jensen et al., 2006).

1.2 Modes de transmission du choléra

Le choléra est une maladie résultant de l'ingestion du vibron cholérique. Le bacille peut être présent dans l'eau ou dans les aliments (Racault et al., 2019). Les aliments contaminés peuvent avoir été souillés par les selles des malades ou de porteurs sains, mais peuvent également être naturellement contaminés (eg, consommation de crustacés ou mollusques ; Rabbani & Greenough, 1999). La contamination peut également avoir lieu de personne à personne à partir de selles, vomissements) (Rafique et al., 2016).

Au cours des années 1960, la littérature scientifique suggérait que la transmission du choléra était essentiellement interhumaine. Mais au cours des dernières décennies, de plus en plus de résultats soulignent le rôle de l'environnement dans la transmission du choléra (Sirajul Islam et al., 2020). Un consensus est maintenant bien établi sur le rôle des réservoirs environnementaux combinés à la transmission interhumaine dans la transmission de la maladie (Racault et al., 2019; Ryan et al., 2018). On parle ainsi de transmission primaire (ou environnementale) lorsque l'origine de la contamination est environnementale, et de

transmission secondaire lorsque le choléra se propage dans la population d'homme à homme par contact entre les individus sains sensibles, et ceux déjà infectés (Ruiz-Moreno, 2009).

Les "réservoirs environnementaux" sont définis ici comme des endroits hors du corps humain favorisant la persistance et la réplication bactériennes dans l'environnement, et la transmission des pathogènes à des hôtes sensibles. Le réservoir environnemental de *Vibrio cholerae* a été un sujet d'investigation scientifique depuis la découverte de la bactérie elle-même (Islam et al, 2020).

En effet, *Vibrio cholerae* appartient à la classe des pathogènes environnementaux qui passent normalement une partie importante de leur cycle de vie en dehors de l'hôte humain mais qui, lorsqu'ils sont introduits chez l'homme, provoquent des maladies avec une fréquence mesurable. Les études scientifiques ont admis que l'environnement aquatique joue un rôle central dans la persistance, la dissémination et l'évolution, ainsi que dans la transmission à l'homme de cette bactérie. On sait maintenant que les épidémies de choléra sont fortement contrôlées par des facteurs environnementaux et écologiques (Vezzulli et al., 2010). Dans l'environnement aquatique, *V. cholerae* est associé à un certain nombre de substrats biotiques et abiotiques où l'agent pathogène peut exister en grande abondance, survivre à de longues périodes de stress et, lorsque les conditions sont réunies, provoquer une infection humaine (Vezzulli et al., 2010).

L'environnement aquatique offre de nombreuses conditions et ressources qui déterminent où les micro-organismes peuvent vivre. Les conditions abiotiques englobent en particulier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau et des sédiments, telles que la température, la salinité et le pH de l'eau. Les ressources biotiques englobent les substrats (organismes ou microorganismes vivants ou détritiques organiques) qui fournissent le carbone et l'énergie nécessaires au métabolisme bactérien. Les réservoirs environnementaux sont des points chauds dans lesquels les agents pathogènes persistent et éventuellement se multiplient. Plusieurs réservoirs environnementaux ont été décrits pour *V. cholerae*, dont l'habitat naturel est l'environnement aquatique. *Vibrio cholerae* a été observé en association avec les animaux avec un exosquelette de chitine (crustacés), les plantes aquatiques, les protozoaires, les bivalves, les oiseaux aquatiques, ainsi que les sédiments. La plupart de ces compartiments

biologiques ou non sont des réservoirs environnementaux connus ou supposés pour la bactérie, définis comme des endroits où l'agent pathogène vit au fil du temps, avec le potentiel d'être libéré et de causer une infection humaine. Les réservoirs environnementaux peuvent donc être à l'origine du démarrage d'une épidémie, et jouer un rôle essentiel dans l'endémicité du choléra en favorisant la survie de l'agent pathogène pendant les périodes inter-épidémiques (Vezzulli et al., 2010).

Bien que plusieurs réservoirs aquatiques aient été décrits pour la bactérie du choléra, il existe encore un débat sur ceux qui jouent le rôle principal dans l'épidémiologie du choléra, sur les conditions de déclenchement des épidémies, et de son endémisation dans certaines situations (Codeço, 2001). Enfin, les conditions de transmission du choléra dans les réseaux trophiques, restent très mal connus. Il existe par exemple des relations trophiques entre les organismes des réservoirs environnementaux, les oiseaux aquatiques par exemple se nourrissant de copépodes, de cladocères, de larves et/ou de chironomes (Vezzulli et al., 2010).

Les facteurs environnementaux tels que la salinité, la température de l'eau et les nutriments provoquent une prolifération du phytoplancton, mangé par le zooplancton qui à son tour se multiplie, particulièrement les copépodes, porteurs des *Vibrio cholerae*. Ceux-ci sont alors portés en grand nombre sur les zones côtières qui contaminent les eaux de surface et les produits de la pêche, infectant les populations qui les consomment (Vezzulli et al., 2010).

Dans les zones où le réservoir aquatique est fortement salé, la transmission primaire du réservoir à l'homme se fait majoritairement par la faune (eg. crustacés, mollusques, poissons), car l'eau est impropre à la consommation. Par exemple, la consommation de poissons diversement préparés (salés, frais, séchés) peut conduire à la contamination humaine, car leurs tubes digestifs sont colonisés par plusieurs espèces de vibrions (Senderovich et al., 2010a), qui peuvent-être transmis aux humains lors de la consommation de ces poissons sans cuisson sérieuse (Halpern & Izhaki, 2017).

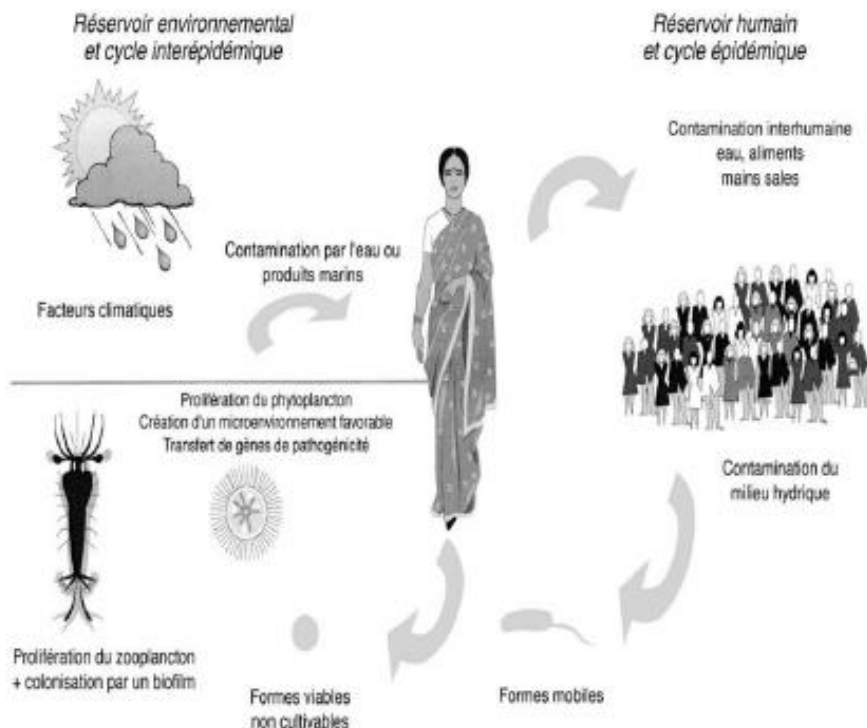


Figure 3. Cycle de la transmission du choléra dans l'environnement (Tiré de Morillon et Garnotel, 2004).

1.3 Physiopathologie et tableau clinique du choléra

1.3.1. Physiopathologie

Les vibrions sont absorbés par voie orale avec l'eau de boisson ou les aliments contaminés, mais l'acidité gastrique protège partiellement de la contamination. La dose infectieuse, déterminée au cours d'expérimentations sur des volontaires, est relativement élevée, de l'ordre de 10^8 à 10^{11} bactéries, du fait de la sensibilité du vibron cholérique à l'acidité gastrique. Il a été montré que la neutralisation de l'acidité gastrique par une solution de bicarbonate de sodium permettait d'abaisser la dose infectieuse à 10^4 - 10^6 bactéries (Quilici, 2011). Les germes qui survivent à l'acidité gastrique arrivent au niveau de l'intestin grêle et se fixent dans sa partie proximale. Ils colonisent ainsi l'intestin grêle grâce à différents facteurs de pathogénicité comme la TCP (Toxin Coregulated Pili), les différentes hémagglutinines, les facteurs accessoires de colonisation. La toxine cholérique est produite lorsque la bactérie

adhère à l'épithélium intestinal par des pili (voir Figure 4). Les bactéries adhèrent intimement à la bordure en brosse des entérocytes par des pili de type IV constitués de la protéine TCP (gène *tcpA*) qui interagissent à des récepteurs inconnus. Les pili sont codés par une quinzaine de gènes formant un îlot de pathogénicité porté par le phage VPI ϕ . Les bactéries se multiplient alors dans la lumière de l'intestin grêle et traversent la couche de mucus tapissant la muqueuse intestinale. La conséquence est le passage de l'eau et des électrolytes, des cellules vers la lumière intestinale, pouvant atteindre jusqu'à 15 litres par jour qui entraîne une déshydratation sévère et mortelle. Les selles ne sont jamais sanglantes sauf en cas d'association avec une autre pathologie comme une shigellose, ce qui sous entendra que les agents responsables ne sont pas invasifs (Dutta et al., 2013; Guegan, 2006; Quilici, 2011; Sedas, 2007).

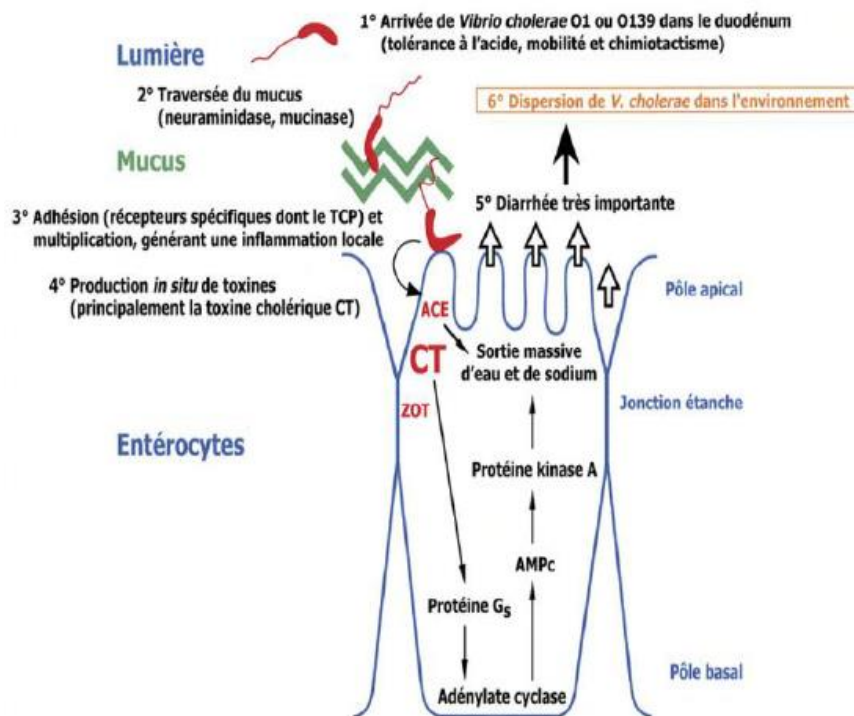


Figure 4. Etapes de la pathogénèse du *Vibrio cholerae* (Tiré de Fournier et Quilici, 2007).

1.3.2. Manifestations cliniques

Le déclenchement de la maladie dépend de la quantité de vibrions absorbés. Plus la dose de vibrions absorbée est grande, plus la personne risque de déclarer la maladie et plus rapide et prononcé sera le démarrage des symptômes. La période d'incubation très courte, de quelques heures à cinq jours, accroît le risque de flambées explosives car le nombre de cas peut augmenter très rapidement (Kemenkes, 2010).

La plupart des sujets infectés par *Vibrio cholerae* ne présentent aucun symptôme bien que le bacille puisse être présent dans leurs selles pendant 7 à 14 jours (Leung et al., 2012). Généralement, sur l'ensemble des personnes infectées par le choléra, environ 75 % des sujets sont asymptomatiques et environ 25 % des personnes infectées présentent les symptômes typiques de la maladie (dont 2% présentent les formes graves).

Le choléra se caractérise par la production d'une diarrhée aqueuse, avec divers degrés de déshydratation (Ghouth, 2020). Les patients souffrant d'une déshydratation légère à modérée secondaire au choléra sont difficiles à différencier de ceux qui sont infectés par d'autres agents pathogènes entériques, tels que le rotavirus entérotoxigène ou les infections liées à *Escherichia coli*. Cependant, ceux souffrant d'une déshydratation sévère sont faciles à identifier car aucune autre maladie clinique que le choléra ne produit une déshydratation aussi sévère en quelques heures (Finkelstein, 1996).

L'apparition de la maladie est brutale et se caractérise par la production d'une diarrhée aqueuse sans tension, sans douleurs abdominales importantes, rapidement suivie de vomissements. L'évolution de la diarrhée peut finalement s'accompagner de déshydratation sévère, avec des symptômes tels que des crampes généralisées et une baisse du volume urinaire. La fièvre est un symptôme rarement observé, généralement dans moins de 5% des cas. Les patients présentent parfois de l'agitation, les yeux sont très enfoncés, les muqueuses sont sèches, la peau a perdu son élasticité et lorsqu'elle est pincée, elle se rétracte très lentement (Finkelstein, 1996).

Les manifestations cliniques du choléra chez les enfants sont similaires à celle des adultes. Cependant, l'hypoglycémie, la fièvre et l'altération mentale sont plus fréquentes chez les

enfants. Le choléra chez les femmes enceintes est porteur d'un mauvais pronostic en particulier lorsque la maladie est contractée en fin de grossesse. La perte du fœtus survient dans 50% des grossesses. Le choléra chez les patients plus âgés est également porteur d'un mauvais pronostic en raison d'un plus grand nombre de complications, notamment une insuffisance rénale aiguë, une acidose métabolique grave (une chute du pH sanguin) et un œdème pulmonaire (accumulation brutale de liquides dans les poumons ; Kemenkes, 2010).



Figure 5. Enfant atteint de choléra (Crédit photographique D. Batumbo, photo prise à Kinshasa, 2010)

1.4 Diagnostic bactériologique du choléra

La recherche et l'isolement de *V. cholerae* se fait habituellement à partir des échantillons d'eaux, des selles des malades ou des porteurs asymptomatiques et des produits de pêche (poisson, crevettes...). Toutefois l'échantillon le plus commun reste les selles des personnes malades (Quilici, 2011).

Cette bactérie est relativement simple à identifier du fait de sa concentration habituellement élevée dans les selles de malades. Elle est de plus peu exigeante pour sa culture, et présente à sa surface un antigène spécifique l'antigène (O1 ou O139) qui permet son identification par une simple réaction d'agglutination sur lame. C'est d'ailleurs la reconnaissance de cet

antigène par des anticorps spécifiques, qui a été mise à profit pour le développement d'un test de diagnostic rapide du choléra sur bandelette (Quilici, 2011).

Un disque de papier absorbant est trempé dans la selle diarrhéique suspecte, puis déposé dans un tube en matière plastique. Quelques gouttes de sérum physiologique sont versées dans le tube pour maintenir une atmosphère humide. Le tube est fermé de façon étanche par un bouchon muni d'un joint torique (Figure 10). Le tube doit être envoyé au laboratoire à température ambiante, les vibrions supportant mal les basses températures (Quilici, 2011). Les échantillons d'eaux sont prélevés en bouteille PVC ou plastique stérile. Les échantillons doivent être transportés dans une glacière fermée (à l'abri de la lumière) à température ambiante et arriver au laboratoire moins de 12 heures après prélèvement (Contre et al., 2011).

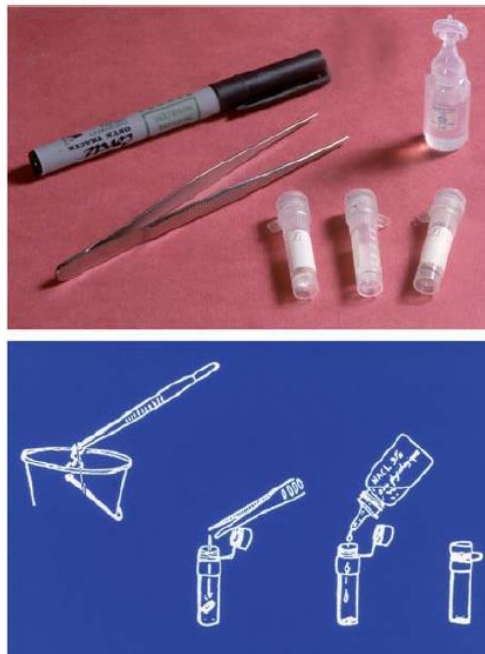


Figure 6. Dispositif utilisé par MSF pour le transport au laboratoire des échantillons de selles en vue de la recherche de vibron cholérique (Source : Quilici, 2011).

L'échantillonnage est effectué sur l'eau peptonée alcaline (EPA) ou l'eau peptonée alcaline hypersalée (EPSA) à pH 8,4 qui favorise le genre *Vibrio*. L'enrichissement consiste en une succession de cultures sur le milieu EPA ou EPSA (Quilici, 2011). Il a pour but d'une part de permettre la réparation des cellules endommagées et d'autre part de favoriser le *Vibrio* par rapport aux autres bactéries (Quilici, 2011).

Après l'ensemencement, ces milieux sont incubés à 37° C pendant une période de 6 à 8 heures avec d'éventuels repiquages sur le même milieu. L'isolement est réalisé à partir du voile obtenu sur les milieux d'enrichissement. L'isolement est réalisé à partir de l'enrichissement et plus rarement directement, sur divers milieux solides en boîte de Pétri :

- Gélose nutritive ordinaire à pH 7,0 ; GN alcaline à pH 8,2 ou gélose hyperalcaline pH 8.5
- Milieu TCBS (ou gélose de saccharose, au thiosulfate citrate bile saccharose ou milieu de Nakanishi et Kobayashi). Ce milieu permet la croissance rapide *V. cholerae* pendant une période de 15 à 24 heures à 37° C, sous forme de colonies jaune brun de 2 à 3 mm de diamètre (voir Figure 7).

L'identification des *Vibrio cholerae* repose sur l'étude des caractères biochimiques et surtout sérologiques. Les caractères d'appartenance au genre sont : bacille incurvé Gram -, oxydase +, catalase +, très mobile, Aero-anaérobie, nitrate réductase +, fermentation du glucose +. L'identification se fait à partir d'une colonie suspectée selon le milieu utilisé. Un test Oxydase positif permet de se diriger vers l'espèce *Vibrio cholerae*. On complète par d'autres tests biochimiques comme les tests à l'adénine dihydrogénase (ADH), à l'ornithine décarboxylase, (ODC), à la lysine décarboxylase (LDC), nitrate réductase et à la catalase. Si ces tests sont positifs, on passe au sérotypage *Vibrio cholerae* par la réaction d'agglutination. Une souche de vibron cholérique (*V. cholerae* O1 ou *V. cholerae* O139) doit obligatoirement agglutiner avec l'un des deux sérums, anti-O1 ou anti-O139. L'agglutination doit apparaître rapidement en moins de deux minutes et être fine et granulaire. Si les résultats au test d'agglutination ne sont pas concluants, il faut procéder à l'identification sous une galerie API 20 E. Cette galerie utilise des cupules pour réaliser une identification rapide des bactéries grâce aux tests biochimiques miniaturisés (Quilici, 2011).

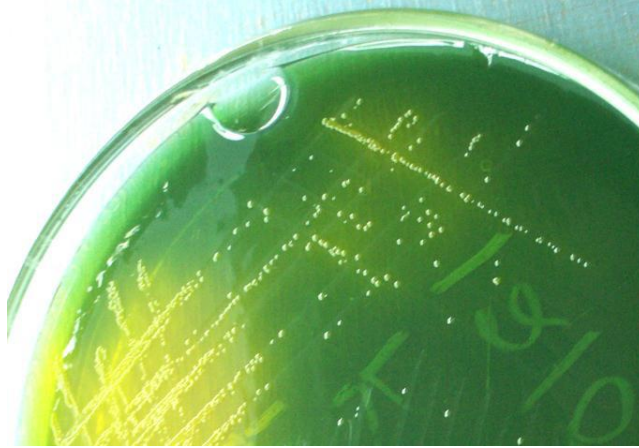


Figure 7. Aspect des colonies de *Vibrio cholerae* sur le milieu TCBS (Tiré de Diakite, 2015).

Les techniques de biologie moléculaire (Polymerase Chain Reaction ou PCR), sondes d'hybridation), non adaptées au terrain, sont pratiquées dans les centres de référence pour rechercher le gène de la toxine. Les sérologies à la recherche des anticorps vibriocides ou antitoxines n'ont d'utilité que pour les diagnostics rétrospectifs ou les études épidémiologiques (Brown et al., 2003).

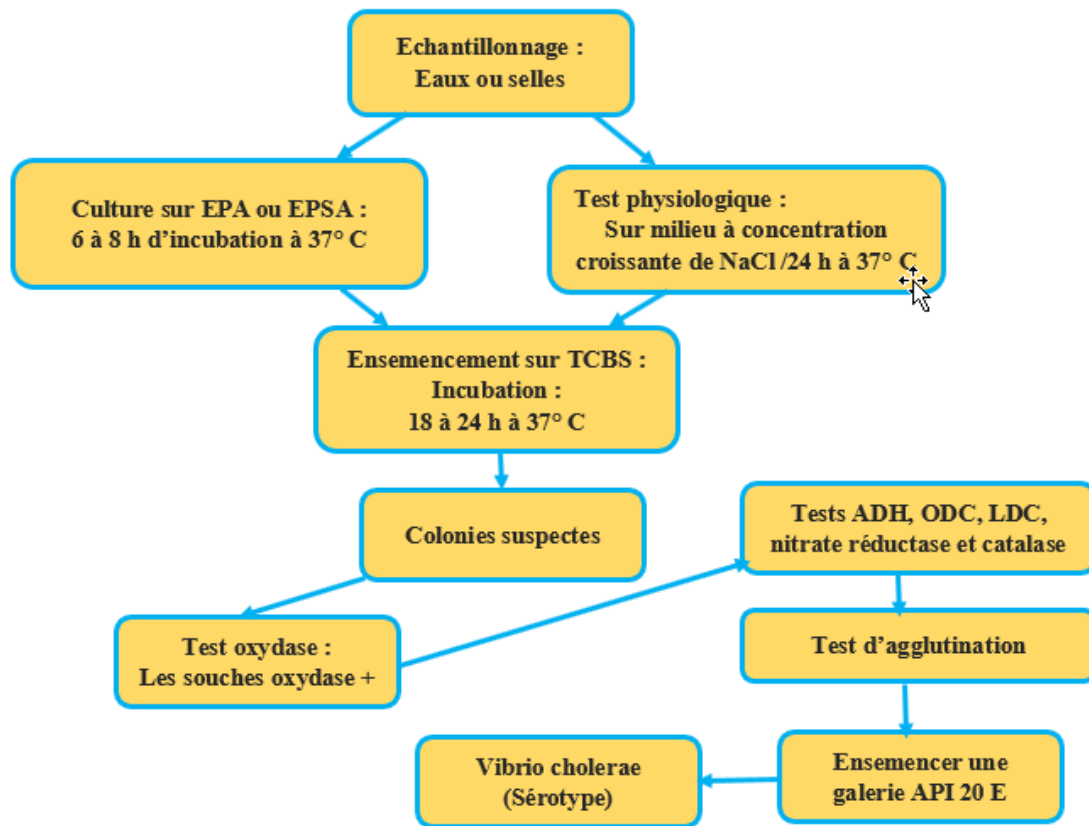


Figure 8. Méthode d'isolement et d'identification du *Vibrio cholerae* (Tiré de Diakite, 2015).

2. Ecologie des Vibrions pathogènes

2.1 Habitat de *Vibrio cholerae*

A l'état naturel, *Vibrio cholerae* est une bactérie des milieux aquatiques, plutôt qu'un agent pathogène humain résidant de façon transitoire dans l'eau. Ce micro-organisme est un habitant naturel des milieux aquatiques, estuariens et saumâtres (Fernández-delgado et al., 2015). Sa distribution géographique recouvre une vaste étendue allant des tropiques (par exemple la baie du Bengale ; Albert, 1994; de Magny et al., 2011; Anwar Huq et al., 2005) aux eaux tempérées (par exemple dans les milieux héli-halins en Floride, en Amérique du Sud, Afrique, Australie, Suède et Italie (Vezzulli et al., 2010; Collin & Rehnstam-Holm, 2011; Schuster et al., 2011; Jutla et al., 2013; De Magny et al., 2014). Les eaux saumâtres côtières

chaudes sont des réservoirs potentiels (ex : estuaires et deltas, zones humides), les golfes et estuaires des régions tempérées ou tropicales du monde (Kopprio et al., 2020).

Les sédiments peuvent servir temporairement de réservoir au choléra, en particulier pendant les mois les plus froids, ensemençant la colonne d'eau lorsque la température augmente (Vezzulli et al., 2010).

Les milieux aquatiques favorables à la survie et à la croissance des souches toxigènes sont riches en nutriments (principalement azote, soufre, fer, phosphore, sodium). La disponibilité de ces nutriments permet sa survie et sa persistance dans le milieu aquatique (Conner et al., 2016). Très tôt, les auteurs ont souligné le rôle essentiel du sodium dans la survie et la croissance du germe (Singleton et al., 1982). Il a été observé que cette espèce préfère les eaux chaudes (>20°C) (Martinez-Urtaza et al., 2012). Il a ainsi été montré, au Bangladesh, que la fréquence des cas de choléra augmentait lors de la saison chaude, période pendant laquelle le plancton et les algues prolifèrent dans les eaux saumâtres (Colwell, 2004). Les études in vitro démontrent la croissance optimale de ce germe se trouve autour de 25°C avec une salinité modérée (1-10) (Takemura et al., 2014). *V. cholerae* est cependant également capable de coloniser les milieux d'eau douce (survie et multiplication) à condition qu'ils soient suffisamment riches en nutriments (Miller et al., 1986), chauds (Singleton et al., 1982), et avec un pH neutre ou légèrement alcalin (Miller et al., 1986).

Dans les régions où le choléra est endémique, cette maladie a tendance à présenter des variations saisonnières, fortement liées à l'écologie du *V. cholerae*. On observe ainsi une augmentation du nombre de cas pendant les périodes où la température de l'eau est élevée, et lorsque le zooplancton prolifère (Constantin de Magny & Colwell, 2009). Au Bangladesh, une distribution bimodale des cas sur un cycle annuel a été décrite (Lipp, 2002) un premier pic, faible, au printemps, et un pic important durant la mousson en automne.

2.2 Contrôles biologiques de *Vibrio cholerae*

V. cholerae peut vivre à l'état libre dans l'environnement, mais il présente une survie accrue lorsqu'il est attaché à d'autres organismes aquatiques. Le bacille se lie fréquemment à des surfaces biotiques (enveloppes du zoo et phytoplancton) sous l'aspect de biofilms. Cette forme lui apporte une résistance accrue au stress, un accès important aux nutriments et un moyen de dispersion lorsqu'elle est attachée à des hôtes vivants et mobiles (Akselman et al., 2010; A. Huq et al., 1996; Shikuma & Hadfield, 2010). De plus, *V. cholerae* est plus viable dans l'eau contenant plus de particules, ce qui suggère une capacité à utiliser comme support les particules en suspension (Islam et al., 2020).

Dans les lagunes et estuaires saumâtres, *Vibrio cholerae* vit en commensalisme ou en symbiose avec des micro-crustacés aquatiques (copépodes). La bactérie se fixe préférentiellement dans la partie buccale et les sacs ovigères chez les femelles de ces crustacés (Guegan, 2006). La reproduction des vibrions se déroulerait dans leurs œufs, leurs systèmes digestifs et leurs exosquelettes chitineux (Huq et al., 1983a). Les chercheurs suggèrent que l'adhésion à la chitine fournirait aux vibrions une meilleure résistance à certains taux d'acidité et à des températures basses. De plus, les copépodes offrent une protection à la prédation. En effet, les bactéries subissent un contrôle top down, par des flagellés hétérotrophes, des protistes et des bactériophages lytiques. Ainsi, Huq et al (1983), ont conclu que la diffusion de *V. cholerae* (pathogène) dans les milieux aquatiques est accélérée par la ponte ou l'expulsion de matières fécales par les copépodes planctoniques. Un seul copépode peut contenir jusqu'à 10^3 - 10^5 cellules de *V. cholerae*. Comme une concentration de 10^9 *V. cholerae*/ml d'eau constitue une dose infectieuse, l'ingestion d'eau non traitée contenant un nombre relativement faible de copépodes porteurs de *V. cholerae* peut donc déclencher la maladie (Constantin de Magny & Colwell, 2009).

La bactérie colonise également la surface de certaines algues, pouvant ainsi persister dans l'environnement pendant des périodes de temps prolongées (Islam et al., 2020). Elle a ainsi été identifiée chez *Acanthamoeba castellanii* ainsi que dans la gaine mucilagineuse de l'algue bleue *Anabaena* sp (Huq et al., 1984; Tamplin et al., 1990; Reen et al., 2006; Abd et al., 2007;

Halpern et al., 2008; Senderovich et al., 2010a; Consatin de Magny et al., 2011; Islam et al., 2019).

La mucinase, une protéase hémagglutinine soluble, permet à la bactérie de coloniser plus facilement les algues bleues et favorise sa survie au long terme dans l'environnement aquatique.

Les souches cliniques et environnementales de *V. cholerae* peuvent survivre de manière intracellulaire dans toute une gamme d'amibes (Abd et al., 2004; Jain et al., 2006), qui jouent le rôle de réservoirs environnementaux. Des cellules de *V. cholerae* ont été découvertes dans les kystes résistants d'amibes, leur offrant une protection contre les stress environnementaux (Thom et al., 1992; Abd et al., 2004), ainsi qu'un mode de dispersion dans l'environnement aquatique (Thom et al., 1992; Brown & Barker, 1999). Les mécanismes facilitant cette survie intracellulaire sont très mal connus.

Les bactéries possèdent des enzymes capables de digérer certaines cellules des plantes aquatiques, ce qui fournit de la nourriture pour la survie du bacille (Spira et al., 1981).

Les auteurs évoquent les attachements du bacille avec les vertébrés tels que les poissons et les oiseaux aquatiques (Range, 2012).

La capacité de cette bactérie à s'associer à de nombreux organismes aquatiques lui permet d'échapper en partie aux facteurs de stress tels que la privation de nutriments, les fluctuations de la salinité et de la température, et la prédation par des protistes hétérotrophes et des bactériophages. En l'absence de substrat vivant, la bactérie peut adopter un état viable mais non cultivable (VBNC ; Thomas et al., 2006). Cet état est une stratégie de survie adoptée par de nombreuses bactéries lorsque les conditions environnementales ne permettent pas de maintenir une croissance normale des colonies. Dans cet état physiologique, les bactéries présentent une fonction métabolique détectable, mais ne sont pas cultivables par les méthodes de culture conventionnelles en laboratoire (Fernández-delgado et al., 2015).

2.3 Contrôle descendant de *V. cholerae* par les prédateurs micro-brouteurs

Alors que la disponibilité des nutriments exerce un contrôle "ascendant" sur l'abondance de *V. cholerae* dans l'environnement, la prédation constante entraîne une réduction des bactéries dans le milieu aquatique (Lutz et al., 2013). Les phages et les bactéries prédatrices affectent l'abondance et la prévalence de *V. cholerae* dans l'environnement. Les études de suivi réalisées au Bangladesh sur l'identification et la quantification des bactériophages et des souches de *Vibrio cholerae* dans des prélèvements d'eau de rivière ont montré que la densité de souches pathogènes et les incidences de la maladie reportées localement étaient inversement corrélées à la densité de bactériophages (Jensen et al., 2006).

La population de *V. cholerae* peut augmenter par jour de plus de quatre fois, lors de fortes proliférations de phytoplancton. Cela lui permet de surmonter la pression de prédation du *Vibrio* par les protistes phagocytaires et également d'être en nombre suffisant dans l'environnement pour atteindre une dose infectieuse (soit 10^3 - 10^6 cellules; Pérez et al., 2004). La prédation conduit à la consommation des vibrions libres ou associé au zooplancton, ce qui fait que les seuls vibrions que l'on trouve dans la situation de fort taux de prédation sont ceux contenus dans les biofilms (Matz et al., 2005).

2.4 Déterminants environnementaux de *V. cholerae*

2.4.1 Déterminants abiotiques

Pour mieux comprendre les conditions de prolifération des vibrions, certaines variables environnementales ont été mesurées dans les masses d'eau avec présence de vibrions, telles que la température, la salinité, le pH, l'oxygène dissous, l'azote, le phosphore et la chlorophylle a (Lobitz et al., 2000). La comparaison entre les résultats de différentes études montre que l'occurrence des vibrions dans l'eau est plus liée à la température et la salinité qu'aux autres prédicteurs abiotiques (Figure 9; Takemura et al., 2014). La température élevée de l'eau est un facteur prédictif important de la présence de *V. cholerae* principalement détectés dans des eaux chaudes (Lama et al., 2004; Johnson et al., 2012). Le sodium joue également un grand

rôle dans la survie et la croissance du vibrion, de même qu'un pH alcalin. Ainsi, les conditions décrites pour la survie du vibrion sont le plus souvent une salinité entre 1-10 ppt, une température de plus de 20°C et un pH autour de 8 (Takemura et al., 2014). Cependant, des études ont démontré que l'abondance de *V. cholerae* subit des fluctuations saisonnières largement dictées par la température (Louis et al., 2003 ; Binsztein et al., 2004). Le vibrion résiste à la congélation, mais les températures basses limitent sa prolifération. Il est détruit par la dessiccation, l'acidité soit un ph < 4,5 et la chaleur supérieure à 70°C (Brown et al., 2003).

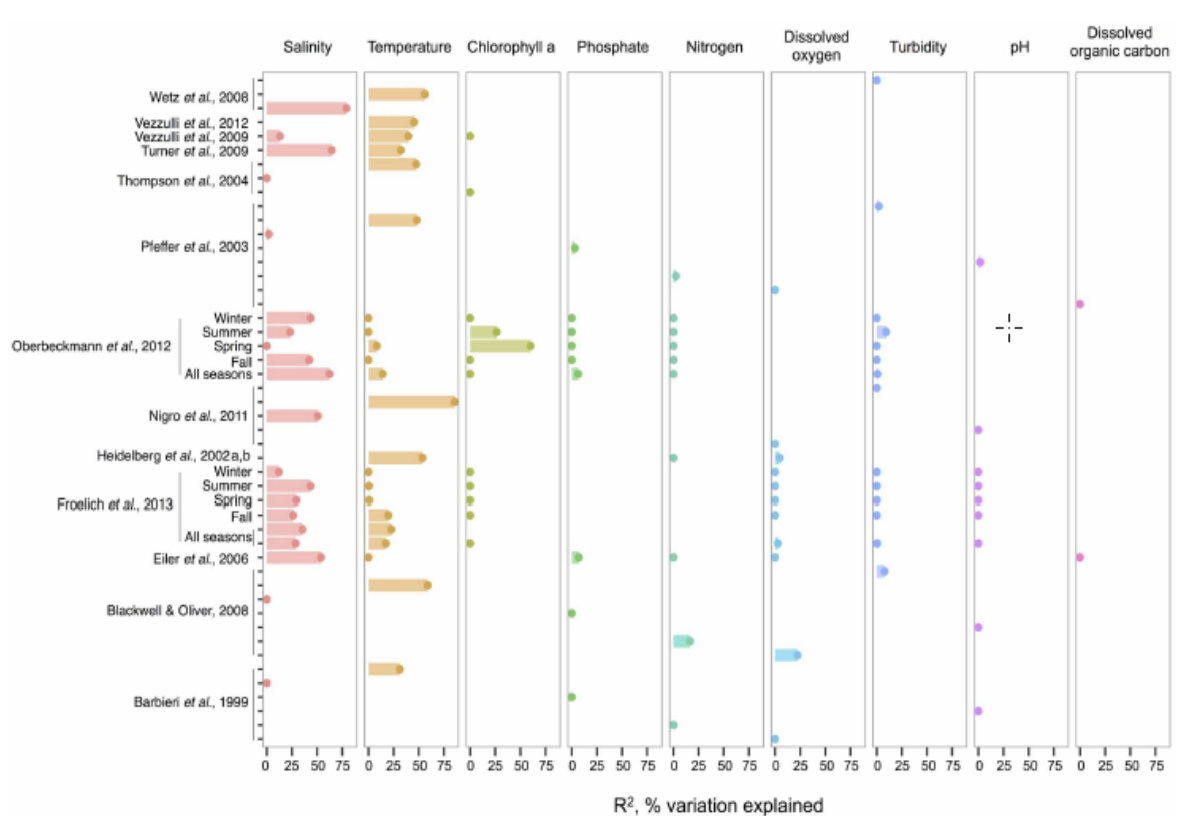


Figure 9. Analyses de régression indiquant que la température et la salinité expliquent la plupart des variations de l'abondance totale de *Vibrio cholerae* dans l'eau. Les valeurs R², ou pseudo-R², associées aux analyses de régression montrent le pourcentage d'explication de la variation expliquée par chaque variable. Les points sur le graphique indiquent la hauteur des barres, lorsqu'un point apparaît sans barre, R² n'est pas significatif (c'est-à-dire R² = 0) (Source : Takemura et al. 2014).

Lorsque les conditions abiotiques deviennent défavorables (milieu aquatique froid, pauvre en sel et en ressources nutritives), les bactéries se mettent en dormance ou sous forme viable non cultivable (Guegan, 2006). Ces cellules viables mais non cultivables ne poussent pas sur

les milieux de culture normalement utilisés, et leur taille est souvent réduite (Whitesides & Oliver, 1997; McDougald et al., 1998; Oliver, 2010). Cette forme leur permet de mener à bien les fonctions métaboliques et former des colonies en conditions naturelle, tout en gardant leur pathogénicité. L'étude de Mishra et al. (2012) a démontré la réactivation de la virulence et de la colonisation lorsque des microcosmes d'eau douce étaientensemencés avec des formes viables non cultivables du bacille. La persistance de ces formes dans des conditions défavorables de l'environnement est tributaire de la capacité des cellules à être réanimées et se diviser lorsque les conditions deviennent favorables (McDougald et al., 1998).

De nombreux facteurs induisent cette réanimation, notamment une augmentation de la température (Whitesides & Oliver, 1997; Mishra et al., 2012) ou une augmentation des nutriments (Senoh et al., 2010). Certaines recherches ont également mis en évidence que les cellules de *V. cholerae* redevenaient cultivables après un passage dans le tube digestif des animaux (Colwell et al., 1985; Alam et al., 2007). Ainsi, l'ingestion par des volontaires humains de ces cellules viables non cultivables depuis 7 semaines, a entraîné la colonisation de l'intestin et l'excrétion de cellules cultivables (Colwell, 1996). Cependant, cette capacité de réanimation ne persiste que pendant un temps limité (Weichart et al., 1997). Des cellules viables non cultivables du *V. cholerae* ont été réanimées après une co-incubation avec des lignées de cellules eucaryotes, mais il n'y a pas eu de réanimation au-delà d'une période prolongée de plus de 91 jours (Senoh et al., 2010). C'est dans ces conditions qu'elles adhèrent à la surface de certaines espèces de végétaux aquatiques et peuvent ainsi survivre assez longtemps (Oliver, 2010).

2.4.2 Déterminants biotiques

Hood et al. 2013 ont signalé une réduction de la viabilité de la bactérie dans l'eau de mer filtrée et centrifugée. On ignore la nature exacte de la relation entre la bactérie et les organismes aquatiques qui l'abrite. Elle serait de *type commensal* (association entre deux organismes d'espèces différentes dans laquelle l'un des deux profite de la relation sans nuire à l'autre), ou *symbiotique* (association à bénéfices réciproques).

✓ **Association aux micro crustacés :**

Dans une revue des différentes faunes et flores réservoirs du *V. cholerae*, Almagro-Moreno et Taylor en 2013 démontrent que *V. cholerae* possède des chitinases aptes à métaboliser la chitine afin de l'utiliser comme source de nutriments (Islam et al., 2020). La chitine des exosquelettes de crustacés est constituée en majorité de mucopolysaccharides (Huq et al., 1983b). En plus, les bactéries forment par moment des biofilms en association avec la chitine, ce qui favorise leur croissance et la survie dans l'environnement aquatique. Ces éléments ajoutent à la plausibilité d'un ectoparasitisme des copépodes permettant la persistance de *V. cholerae*.

Les bactéries montrent généralement une viabilité accrue en présence de chitine (Islam et al., 2020). Ainsi, les fluctuations saisonnières sont souvent aussi liées aux variations des concentrations de nutriments. Le ruissellement des pluies, généralement plus important au printemps et à l'automne, et dans les zones côtières et estuariennes, peut conduire à une plus grande disponibilité en nutriments, et donc une plus grande abondance de phytoplancton. Cette abondance est suivie par la prolifération de zooplancton, dont les surfaces chitineuses sont susceptibles d'héberger *V. cholerae*. Il est intéressant de noter aussi qu'une étude récente menée au Burkina Faso, en Afrique a fait état d'une forte corrélation entre la biomasse du phytoplancton et *V. cholerae* dans les réservoirs d'eau (Islam et al., 2020).

Dans des environnements limités en éléments nutritifs, *V. cholerae* peut entrer dans un état de stress nutritionnel, dans lequel les cellules ne sont pas en croissance mais peuvent être cultivées (Huq et al., 2005; Lobitz et al., 2000). Pour différencier les cellules en état de stress nutritionnel de l'état viable non cultivable du *Vibrio*, le terme « persistants phénotypiques » a été suggéré dans une étude qui décrit la survie jusqu'à 700 jours de *V. cholerae* au stress nutritionnel (Jubair et al., 2012).

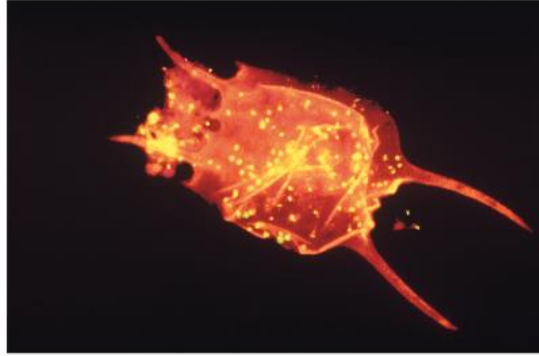


Figure 10. *Vibrio cholerae* (points jaunes) fixé à un copépode coloré par des techniques fluorescentes (Source : Kemenkes, 2010).

✓ Association aux algues :

Vibrio cholerae synthétise la mucinase, une protéase qui lui permet de coloniser les algues bleues pour favoriser sa survie à long terme dans l'environnement aquatique (Nalin et al., 1979). *V. cholerae* s'associe aussi aux algues vertes en utilisant les métabolites extracellulaires excrétées par les algues comme nutriments. Une étude en laboratoire basée sur des microcosmes a constaté que *V. cholerae* O1 survivait plus longtemps en association avec l'algue verte filamenteuse (*Rhizoclonium fontanum*) plus que d'autres algues (Islam et al., 2020). D'autres études ont prouvé que la gaine mucilagineuse d'*Anabaena variabilis*, riche en nutriments, agit comme un microenvironnement protecteur des bactéries pendant la période inter-épidémique. L'observation microscopique permet de localiser systématiquement les bactéries viables non cultivables dans les gaines mucilagineuses des cyanobactéries (algues bleues). En utilisant la technique des anticorps fluorescents la bactérie a été détectée sous cette forme à l'intérieur de la gaine pendant plus de 15 mois, période suffisamment longue pour couvrir la durée entre deux épidémies (Islam et al., 2020).

✓ Association aux poissons :

Les poissons peuvent également servir d'hôte pour les souches de *V. cholerae* (Rowe et al., 2014; Halpern & Izhaki, 2017). Les études ont démontré que *V. cholerae* peut faire partie de la flore de certaines espèces de poissons, comme le tilapia et la carpe. Les poissons peuvent donc entretenir une relation mutualiste avec la bactérie, en lui fournissant de la nourriture et un abri, alors que la bactérie

peut aider le poisson à digérer sa nourriture comme ses proies zooplanctoniques chitineuses (Halpern & Izhaki, 2017). Il est enfin possible que les poissons servent de vecteurs pour *V. cholerae* en transportant les bactéries d'un milieu à l'autre, comme des rivières aux lacs ou à la mer et inversement (Halpern & Izhaki, 2017).

La bactérie a été détectée dans les intestins de diverses espèces de poissons qui se nourrissent de phyto et de zooplancton, en quantités aussi élevées que 5×10^3 cellules par gramme de contenu intestinal, dans différents environnements marins et d'eau douce en Israël (Senderovich et al., 2010b). Preez et ses collaborateurs ont détecté un grand nombre de *V. cholerae* O1 et O139 dans les échantillons d'écailles de poisson collectées au Mozambique (Preez et al., 2010). Par ailleurs, des souches de *V. cholerae* O1 toxigènes ont été isolées dans les branchies de Tilapia en Tanzanie (Hounmanou et al., 2016).

L'isolement de *V. cholerae* dans le pharynx des canards et les fèces des oiseaux aquatiques augmente également la probabilité que les réservoirs de *V. cholerae* peuvent être constitués de faune ou de flore aquatique mangée par les oiseaux (Islam et al., 2020). D'un point de vue épidémiologique, *V. cholerae*, transmis à certaines espèces d'oiseaux qui se nourrissent de poissons, peut se répandre dans le monde entier (Halpern & Izhaki, 2017). Les oiseaux de mer se nourrissant de zooplancton et de phytoplancton, peuvent aussi propager par voie aérienne ces organismes planctoniques, fixés sur leurs plumes (Halpern et al., 2008).

Les bivalves (les moules et les huîtres) peuvent héberger également un grand nombre de vibrions dans leurs tissus et constituer des réservoirs importants pour ces bactéries (Kirs et al., 2011; Olafsen et al., 1993).

3. Situation épidémiologique du choléra

Le choléra réémerge sous forme d'épidémies locales et devient endémique dans de nombreuses régions du monde. Après avoir causé sept pandémies depuis 1817, le choléra demeure un problème majeur de santé publique dans le monde. Chaque année 1,3 à 4 millions de cas de choléra et 21 000 à 143 000 décès sont rapportés (Ali et al. 2015).

3.1 Les Sept pandémies du choléra

On décrit sept pandémies de choléra depuis 1817. Avant cette date, La maladie restait localisée sur le pourtour du Golfe du Bengale (Morillon & Garnotel, 2004).

Le choléra est endémique en Inde (delta du Gange), et au Bangladesh, et sévit épisodiquement sur les territoires adjacents. Les six premières pandémies causent la mort de centaines de milliers de personnes en Asie, en Europe, en Amérique et dans les zones côtières de l’Afrique, de 1817 à 1923. Ces épidémies sont manifestement liées aux déplacements humains et sont accélérées par les moyens de transports de la deuxième moitié du 19^{ème} siècle (Bourdelaïs et al., 1978; Lucie, 1988).

La septième pandémie a démarré en 1961 à partir d’un foyer endémique au Sulawesi, en Indonésie (Weill et al., 2017), Elle est due au biotype El Tor, isolé en 1905 au lazaret d’El Tor dans le Sinaï, chez des pèlerins décédés du choléra. Le choléra diffuse de proche en proche jusqu’à la Méditerranée et atteint au début des années 70 le sud de l’Europe (Espagne, Portugal et Italie). C’est à cette même époque que le choléra va envahir l’Afrique Noire, restée indemne de la maladie depuis près d’un siècle (Bompangue, 2009).

3.2 Histoire du choléra en Afrique

La façade orientale de l’Afrique sub-saharienne a été touchée par la première pandémie du choléra. Cette introduction dans les îles Maurice, la Réunion et à Zanzibar a potentiellement été facilitée par la traite négrière (Hartwig, 1979). La Somalie et l’Ethiopie ont connu une vague de choléra en 1831-1836 lors de la seconde pandémie du choléra (Rémy & Dejours, 2018).

Au cours de la troisième pandémie, l’épidémie affectera l’Ethiopie (1853, 1855 et 1858), l’île de la Réunion (1859) et l’île Maurice (1854-1862). Des graves poussées épidémiques ont été notées de 1858-1859 à Zanzibar, au Mozambique, à Madagascar, aux Comores ainsi en qu’en Ouganda (OMS, 1960).

La quatrième pandémie du choléra sera marquée en Afrique par l’atteinte de la Somalie et de l’Ethiopie en 1865. Cette vague va diffuser à Zanzibar, et atteindre le lac Tanganyika, le cours supérieur du Congo, le Mozambique, les Comores et les Seychelles (Rémy & Dejours, 2018).

La partie occidentale de l’Afrique ne connaîtra les premières épidémies qu’en 1869. L’introduction du choléra était facilitée par des caravanes venues du Maroc et passant par le fleuve Sénégal. La diffusion

le long des côtes était facilitée par la navigation maritime, relayée à l'intérieur du continent par les activités de commerce (Hartwig, 1978).

Pour la suite, en dehors de l'Éthiopie qui connaîtra quelques vagues épidémiques, et surtout celle de 1889-1892, le choléra sera absent du reste du continent africain. Il se retirera presque totalement de l'Afrique sub-saharienne jusqu'en 1970 (Rémy & Dejours, 2018).

Les cinquième et sixième pandémies auraient été causées par le biotype classique du sérotype O1. De plus on soupçonne que ce dernier est également responsable des précédentes pandémies (Osei *et al*, 2012).

A partir de 1970, le choléra pénètre l'Afrique continentale en empruntant trois voies (Figure 11). Le premier pays touché fut la Guinée Conakry (août 1970). Le choléra s'est ensuite propagé sur toute la façade occidentale de l'Afrique grâce aux mouvements de populations, parmi lesquelles certains pêcheurs, les commerçants et les pèlerins (Felix, 1971 ; Viguelloux, 1971). La deuxième porte d'entrée correspond à l'Afrique du Nord où le choléra s'est introduit, en septembre 1970, par la Libye. Enfin, la troisième porte est celle de l'Éthiopie. Venu de la Péninsule arabique (touchée par une épidémie en août 1970), le choléra touche les Provinces orientales de l'Éthiopie en novembre 1970, au sein de populations pastorales nomades. La maladie gagne le sud du pays, et s'étend dans la république de Djibouti, la Somalie, l'extrémité sud-est du Soudan ainsi que sur les marges orientales de l'Ouganda (Hall & al., 1975). A partir de ces trois portes d'entrée, l'épidémie s'est étendue peu à peu à d'autres pays (Bompangue, 2009).

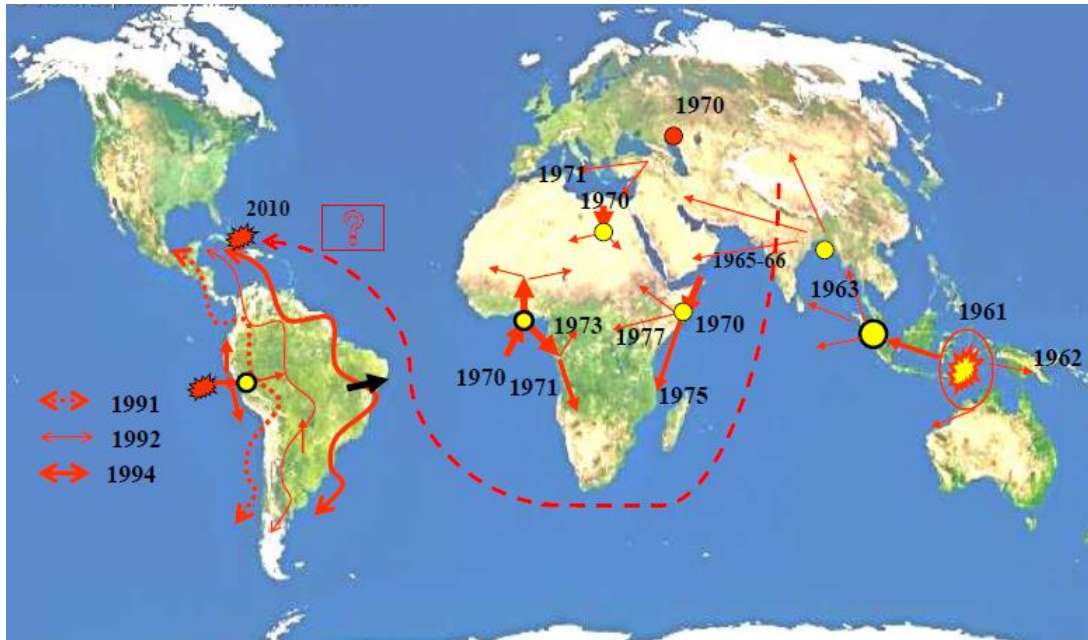


Figure 11. Diffusion de la septième pandémie du choléra dans le monde. En 1961, une souche *Vibrio cholerae* O1 d'un nouveau biotype El Tor, provenant des îles Célèbes, a émergé et provoqué la 7ème pandémie, qui atteignit en 1970 l'Afrique continentale à partir de trois voies (La Guinée Conakry, la Lybie et l'Éthiopie), l'Amérique latine en 1991 et Haïti en 2010. (Source : Swerdlow, 2005).

Démarrage de la septième pandémie du choléra dans la vallée du Rift Africain

Le Kenya est atteint par la septième pandémie dès 1974 à partir de la région de Kisumu, puis l'épidémie va longer les bords du lac Victoria, diffuse à Nairobi, puis atteint la région de Mombasa. Par la suite, elle va s'étendre au niveau des rives ougandaises, puis tanzaniennes du lac Victoria. Les auteurs rapportent que ce foyer du lac Victoria serait lié indirectement à la grande vague épidémique de 1978 qui avait déferlé sur les rives des grands lacs d'Afrique, depuis le lac Edouard jusqu'au lac Nyassa.

Dès 1975, le choléra longera le littoral tanzanien à partir de la région de Mombasa, pour atteindre Bagamoyo, Dar-es-Salaam et l'île de Zanzibar. L'expansion de la maladie vers le sud atteindra plus tard la frontière du Mozambique (Rémy & Dejours, 2018).

A partir des années 1977-1978, le choléra diffuse le long des rives du lac Tanganyika et colonise toute la chaîne des grands lacs Africains (Storme & al., 1979). C'est ainsi que par la ville de Kalemie sur les rives du Tanganyika, l'est de la RDC connaîtra l'introduction du bacille en 1977.

La maladie diffuse vers le nord du lac Tanganyika, elle gagne Bukavu et la province de Katana, au bord du lac Kivu. On note de juillet à novembre 1978, près de 4500 cas de choléra rien que pour le FOMULAC (Fondation Médicale de l'université de Louvain au Congo), secteur du sud-ouest du lac Kivu (Malengreau, 1979).

Lors de cette même expansion, la maladie atteint Uvira par le biais de voyageurs en provenance de Kigoma. Elle parcourt la vallée de la Ruzizi, puis en juin 1978, elle atteint Bujumbura (Burundi) et diverses autres localités proches, soit riveraines du lac, soit situées dans la plaine (Storme & al., 1979).

Le choléra envahit le Rwanda dès juillet 1978. La vague épidémique diffuse tout au long des rives orientales du lac Kivu, ou on observe un impact du choléra plus marqué dans la région de Cyangugu au sud-ouest du pays, et ne s'apaise qu'en avril 1980 (Rémy & Dejours, 2018). La maladie atteint Goma au nord du lac Kivu en août, puis rejoint les rives du lac Idi Amin. Elle sévit en décembre 1978 encore plus au nord, à l'est du lac Mobutu, peut-être en provenance de l'Ouganda. En mars 1979, elle frappe Kisangani, sur les rives du fleuve Zaïre (Schyns & al., 1979).

Vibrio cholera El Tor impliqué dans la 7ème pandémie est doté de plusieurs mécanismes d'adaptation (plus résistant dans l'eau, chaîne épidémiologique se rompant moins facilement et pourrait même être renouvelée à partir du réservoir aquatique), traits qui ont facilité sa dissémination à travers les continents, plus particulièrement dans les écosystèmes aquatiques de l'Afrique continentale (Rémy & Dejours, 2018).

Depuis l'introduction de *Vibrio cholerae* dans le Rift Africain, les espaces riverains des lacs Tanganyika et Kivu sont le lieu de flambées épidémiques régulières et de plus en plus intenses (Bompangue, 2009), et constituent vraisemblablement de nos jours les foyers endémiques et de redémarrage des épidémies de choléra en RDC (Rémy & Dejours, 2018). Le bacille pourrait avoir trouvé une niche écologique facilitant ainsi son ancrage dans cet espace géographique de l'Afrique.

3.3 Situation épidémiologique du choléra lors de ces dix dernières années en Afrique

De 2010 à 2019, dans les 36 des 54 pays d'Afrique qui ont connu des épidémies de choléra, le nombre de cas suspects notifiés étaient de 1 156 767 avec 1 9760 décès soit une létalité globale de 1,71%. Près de 40 % de ces cas provenaient des pays du Rift Africain (Tableau 1). Plus de 60 % de ces cas du Rift étaient notifiés en République Démocratique du Congo (RDC).

Durant la période de 2010 à 2016, sur un total de 1 268 épisodes épidémiques de choléra rapportés, 13,04% se sont produits au Nigeria suivi du Burundi avec 4,35% (Tableau 1). La distribution par district Sanitaire des épidémies de choléra rapportées a fait ressortir une concentration de foyers dans les districts sanitaires des pays de la vallée du Rift : l'est de la République démocratique du Congo et l'Ouest de l'Ouganda, le Burundi, le Mozambique et le Kenya. L'Afrique de l'Est et du Sud-Est ont également montré des concentrations élevées, ainsi que certaines parties de l'Afrique de l'Ouest. En Afrique du Sud, les foyers rapportés ont été limités aux provinces de l'Ouest, près de la frontière avec le Mozambique (Lessler et al., 2018).

Ces chiffres soulignent combien le Rift constitue un foyer important d'endémicité et de redémarrage des épidémies de choléra en Afrique. Tous les pays de la vallée du Rift Africain figurent sur la liste des pays endémiques au choléra à l'échelle mondiale (soit près de 20 % du total mondial des cas déclarés ; Ali et al., 2015).

L'évolution des cas de choléra de 1970 à 2019 au niveau des pays de la vallée du Rift a montré une forte variabilité interannuelle. C'est à partir de 1994 juste après les événements du génocide rwandais que la situation épidémiologique du choléra dans la vallée du Rift s'est aggravée. Les guerres qui se sont succédées dans la région (plus particulièrement en RDC) ont contribué en grande partie à l'explosion du choléra dans cette partie d'Afrique vulnérable au choléra (Bompangue, 2009). Pour les pays de l'Afrique subsaharienne, on note une diminution des cas de 2010 à 2014, suivi d'une légère augmentation des cas à partir de 2015 (Figure 12).

Tableau 1. Répartition des foyers et cas de choléra en Afrique.

Pays	Nombre de foyers d'épidémies rapportés (%) de 2010-2016	Nombre de cas suspects (%) de 2010-2019
Algérie	0(0,00)	173 (0,01)
Afrique du sud	34(2,69)	608 (0,05)
Angola	41(3,24)	91 114 (7,90)
Benin	48(3,79)	4545 (3,39)
Burkina Faso	14(1,11)	169 (0,01)
Burundi	55(4,34)	5 474 (0,47)
Cameroun	48(3,79)	40 033 (3,47)
RCA	21(1,66)	403 (0,03)
Congo	28(2,21)	3 627 (0,31)
Cote d'ivoire	41(3,24)	2 191 (0,19)
Djibouti	14(1,11)	2 174 (0,19)
Ethiopie	7(0,59)	4 297 (0,37)
Ghana	41(3,24)	50 444 (4,38)
Guinée	41(3,24)	7 673 (0,66)
Guinée Bissau	28(2,21)	4 048 (0,35)
Kenya	34(2,69)	37 669 (3,27)
Liberia	41(3,24)	3 204 (0,28)
Malawi	34(2,69)	5 126 (0,44)
Mali	28(2,21)	2462 (0,21)
Mauritanie	14(1,11)	46 (0,00)
Mozambique	48(3,79)	35 139 (3,05)
Namibie	21(1,66)	488 (0,04)
Niger	48(3,79)	13 698 (1,19)
Nigeria	165(13,03)	177 122 (15,37)
RDC	41(3,24)	282 929 (24,55)
Rwanda	14(1,11)	364 (0,03)
Sénégal	28(2,21)	580 (0,05)
Sierra Leone	21(1,66)	23 501 (2,04)
Somalie	48(3,79)	221 836 (19,25)

Soudan	21(1,66)	28 968 (2,51)
Tanzanie	41(3,24)	38 562 (3,35)
Tchad	14(1,11)	25 021 (2,17)
Togo	48(3,79)	617 (0,05)
Uganda	41(3,24)	16 751 (1,45)
Zambie	21(1,66)	13 645 (1,18)
Zimbabwe	34(2,69)	12 066 (1,04)
Total	1 266(100,00)	1 156 767 (100,00)

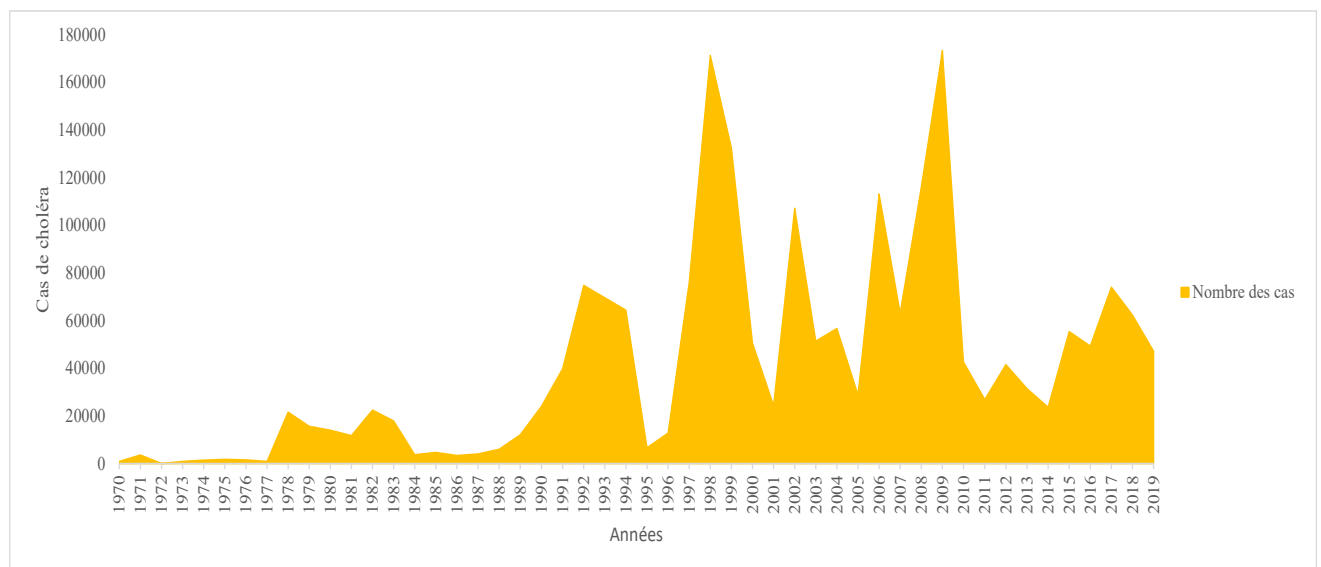


Figure 12. Evolution de la situation épidémiologique du choléra de 1970 à 2019 dans les pays de la vallée du Rift Africain (données cumulées du Mozambique, du Malawi, de la République Démocratique du Congo (RDC), de la Tanzanie, du Burundi, du Rwanda, de l'Ouganda, de l'Éthiopie, du Kenya, du Zimbabwe, de la Zambie, de Djibouti et de l'Erythrée).

4. Débats d'idées sur l'endémicité du choléra dans un espace géographique

Malgré la possibilité de retrouver *Vibrio cholerae* presque dans toutes les parties du monde, cette maladie est demeurée endémique dans certaines régions du monde principalement dans les zones tropicales et subtropicales (Parola & Raoult, 2004). La nature de ce

phénomène n'est pas complètement élucidée, mais dépend principalement de facteurs environnementaux et socio-économiques (Parola & Raoult, 2004).

Deux explications sont le plus souvent évoquées pour expliquer l'endémicité: l'endémicité anthro-po-sociale à travers les contacts interhumains, et l'endémicité environnementale ou éco-biologique pour laquelle une niche environnementale pour *Vibrio cholerae* est identifiée (Janny, 2004; Tabarly, 2012).

La persistance du choléra selon l'approche socio-anthropologique met en jeu les contacts interhumains, la contamination itérative des ressources en eau, le déplacement des populations, les conditions d'hygiène et les pratiques des populations (Janny, 2004; Tabarly, 2012). Cette hypothèse suggère que ces mécanismes constitueraient le socle de la persistance du choléra dans un espace géographique. La bactérie est présente dans les selles et les vomissures des malades des personnes décédées, des porteurs asymptomatiques et des convalescents (Dunoyer, 2013). Mais compte tenu du court séjour du bacille cholérique dans le corps humain après son introduction (Dunoyer, 2013), et de la durée d'excrétion du vibron qui ne dépasse pas 1 semaine dans 70% des cas (90% des porteurs n'excrètent plus de vibrions après 2 semaines, Amara, 2018), il est légitime de s'interroger sur le réalisme d'une endémicité ne considérant pas une composante environnementale. Ainsi, les études scientifiques réalisées au Bengale ont montré que l'hypothèse anthropique seule ne pouvait pas expliquer la transmission et la persistance du germe pendant les périodes inter-épidémiques (Islam et al., 2019).

L'approche environnementale a fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques sur la relation choléra-environnement. Les études dans les zones estuariennes et côtières d'Asie et d'Amérique du Sud ont démontré que la persistance de la maladie était entretenue par les caractéristiques des écosystèmes aquatiques (Alam et al., 2006; Torres Codeco, 2001). Ces recherches ont montré que l'environnement aquatique était l'habitat naturel du bacille de cholerae (Islam et al., 2020), et que son occurrence dans l'eau dépendait de la physico-chimie des masses d'eau. Il est plus fréquent d'isoler la bactérie durant la période chaude, et cette fréquence d'isolement est également reliée à la salinité de l'eau (Takemura et al., 2014). Les chercheurs ont démontré également que les vibrions cultivables adhèrent au plancton pour

résister aux changements saisonniers de température, salinité, pH, concentration en éléments nutritifs (Constantin de Magny & Colwell, 2009).

Ces travaux ont permis d'apporter les évidences que *V. cholerae* se développe et se multiplie dans l'environnement aquatique, et que les épidémies pourraient être "déclenchées" par les changements saisonniers de l'environnement. Ce constat a été renforcé par des études en laboratoire qui ont démontré la survie à long terme de *V. cholerae* dans des microcosmes artificiels, en particulier en association avec des microphytes aquatiques (Islam et al., 2019).

Jusqu'aux années 1960, plusieurs chercheurs pensaient que *V. cholerae* ne pouvait pas survivre en dehors de l'intestin (Falsenfeld, 1966). La bactérie est aujourd'hui connue pour être d'origine aquatique et pour vivre en milieu aquatique saumâtre, mais également en eau douce.

L'hypothèse environnementale sur la persistance du choléra a été abordée de différentes manières. Par exemple, une étude a tenté de relier température, pluviosité, abondance planctonique, et prévalence du *Vibrio*, et a pu démontrer une corrélation des cas de choléra avec la pluviosité dans le secteur du lac Kivu en RDC, sans cependant exclure l'influence des mouvements de populations (Finger et al, 2014). Cependant, le pouvoir explicatif de ces modèles reste modeste. Par ailleurs, les études portant sur la dynamique temporelle sur 10 ans des cas de choléra le long du rift (Bompangue et al, 2008 ; Bompangue et al, 2009) démontrent la plus forte prévalence des cas de choléra au bord des lacs Kivu et Tanganyika.

Si l'on fait le résumé de ces informations, on peut donc arriver aux éléments de connaissance suivants : *Vibrio cholerae* est abondant dans les zones alcalines et halines en Asie du Sud-Est. Dans la Vallée du Rift Africain, les épidémies de choléra démarrent le long des lacs (Kivu, Tanganyika, Moero, Albert...) et se répercutent à l'intérieur des terres parfois à plusieurs centaines de kilomètres des lacs (Bompangue, 2008). Il est donc pertinent d'évoquer une signature environnementale qui serait à la base de cette endémicité du choléra le long des berges de la vallée du Rift Africain.

5. Les Verrous scientifiques, questions de recherche, hypothèses et objectifs de l'étude

Les travaux sur le choléra et les autres maladies liées aux milieux aquatiques en Afrique se sont principalement focalisés sur les recherches purement médicales. Plus précisément, la majeure partie des recherches épidémiologiques sur le choléra se limitent en grande partie sur : (i) l'incidence et distribution de la maladie (Gaffga et al., 2007; Mintz & Tauxe, 2013), et (ii) l'identification et la diversité des souches de *Vibrio cholerae* (Weill et al., 2017) et (iii) la résistance aux antimicrobiens (Dalsgaard et al., 2001; Kacou-N'douba et al., 2012; Valia et al., 2013). En revanche, il existe peu d'informations sur l'écologie du choléra en Afrique, en particulier sur les facteurs environnementaux et les réservoirs. Dans la plupart des études sur le choléra, la référence à l'environnement est souvent limitée à l'affirmation générale selon laquelle "le choléra est causé par la consommation d'eau contaminée et la nourriture" (WHO, Emergencies Preparedness, Response : Cholera – Zimbabwe, 2018). Des études de suivi limitées sont menées après l'apparition de l'épidémie afin d'établir la source de contamination. En outre, les réservoirs dans les points chauds du *V. cholerae*, en particulier pendant les périodes inter épidémiques, contiennent encore beaucoup de zones d'ombre. Aussi, l'état des connaissances reste limité sur l'exactitude de la survivance environnementale de *Vibrio cholerae* en Afrique, a fortiori sur les mécanismes sous-jacents de persistance au niveau de ces éventuels réservoirs environnementaux tels les lacs continentaux (plus particulièrement ceux du Rift), situés loin des infiltrations des eaux salées marines. Pourtant, ces informations sont essentielles pour la mise au point de méthodes efficaces pour la prévention et le contrôle du choléra.

Par conséquent, le présent travail de recherche postule que l'identification des éventuels réservoirs environnementaux est essentielle pour la mise en place des stratégies adaptées pour l'élimination du choléra en Afrique. De surcroît, cette thèse se propose également de chercher les causes environnementales de la persistance du choléra dans la vallée du Rift Africain, plus particulièrement dans les aires géographiques logeant les berges des lacs du Rift en RDC.

Cette recherche vise à répondre aux questions scientifiques suivantes :

1. Quelles sont les clusters spatiaux de risque de choléra à l'échelle du continent africain ?
2. Y a-t-il des facteurs écologiques impliqués dans l'endémisme du choléra dans la vallée du Rift Africain ?
3. Quels sont les facteurs impliqués dans la persistance du choléra dans les zones lacustres de la vallée du Rift Africain ?
4. Quels sont les pratiques impliquées dans la contamination des populations dans l'espace du Rift ouest Africain ?

Ce travail s'inscrit dans une démarche interdisciplinaire (écologie, épidémiologie, statistiques, microbiologie et géologie), et implique plusieurs institutions : le Ministère de la Santé Publique (Direction Générale de la Lutte contre la Maladie, l'Institut de Recherche Biomédicale de la RDC), l'Observatoire Volcanologique de Goma (OVG) ; des laboratoires de recherche universitaires : l'URF-ECMI de l'Université de Kinshasa, le laboratoire CNRS Chrono-Environnement de l'Université de Franche-Comté, le laboratoire CNRS Magmas et Volcans (LMV) de l'Université Clermont Auvergne.

6. Hypothèses de la thèse

Le présent travail repose sur le constat suivant :

il existerait des espaces potentiellement à risque de choléra en Afrique, parmi lesquelles les berges de la vallée du Rift Africain. La persistance du choléra en Afrique en général et dans la vallée du Rift en particulier serait liée à la présence de réservoirs aquatiques adéquats pour *Vibrio cholerae* (présentant les caractéristiques physico-chimiques et biologiques propices à sa survie et sa multiplication) et à des pratiques anthropiques favorisant la contamination et la diffusion du bacille).

Dans le secteur du rift, la thèse a visé à tester l'hypothèse selon laquelle le lac Kivu, situé à proximité du plus gros point chaud du rift, présentait des caractéristiques physico-chimiques

adaptées aux exigences du vibrio, et quels en étaient les déterminismes, en faisant l'hypothèse d'un déterminisme volcano tectonique.

7. Les Objectifs de la Recherche

Sur le plan scientifique, ce travail poursuit les objectifs spécifiques suivants :

- Etablir une cartographie des espaces à risque de choléra au niveau des pays d'Afrique en général et du Rift en particulier en fonction des facteurs hydrogéologiques à risque identifiés ;
- Etablir un lien entre l'occurrence des cas de choléra avec la physico-chimie du lac et l'activité volcanique dans le secteur du Rift de l'Est de la RDC ;
- Identifier les principaux facteurs favorisant la contamination du choléra à l'échelle individuelle et comprendre les interactions possibles entre ces derniers en vue de fournir les informations utiles pour le réajustement de la lutte contre cette maladie.

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

Chapitre 2. Matériels et Méthodes

2.1 Sites d'étude

2.1.1. Le continent africain

L'Afrique est un continent vaste et massif. Sa superficie est de 30 368 609 km² avec sa forme triangulaire, c'est le troisième plus grand continent après l'Asie et l'Amérique. L'Afrique est limitée au Nord par la méditerranée au Nord-est par la Mer Rouge, à l'Ouest par l'océan Atlantique. L'Afrique est divisée en deux hémisphères par l'équateur. En 2019, la population de l'Afrique était estimée à 1 293 574 394 habitants et une densité de population de 42,51 habitants/km². L'altitude moyenne est d'environ 600 mètres, à peu près égale à celle de l'Amérique du Nord et du Sud, mais beaucoup plus faible que celle de l'Asie (900 mètres). Les régions d'altitudes très élevée ou très basse sont rares. Le paysage le plus fréquemment rencontré est celui de plateaux de moyenne altitude, parsemés de pics ou de chaînes de montagnes isolées. Les plateaux les plus élevés se trouvent à l'est et au sud, l'altitude diminuant progressivement vers l'ouest et le nord. L'une des caractéristiques géographiques les plus frappantes de l'Afrique est qu'environ un tiers de sa surface est totalement dépourvu de surface en eau, soit près de 10 millions de km². Le continent africain comprend 61 entités politiques, dont 54 États souverains depuis 2011 qui présentent des profils et performances économiques très différents. Ces pays africains sont subdivisés en cinq grandes régions : l'Afrique du Nord, l'Afrique centrale, l'Afrique de l'Ouest, l'Afrique du Sud et l'Afrique de l'Est. Dans la partie orientale de la région, on trouve un regroupement de treize États qui forment la sous-région de la vallée du Rift africain.

<https://www.populationdata.net/continents/afrique/>; http://creafrica.org/mediaresources/files/Documents/Africa_Atlas_French_Chapter; PNUF, *Afrique, Atlas d'un environnement en mutation*, Nairobi, 2008 ; *Atlas de l'Afrique*, Paris, Éditions du Jaguar, 2009, 255 p. (ISBN 978-2-86950-426-4).

2.1.2. La vallée du rift et le lac Kivu

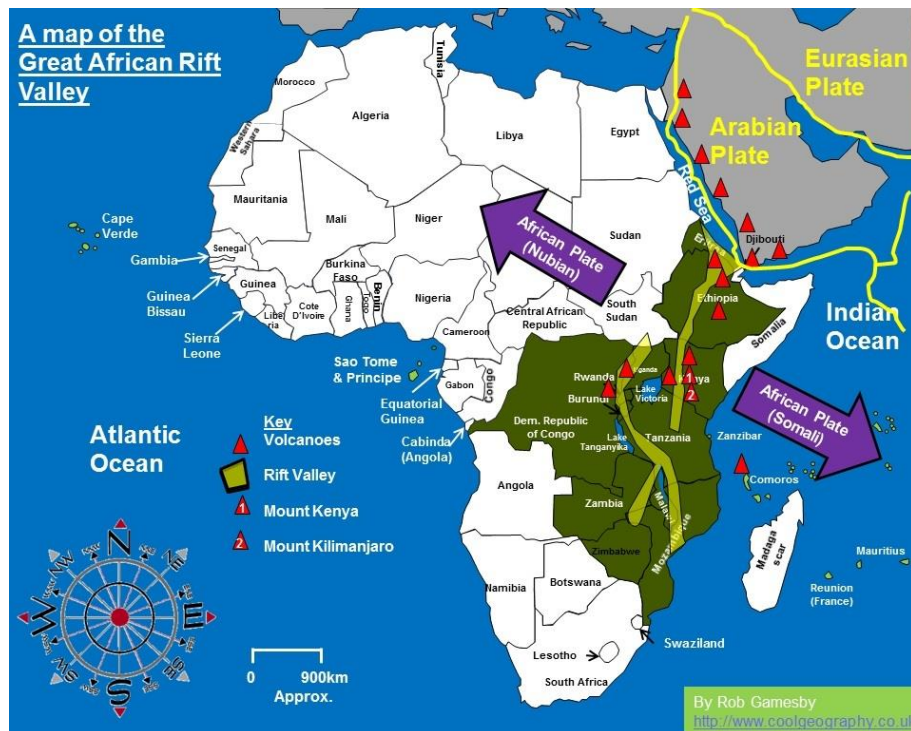


Figure 13. Carte topographique du continent Africain avec les pays du Rift en vert sombre, et les tracés de branches est et ouest du Rift en vert clair (Source : Gamesby, 2009).

La Vallée du Rift Africain s'étend de l'Éthiopie (dépression d'Afar) au Mozambique (golfe du Mozambique). Le Rift est-Africain est subdivisé en deux branches : la branche occidentale (branche ouest ou Great Rift Valley) et la branche orientale (branche est ou Gregory Rift Valley) (Figure 13). La branche est du Rift présente une activité volcanique bien plus importante que la branche ouest. Cependant les deux volcans les plus actifs d'Afrique (Nyamuragira et Nyiragongo) qui font parties de notre étude se trouvent dans le rift ouest, dans les montagnes des Virunga (Figure 14) (Maschinen et al., 2009; Saemundsson, 2008).



Figure 14. Les volcans du Rift Africain actifs il y a moins de 10 Ma (Source : Maschinen et al. 2009).

Le Nyiragongo (figure 14 et 15) abrite un lac de lave situé au fond de son cratère sommital. Au contraire de son voisin le Nyamuragira, caractérisé par son profil avec des flancs en pente douce typiques des volcans boucliers, le Nyiragongo présente des flancs en pente raide typiques d'un volcan composite. Plusieurs cônes sont enfouis sous les coulées de lave qui s'étendent sur les flancs, dont les plus récentes se prolongent vers le sud depuis une fissure sur le flanc est, jusqu'à environ 4 km de la ville de Goma. Un lac de lave qui se trouvait au fond du cratère du Nyiragongo, décrit pour la première fois en 1894, s'est vidé en janvier 1977 quand des fissures radiales se sont soudainement ouvertes, ce qui a entraîné la mort de 70 personnes. Ce lac est à nouveau vidangé en juin 1982, mais s'est arrêté au début de 1983. Une autre vidange du lac de lave a été réalisé lors de l'éruption de juin 1994. Le 17 janvier 2002,

on a assisté au début d'une éruption et la lave s'est écoulee sur les flancs est et sud du volcan en direction de la ville de Goma (Maschinen et al., 2009).



Figure 15. Photo de l'éruption volcanique du Nyiragongo le 17 janvier 2002. On voit les coulées de lave dans la ville de Goma.

La chaîne des grands lacs de la branche ouest du Rift regroupe les lacs Albert, Édouard, Kivu, Tanganyika, Rukwa et Malawi, le lac Tanganyika tenant en volume la deuxième place après le lac Baïkal en Sibérie (Maschinen et al., 2009; Odada, 2002).

Le lac Kivu est le lac le plus proche du volcan Nyiragongo. Il a une surface totale de 2 370 km² et un volume de 560 km³. Il se déverse dans le lac Tanganyika via la rivière Ruzizi avec un débit de 3,2 km³ par an. L'eau du lac est constituée à 55% de précipitations, 25% d'apports de surface, et 20% d'eau souterraine (Muvundja et al., 2014). Les pertes proviennent de 58% d'évaporation et de 42% de sortie vers la rivière Ruzizi. La hauteur de l'eau du lac varie assez significativement d'une année sur l'autre (Figure 16) (Muvundja et al., 2014).

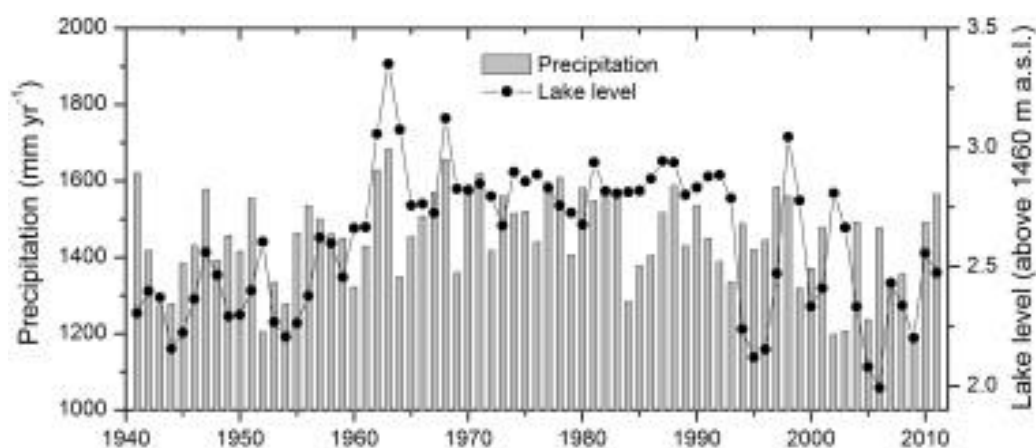


Figure 16. Variation de hauteur d'eau du lac Kivu et précipitations depuis 1940 (Source : Muvundja et al. 2014).

Le lac Kivu se compose d'un monimolimnion anoxique en permanence stratifié qui atteint 486 m de profondeur, et un mixolimnion stratifié saisonnièrement dans les 65 mètres de surface. Cette stratification s'observe également dans le bassin Kabuno, avec des conductivités même plus fortes dans les régions les plus profondes du bassin principal. Les eaux profondes du lac Kivu renferment un grand réservoir de gaz (CH_4 , CO_2), à des profondeurs supérieures à 50-80m (hypolimnion). A l'exception du bassin de Bukavu, moins profond, toutes les parties du lac sont fortement stratifiées chimiquement et thermiquement, et cette stratification est fortement liée à sa forte concentration en CO_2 et CH_4 (Ross et al., 2015).

Les interactions entre les eaux et la roche, impliquant à la fois les eaux souterraines et les fluides hydrothermaux jouent un rôle important dans la chimie du lac (Tassi et al., 2009). Plus généralement l'activité volcanique joue un rôle important sur la physico-chimie des masses d'eaux du lac Kivu (Pflumio et al., 1994; Smets et al., 2010; Wauthier et al., 2012). La rive nord du lac bordée des coulées de laves relativement récentes émises par le volcan Nyamuragira (Pflumio et al., 1994).

Les rares études portant sur la qualité des eaux du lac Kivu se sont en général focalisées sur la problématique des stocks de gaz carbonique et de méthane, et n'ont pas réellement abordé la question de la qualité des eaux de surface du lac et de sa variabilité saisonnière, malgré l'importance de cette qualité pour l'alimentation des populations humaines vivant le long de

ces rives. L'étude de Tassi et al. (2009) souligne le fort contraste qualitatif entre les différents bassins du lac Kivu, et la forte alcalinité et salinité des eaux de surface.

Les relations du lac Kivu et les nappes sont très complexes et ont été très peu étudiées. L'activité volcanique joue un rôle important sur le fonctionnement du lac Kivu (Pflumio et al., 1994; Smets et al., 2010; Wauthier et al., 2012). De grandes fractures sont alignées du nord du lac Kivu vers le sommet du cratère du Nyiragongo, et des dissymétries linéaires sont également observées dans les cartes bathymétriques. L'hétérogénéité hydrogéologique du bassin versant nord du Kivu rend l'approche classique par piézomètres inopérante. Les interactions entre les eaux et la roche, impliquant à la fois les eaux souterraines et les fluides hydrothermaux jouent probablement un rôle important dans la chimie du lac (Tassi et al., 2009).

Ross et al. (2015) décrivent plusieurs sources d'alimentation différentes coexistant sur le nord du lac. Les sources chaudes probablement d'origine hydrothermale, riches en cations et anions, et avec une alcalinité élevée sont présentes au nord-ouest du lac. En conséquence, le lac se caractérise par deux couches d'eau régies par les apports phréatiques : une alimentation de surface, à débit élevé et entraînant un fort turn over des eaux, et une couche profonde, de temps de résidence plus élevé. En surface, les eaux ont une alcalinité élevée (potentiel d'hydrogène supérieur à 8) et une conductivité $> 1200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. La salinité est également élevée, de 1,1‰ en surface, jusqu'à 6 ‰ en profondeur (respectivement 35 ‰ et $4600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour l'eau de mer (atlantique nord) (Ross et al., 2015).

La Figure 17 illustre le fonctionnement hydrogéologique du lac Kivu. La nappe profonde, chaude est indiquée en rouge, la nappe superficielle en bleu. Les sources repérées par les auteurs sont symbolisées par des points de couleur (Ross et al., 2015). Un autre modèle explicatif du fonctionnement hydrogéologique a été proposé par Tietze en 2005, son modèle représente les échanges des masses d'eaux salines partant du lac Kivu jusqu'au lac Tanganyika en passant par la rivière Ruzizi (Figure 18; Kling, 2006).

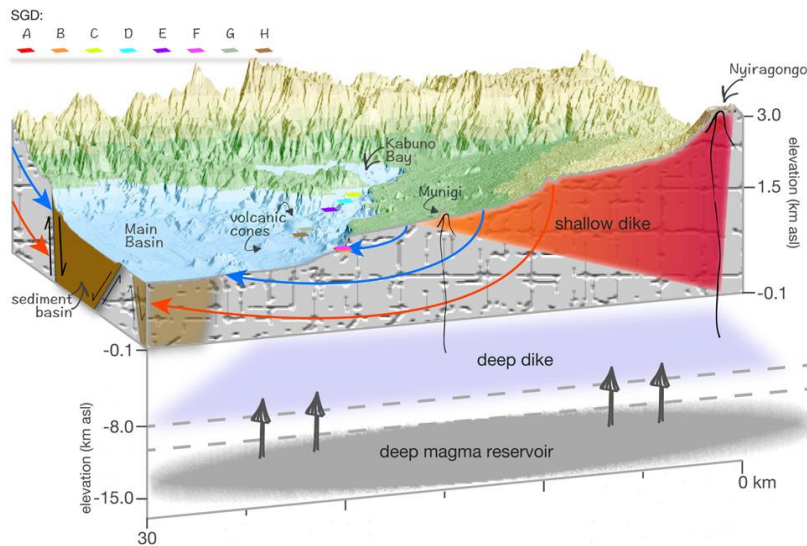


Figure 17. Modèle conceptuel de l'interaction des apports d'eaux souterraines subaquatiques (SEES) avec le système volcanique/géothermal présent sous le lac Kivu et au nord du lac vers Nyiragongo. Les SEES chauds C, D, E, G et H sont alignés dans une direction N-W vers la baie de Kabuno. Les SEES froids A et B, et la source chaude F sont situés juste à l'ouest du cône phréatomagmatique du Mont Goma. Les flèches bleues et rouges représentent les voies d'écoulement convectif des eaux souterraines dans le système fracturé. Les flèches bleues indiquent les eaux souterraines peu profondes et les flèches rouges les eaux souterraines plus profondes, qui interagissent avec le système géothermal (Source : Ross et al, 2015).

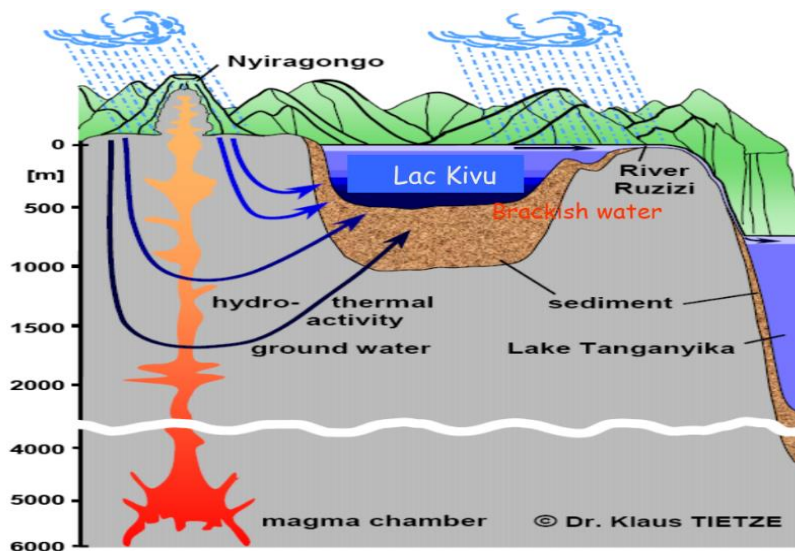


Figure 18. Coupe transversale du lac Kivu et Tanganyika, le mode d'afflux et d'infiltration de l'eau douce et saline. Les flèches bleues et noires représentent l'apport en sels et le réchauffement du lac Kivu qui sont associés à l'activité volcanique du Nyiragongo pour constituer par la suite des eaux saumâtres. L'eau salée mélangée à l'eau douce atteignent le lac Kivu en grandes quantités puis une partie se décharge dans la rivière Ruzizi (Source : Kling, 2006).

Ces mêmes auteurs soulignent la présence de mouvements verticaux ascendants dans le lac, mouvements ayant été décrits comme vecteurs de risque d'éruption de gaz. Ces mouvements verticaux s'accompagnent d'une migration vers le bas des thermoclines, liés probablement à une augmentation du débit des sources. La surface du lac se réchauffe au taux de 0,12 ° C par décennie, ce qui correspond au taux de réchauffement d'autres lacs d'Afrique orientale. Cependant, les températures augmentent dans toute la colonne d'eau, et, bien que le réchauffement soit plus fort près de la surface, il ne peut être simplement attribué à la propagation de la chaleur atmosphérique, ce qui milite également pour une augmentation des débits des sources chaudes. Les températures augmentent particulièrement de février à avril, atteignant des valeurs de 26°C (Katsev et al., 2014). La tendance au réchauffement est peu susceptible d'affecter fortement la stabilité physique du lac, qui dépend principalement du gradient de salinité. En revanche, plus les épisodes venteux sont importants, plus ils augmentent l'efficacité du mélange hivernal (en janvier), en le rapprochant du point d'inversion des températures (65 m de profondeur, et profondeur en diminution). Ces éléments participent donc au réchauffement des eaux de surface du lac (Aaberg et al, 2013).

2.2. Collecte et organisation des données

2.2.1 Données épidémiologiques

2.2.1.1 Afrique (1970-2019)

En Afrique, la répartition des cas par pays est très hétérogène. Chaque année, seuls quelques trois à quatre pays concentrent plus de 60% du total de cas notifiés sur le continent. Les données épidémiologiques du choléra à l'échelle du continent Africain ont été collectées à travers les rapports publiés chaque année par l'OMS (<http://www.who.int/wer/archives/fr>) et organisées en tableau Excel[®]. Ces données comprennent le nombre de cas et décès annuels rapportés pour chaque pays d'Afrique, et permettent de calculer l'incidence, et la létalité par pays.

2.2.1.2 RDC (2000-2019)

Bien que le Rift Africain soit la zone la plus à risque de choléra en Afrique, la République démocratique du Congo (RDC) concentre la majorité des cas de cette maladie. Durant ces sept dernières années (2013-2019), la RDC figure dans le top cinq des pays qui notifient le plus des cas de choléra au monde (PMEC RDC, 2018). Selon l'OMS, depuis l'introduction de *Vibrio cholerae* en 1974, la RDC subit des épidémies récurrentes chaque année. De 2010 à 2019, la RDC a enregistré à elle seule 25 % du total de cas déclarés par tout le continent africain. En plus des récurrences des épidémies, l'Est de la RDC, qui borde la branche ouest du Rift Africain est un espace géographique endémique du choléra à partir duquel les épidémies redémarrent avec, par moments, la diffusion dans le reste des régions de la RDC (Muyembe et al., 2013). La RDC est subdivisée en 516 zones de santé (ZS) avec 393 Hôpitaux Généraux de Référence et 8 504 aires de santé (AS) planifiées dont 8 266 disposent d'un Centre de Santé. Une ZS est un espace géographiquement limité et couvrant une population théorique de 100 000 à 150 000 habitants avec un hôpital général de référence (HGR) offrant un paquet complémentaire d'activités (PCA). Elle est subdivisée en aires de santé (AS) qui, à travers un centre de santé (CS), couvrent environ 5 000 à 10 000 habitants, pour l'offre du paquet minimum d'activité (PMA). Ce niveau a pour mission la mise en œuvre de la stratégie des soins de santé primaires. En RDC, sept zones de santé sont dites sanctuaires du choléra, ces espaces géographiques constituent les sources itératives et les points de redémarrage des épidémies de choléra (Muyembe et al., 2013).

(1) Provenance des données

La lutte contre les maladies est coordonnée au sein du ministère de la Santé par la direction générale de Lutte contre la Maladie (DGLM) qui a en son sein la direction de la surveillance épidémiologique (DSE). La DGLM est chargée de l'organisation de la surveillance et de la lutte contre les maladies à potentiels épidémiques (MPE) en RDC (Politique Sanitaire RDC, 2001). Les formulaires hebdomadaires de surveillance des MPE en RDC comprennent 14 maladies dont le choléra.

Plusieurs types de données sont générés par ce système en fonction de l'échelle de surveillance épidémiologique :

- La communauté : utilise de définitions simplifiées de cas suspects de choléra, elle alerte la structure de santé la plus proche (Centre de Santé-CS ou bureau central de la ZS-BCZS).
- Les établissements des soins (CS et Hôpital Général de Référence-HGR) : utilise les définitions de cas suspects de choléra définies par l'OMS. En période non épidémique, il s'agit de « Toute personne âgée de 5 ans ou plus, se présentant avec déshydratation grave ou décès par suite d'une diarrhée aqueuse aiguë et des vomissements ». En période épidémique, on suspectera « Tout individu âgé de 2 ans ou plus présentant une diarrhée aqueuse aiguë, avec ou sans vomissement » (OMS, 2011). Les cas et décès sont rapportés au Bureau Central de la zone de santé (BCZS) qui les cumule chaque semaine.
- Le bureau central de la zone de santé (BCZS) : il compile et transmet à la province de façon hebdomadaire les données agrégées (cas et décès) provenant des structures de soins.
- La Division Provinciale de la Santé (DPS) : elle agrège à son tour les données de chaque zone de santé et les transmet à la DLM.
- La Direction Générale de la Lutte contre la Maladie (DGLM) : au sein de la DGLM, on y trouve des données hebdomadaires de cas et décès de méningites de chacune des zones de santé du pays.

Le cas suspect, diagnostiqué sur la base de la définition clinique de l'OMS est confirmé lorsqu'on isole en culture *Vibrio cholerae* O1 ou O139 dans les selles du patient. En RDC, le laboratoire de référence où se trouve réalisées toutes les confirmations biologiques est l'Institut National de recherche biomédical (INRB) (MSP- RDC, 2011).

Au total, les données de choléra en RDC proviennent de trois types de sources :

- La surveillance passive : celle-ci est faite par une collecte hebdomadaire des données suivant les différents niveaux de la pyramide sanitaire. Pour ce type de sources, la détection de cas suspects de choléra est basée sur la définition clinique de l'OMS.
- La surveillance active : celle-ci est faite à travers les sites sentinelles installés au niveau des provinces des sites sanctuaires du choléra (Nord Kivu, Sud Kivu...).

- Les investigations d'épidémies de choléra sont réalisées par différentes équipes intervenant dans la riposte aux épidémies en RDC (MSP sous la coordination de la DGLM, OMS, MSF, Epicentre, etc.).

Les cas suspects et les décès de choléra pour chaque zone de santé, rapportés chaque semaine pour la période 2000 à 2018, ont été obtenus à partir des bases de la DGLM, organisées et mises en concordance avec les fichiers cartographiques.

(2) Organisation des données :

Toutes ces données ont été saisies sur des tableaux Excel[®], comportant les rubriques suivantes : la ZS, l'année, le mois, la semaine épidémiologique, le nombre de cas et décès. Puis une exploration de ces données a été effectuée pour rechercher et retirer toutes les données aberrantes, compléter les semaines vides (« NA- Non Available » en cas de données manquantes ou « 0- zéro » en cas de valeur nulle) et réaliser la concordance entre les fichiers Excel[®] de données de choléra et les fonds de cartes (shapefiles) utilisés pour la cartographie thématique ainsi qu'avec les fichiers des variables environnementales.

2.2.2 Les Données de confirmation biologique

Les données sur la confirmation des cas de choléra sont obtenues à partir de la base de l'Institut National de Recherche Biomédicale (INRB).

En ce qui concerne les données de contamination dans les poissons et dans l'eau du lac Kivu, la confirmation biologique du *Vibrio cholerae* a été réalisée au laboratoire de l'Institut Supérieur des techniques Médicales de Bukavu (Figure 19). Les résultats de ces analyses biologiques pour la période de janvier 2016 à décembre 2017 ont été organisés sous Excel[®] et comportent les rubriques suivantes : années, sites, nombre d'échantillons, la date de prélèvement, nombre de *Vibrio cholerae* dans l'eau (CFU/100 ml) et dans les poissons (CFU/g), nombre de bactéries par tissus prélevés du poisson (branchies et intestins).

Les souches de *Vibrio cholerae* ont été isolées à partir des échantillons d'eaux et des poissons du lac. Elles ont été caractérisées du point de vue taxonomique par des tests et analyses phénotypiques classiques (description du protocole dans Batumbo et al. 2020).



Figure 19. Ensemencement des échantillons par le biologiste du laboratoire de l'Institut Supérieur des Techniques Médicales de Bukavu, RDC (crédit photographique D. Batumbo).

2.2.3 Enquête épidémiologique de terrain

Pour comprendre les sources de contamination des personnes par le choléra, une enquête épidémiologique cas-témoins a été effectuée à Bukavu entre août 2017 et mars 2018. L'enquête nous a permis de collecter les données individuelles des personnes malades du choléra ainsi que celles de leurs témoins pour la même période. Le protocole et le format des informations collectées sont décrits dans l'article 2 (Batumbo et al, soumis).

2.2.4 Données environnementales

2.2.4.1 Physico-chimie des travaux d'eaux

2.2.4.1.1 A l'échelle du continent Africain

Les données relatives à la physico-chimie des masses d'eaux (lac, fleuve et grandes rivières) disponibles pour chaque pays d'Afrique pour la période ont été saisies sur une base Excel® pour les analyses spatiales afin de déterminer les espaces potentiellement à risque de choléra.

La base Excel® a été organisée en rubriques suivantes : pays, catégorie de la masse d'eau (lac, fleuve, rivière), coordonnées géographiques, température moyenne, et salinité. Les sources consultées pour documenter ces paramètres sont décrites dans l'article 3 (Batumbo et al. Soumis).

2.2.4.1.2 A l'échelle des ZS

Nous avons échantillonné d'amont en aval par rapport au volcan Nyiragongo cinq sites de collecte des données : trois points (au niveau de Goma, Katana et Bukavu) dans le lac Kivu et deux sites sur le lac Tanganyika (au niveau des villes d'Uvira et Kalemie). Les mesures étaient effectuées avec les sondes paramétriques.

- Pour Goma, Uvira et Kalemie : une sonde multiparamétrique a été installée pour mesurer la température de l'eau et la conductivité. Par ailleurs, un bâton métrique a été utilisé pour mesurer la profondeur de l'eau du site. Les mesures étaient réalisées à un rythme hebdomadaire de janvier 2016 jusque décembre 2017.
- Pour Bukavu et Katana :
 - Une sonde multi paramètres a été installée pour mesurer la température et la conductivité de l'eau de surface ;
 - Une sonde paramétrique pour la mesure de l'oxygène dissous dans l'eau ;
 - Un Kit de salinité pour la mesure hebdomadaire de la salinité de l'eau.

Les mesures étaient réalisées à un rythme hebdomadaire de janvier 2016 jusque décembre 2017.

- Notons également que nous avons aussi utilisé dans cette étude, une autre série chronologique de la physico-chimie du lac Kivu de la ZS de Katana de 2007-2012. Cette série contenait la température de l'eau, la conductivité, l'oxygène dissous et le pH.

Les données relatives à la physico-chimie des masses d'eaux ont été saisies dans une base Excel® pour faciliter les analyses en les croisements avec d'autres variables environnementales et épidémiologiques.

2.2.4.2 Données météorologiques

La température de l'air et les précipitations, qui sont souvent considérées comme des facteurs clés des épidémies de choléra, ont été compilées sur la période (2007-2012). Ces données d'observation ont été obtenues grâce à l'analyse rétrospective des temps modernes pour la recherche et les applications (MERRA) de la *National Aeronautics and Space Administration* (NASA).

2.2.4.3 Activité volcanique du volcan Nyiragongo (2007-2012 ; 2016-2017)

Le flux de SO₂, qui reflète directement l'intensité du dégazage magmatique dans le panache associé au cratère du Nyiragongo, a été choisi comme un indicateur de l'intensité de l'activité volcanique.

Les données couvrant la période d'étude (2007-2012 et 2016-2017) ont été collectées à la station de Rusayo, située sur le flanc sud-ouest du volcan Nyiragongo et suivie par l'Observatoire volcanologique de Goma (OVG). La concentration du SO₂ volcanique est mesurée directement dans le panache par Spectroscopie d'Absorption Optique Différentielle de diffusion de la lumière sur une cible topographique (DOAS). Le scanner comporte un miroir spécial pour capter le rayon lumineux permettant de collecter les données brutes et de les transmettre au spectromètre au moyen de fibres optiques. Le principe de mesures repose sur la fluorescence UV, les molécules de SO₂ entrent en fluorescence lorsqu'elles sont irradiées par les UV (190-390 nm) (Galle et al, 2002). La moyenne des valeurs de SO₂ a été calculée pour chaque semaine afin de faciliter les analyses statistiques avec d'autres variables environnementales et les données épidémiologiques des cas de choléra.

CHAPITRE 3

Dynamics and risk factors of the seventh cholera pandemic in Africa

En preparation

Chapitre 3. Dynamique et facteurs de risque de la septième pandémie de choléra en Afrique.

Résumé de l'article 1

Cette étude vise à décrire la dynamique du choléra en Afrique et à délimiter les zones géographiques à risque, en utilisant la salinité de l'eau comme un déterminant écologique majeur de l'adéquation de l'habitat dans les zones tropicales. Pour ce faire, des séries de cas de choléra et de décès rapportés, ainsi que des données sur la salinité des eaux de surface ont été collectées au niveau des pays africains (1970-2019).

Tout d'abord, nous avons analysé les cas de choléra enregistrés chaque semaine (1970-2019) à l'échelle du continent entier. Des groupes spatiaux de cas de choléra ont été délimités à l'aide d'une analyse de Kulldorff, et des analyses de séries chronologiques nous ont permis d'étudier les distributions temporelles des cas.

Ensuite, en utilisant les connaissances sur la salinité des eaux de surface, nous avons construit une carte des zones potentiellement à risque de choléra en utilisant le logiciel QGIS® 2.8.0. Un modèle de régression multivarié a démontré que la présence de masses d'eau saumâtre dans chaque pays est le principal facteur expliquant l'incidence du choléra, et a mis en évidence des facteurs aggravants, tels que les conflits armés et les guerres combinés au faible niveau socio-économique du pays.

Les groupes spatiaux continentaux les plus importants ont été détectés en Afrique de l'Ouest (chaîne volcanique du Golfe de Guinée au lac Tchad) et en Afrique de l'Est (pays de la vallée du Rift). L'endémicité du choléra dans cette région peut être fortement liée à l'activité volcano-tectonique, qui entraîne la salinisation des eaux de surface. Cela les rend favorables à la survie de *Vibrio cholerae*, la transmission étant renforcée par les conflits et les guerres qui sévissent dans ces pays. La carte des zones africaines potentiellement sensibles aux épidémies de choléra pourrait être utilisée comme cible pour des interventions prioritaires dans le cadre des objectifs de l'OMS visant à éliminer le choléra d'ici 2030 sur le continent.

Article 1 : Dynamics and risk factors of the seventh cholera pandemic in Africa

Auteurs et affiliations

Doudou Batumbo B^{1,2}, Patrick Giraudoux¹, Catherine Deniel³, Frederick Mauny¹, Jean Jacques Muyembe², Didier Bompangue^{1,2}, Gudrun Bornette^{1*}.

¹UMR CNRS 6249 Chrono-Environment Besançon France, ²Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Kinshasa DRC, ³UMR CNRS 6524, Magma and Volcanoes Laboratory, University of Blaise Pascal-CNRS-IRD, Clermont Ferrand, France.

*Auteur correspondant : Gudrun Bornette gudrun.bornette@univ-fcomte.fr ; Tel : +33678177016

Abstract

This study aims at describing the dynamics of cholera in Africa and to delineate geographical areas at risk, using the water salinity as a major ecological determinant of habitat suitability in tropical areas. To do this, series of reported cholera cases and deaths, and data on surface water salinity were collected on the level of African countries (1970-2019).

First, we analyzed weekly-recorded cholera cases (1970-2019) at the whole-continent scale. Spatial clusters of cholera cases were delineated using Kulldorff analysis, and time-series analyses allowed us to investigate temporal distributions of cases.

Second, using knowledge about surface water salinity, we built a map of areas potentially at risk of cholera using QGIS® 2.8.0 software. A multivariate regression model demonstrated that the presence of brackish water bodies in each country is the major factor explaining cholera incidence, and outlined aggravating factors, such as armed conflicts and wars combined to the low socio-economic level of the country.

The more important continental spatial clusters were detected in West (volcanic chain from the Gulf of Guinea to the lake Tchad) and East Africa (East African Rift countries). The

endemicity of cholera in these regions may be strongly related to the volcano-tectonic activity, leading to the

salinization of surface waters. This makes them favorable to the survival of *Vibrio cholerae*, transmission being reinforced by conflicts and wars prevailing in these countries. The map of African areas potentially susceptible to cholera

outbreaks could be used as a target for priority interventions in the context of the WHO's goals to eliminate cholera by 2030 on the continent. **Keywords:** Cholera, Africa, spatial clusters, environmental risk, salinity, volcano tectonic.

1. Introduction

Cholera is an acute, watery diarrheal disease caused by *Vibrio cholerae* serogroups O1 or O139, after ingestion of contaminated water or food¹⁻³. Access to safe drinking water and improved sanitation facilities have eliminated the transmission of *Vibrio cholerae*, the causative agent, in high-income countries. However, it continues to affect millions of people in less developed countries where improved water and sanitation facilities are not widely available⁴.

Vibrio cholerae is both the causative agent of cholera and a natural and indigenous inhabitant of the aquatic environment⁵⁻⁷. This bacterium colonizes surface waters,

often in association with phyto or zooplankton⁸⁻¹⁰. Its occurrence in the aquatic environment is usually related to rather high temperatures (22-30 °C) and salinity (1-10 ppt)¹¹.

Cholera is one of the oldest infectious diseases described. Seven times in history, cholera has emerged from its presumed aboriginal habitat near the Bay of Bengal and spread around the world. Nowadays, cholera is endemic in India since centuries and is a major public health problem in several parts of the world³.

In 1961, after an absence of more than 100 years, the seventh cholera pandemic began in Indonesia and spread worldwide, reaching Africa in 1970 and South America

in 1991¹². Although each of the previous six pandemics has receded, the current (seventh) pandemic persists since more than 50 years¹². Nowadays, cholera has reached the level of endemicity in Africa¹³. The lack of infrastructures and the low economic development led to a lack of safe drinking water and poor sanitation¹⁴ in many parts of Africa. These causes were until recently considered as responsible of cholera spread. However, cholera endemicity is not recorded throughout the continent.

Some studies outlined the strong spatial variation in cholera distribution from one country to another, and often also from district to district¹⁵. Cholera is truly endemic (high number of cases each year) in a few regions, as the Lake Chad region, which includes the Sahelian region of Niger, Nigeria, Cameroon, and Chad, and the African Great Lakes region associated to the East African Rift (EAR) system comprising Kenya, Uganda, Rwanda, Burundi, DRC, and Tanzania^{15,16,17}. These regions are dotted with several lakes and rivers. The proximity of lakes¹⁸ or river flows through a town have been reported as a risk factor for cholera¹⁹. Cholera is

frequently described as associated with warm brackish waters as lagunes, but it also thrives in coastal waters and may tolerate rather fresh water from rivers, canals, ponds, or lakes, if low saline levels are compensated for by heat and organic nutrients²⁰. In Africa, the major endemic regions are frequently far from the seacoasts and their *a priori* favorable habitats²⁰. Along the East African Rift, in the Kivu area a temporal variation of cholera cases appears strongly controlled by volcano-tectonic activity²¹. Finally, the disease may be exacerbated by humanitarian crises, resulting in the disruption of water and sanitation systems and the displacement of populations in poorly equipped and overcrowded camps^{14,17}.

Very few studies have been conducted on the impact of the environmental signature in maintaining cholera endemicity in Africa. This work has been carried out in this context, with the following objectives: (1) to determine as precisely as possible the spatial and temporal distribution of cholera cases in Africa, (2) to identify and hierarchize the environmental and socio-economic factors explaining the spatial and

temporal distribution of cholera cases on the continent scale, (3) to highlight the impact of two volcano-tectonic zones (Rift Zone and around Lake Chad) as areas of

2. Materials et Methods

2.1 Study area

Africa is divided into five geographical regions (North, Central, East, West and South) with a total of 1.34 billion people in 2020

[\(https://www.populationdata.net/continents/afrique/\)](https://www.populationdata.net/continents/afrique/) consulted on 12 December 2020. The African continent is subdivided into five climate zones: Equatorial climate, Wet tropical climate, Dry tropical climate, Arid desert climate and Mediterranean climate.

2.2 The Data

Several types of data were used for the study: epidemiological data on cholera cases, environmental and socio-economic data for each country on the African continent.

cholera persistence in Africa and demonstrate the riparian effect in the endemism of cholera in the EAR.

Epidemiological Data

Systematic searches in ProMED, PubMed and Google were carried out using the search terms "cholera" and "acute watery diarrhea". We then used data on cholera cases and deaths on the African continent from the WHO annual reports for the period 1970 to 2019

[\(http://www.who.int/wer/archives/fr\)](http://www.who.int/wer/archives/fr) consulted on 12 December 2020. For annual cases, the source with the highest number of reported cases was used as the final count of cases. We used data on cholera cases and deaths for each African country from 1970 to 2019.

Socio-economic Data

- Data on population were collected from the *Atlas des populations et pays du monde* available online: <https://www.populationdata.net/continents/afrique>. Population data by year since 1970 and by African country were extracted from this

population database and organized in an Excel dataset that was useful for calculating cholera case incidences by year and country.

- Human Development Index (HDI) was extracted from the World bank data: <http://donnees.banquemondiale.org/indicateur> and tabulated by country and year since 1980 until 2019.
- The data on conflicts and wars were obtained from the Peace Research Institute of Oslo (PRIO): <https://www.prio.org/Data/Armed-Conflict/Armed-Conflict-Location-and-Event-Data/>. The conflict data was extracted from the disaggregated conflict and war event databases of the Armed Conflict Location & Event Data (ACLED) project. The ACLED is a disaggregated data collection, analysis and crisis mapping project. ACLED collects the dates, actors, locations, deaths and types of all reported political violence and protest events in Africa, the Middle East, Latin America and the Caribbean, East Asia, South Asia,

South East Asia, Central Asia and the Caucasus, Europe and the United States of America. The number of events were tabulated by year for each African country.

Environmental Data

- Rainfall data for African countries were obtained from the WorldClim - Global Climate Data: <http://worldclim.org/bioclim>. This platform incorporates satellite imagery that was overlaid on the shapefile of the African continent to extract categorical country rainfall data using QGIS® 2.8.0 software. The daily rainfall data has been tabulated into annual averages from 1980 to 2019 to by African country.
- Data on surface water salinity were obtained from several sites and online documents: <https://www.nature.com/articles/s41597-020-0562-z>; <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.913939?format=html#download>; <https://biospherejournal.org/data-base/>; <https://www.researchgate.n>

[et/publication/336799352_Assessment_of_PhysicoChemical_Characteristics_of_Water_at_Selected_Stations_of_Lake_Tanganyika_Africa_with_Special_Emphasis_on_Pisciculture_Purposes;](http://www.fao.org/3/d0780b/D0780B05.htm)
[http://www.fao.org/3/d0780b/D0780B05.htm.](http://www.fao.org/3/d0780b/D0780B05.htm)

The average salinity values per water body were organised in an Excel table. For water bodies with conductivity, these values were converted into salinity. Each water

2.3 Data analysis

Identification of spatial clusters of cholera cases over the whole sampling period:

Kulldorff's retrospective spatial analysis based on a Poisson model²²⁻²⁴ was used to identify spatial cholera clusters for Africa over the period 1970-2019. The scanning statistic is used to detect spatial clusters. This method is based on the progressive scanning of each study unit with a moving window. The scanning window of SaTScan[®] software v 9.6 (<https://www.satscan.org/>) was defined as an interval for time, as a circle or ellipse (in space) or a cylinder with a circular or elliptical base (in space-time).

body was represented by the mean value, its geographical coordinates (latitude, longitude, and altitude).

- The shapefile of African countries has been downloaded from the free public access site: <https://data.humdata.org/>.
- Temperature data were not used because all countries may have temperatures favorable to vibrio, except in some mountainous areas where no cholera cases were recorded.

The window was then moved in space and/or time, the number of observed and expected cholera cases inside the window was recorded for each location. For each window, a statistic is calculated, based on the number of observed and expected cases inside and outside the window and by calculating the Likelihood Ratio Test^{25, 26}. The most likely or main cluster is the one with the highest statistic (the highest likelihood ratio value). The scanning method allows to prioritize the clusters according to the likelihood ratio values and to identify secondary clusters^{25, 26}.

To determine the statistical significance of the primary and secondary clusters

detected, the p-value was calculated using a Monte Carlo simulation with 99 999 replications. To ensure that the identified clusters corresponded to a significant excess of cases inside the window and not to an extremely low rate outside the window, the spatial scan window was set to include less than 50% of the population at risk. The Gini coefficient was used to account for the influence of the maximum window size on the clusters to be identified. This coefficient adjusted this fixed value above the maximum size of each cluster detected (e.g., 5%, 10%, 20% and 50%)²⁷.

For the temporal analysis, using the R software, we have constructed a graph which presents for all African countries the kinetics of the notification of cholera cases from 1970 to 2019. This graph allowed us to rank the countries according to their rate of notification of cholera epidemics per year for the study period.

Statistical analysis to identify the risk factors:

To assess whether the spatial and temporal distribution of cholera cases on the continent is associated with environmental and socio-economic factors, we used

multivariate regression models. The number of cholera cases per country over the whole 1970-2019 period was then modelled in relation to environmental variables (population density, precipitations, and water salinity), anthropological variables (number of years of conflict and war and Human Development Index) and the logarithm of population size as an offset. To account for the possible over-dispersion of cholera incidence, models (negative binomial and Poisson models, Type I and Type II generalized linear models) were compared using the Akaike information criterion^{28, 29}. We also calculated for each variable of the best model, the Odds Ratio with its 95% confidence interval (CI). A $P < 0.05$ value was considered statistically significant.

Areas of cholera persistence in Africa:

The salinity of surface waters was considered as an accurate parameter for identifying areas potentially at risk of cholera¹¹. Each value of surface water salinity was plotted on the geographical coordinates of the centroid of the water body sampled (lakes, rivers). This map was produced using QGIS® 2.8.0 software.

2.4 Ethical considerations

The study used anonymous, aggregated secondary surveillance data collected by

3. Results:

Spatial and temporal distribution of cholera cases from 1970-2019

In the period 1970 -2019, Africa reported a total of 4 334 278 cases of cholera. WHO reports a total of 3 869 134 cases of cholera over the last three decades, representing 89 % of all cases recorded in the world during the study period (Table 1). During the third decade (1990-1999), the number

WHO, no ethics committee approval was required.

of cholera cases sharply increased in continental Africa, although with a lower lethality rate (Table 1).

From 1990 onwards, the following countries had a steady pattern of cholera outbreaks: Eastern and Rift countries (DRC, Kenya, Malawi, Tanzania, Zambia, Burundi, Uganda and Mozambique), in West African countries (Nigeria, Liberia and Ghana), Somalia, Angola and Cameroun (Figure 1).

Table 1. Distribution of cholera cases and lethality rates by decade over the 1970-2019 period

Decades	Cholera cases	Lethality rate
I (1970-1979)	166 849	11.0
II (1980-1989)	298 295	7.5
III (1990-1999)	1 240 277	5.3
IV (2000-2009)	1 556 434	2.4
V (2010-2019)	1 072 423	1.9
Total	4 334 278	

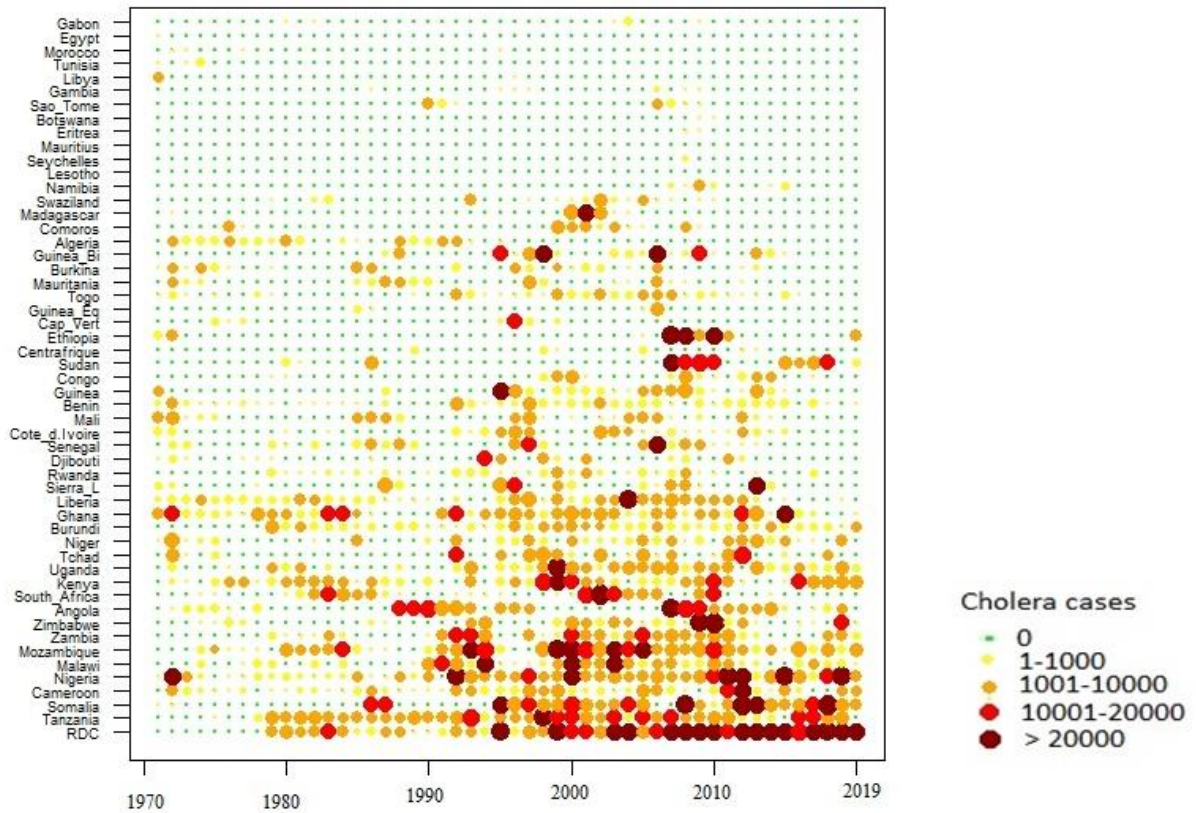


Figure 1. Temporal distribution of cholera cases by year and country in Africa, 1970-2019.

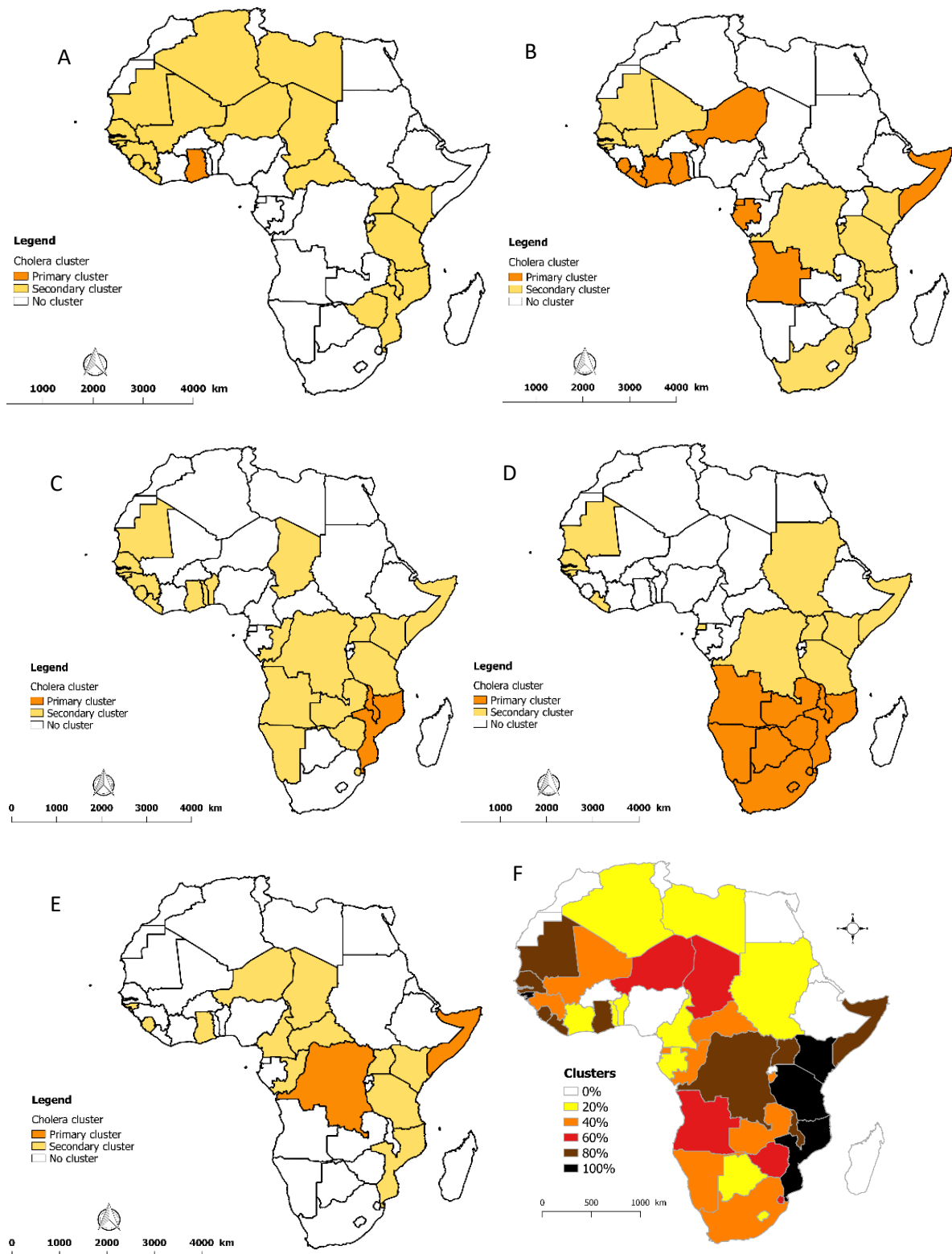


Figure 2. Spatial analyses of relative cholera risk per decade (A, B, C, D and E represent respectively the decades 1970-1979, 1980-1989, 1990-1999, 2000-2009, 2010-2019). Figure F summarizes the relative cholera risk over the 1970-2019 period.

SatScan results for the detection of cholera risk clusters in Africa throughout the seventh pandemic are presented according to the five decades of the study.

For the first decade (1970-1979), a significant primary spatial cluster was detected in Ghana (RR = 8.27, $p < 0.001$). The secondary spatial clusters brought together thirteen West African countries and seven countries, mostly in the EAR (Figure 2A).

During the second decade (1980 -1989), a primary cluster included Ghana, Equatorial Guinea, Côte d'Ivoire, Liberia, Niger, Sierra Leone, Sao Tome and Principe, Angola, Gabon and Somalia), (RR = 6.89, $p < 0.001$). Three secondary spatial clusters were identified in the EAR area (DRC, Burundi, Kenya, Mozambique, Malawi, and Tanzania), in Western Africa (Senegal, Mali, Gambia, Guinea-Bissau, and Mauritania) and Southern Africa (South Africa and Swaziland; Figure 2B).

During the third decade (1990-1999), a primary spatial cluster grouped two countries (Mozambique and Malawi, RR = 6.34, $p < 0.001$) in the EAR area. The

secondary spatial clusters included various countries from three regions of Africa: Western Africa (Gambia, Benin, Ghana, Guinea, Guinea-Bissau, Senegal, Sierra Leone, Mauritania, Liberia, and Togo), the EAR area (DRC, Kenya, Mozambique, Uganda, Zimbabwe, Tanzania and Zambia) and three Central Africa (Congo, Chad and Angola, Figure 2C).

During the fourth decade (2000-2009), a primary spatial cluster included all the countries from south Africa: Mozambique, Seychelles, South Africa, Lesotho, Botswana, Namibia, Swaziland, Zambia, Zimbabwe, and Malawi, RR = 3.95, $p < 0.001$). Three large secondary spatial clusters were also identified: in Western Africa (Equatorial Guinea, Guinea-Bissau, Senegal, Sao Tome and Principe, Mauritania, and Liberia), the EAR area (DRC, Kenya, Uganda, and Tanzania), and finally Somalia, Sudan, and Comoros (Figure 2D).

During the fifth decade (2010-2019), a primary spatial cluster was detected in two countries (DRC and Somalia) where 42 % of reported cholera cases were concentrated (RR = 24.7, $p < 0.001$). Three secondary

clusters also occurred: The EAR area (Uganda, Kenya, Mozambique and Tanzania); Western Africa (Niger, Guinea-Bissau, Sierra Leone and Ghana); and Central Africa (Chad, Congo, Central African Republic and Cameroon, Figure 2E).

The summary figure (Figure 5F) highlights a large risk area in the EAR area, another around Lake Chad and the coastal regions (mostly of Western Africa and Somalia).

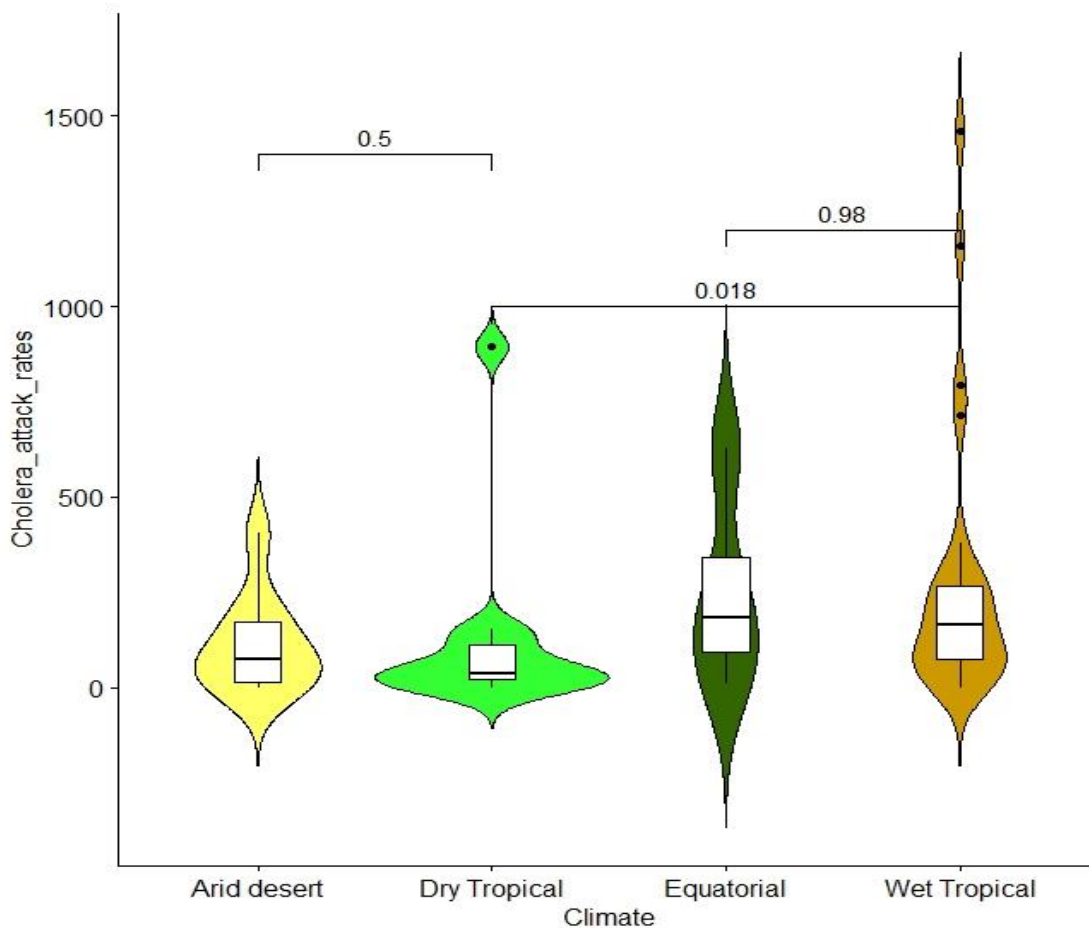


Figure 3. Comparison of cholera attack rates of different African countries according to their respective climate zones, Africa, 1970-2019.

The two-by-two comparison of climatic regions with the Student test revealed a spectrum of cholera dynamics that included a high incidence of cholera in countries with predominantly equatorial (Figure 3).

Environmental and socio-economic factors explaining the distribution of cholera cases in Africa since 1970.

A significant link occurred between the occurrence of cholera epidemics and the presence of brackish water bodies in the countries (lakes and seashores) with high salinity (Binomial model, OR: 2.18; $p=0.031$) (Table 2). The areas potentially at risk of cholera according to the salinity of their surface waters are shown on Figure 4.

and wet tropical climates (for example, countries such as DRC and other EAR countries) compared to dry tropical climate zones

Unstable countries (because of several years of armed conflict) had also a higher risk of cholera epidemics (Binomial model, OR: 2.01, Table 2). Countries with a good Human Development Index (HDI) were less affected by cholera epidemics (OR: 0.03). The map of areas at risk of cholera according to surface water salinity shows a distinct and heterogeneous distribution pattern. Apart from the coastal areas, the EAR area and around Lake Chad are at higher risk (Figure 5)

Table 2. Factors independently associated with cholera epidemics analyzed with a multivariate model, at the scale of African countries, 1970 -2019.

Variables	Estimator	Standard error	t-value	OR (IC)	Pr(>/t/)
Number of years of war	0.701	0.311	2.249	2.01 (1.10-3.67)	0.030
Human Development Index	-3.347	1.530	-2.187	0.03 (0.002-0.70)	0.035
Precipitations (mm/year)	0.0003	0.0001	3.870	1.0003 (1.0001-1.0005)	0.004
Presence of brackish water	0.781	0.349	2.234	2.18 (1.11-4.33)	0.031
Density of population	0.0007	0.0032	0.226	1.001 (1.002-1.011)	0.823

OR: Odds Ratio IC: OR Confidence interval (95% CI)

The map of areas at risk of cholera shows a distinct and heterogeneous distribution pattern. Apart from the coastal areas, the

African Rift Valley and the region around Lake Chad are at higher risk (Figure 5).

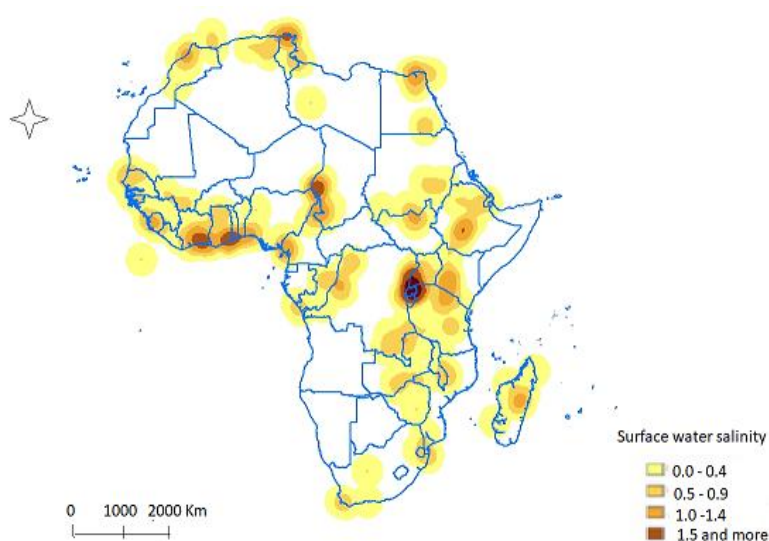


Figure 4: Map of cholera vulnerable areas in Africa by surface water salinity.

4. Discussion

Since its appearance in continental Africa, the pathogen underwent a period of adaptation to this new ecosystem during the first two decades and then led to an explosion of epidemics from the third decade onwards (1990-1999). The period from 1990 to 1999 was characterized by the "disappearance" of cholera cases in North Africa (Egypt, Libya, Morocco, Tunisia and Algeria), and the beginning of the entrenchment of cholera in certain sub-Saharan countries. During this decade the profile of cholera moved from recurrent epidemics separated by periods of interruption to more endemic cholera profiles³⁰. We demonstrated that cholera incidence was mainly correlated to climate and water salinity. As a result, coastal countries and those with saline water bodies were the most likely to be hit by cholera epidemics, highlighting the strong environmental component of vibrio endemicity¹⁹.

Recent studies of cholera demonstrated that for the Western and Eastern African regions, the most frequently cited risk factor was heavy rainfall and flooding^{15, 31}. In the present study, we demonstrated

that the occurrence of epidemics was more pronounced in countries with humid tropical and equatorial climates. In fact, these two climatic zones are characterized by high average annual rainfall and high average temperatures. Thus, although heavy rainfall and flooding may be factors that amplify cholera spread^{15,31} it is also possible that climate is only incidentally associated with *Vibrio* presence, as the most contaminated countries are those with either an equatorial or wet tropical climate associated to saline water bodies. However, it can be assumed that in more arid climates, the conditions for *Vibrio* survival are affected by the partial drying up of water bodies, which may lead to a seasonal decrease in habitats favourable to the bacillus³².

We also demonstrated that the political instability of countries affected by *Vibrio* undoubtedly favors epidemics. Indeed, along the border between DR Congo, Rwanda, and Uganda, the refugee's camps probably favored cholera spread. Similarly, countries along the border of Lake Chad have been shaken by civil wars that have led to population migration and social crises that favour the spread of cholera.

This is the case of Niger (1991, 2017), Nigeria (1991, 2009, 2011 and 2017) and Cameroon (2011)^{33, 34}.

The results of this study outline that continental cholera epidemics are nowadays concentrated in sub-Saharan Africa, as reported in several previous studies^{14,18,30}. Indeed, the EAR countries (DR Congo, Kenya, Malawi, Tanzania, Zambia, Burundi, Uganda and Mozambique), coastal countries (Somalia, Gambia, Senegal and Ghana), the Lake Chad Basin countries (Niger, Chad and Cameroon) have been identified for they cholera persistence profile. These are identified a cholera endemics country, as suggested in previous studies^{19,35,36}. From an ecological point of view, we can therefore suspect, in these geographical areas, that ecological niches consisting in warm and saline water masses occur (lakes, rivers). Indeed, several studies have shown that living near lakes in the African Rift Valley region was a major risk factor for cholera^{37, 38}. The African Rift Valley region, the Lake Chad Basin are both under volcano-tectonic influence (the Rift Valley volcanic chains on the one hand and the Cameroon volcanic line on the other) and

the coastal areas. The volcanic activity observed in these two regions through the different active volcanoes (Nyiragongo, Nyamuragira, L'Oï Doinyo Lengai, the active volcanoes of the Cameroon volcanic line) may control the physico-chemistry of the lakes and rivers of these areas of the African continent^{39, 40, and 41}. More precisely, geothermal activity may increase the salinity and the temperature of lakes (Chad, Kivu, Tanganyika...) ^{39, 40, 21}, providing ecological conditions that may favor the survival of cholera bacilli. A recent study on Lake Kivu showed strong correlations between water salinity and the occurrence of *Vibrio cholerae* in the water²¹, and previous studies outlined that the frequency of isolation of the bacteria in water is linked to the salinity of the environment, with optimal values for salinities between 1 and 10 ‰^{11, 42, 43}.

Conflicts and wars (in DRC, Somalia, Angola, Burundi, Nigeria, Chad) ⁴⁴ are an aggravating factor, facilitating the dispersion of the bacillus among displaced, weakened populations in inadequate sanitary conditions.

North African countries (Tunisia, Egypt, Algeria and Morocco), also have these

ecological zones at risk of cholera (Figure 4). However, thanks to the improvement of the living conditions of the population, and especially access to drinking water and sanitation, materialized by good Human Development Indices (HDI), epidemics have been rare in these countries over the last two decades.

More generally, the countries with sporadic notifications of cholera cases are mostly those that have improved the living conditions of their population (through significant construction of hydro-sanitary facilities) and have a low frequency of war and armed conflict.

Conclusion

This study is a first attempt to understand the global factors explaining the spread and persistence of cholera in Africa on the one hand, and the ecological factors underlying the persistence of this disease in the continent's hot spots on the other. Indeed, until now, the dynamics of cholera in Africa have been attributed either to climate change or to genetic variability and changes in time and space in the pathogen, sanitation and human behaviour¹⁹. However, the present study placed the ecological reservoirs as a key factor for

cholera persistence in certain African countries and outlined the aggravating factor of wars.

The identification in this work of the geographical areas and countries most at risk of cholera in Africa should serve as a good basis for identifying more precisely the water bodies acting potentially as cholera reservoirs, and for guiding cholera control strategies in Africa.

The results of such a multidisciplinary study should enable African countries to meet the targets set by the WHO in its roadmap for the elimination of cholera as a public health problem in Africa by 2030. This remains possible with a view to the implementation of coherent control strategies based on consistent knowledge and considering the complexity of ecosystems at different scales of disease expression.

Africa is a continent where most of the population lives below the poverty line with limited means for most countries. The results of this study are equally important for the readjustment of control approaches allowing the installation of hydro-sanitary structures as well as other control measures priority in areas identified at risk.

Limits

The main limitation of this study is the weakness of the cholera surveillance system in Africa to provide disaggregated data available on a weekly basis and at scales finer than the national level. Such data could be used to develop a more appropriate regression model for all African countries. Aggregated data by year did not allow monthly analyses of variability to be carried out for each African country.

Acknowledgements:

Thanks to the entire team of the Research and Training Unit on Ecology and Control of Infectious Diseases in DRC for providing the cholera surveillance data for Africa.

Authors' contributions

GB designed the study, supervised the study, and wrote the manuscript; DBB designed the study, analyzed the data and wrote the manuscript; PG supervised and participated in the data analysis; CD, DB, FM, and JM read and approved the final manuscript.

Competing interests: the authors do not declare any competing interests.

Availability of data and material:

All the data generated or analyzed during this study are included in this published article (and its complementary information packs).

References

1. Clemens JD, Nair GB, Ahmed T, Qadri F, Holmgren J. Cholera. Lancet. 2017 ; 390 (10101) :1539-1549. Doi : 10.1016/S0140-6736(17)30559-7.
2. Constantin de Magny G, Thiaw W, Kumar V, Manga NM, Diop BM, Gueye L, Kamara M, Roche B, Murtugudde R, Colwell RR. Cholera outbreak in Senegal in 2005: was climate a Factor? PLoS ONE.2012; 7, e44577.
3. Ivers LC, Walton DA. The “First” Case of Cholera in Haiti: Lessons for Global Health. Am. J. Trop. Med. Hyg.2012 ; 86, 36–38.
4. Harris JB, Larocque RC, Qadri F, Ryan ET, Wood SB. Cholera. Lancet. 2012 ; 379 : 2466–76. Doi : 10.1016/S0140-6736(12)60436-X PMID : 22748592.
5. Colwell RR. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. Science. 1996 ; 274 :2025–2031.
6. Colwell RR, Seidler RJ, Kaper J, Joseph SW, Garges S, Lockman H, Maneval D., H. Bradford, N. Roberts, Remmers, E., Huq, I and Huq, A. Occurrence of *Vibrio cholerae* serotype O1 in Maryland and Louisiana estuaries. Appl. Environ. Microbiol. 1981 ; 41 :555–558.
7. Kaper J, Lockman H, Colwell RR and Joseph SW. Ecology, serology, and enterotoxin production of *Vibrio cholerae* in Chesapeake Bay. Appl. Environ. Microbiol. 1979 ; 37 :91–103.
8. Colwell RR. Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne. Int. Microbiol. 2004 ; 7, 285–289.
9. Purdy A, Rohwer F, Edwards R, Azam F, Bartlett DHA. Glimpse into the expanded genome content of *Vibrio cholerae* through Identification of genes present in environmental strains. J. Bacteriol.2005 ; 187, 2992–3001.
10. Emch M, Feldacker C, Islam MS, Ali M. Seasonality of cholera from 1974 to 2005: a review of global patterns. Int. J. Health Geogr. 2008 ; 7, 31.
11. Takemura AF, Diana M and Martin FP. Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment, from the genus to the population level. Aquatic Microbiology. 2014; 5. Doi: 10.3389/fmicb.2014.00038.
12. Echenberg M. Africa in the time of cholera: A history of pandemics from 1817

to the present. New York. Cambridge University Press, 2011.

13. World Health Organization, 2000. Cholera Fact Sheet No. 107. Geneva, Switzerland, World Health Organization.

14. Griffith DC, Kelly-Hope LA, Miller MA. Review of reported cholera outbreaks worldwide, 1995–2005. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 ; 75 : 973–977. PMID : 17123999.

15. Ibrahim AS, Mahamadou D, Harouna A, Souleymane B, Issifou D, Lamine IM, Lagaré A, Adehossi E, Aka J, Saidou M. Epidémies de choléra en Afrique Sub-Saharienne : Revue documentaire de 2010 à 2016. *European Scientific Journal.* 2019 ; 15, 24 : 1857 – 7881.

16. Lessler J, Moore SM, Luquero FJ, McKay HS, Grais R, Henkens M, Mengel M, Dunoyer J, M’Bangombe M, Lee EC, Djingarey MH, Sudre B, Bompangue D, Fraser RS, Abubakar A, Perea W, Legros D, Azman AS. Mapping the burden of cholera in sub-Saharan Africa and implications for control: An analysis of data across geographical scales. *Lancet.* 2018 ; 391 : 1908–15.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33050-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33050-7)

17. Gaffa NH, Tauxe RV, Mintz ED. Cholera: a new homeland in Africa? *Am J*

Trop Med Hyg. 2007 ; 77 : 705-713.

18. Bompangue D. Dynamique des épidémies de choléra dans la région des grands lacs Africains, Thèse de doctorat, Université Franche comte, 2009.220p.

19. Zerbo A, Delgado RC, González PA. A review of the risk of cholera outbreaks and urbanization in sub-Saharan Africa. *Journal of Biosafety and Biosecurity.* 2020; 2: 71–76.

<https://doi.org/10.1016/j.jobbb.2020.11.004>.

20. Rebaudet S, Sudre B, Faucher B and Piarroux R. Cholera in Coastal Africa: A Systematic Review of its Heterogeneous Environmental Determinants. *The Journal of Infectious Diseases.* 2013 ;208(S1): S98–106.

21. Batumbo D, Giraudoux P, Deniel C, Emmanuel G, Mauny F, Mahinda KC, Kizungu R, Muyembe JJ, Bompangue D, Bornette G. Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406>

22. Kulldorff MA. spatial scan statistic. *Commun Stat-Theory Methods.* 1997 ; 26(6) :1481–96.

23. Kulldorff M. Tests of spatial randomness adjusted for an inhomogeneity: A general framework. *J Am Stat Assoc.* 2006 ; 101(475) :1289–305.
24. Kulldorff M, Nagarwalla N. Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat Med.* 1995 ; 14(8) :799–810.
25. Wang J, Cao Z, Zeng DD, Wang Q, Wang X, et al. Epidemiological analysis, detection, and comparison of space-time patterns of Beijing hand footmouth disease (2008–2012). *PLoS One.* 2014; 9(3): e92745.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092745>.
26. Mandja BM, Brembilla A, Handschumacher P, Bompangue D, Gonzalez JP, Muyembe, JJ, Mauny F. Temporal, and spatial dynamics of Monkeypox in Democratic Republic of Congo, 2000-2015. *EcoHealth.* 2019.
<https://doi.org/10.1007/s10393-019-01435-1>.
27. Han J, Zhu L, Kulldorff M, Hostovich S, David G, Stinchcomb D G, Zaria Tatalovich Z, Lewis D R and Feuer E J. Using Gini coefficient to determining optimal cluster reporting sizes for spatial scan statistics. *Int J Health Geogr.* 2016 ; 15 :27. DOI 10.1186/s12942-016-0056-6.
28. Burnham KP and Anderson DR. Model selection and multimodel Inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York, 2003.
29. Ferguson CA, Carvalho L, Scott EM, Bowman AW, Kirika A. Assessing ecological responses to environmental change using statistical models. *J Appl Ecol* 2007; 45: 193-203.
30. Bompangue D, Giraudoux P, Pierre-Denis P, Mutombo A, Piarroux M, Sudre B, Horion S, Muyembe JJ, Kebela B and Piarroux R. Dynamics of Cholera Outbreaks in Great Lakes Region of Africa, 1978–2008. *Emerging Infectious Diseases.* 2011 ; 17(11).
31. Lipp E, Huq A and Colwell R. Effects of Global Climate on Infectious Disease: the Cholera Model. *Clinical Microbiology Reviews.* 2002, p. 757–770.
32. Bwire G, Mwesawina M, Baluku Y, Kanyanda SSE, Orach CG. Cross-Border Cholera Outbreaks in Sub-Saharan Africa, the Mystery behind the Silent Illness: What Needs to be done? *PLoS ONE.* 2016 ; 11(6) : e0156674. Doi :
[10.1371/journal.pone.0156674](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156674).
33. Adam M. Guerres africaines. *Études rurales.* 2002 ; 163-164.

<http://journals.openedition.org/etudesrurales/7978> ; DOI :10.4000/etudesrurales.

34. Armed Conflict Location and Event Data Project. (2017). Conflict Trends (No. 55) Real-Time Analysis of African Political Violence. Available at : http://www.acledata.com/wp-content/uploads/2017/02/ACLED_Conflict-Trends-Report-No.55-February-2017_pdf.pdf.

35. Waiser MJ and Robarts RD. Saline Inland Waters. Encyclopedia of Inland Waters 2009; 2: 634-644.

36. Ali M, Nelson AR, Lopez AL and Sack DA. Update Global burden of cholera in endemic countries. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2015 : 1-13. DOI:10.1371/journal.pntd.0003832.

37. Islam MS, Zaman MH, Ahmed N, Clemens JD. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. Vaccine. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.033>.

38. Hounmanou YMG, Leekitcharoenphon P, Hendriksen, RS, Dognon TV, Mdegela RH, Olsen JE et al. Surveillance and genomics of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 from fish, phytoplankton and water in Lake Victoria,

Tanzania. Front Microbiol. 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00901>.

39. Balagizi CM, Darchambeau F, Bouillon S, Yalire MM, Lambert T, Borges AV. River geochemistry, chemical weathering, and atmospheric CO₂ consumption rates in the Virunga Volcanic Province (East Africa). Geochem Geophys Geosyst. 2015 ; 16(8): 2637-60.

40. Shellnutt JG, Lee TY, Torng PK, Yang CC and Lee YH. Late Cretaceous intraplate silicic volcanic rocks from the Lake Chad region: An extension of the Cameroon volcanic line? Geochem, Geophys, Geosyst. 2016 ; 17,2803–2824. Doi : 10.1002/2016GC006298.

41. Cuoco E, Tedesco D, Poreda RJ, Williams JC, De Francesco S, Balagizi C, Darrah TH. Impact of volcanic plume emissions on rain water chemistry during the January 2010 Nyamuragira eruptive event : Implications for essential potable water resources. J Hazard Mater. 2013; 244-245: 570-81.

42. Colwell, R.R., Huq, A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. The causative agent of cholera. Ann NY Acad Sci ; 1994 : 740 :44-54.

43. Colwell RR. Infectious disease, and environment: cholera as a paradigm for water borne disease. International Microbiologie. 2004 ; 15(2)7 :285–289.

44. Bompangue D, Giraudoux P, Piarroux M, Guy M et al. Cholera epidemics, war and disasters around Goma and Lake Kivu: An eight-year Survey. Plos

Neglected Tropical Disease. 2009. [www.plosntds.org,3\(5\)](http://www.plosntds.org,3(5)) : e436.

CHAPITRE 4

L'activité volcanique contrôle les épidémies de choléra dans le Rift Est-Africain

(Publié dans *Plos neglected tropical diseases*)

Chapitre 4. L'activité volcanique contrôle les épidémies de choléra

Résumé de l'article 2

La région du Rift Est-africain est une zone endémique pour le choléra depuis la fin des années 1970. Nous nous sommes concentrés sur la zone sanitaire de Katana, en bordure du lac Kivu, car lors des épidémies, c'est dans cette zone sanitaire (avec celle de Kalemie située le long du lac Tanganyika) que l'on observe habituellement les premiers cas de choléra et que l'on atteint généralement le plus grand nombre de cas. Le présent travail repose sur le constat d'une colonisation du choléra tout au long des berges du Rift Africain en général, celles de l'Est de la RDC en particulier. Nous formulons l'hypothèse selon laquelle l'endémicité du choléra tout au long des berges du Rift Africain pourrait être liée au fonctionnement hydrogéologique des lacs du rift, tributaire du volcanisme de la région. Cette situation pourrait se traduire par : (1) le fait que l'activité volcanique de la région contrôle les paramètres physico-chimiques clés de la survie de *Vibrio cholerae* dans l'environnement lacustre ; (2) Les paramètres physico-chimiques du lac améliorent l'occurrence du *Vibrio* au niveau des masses d'eau lacustres ; (3) Les masses d'eaux deviennent une source de contamination au choléra à travers les produits de pêche (poissons et autres) et l'eau de boisson. Le lac serait donc un réservoir de l'agent pathogène, qui pourrait contaminer les habitants locaux par la consommation d'eau et de poisson. Sur la période 2007-2012, nous avons démontré une relation unidirectionnelle à long terme entre l'activité volcanique et les cas de choléra dans la zone sanitaire de Katana. La contamination de l'eau et des poissons du lac a également été mise en corrélation avec les caractéristiques physico-chimiques des eaux du lac. L'activité du volcan peut donc être utilisée pour prévoir les risques d'épidémies.

La compréhension de ces trois niveaux de déterminants permettra aux décideurs d'ajuster les approches opérationnelles de lutte contre le choléra dans cet espace de risque du choléra en Afrique.

Article 2. Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift.

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

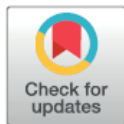
RESEARCH ARTICLE

Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift

Doudou Batumbo Boloweti¹, Patrick Giraudoux², Catherine Deniel³, Emmanuel Garnier⁴, Frederic Mauny⁵, Celestin Mahinda Kasereka⁶, Roger Kizungu⁷, Jean Jacques Muyembe⁸, Didier Bompangue⁹, Gudrun Bornette^{10*}

1 UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France, **2** UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France, **3** UMR CNRS 6524 Laboratoire Magmas et Volcans, University of Blaise Pascal-CNRS-IRD, Clermont Ferrand, France, **4** UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France, **5** UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France, **6** Volcano Observatory of Goma (VOG), Goma, Democratic Republic of Congo, **7** Faculty of Agronomy, University of Kinshasa, Kinshasa, Democratic Republic of Congo, **8** Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Kinshasa, Kinshasa, Democratic Republic of Congo, **9** UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France, **10** UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche Comté, Besançon, France

* gudrun.bornette@univ-fcomte.fr



OPEN ACCESS

Citation: Batumbo Boloweti D, Giraudoux P, Deniel C, Garnier E, Mauny F, Kasereka CM, et al. (2020)

Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift. *PLoS Negl Trop Dis* 14(8): e0008406. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406>

Editor: Elsie Wunder, Jr, Yale University Yale School of Public Health, UNITED STATES

Received: August 27, 2019

Accepted: May 21, 2020

Published: August 10, 2020

Copyright: © 2020 Batumbo Boloweti et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

Funding: The author(s) travels were partly funded by a CNRS Programme Interdisciplinaire Collaboratif Scientifique, France, which also contributed to support some of the measures (measures of physico-chemical characteristics and cholera occurrence in water and fishes over the second survey). The measures were also partly found by the Health ministry of the Democratic

Abstract

We hypothesized that Cholera (*Vibrio cholerae*) that appeared along Lake Kivu in the

African Rift in the seventies, might be controlled by volcano-tectonic activity, which, by increasing surface water and groundwater salinity and temperature, may partly rule the water characteristics of Lake Kivu and promote *V. cholerae* proliferation. Volcanic activity (assessed weekly by the SO₂ flux of Nyiragongo volcano plume over the 2007–2012 period) is highly positively correlated with the water conductivity, salinity and temperature of the Kivu lake. Over the 2007–2012 period, these three parameters were highly positively correlated with the temporal dynamics of cholera cases in the Katana health zone that border the lake. Meteorological variables (air temperature and rainfall), and the other water characteristics (namely pH and dissolved oxygen concentration in lake water) were unrelated to cholera dynamics over the same period. Over the 2016–2018 period, we sampled weekly lake water salinity and conductivity, and twice a month vibrio occurrence in lake water and fish. The abundance of *V. cholerae* in the lake was positively correlated with lake salinity, temperature, and the number of cholera cases in the population of the Katana health zone. *V. cholerae* abundance in fishes was positively correlated with *V. cholerae* abundance in lake water, suggesting that their consumption directly contaminate humans. The activity of the volcano, by controlling the physico-chemical characteristics of Lake Kivu, is therefore a major determinant of the presence of the bacillus in the lake. SO₂ fluxes in the volcano plume can be used as a tool to predict epidemic risks.

Republic of the Congo. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Author summary

The area of the African Great Lakes has been an endemic area for cholera since the late 1970s. We focused on the Katana health zone, bordering Lake Kivu, as during outbreaks, this is, (together with the Kalemie health zone located along the west coast of the Tanganyika lake) the health zone in which the first cases of Cholera are usually observed, and the highest number of cases are also usually reached in this area. The persistence of this aquatic bacillus, usually associated with warm and salty waters, led us to formulate the hypothesis that the geothermal springs supplying Lake Kivu, mainly from the Nyiragongo volcano, should control the physico-chemical characteristics of the lake and promote the persistence of the bacillus. The lake would thus be a reservoir of the pathogen, which could contaminate local residents through the consumption of water and fish. Over the 2007–2012 period, we demonstrated a long-term unidirectional relationship between volcanic activity and cholera cases in the Katana health Zone. Contamination of the lake's water and fish was also correlated to the lake characteristics. The activity of the volcano can thus be used for predicting epidemic risks.

Introduction

Cholera is a severe infectious disease caused by *Vibrio cholerae*. This bacillus thrives in alkaline saline aquatic environments with high temperatures and rich in organic matter and plankton [1–6]. The bacillus is found in coastal areas, where fresh water from rivers mixes with salt water from the sea [1, 2, 7–10]. Contamination frequently occurs via the consumption of water, fish, and other foods containing cholera bacilli [11–13]. The disease was introduced to continental Africa in 1970, during the seventh pandemic. It became endemic far from coastal

areas, particularly in the Lake Chad basin and the Great Lakes region [14–16]. The Great Lakes are highly suspected of being reservoirs for the cholera bacillus, while human infection and movement are considered to propagate the disease inland [17]. However, studies have failed to identify the physico-chemical parameters of the lakes or/and socio-anthropological conditions that may explain cholera persistence [18, 19]. A significant role of meteorology has been found, with rainfall increasing the number of cholera cases, e.g., in Kivu province, but without excluding the role of population movements [20].

Tectonic and volcanic activities are strongly coupled in the Kivu area of the Rift (Fig 1). Indeed, Lake Kivu is located in the western branch of the East African Rift, south of the Nyiragongo and Nyamuragira volcanoes. Volcanic plumes from these very active, strongly alkaline volcanoes produce very large amounts of acidic gases and ash, which have significant direct and indirect impacts on lake surface water via interactions between acidic rain and rocks that modify the physico-chemical characteristics of rivers and groundwaters before they reach Lake Kivu [21–26]. In addition, sub-groundwaters clearly originating from hydrothermal sources linked to the major NE-SW fault system between the Nyiragongo crater and Lake Kivu also discharge into the lake [22, 27–29]. Especially in the north-western region and Kabuno Bay, Lake Kivu is supplied by hydrothermal sub-groundwaters from a deep contiguous geothermal reservoir associated with major faults [29, 30].

Volcano-tectonic activity, by controlling the salinity and/or temperature of both streams and groundwaters that feed the lake, might control the salinity and temperature of the lake, the occurrence of *Vibrio* in water and fish, and cholera dynamics. To test this hypothesis, we used 2 data sets. Firstly, using 6 years of data collected weekly from 2007 to 2012, we modelled the statistical relationships between the long-term dynamics of cholera cases in the Katana health

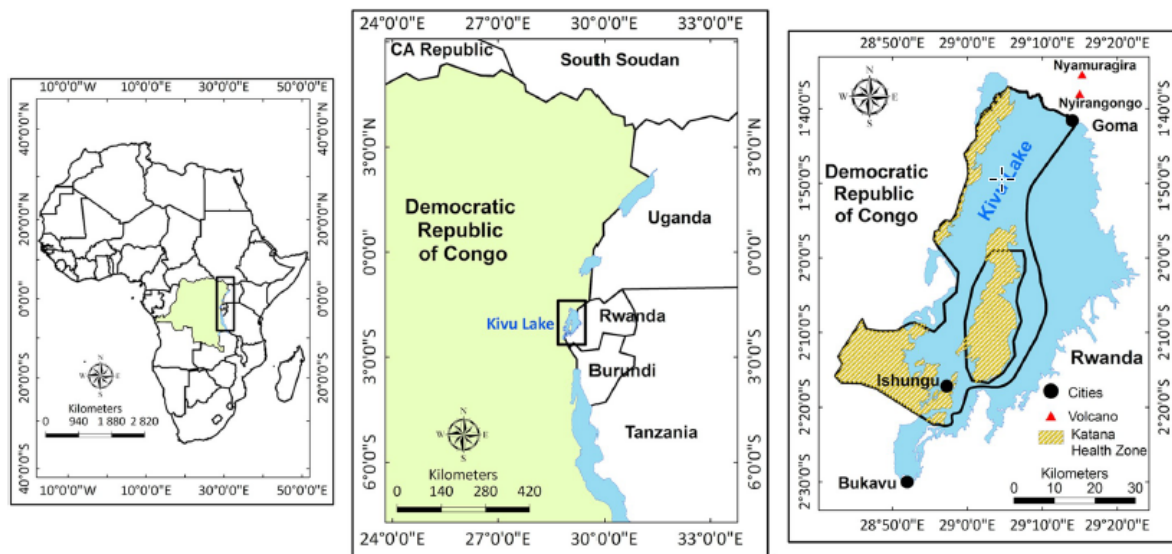


Fig 1. Map of the Katana health zone bordered by Kivu Lake, the two large active volcanoes in the area are shown (right) and other Lakes in the African Rift Valley (middle). This map was created using QGIS version 2.18 (<http://qgis.org>).

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.g001>

zone and 1) the intensity of the volcanic activity, assessed through the SO_2 flux measured in

the Nyiragongo plume; 2) rainfall and air temperature; and 3) the physico-chemical characteristics of the surface water of Lake Kivu, including temperature and salinity, which are usually considered to be the main parameters controlling *Vibrio* growth. Second, using 2 years of data collected in 2016 and 2017, we modelled the relationships between the temperature and salinity of the lake water, *Vibrio* occurrence and abundance in the lake (water and fish), and the number of cholera cases in the Katana health zone, which borders the lake close to the Nyiragongo volcano.

Materials and methods

Study area and data

The Katana Health Zone is located in Kabare territory, in South Kivu province, in the eastern part of the Democratic Republic of Congo (DRC) (Fig 1). It covers the territory located along the west and north coast of Lake Kivu, together with the islands of the lake. The Katana health zone was selected because it was one of the first zones affected by cholera in 1978 in the rift valley. Furthermore, the Katana health zone is (together with the Kalemie health zone located along the west coast of the Tanganyika lake), the health zone in which the first cases of Cholera are usually observed, and the highest number of cases are also usually reached in this area [31]. Lake Kivu is supplied by many hydrothermal groundwater springs and highly mineralized rivers [30, 32, 33]. The northern basin of the lake is located at the end of a deep, major NE-SW fracture zone originating at the Nyiragongo crater and closely associated with volcanic (including hydro volcanism) and hydrothermal activity.

Two data sets were used for testing the hypothesis. A first data set grouped data collected twice a month over the 2007–2012 period: the number of cholera cases in the Katana health

zone, meteorological data, physico-chemical characteristics of the lake water, and the SO₂ flux (Tonnes/day) of the Nyiragongo plume as a proxy of the intensity of volcanic activity (S1 Table).

We documented a second data set that grouped data collected over the 2016–2017 period: water temperature and salinity measured weekly in the surface water of the lake, the number of cholera cases in the Katana health zone, and the SO₂ flux (Tonnes/day) of the Nyiragongo plume as a proxy of the intensity of volcanic activity, and the abundance of *Vibrio* in the lake's surface water and fishes measured twice per month (S2 and S3 Tables).

Geochemistry of volcanic gases

The SO₂ flux, which directly reflects the intensity of magmatic degassing in the Nyiragongo crater, was chosen as a proxy of the intensity of volcanic activity. Quantification of the SO₂ flux of the Nyiragongo plume was performed continuously by remote sensing UV absorption spectroscopy (280–420 nm) with telemetric data transmission [25, 34–36]. Data covering the study period were obtained at the Rusayo station, located on the southwestern flank of the Nyiragongo volcano and belonging to the database of the Volcanological Observatory of Goma (VOG). Mean of SO₂ values were calculated for each week to be compared with the other data.

Physico-chemical characteristics of Lake Kivu

Water temperature, pH, electrical conductivity, and dissolved oxygen potentially regulate *V. cholerae* [20, 37, 38]. Over the 2007–2012 period, these parameters were measured twice per month in surface water collected in the lake near Ishungu. Water temperature and electrical

conductivity were measured using a portable conductivity meter (HACH CO150, Hach Company, USA). Dissolved oxygen and pH were measured using a HACH portable dissolved oxygen meter (HACH DO175, Hach Company, USA) and an Orion pH meter (Model 210A, Orion Laboratories), respectively. Air temperature and rainfall, which are frequently considered to be key factors affecting cholera outbreaks, were compiled over the same time period. These observational data were obtained from the Modern-Era Retrospective Analysis for Research and Applications (MERRA) of the National Aeronautics and Space Administration (NASA).

Over the 2016–2017 period, temperature was measured weekly in the same place using a portable conductivity meter. Salinity was measured using water collected at the same place using a salinity kit (Chloride CL 500, Visocolor HE).

V. cholerae occurrence in water and fishes

Twice a month over the 2016–2017 period, the abundance of *V. cholerae* in the lake was assessed in surface lake water samples collected near Ishungu (same location and sampling dates as salinity and temperature). We filtered one litre of water using a 0.22 µm-pore size sterile polycarbonate membrane filter. If the sample was too turbid, several membranes were used. The filters were then put in Alkaline Peptone Water (APW; Difco, Detroit, MI, USA) and incubated at 37°C for 24 h. Five microlitres of enriched APW broth were then streaked with an inoculating loop onto plates containing Thiosulfate Citrate Biliary Salts Sucrose (TCBS) ([39], American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation 1999). The plates were incubated at 37°C for 16 to 24 h in TCBS. Yellow, flat, 1–3 mm diameter colonies were counted and expressed as the number of colonies per 100 ml (number of Colony Forming Units (CFUs) per 100 ml).

For *V. cholerae* identification, suspected colonies were transplanted onto non-selective Alkaline Nutrient Gelose (ANG) agar and incubated at 37°C for 24 h. The Gelatin-positive cultures were subjected to an oxidase test. Oxidase-positive colonies were then subjected to further biochemical characterization using an API 20E gallery.

The search for *V. cholerae* in fishes was carried on the same dates as water sampling over the 2016–2017 period. Six fishes were collected twice a month from the Ishungu Basin. A total of 288 fish were sampled and brought to the laboratory, where intestinal and gill samples were systematically collected and checked for *V. cholerae* occurrence. One gram of fish sample was inoculated into a tube filled with 9 ml of APW. The tube was vortexed, and its content was then successively diluted in three tubes to 1/10, 1/100 and 1/1000. The exact volume used for dilution allowed us to express the result as the number of colonies per gram of sample. Then, 0.1 ml of each dilution was plated onto TCBS agar and incubated overnight at 37°C. Yellow colonies on the TCBS medium suspected of being *V. cholerae* were counted and transplanted onto lysogeny broth agar for identity confirmation. The final number of colonies was counted and expressed in CFUs per gram of intestine or gill (see microbiological protocol for more details).

Epidemiological Data

Weekly notifications of cholera cases in the Katana zone were used as epidemiological data. The cases of cholera were defined according to the recommendations of the World Health Organization (WHO). These epidemiological data covered the periods of 2007–2012 and 2016–2017.

Statistical analyses

We first searched for a significant correlation between the number of cholera cases (2007–2012). Direct and lagged cross-correlations between each environmental variable and the log-transformed number of cholera cases (transformation done to normalize the data) were computed and tested using Pearson's correlation coefficient. We verified that log-transformation led to a normal distribution of the variable "number of cholera cases". Moreover, we visually verified that the assumption of linearity was not abusive for the different relationships tested. Considering that data might be auto correlated to some degree (they are parts of a time series), $p(H_0)$ was computed using permutation tests. Then, highly correlated and statistically significant predictors were selected to construct a multivariate time series Vector Auto Regressive model (VAR) [40, 41], which allow to test the correlations between several time series. A VAR model describes the evolution of a set of k variables (called endogenous variables) over the same sampling period as a linear function of their past values. It is a natural extension of the univariate autoregressive model to dynamic multivariate time series. It also determines how each endogenous variable responds over time to a shock (aberrant behaviour due to sudden and unexpected events) in its own value and in every other variable [41, 42].

The basic form of the VAR model of order p as suggested by [43] has the form:

$$Y_t = A_0 + A_1 Y_{t-1} + A_2 Y_{t-2} + \dots + A_p Y_{t-p} + \varepsilon_t$$

Where:

$Y_t = (y_{1t}, y_{2t}, \dots, y_{kt})'$ is a vector of k observable endogenous variables and p the time lag. For this study, $y_t = (\text{Cholera}_t, T_t, \text{Rain}_t, \text{Cd}_t, \text{pH}_t, \text{SO}_2)_t'$, where Cholera represents the number of cholera cases every two weeks, T represent the lake temperature (°C), Rain is the rainfall

(mm), Cd is the water conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH is water pH, and SO_2 is sulphur dioxide concentration of the volcanic plume (Tonnes/day). A_0 is vector of constant term and ϵ_t is vector of error terms.

The parameters in the model were estimated by generalised least squares. We tested the stationarity of each time series (cholera cases, water temperature, rainfall, conductivity, pH and the SO_2 volcanic flux) to be included in the model with the Augmented Dickey Fuller Test (ADF). The number of lags was chosen based on four tests: The Final Prediction Error (FPE) test [44], the Hannan Quinne (HQ) test [45], and the Information Criteria suggested by Akaike (AIC) [46] and by Schwarz (SC) [47]. The parameters in the model were estimated by generalised least squares. Despite the fact that VAR coefficients capture the anticipated impact of a variable, there are usually more important to examine the model residuals, which represent unforeseen contemporaneous events. Thus, to examine the fit of the model, we performed diagnostic tests on the residuals of the model. To test the correlation of series, we applied the Portmanteau test. To test for heteroscedasticity in the residuals, we used a multivariate ARCH Lagrange-Multiplier test. To consider the distribution of residues, a normality test was applied. Both the Granger-causality and instantaneous causality were investigated. For both tests, the vector of endogenous variables was divided into two subvectors, Y_{1t} and Y_{2t} , with dimensions k_1 and k_2 , respectively, so that $k = k_1 + k_2$. The subvector y_{1t} was said to be Granger-causal for y_{2t} if the past of y_{1t} significantly helped predicting the future of y_{2t} via the past of y_{1t} alone [48]. We then tested the impulsive responses to describe the response of the cholera incidence to the various predictor shocks.

Second, for the data set covering the 2016–2017 period and incorporating 48 time-points, we looked for significant correlations between lake temperature and salinity and 1) the SO_2 flux, 2) the *V. cholerae* concentration in water and fish, 3) cholera cases, and 4) the *V. cholerae* concentration in water and fish, and cholera cases using direct and lagged cross-correlations.

The small size of this second data package did not allow the multiple regression models of time series to be developed.

Difference of contamination between intestines and gills were analysed using a linear mixed effect model with intestine contamination as the response variable and gill contamination as independent variable, with a random effect on time. Sampling over time might lead to some degree of autocorrelation along time series, and subsequent non-independence of data (with possible overestimation of degrees of freedom). This was avoided using a permutation test based on 1000 replicates for testing the null hypothesis of independence between intestine and gill contamination.

All tests were two-sided, and the level of statistical significance was set at 0.05. Computing and graphing were performed using R 3.4.4.

The study used cholera data aggregated at the health-zone level; thus, it did not require any ethical review board approval.

Results

Summary of the data set and descriptive statistics are presented in [Table 1](#).

Time series plots of cholera cases and of environmental variables collected from 2007 to 2012 are presented in [Fig 2](#). The global correlation analysis of the data set covering the period of 2007–2012 showed that the sulphur dioxide concentration of the volcanic plume was strongly and positively correlated with lake water temperature and conductivity, and cholera cases. Water temperature and conductivity were also strongly and positively correlated with the number of cholera cases. The other correlations were much weaker, but some were significant ([Table 2](#)).

Table 1. Summary of data collected during the two sampling periods.

Period	Variables	Median	Minimum	Maximum
2007–2012 (147 sampled dates)	Number of cholera cases (cases/week)	6	0	79
	Rainfall (mm/week)	8	1	31.6
	Average air temperature (°C)	17.5	15.3	21.1
	SO ₂ (tons/day)	2108	512	4952
	Electric conductivity (μS.cm ⁻¹)	1098	935	1200
	Water temperature (°C)	24.6	22.9	28
	pH	8.8	7.6	9.8
2016–2017 (48 sampled dates)	Dissolved O ₂ ([O ₂] mg.L ⁻¹)	7.1	4.5	10.6
	Water temperature (°C)	24.2	22	27
	Salinity (‰)	0.87	0.65	1.16
	<i>V. cholerae</i> in water (cfu/100 ml)	3000	0	23000
	<i>V. cholerae</i> in fish (cfu/g)	505	0	16600
	SO ₂ (tons/day)	1350	800	4000
	Number of cholera cases (cases/week)	4	0	48

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t001>

The result of the cross correlation and univariate model between cholera cases and environmental variables are presented in Table 3. The table shows a significant positive linear association between the number of cholera cases with sulphur dioxide concentration of the volcanic plume, water temperature and conductivity. A value higher than the average of sulphur dioxide concentration of the volcanic plume, temperature and water conductivity was likely to lead

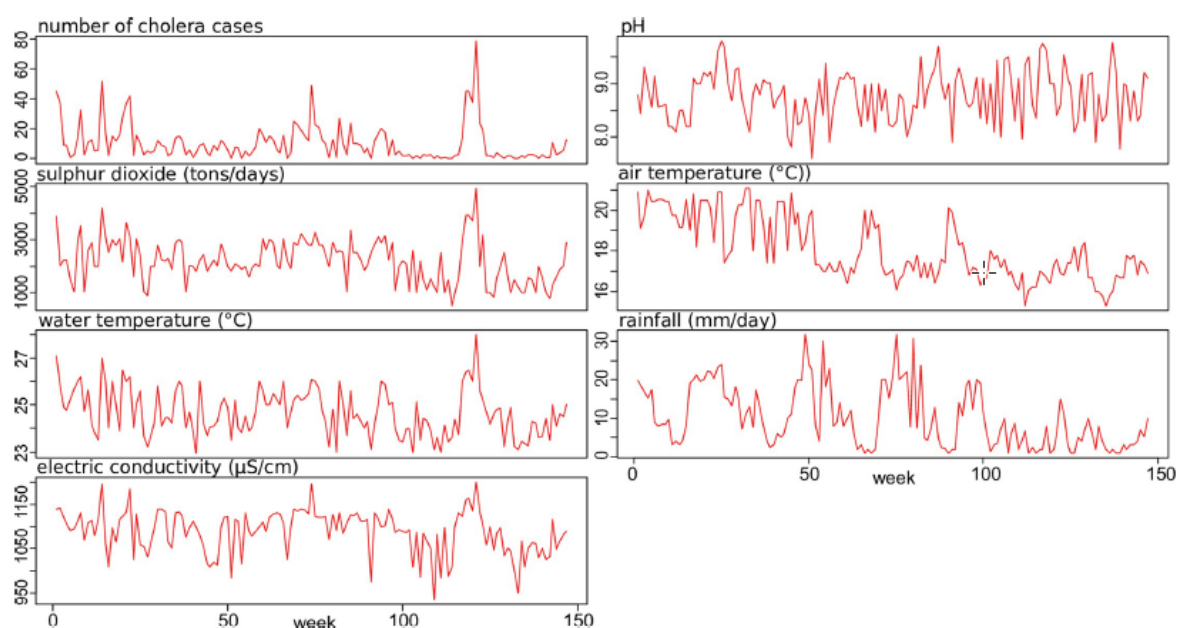


Fig 2. Time series plot of cholera cases and environmental variables for the period of 2007 to 2012, Katana health zone, DR Congo (n = 147).

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.g002>

Table 2. Pearson correlation coefficients between logarithmic transformation of observed number of cholera cases and environmental variables over the 2007–2012 period (n = 147 sampled dates).

Variables	Cholera cases (/week)	Rainfall (mm/week)	Average air temperature (°C)	SO ₂ (tons/day)	Electric conductivity (µS.cm-1)	Water temperature (°C)	pH	Dissolved O ₂ (mg.L-1)
Cholera cases (/week)		0.32*	0.26*	0.73**	0.80**	0.82**	0.28*	-0.04
Rainfall (mm/week)			0.21*	0.30*	0.18*	0.26**	-0.02	0.20*
Average air temperature (°C)				0.27*	0.16*	0.28**	-0.09	0.05
SO ₂ (tons/day)					0.65**	0.69**	0.07	0.10
Electric conductivity (µS.cm ⁻¹)						0.69**	0.29**	0.05
Water temperature (°C)							0.24*	0.11
pH								0.10
Dissolved O ₂ (mg.L-1)								

**p < 0.01.

* p < 0.05; the correlations greater than 0.5 and highly significant are bolded.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t002>

Table 3. Cross-correlation coefficients and univariate model of logarithmic transformation of observed number of cholera cases and environmental variables over the 2007–2012 period (n = 147 sampled dates).

Variables	Cross correlation lags (weeks)	Correlation coefficients (r)	Univariate model		
			Odds ratios ¹	95% CI	P-value
Rainfall (mm/week)	0	0.33*	1.01	0.99–1.025	0.36
	1	0.35*	1.01	0.99–1.023	0.3
	2	0.37*	1.02	1.001–1.03	0.03
Average air temperature (°C)	0	0.27*	1.01	0.97–1.17	0.16
	1	0.21*	0.98	0.90–1.08	0.79
	2	0.26*	0.98	0.91–1.07	0.78
SO ₂ (tons/day)	0	0.76**	1.0004	1.0003–1.0005	< 0.001
	1	0.48**	1.0001	1.00002–1.0002	0.012
	2	0.38**	1.0001	0.98–1.0002	0.07
Water conductivity (µS.cm ⁻¹)	0	0.75**	1.006	1.005–1.01	< 0.001
	1	0.34**	1	0.99–1.00	0.74
	2	0.30*	1.001	0.99–1.001	0.07
Water temperature (°C)	0	0.80**	1.43	1.35–1.52	< 0.001
	1	0.41**	1.03	0.974–1.10	0.27
	2	0.32*	1.04	0.98–1.039	0.17
pH	0	0.27*	1.36	1.15–1.62	< 0.001
	1	0.03	0.89	0.97–1.065	0.21
	2	0.01	0.98	0.83–1.17	0.87
Dissolved oxygen ([O ₂] mg.L ⁻¹)	0	0.16	1.08	0.96–1.21	0.165
	1	0.09	0.97	0.86–1.09	0.699
	2	0.04	1.03	0.93–1.14	0.53

¹ Obtained by exponentiating the estimates obtained from the model

**p < 0.01.

* p < 0.05*

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t003>

to a higher than average number of cholera cases during the same week. Also, the positive effects of sulphur dioxide concentration of the volcanic plume on cholera cases were observed one week after the increase in volcanic activity. Nevertheless, despite a weak correlation ($r = 0.37$; $p = 0.03$), the effects of rainfall on cholera cases were better observed four weeks after their increase. A direct effect of water pH on cholera cases was also observed despite the low correlation ($r = 0.27$, $p < 0.001$; Table 3).

Table 4 grouping linear interdependencies among multiple time series using multivariate Vector Autoregression (VAR) models confirmed that volcanic activity influenced the time series of lake parameters (temperature, pH, conductivity) as well as the incidence of cholera cases in the population.

The instantaneous and Granger-causality tests are simple ways to ascertain whether a variable is affected by changes in other variables. These tests indicate if changes in one variable help forecast a one-step ahead figure in another variable. The test statistics are summarized in Tables 5 and 6. Each column contains the values of F-statistics testing the marginal effect of inclusion of lagged values of the environmental variables in the row on cholera. Both tests indicated that the number of cholera cases was influenced by volcanic activity. In addition, the instantaneous causality tests showed that cholera was influenced by rainfall, Ph, temperature and water conductivity.

Table 4. Linear interdependencies among multiple time series using multivariate Vector Autoregression (VAR) models. Six variables were selected to build this model: cholera cases, rainfall, water temperature, water electric conductivity, pH, volcanic sulphur dioxide emission. For the 2007–2012 period, Katana Halth Zone, DR Congo (n = 147 sampled dates). The significant correlations are bolded.

explanatory variables	variables to explain							
	number of cholera cases				Rainfall (mm/week)			
	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)
number of cholera cases per week					3.082	2.166	1.423	0.157
rainfall (mm/week)	0.003	0.005	0.634	0.527				
pH	0.056	0.083	-0.683	0.496	-1.166	1.099	-1.062	0.290
Water temperature (°C)	0.007	0.066	-0.107	0.914	1.222	0.819	-1.492	0.138
SO ₂ (tons/day)	<0.001	<0.0001	2.133	0.034	0.001	<0.001	1.075	0.284
Conductivity (µS.cm-1)	<0.001	0.001	0.639	0.524	0.002	0.016	0.106	0.916
Constant	0.021	1.743	0.012	0.990	37.916	23.191	1.635	0.104
	pH				Water temperature (°C)			
explanatory variables	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)
number of cholera cases per week	-0.309	0.174	-1.777	0.077	-0.075	0.33	-0.227	0.820
rainfall (mm/week)	0.004	0.005	0.860	0.391	0.001	0.01	0.114	0.909
pH					0.024	0.167	-0.146	0.884
Water temperature (°C)	-0.066	0.066	-0.997	0.320				
SO ₂ (tons/day)	<0.001	<0.001	3.342	0.001	<0.001	<0.001	2.544	0.012
Conductivity (µS.cm-1)	<0.001	0.001	-0.643	0.521	0.003	0.002	1.138	0.257
Constant	8.13	1.866	4.356	0.001	17.527	3.532	4.962	0.0001
	SO ₂ (tons/day)				Conductivity (µS.cm-1)			
explanatory variables	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)	Estimate	Std. Error	t-value	Pr (> t)
number of cholera cases per week	429.136	261.85	1.639	0.103	-8.797	16.435	-0.535	0.593
rainfall (mm/week)	0.837	7.881	0.106	0.915	0.598	0.494	1.209	0.229
pH	-125.33	132.816	-0.944	0.347	-10.182	8.336	-1.221	0.224
Water temperature (°C)	-34.056	99.013	-0.344	0.731	-1.937	6.214	-0.312	0.756
SO ₂ (tons/day)					0.0190	0.007	2.574	0.011
Conductivity (µS.cm-1)	3.84	1.891	2.030	0.08				
Constant	-651.873	2803.6151	-0.233	0.816	873.845	175.97	4.966	0.001

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t004>

Table 5. Granger causality tests for the number of cholera cases and environmental variables (rainfall, water temperature, water electric conductivity and pH, volcanic sulphur dioxide emission) for 2007–2012 period. Katana Health Zone, DR Congo (n = 147 sampled dates).

Cause variable	F-value	p-value
SO ₂ (tons/day)	3.219	0.007
Rainfall (mm/week)	0.49	0.783
PH	0.868	0.50
Water temperature (°C)	0.875	0.49
Electric conductivity (μS.cm ⁻¹)	1.212	0.30

Null hypothesis: environmental variable not Granger cause cholera

Reject the null hypothesis if p-value is < 0.05.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t005>

Impulse response analysis was utilized to analyse the dynamic interactions between cholera and the volcanic activity of the VAR process. The orthogonal impulse response of cholera to the volcanic activity is presented in Fig 3. The highest positive effect of volcanic activity on cholera is in the fourth week. The positive effect of volcanic activity on cholera incidence is observed from the fourth week and persists until the 15th week, while impulsive responses of volcanic activity on the physico-chemical of the lake are perceptible from the first week.

The main time series plots (cholera cases, fish contamination, and environmental variables collected from 2016 to 2017) are presented in Fig 4. During the 2016–2017 period, the abundance of *V. cholerae* in the lake was positively correlated with lake salinity and temperature and the number of cholera cases in the population. Fish contamination was positively correlated with *V. cholerae* abundance in lake water ($r = 0,94$, $p = 0,001$) (Table 7). Cross-correlation analyses also showed strong direct correlations between sulphur dioxide concentration of the volcanic plume, temperature and salinity of lake water and the concentration of *V. cholerae* in

the lake. Also, statistically significant correlations were observed after 2-week lag (Table 8).

Contamination was significantly higher in intestines than in gills (5% higher in average, linear mixed effect model, permutation test, $p < 0.001$).

Discussion

Over the 2007–2012 period, we demonstrated a strong and positive correlation between (1) cholera dynamics, (2) volcanic activity, assessed by sulphur dioxide content of volcano plume, (3) water temperature and conductivity of Lake Kivu and, to a lesser extent, (4) rainfall. More precisely, an above-average rise in volcanic sulphur dioxide modifies the physico-chemical characteristics of the lake in the same week, and the action can persist for several weeks.

Table 6. Instantaneous causality tests for number of cholera cases and environmental variables (rainfall, water temperature, water electric conductivity, water Ph, volcanic sulphur dioxide emission) for 2007–2012 period. Katana Health Zone, DR Congo (n = 147 sampled dates).

Cause variable	Chi-squared-value	p-value
SO ₂ (tons/day)	49.289	0.0001
Rainfall (mm/week)	11.712	0.038
pH	25.68	0.0001
Water temperature (°C)	53.22	0.0001
Electric conductivity (μS.cm ⁻¹)	51.729	0.0001

Null hypothesis: No instantaneous causality between environmental variable and cholera

Reject the null hypothesis if p-value is < 0.05.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t006>

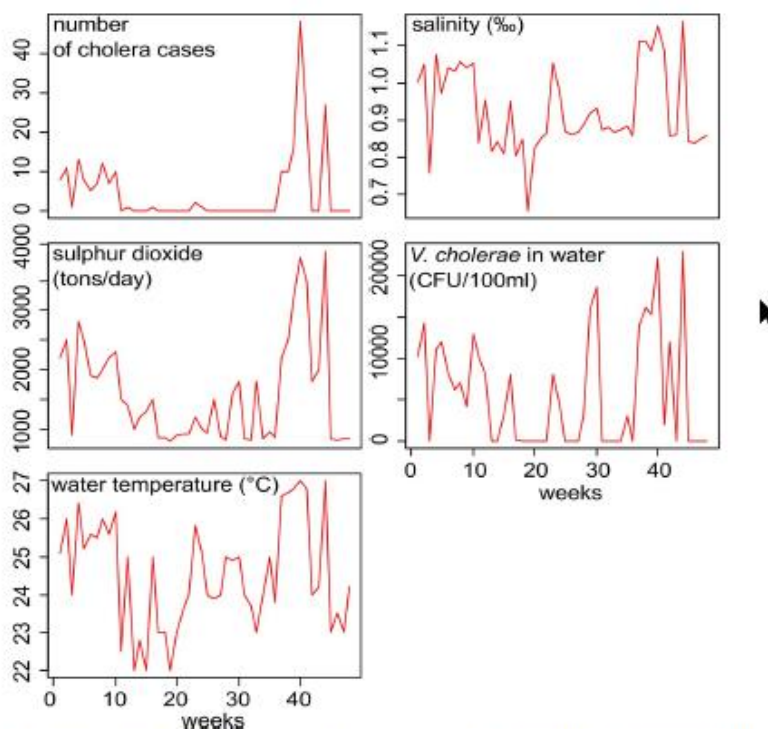


Fig 3. Time series plot of cholera cases, water vibrio occurrence and environmental variables for the period of 2016 to 2017, Katana health zone, DR Congo (n = 48).

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.g003>

There is a poor correlation between air temperature and water temperature, whereas the correlation between volcanic activity and lake temperature is strong, outlining that the lake temperatures are partly controlled, at least during periods of high volcanic activity, by volcanic activity. *V. cholerae* usually colonizes warm brackish waters [38, 49], the temperature of which being usually dependent on the climate. In the present situation, volcanic activity may increase the temperature of hydrothermal springs and tributaries in such a way that it leads to favourable thermal conditions for *V. cholerae*. Previous studies conducted in hydrothermal areas have demonstrated that lake water temperature increase may lead to the occurrence of cholera cases (e.g. two days after thermal peaks, [50]). Temperature increases are involved in the risk of cholera outbreaks because the abundance of *V. cholerae* in water increases as the temperature increases [51, 52]. Under higher temperatures, the growth and multiplication of *V. cholerae* might be promoted [53], increasing the risk that the concentration of *V. cholerae* in water would be sufficient to be pathogenic if ingested [54, 55].

We demonstrated also an instantaneous causality between the electric conductivity of Lake Kivu water and cholera cases in the population. A study conducted in Lake Victoria and several lakes of the Rift valley demonstrated also a positive relationship between electric conductivity and the number of *V. cholerae* colonies in lake waters, but it did not link this relationship to any other environmental variation, nor to epidemiological data [37]. Our results

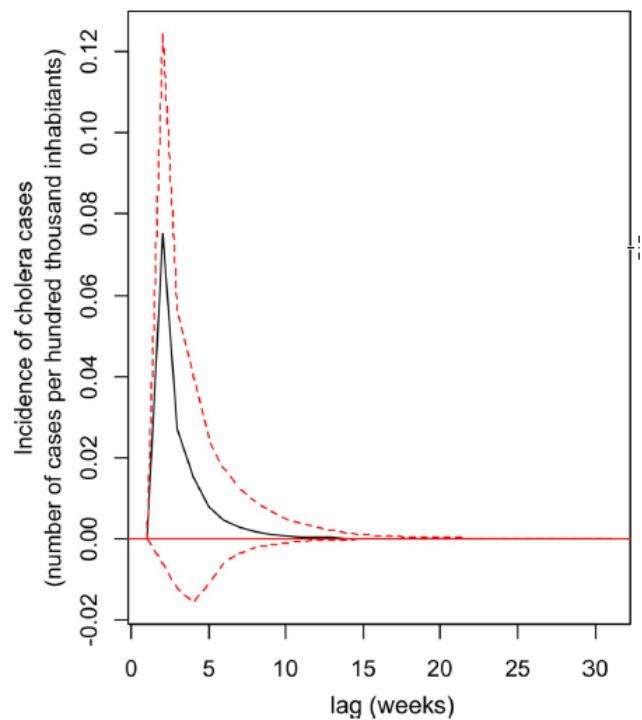


Fig 4. Impulse Response Function (IRF) showing the impact of an increase in volcanic activity (through the flow of volcanic sulphur dioxide) on the incidence of cholera cases in the population of the Katana Health Zone, DR Congo, over a 15-week period. The largest positive effect is observed about three weeks after the shock due to volcanic activity and the return to equilibrium is only observed around the 15th week. Black line: Impulse Response Function, dotted lines: 95% confidence level curves (obtained through 100 runs of the bootstrap method).

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.g004>

Table 7. Pearson correlation coefficients between logarithmic transformation of observed cholera cases in the Katana health zone, physico-chemical characteristics of lake Kivu, and the concentration of *V. cholerae* in lake water and fish over the 2016–2017 period (n = 48 sampled weeks).

Variables	number of cholera cases per week	water temperature (°C)	Salinity (‰)	<i>V. cholerae</i> in fish (CFU/100 g)	<i>V. cholerae</i> in water (CFU/100 ml)	SO ₂ (tons/day)
number of cholera cases per week		0.89**	0.90**	0.70**	0.69**	0.89**
Water temperature (°C)			0.93**	0.71**	0.71**	0.77**
Salinity (‰)				0.75**	0.75**	0.82**
<i>V. cholerae</i> in fish (CFU/100 g)					0.94**	0.77**
<i>V. cholerae</i> in water (CFU/100 ml)						0.77**
SO ₂ (tons/day)						

**p < 0.01.

* p < 0.05; the correlations greater than 0.5 and highly significant are bolded.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t007>

Table 8. Cross correlations between the concentration of *V. cholerae* in the Kivu lake, the number of cholera cases in the Katana health zone, and environmental variables over the 2016–2017 period (n = 48 sampled weeks).

Variables	Cross correlation lags (weeks)	Correlation coefficients (r)
SO ₂ (tons/day)	0	0.77**
	1	0.35**
Salinity (‰)	0	0.74**
	1	0.26**
Water temperature (°C)	0	0.71**
	1	0.27**
Number of Cholera cases per week	0	0.65**
	1	0.32**

**p < 0.01.

* p < 0.05

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406.t008>

demonstrated for the first time that the strong correlation between water electric conductivity and the occurrence of *Vibrio cholerae* in the lake is linked to environmental factors (namely volcano activity, rainfall, and their possible combined impact on lake water quality), and likely impact the incidence of cholera in the Katana population along the lake shore.

We also demonstrated for the first time that the temporal variation of cholera cases is strongly and at a short time scale, controlled by the temporal variability of volcano activity, together with, in a lesser extent, and in a more delayed way, by rainfall. Indeed, rainfall positively influenced the number of cholera cases 4 weeks after its increase. Heavy rains can provide, through the percolation of volcanic soils in the region, significant quantities of minerals in the lakes, thus promoting bacterial occurrence and the occurrence of cholera outbreaks in the region. The temporal delay between rain peaks and cholera outbreaks may relate to the

time required for rainfall to infiltrate in the soil surface, and exfiltrate in the lake tributaries or the lake itself. Rainfall can also affect the growth of the pathogen and its survival. Indeed, high rainfall increases the levels of insoluble iron, which improves the survival of *V. cholerae* in aquatic environments. Moderate levels of iron also increase expression of the cholera toxin. It has also been suggested that high rainfall might wash away the vibriophages that prey on *V. cholerae* in water, leading to the epidemics of cholera [56, 57].

The significant but low pH positive effect on cholera cases may be due to the known niche of the bacillus, that develop preferably in alkaline waters.

These correlations can reinforce the environmental hypothesis on the endemicity of this region to cholera. Volcanic activity, by modifying the physico-chemical composition of water, may create a niche favourable to the survival of *V. cholerae*. These physico-chemical conditions may also have a positive effect on plankton blooms, essential for the growth of *V. cholerae* ([58]).

Over the 2016–2017 period, the salinity of the lake water was positively correlated with the occurrence of *V. cholerae* in lake water. A positive correlation between the salinity of lake water and the number of cholera cases in the population of the Katana Health zone was also demonstrated. Salinity has been previously demonstrated to be strongly involved in the ecology of *V. cholerae* and therefore to contribute indirectly to cholera epidemics [38]. Studies conducted in coastal and estuarine regions in different parts of the world have outlined that temperature and salinity rule partly the occurrence of *V. cholerae* in aquatic environments [38, 49].

According to data from the Demographic and Health Survey published in 2014 [59], nearly three out of ten households in the Katana population have access to an improved water source with a regular flow during the year, which explains why the population frequently uses stream

and lake water as a drinking water source. Thus, this permanent contact between man and the at-risk lake environment may explain the endemicity of cholera in this area of the rift valley bordering Lake Kivu. The population is indeed chronically exposed to potentially contaminated water. It can therefore be realistically hypothesized that it is variations in vulcanological functioning and associated hydrothermalism that govern the degree of contamination of surface waters, and the epidemiology of *V. cholerae*.

We also demonstrate a significant and positive link between cholera dynamics in the population and fish and water contamination. The fish caught in the lake have a bacillus load that is highly correlated with the load in lake water. Depending on the studies, *Vibrio* may be found [60] or not [61], but the studies usually not try to correlate the occurrence of *Vibrio* simultaneously in the water and in the animals (but see [62] for example). The local residents frequently eat these fish raw or salted, without emptying them nor cooking them. These consumption practices can consequently increase the risk of consumer contamination [63]. It is also possible that the bacillus survives at least for a few days, in salted food [64–66]. Contaminated fish may remain sufficiently wet for maintaining alive some *V. cholerae* and may therefore be a source of contamination for consumers for several days after collection. Transport and trade of salted or fresh fishes to other provinces may then spread the bacillus to preserved populations.

The findings of this study consistently support, for the first time, the idea that volcano-tectonic activity, by largely controlling the hydrothermal functioning of Lake Kivu, determines the physico-chemistry of the lake and consequently likely induces cholera outbreaks. The correlations are so strong that the volcanic signal can be used as an environmental predictor of cholera blooms in the lake and thus as an alert signal for populations.

The Rift paradox concerning cholera occurrence along saltwater lakes of the Rift [12, 24,

31] can be explained by the salinization and warming of water as volcanic activity increases. The high variability of *Vibrio cholerae* contamination in a series of large lakes in the African rift recently observed may relate to the hydro-geological and volcano-tectonic context of each lake [67]. These factors would control the physico-chemical characteristics of each lake, and therefore their susceptibility to constitute habitats for *Vibrio cholerae* [67]. Consequently, the bacillus niche does not appear to be significantly different from that described in previous studies in coastal areas [2, 3, 5, 6, 68], such as the lagoon areas of India [4].

However, the question of when and how cholera appeared in the rift valley remains open. The first cases of cholera in the Great Lakes region of Africa were observed in 1971, mainly in Kenya and then in Uganda [69, 70]. In a report from September 1971, the "Belgian cooperation mission" was already concerned about the risk of cholera in the eastern Congolese region. For this reason, the mission decided to send 20 kg of cholera vaccines [69, 71]. The part of the Great Lakes located in the present Democratic Republic of Congo (DRC), then called Zaïre, was affected only in September 1977, whereas the first epidemic had already occurred (in 1974) in the littoral part of the country (province of Kongo Central, then called Bas Zaïre) more than 1700 km away, in the lakeside city of Kalemie, located on the west right bank of Lake Tanganyika (water flows from the north to the south in this part of the rift chain of lakes). From this point on, the disease spread rapidly throughout the eastern part of the DRC. The 1978 epidemic in the eastern DRC (In Kalemie, on the right bank of Lake Tanganyika), originated from Tanzania and concentrated near the Great Lakes. On this occasion, contaminated water was proven to play a role in the transmission of the disease [72].

The Nyiragongo volcano has erupted only twice (10th of January 1977 and 17th of January 2002) since it has been monitored [28]. Both eruptions were preceded by the appearance of mineral sources close to the city of Sake (NW Kabuno Bay), indicating the circulation of water in the fracture system just before the eruptions [28]. Hydro volcanism also occurred in the

past in the southern part of the main NE-SW fracture system [27, 30, 73, 74], revealing the strong coupling between water circulation of the recharging aquifer system and fractures in the area close to the northern shoreline of Kivu Lake [30, 33]. Sub-groundwater discharges into the Northern part of the lake likely occurred along these faults and fractures, which are also involved in the structuration of the Kivu rift segment, and which may connect aquifers over different depths [29]. The acidic gases (HF, HCl, CO₂, and SO₄²⁻) of the eruptive plume of Nyiragongo volcano are highly soluble in water and generate a low pH, which favours the dissolution of volcanic ash and may also affect the composition of rainwater and ultimately of rivers reaching the lake [23, 75]. This plume indirectly contributes to an increase in the temperature and salinity of the surface waters of Lake Kivu, which is favourable to the survival of *V. cholerae*. *Ad minima*, the reactivation of volcanic activity has led to an increase in hydro-thermal inputs to the lake, a factor affecting thermal increase and salinization.

Conclusion

Cholera is a serious public health problem in the health zones located along the Rift in general and more particularly in the Katana health zone. The high exposure of this population due to limited access to safe water raises an urgent need for new and effective cholera prevention strategies. This study offers a unique insight by demonstrating in a health zone of Lake Kivu, the direct influence of volcanic activity on water physico-chemical characteristics and *V. cholerae* occurrence and abundance in the lake water and fish, and thus on the cholera dynamics in the population. These elements of understanding are therefore for public health authorities to readjust operational plans for cholera control in this region. Interventions that target vital steps in transmission might be effective for the prevention of outbreaks. The Nyiragongo volcanic activity and the Kivu lake physico-chemical characteristics must be considered as risk

factors and the monitoring of these environmental factors must be integrated into the prevention devices for preventing contamination risk and limiting cholera epidemics. In other words, while maintaining efforts to achieve an acceptable level of access to drinking water for the population, the monitoring of volcanic activity as well as lake physico-chemical characteristics to improve cholera surveillance in the region as part of the multisectoral cholera elimination plan. There are some limitations however to this study. The first one is that we only focused on one health zone, at the immediate proximity of the volcano. It is still necessary to determine the way of human contamination of the other health zones bordering the lake. Is it due to human contamination, or through the consumption of contaminated food and water? In this last hypothesis, is there a delay in the epidemic response, related to the circulation of water in the lake, which is drained by the Ruzizi River? For answering this question, new investigations including other health zones along the lake may be necessary, including epidemiological data, together with water quality and fish contamination surveys.

The failure to achieve PCR in this study is a limitation in determining vibrio toxicity genes. Indeed, only serogroups O1 and O139 are the cause of epidemics, while non-O1 and O139 cause mild diarrhoea. However, previous studies have demonstrated that toxigenic serogroups O1 are abundant in this cholera epidemic sanctuary (Katana Health Zone: [76]). Further studies on the conserved strains will be necessary to identify precisely which serogroups are present in lake surface water and fish, and to determine whether they may respond differently to environmental variations.

In the same way, many questions remain opened on the geological mechanisms leading to the control of physico-chemical characteristics of lake water, such as the direct effect of volcanic gas and tephra. In the same way, the question of the parameters directly involved in *V. cholerae* multiplication (and particularly the part of physico-chemical and trophic controls) in the

lake needs to be identified. Finally, the study shows the disappearance of *V. cholerae* from surface waters in the Katana sector during periods of low volcanic activity, suggesting refuges for the vibrio in the lake. One hypothesis would be that these refuges are located at depth, close to hydrothermal springs, which implies a vertical migration of the bacillus when the temperature and salinity of the surface waters increase.

Supporting information

S1 Table. Weekly data collected over the 2007–2012 period: the number of cholera cases in the Katana health zone, meteorological data, physico-chemical characteristics of the Kivu lake water (Ishungu station in the Katana Health zone), and the SO₂ flux of the Nyiragongo volcano plume.

(XLSX)

S2 Table. *Vibrio cholerae* abundance in fishes (intestine and gills) collected twice a month in Lake Kivu (Ishungu station in the Katana Health zone) over the 2016–2017 period.

(XLSX)

S3 Table. Water characteristics measured twice a month in the Kivu lake (Ishungu station in the Katana Health zone) over the 2016–2017 period: temperature, salinity (PSU), SO₂ flux of the Nyiragongo volcano plume and abundance of *Vibrio cholerae* in surface water. The number of cholera cases in the Katana health zone counted twice a month over the same period is indicated.

(XLSX)

Acknowledgments

We thank Mathieu M. Yalire, and Abel Minani for their assistance in the collection of volcanic data. We also thank Wimba Louise and Aksanti Lwango for microbiological analyses of water and fish.

Author Contributions

Conceptualization: Frederic Mauny, Jean Jacques Muyembe, Didier Bompangue, Gudrun Bornette.

Data curation: Patrick Giraudoux, Didier Bompangue.

Formal analysis: Patrick Giraudoux.

Investigation: Doudou Batumbo Boloweti, Catherine Deniel, Emmanuel Garnier, Gudrun Bornette.

Methodology: Doudou Batumbo Boloweti, Patrick Giraudoux, Catherine Deniel, Gudrun Bornette.

Project administration: Gudrun Bornette.

Resources: Doudou Batumbo Boloweti, Patrick Giraudoux, Catherine Deniel, Emmanuel Garnier, Celestin Mahinda Kasereka, Roger Kizungu.

Software: Patrick Giraudoux, Roger Kizungu.

Supervision: Didier Bompangue, Gudrun Bornette.

Validation: Patrick Giraudoux, Catherine Deniel, Frederic Mauny, Celestin Mahinda Kasereka, Roger Kizungu, Jean Jacques Muyembe, Didier Bompangue, Gudrun Bornette.

Visualization: Jean Jacques Muyembe, Didier Bompangue.

Writing – original draft: Doudou Batumbo Boloweti, Catherine Deniel, Emmanuel Garnier.

Writing – review & editing: Gudrun Bornette.

References

1. Colwell RR. Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Int Microbiol*. 2004; 7(4):285–9. Epub 2005/01/25. PMID: [15666250](#).
2. Turner JW, Good B, Cole D, Lipp EK. Plankton composition and environmental factors contribute to *Vibrio* seasonality. *Isme j*. 2009; 3(9):1082–92. Epub 2009/05/08. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.50> PMID: [19421235](#).
3. Johnson CN, Flowers AR, Noriega NF, Zimmerman AM, Bowers JC, DePaola A, et al. Relationships between Environmental Factors and Pathogenic *Vibrios* in the Northern Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76(21):7076–84. <https://doi.org/10.1128/AEM.00697-10> PMID: [20817802](#)
4. Asplund ME, Rehnstam-Holm AS, Atnur V, Raghunath P, Saravanan V, Härnström K, et al. Water column dynamics of *Vibrio* in relation to phytoplankton community composition and environmental conditions in a tropical coastal area. *Environ Microbiol*. 2011; 13(10):2738–51. Epub 2011/09/08. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02545.x> PMID: [21895909](#).
5. Froelich B, Bowen J, Gonzalez R, Snedeker A, Noble R. Mechanistic and statistical models of total *Vibrio* abundance in the Neuse River Estuary. *Water Res*. 2013; 47(15):5783–93. Epub 2013/08/21. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.050> PMID: [23948561](#).
6. Izumiya H, Furukawa M, Ogata K, Isobe J, Watanabe S, Sasaki M, et al. A double-quadratic model for predicting *Vibrio* species in water environments of Japan. *Archives of Microbiology*. 2017; 199(9):1293–302. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1402-1> PMID: [28646477](#)
7. Vital M, FuchsIn HP, Hammes F, Egl T. Growth of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa Eltor in freshwater. *Microbiology*. 2007; 153(Pt 7):1993–2001. Epub 2007/06/30. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006005173-0> PMID: [17600045](#).
8. Vezzulli L, Pruzzo C, Huq A, Colwell RR. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environ Microbiol Rep*. 2010; 2(1):27–33. Epub 2010/02/01. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x> PMID: [23765995](#).
9. Li X, Wang D, Li B, Zhou H, Liang S, Ke C, et al. Characterization of environmental *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139 in the Pearl River Estuary, China. *Can J Microbiol*. 2016; 62(2):139–47. Epub 2015/12/18. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0443> PMID: [26674584](#).
10. Ryan SJ, Stewart-Ibarra AM, Ordóñez-Enríez E, Chu W, Finkelstein JL, King CA, et al. Spatiotemporal Variation in Environmental *Vibrio cholerae* in an Estuary in Southern Coastal Ecuador. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(3). Epub 2018/03/15. <https://doi.org/10.3390/ijerph15030486> PMID: [29534431](#); PubMed Central PMCID: PMC5877031.
11. Acosta CJ, Galindo CM, Kimario J, Senkoro K, Urassa H, Casals C, et al. Cholera outbreak in southern Tanzania: risk factors and patterns of transmission. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7(3 Suppl):583–7. Epub 2001/08/04. <https://doi.org/10.3201/eid0707.010741> PMID: [11485679](#); PubMed Central PMCID: PMC2631835.
12. Huehn S, Eichhorn C, Urmsbach S, Breidenbach J, Bechlers S, Blier N, et al. Pathogenic *vibrios* in environmental, seafood and clinical sources in Germany. *International Journal of Medical Microbiology*. 2014; 304(7):843–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.07.010> PMID: [25129553](#)
13. Yan L, Pei X, Zhang X, Guan W, Chui H, Jia H, et al. Occurrence of four pathogenic *Vibrios* in Chinese freshwater fish farms in 2016. *Food Control*. 2019; 95:85–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.043>.
14. Griffith DC, Kelly-Hope LA, Miller MA. Review of reported cholera outbreaks worldwide, 1995–2005. *Am J Trop Med Hyg*. 2006; 75(5):973–7. Epub 2006/11/25. PMID: [17123999](#).
15. Gaffga NH, Tauxe RV, Mintz ED. Cholera: a new homeland in Africa? *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 77(4):705–13. Epub 2007/11/06. PMID: [17978075](#).
16. Emch M, Feldacker C, Islam MS, Ali M. Seasonality of cholera from 1974 to 2005: a review of global patterns. *Int J Health Geogr*. 2008; 7:31. Epub 2008/06/24. <https://doi.org/10.1186/1476-072X-7-31> PMID: [18570659](#); PubMed Central PMCID: PMC2467415.

17. Bompangue Nkoko D, Giraudoux P, Plisnier P-D, Tinda AM, Piarroux M, Sudre B, et al. Dynamics of cholera outbreaks in Great Lakes region of Africa, 1978–2008. *Emerging infectious diseases*. 2011; 17(11):2026–34. <https://doi.org/10.3201/eid1711.110170> MEDLINE:22099090. PMID: 22099090
18. Shapiro RL, Otiemo MR, Adcock PM, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Kumar L, et al. Transmission of epidemic *Vibrio cholerae* O1 in rural western Kenya associated with drinking water from Lake Victoria: an environmental reservoir for cholera? *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 60(2):271–6. Epub 1999/03/11. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.271> PMID: 10072150.
19. Luque Fernández MA, Bauernfeind A, Jiménez JD, Gil CL, El Omeiri N, Guibert JH. Influence of temperature and rainfall on the evolution of cholera epidemics in Lusaka, Zambia, 2003–2006: analysis of a time series. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2009; 103(2):137–43. Epub 2008/09/12. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.07.017> PMID: 18783808.
20. Plisnier P-D, Nshombo M, Mgana H, Ntakimazi G. Monitoring climate change and anthropogenic pressure at Lake Tanganyika. *Journal of Great Lakes Research*. 2018; 44(6):1194–208. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2018.05.019>.
21. Natacha P. Nutrient Cycling and Methane Production in Lake Kivu. Zurich: ETH Zurich; 2009.
22. Tassi F, Vaselli O, Tedesco D, Montegrossi G, Darrah T, Cuoco E, et al. Water and gas chemistry at Lake Kivu (DRC): Geochemical evidence of vertical and horizontal heterogeneities in a multibasin structure. *Geochemistry Geophysics Geosystems*. 2009; 10. <https://doi.org/10.1029/2008gc0002191> WOS:000263173200002.
23. Cuoco E, Spagnuolo A, Balagizi C, De Francesco S, Tassi F, Vaselli O, et al. Impact of volcanic emissions on rainwater chemistry: The case of Mt. Nyiragongo in the Virunga volcanic region (DRC). *Journal of Geochemical Exploration*. 2013; 125:69–79. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.11.008> WOS:000315014500007.
24. Finger F, Knox A, Bertuzzo E, Mari L, Bompangue D, Gatto M, et al. Cholera in the Lake Kivu region (DRC): Integrating remote sensing and spatially explicit epidemiological modeling. *Water Resources Research*. 2014; 50(7):5624–37. <https://doi.org/10.1002/2014wr015521> WOS:000342632000015.
25. Balagizi CM, Yalire MM, Ciraba HM, Kajeje VB, Minani AS, Kinja AB, et al. Soil temperature and CO2 degassing, SO2 fluxes and field observations before and after the February 29, 2016 new vent inside Nyiragongo crater. *Bulletin of Volcanology*. 2016; 78(9):64. <https://doi.org/10.1007/s00445-016-1055-y>
26. Balagizi CM. Rain-plume interactions at Nyiragongo and Nyamulajira volcanoes and associated rain-water hazards, East Africa. *Applied geochemistry*. 2017; v. 81 pp. 14–89-2017 v.81. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.03.018> PMID: 5667708.
27. Vaselli O, Capaccioni B, Tedesco D, Tassi F, Yalire MM, editors. *The evil wind (mazuku) at Nyiragongo Volcano (Democratic Republic of Congo)2003*.
28. Tedesco D, Vaselli O, Papale P, Carn SA, Voltaggio M, Sawyer GM, et al. January 2002 volcano-tectonic eruption of Nyiragongo volcano, Democratic Republic of Congo. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*. 2007; 112(B9). <https://doi.org/10.1029/2006jb004762>
29. Ross KA, Gashugi E, Gafasi A, Wuest A, Schmid M. Characterisation of the Subaquatic Groundwater Discharge That Maintains the Permanent Stratification within Lake Kivu; East Africa. *PloS One*. 2015; 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121217> WOS:000351987300226. PMID: 25799098
30. Ross KA, Smets B, De Batist M, Hilbe M, Schmid M, Anselmetti FS. Lake-level rise in the late Pleistocene and active subaquatic volcanism since the Holocene in Lake Kivu, East African Rift. *Geomorphology*. 2014; 221:274–85. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2014.05.010>.
31. Bompangue D, Giraudoux P, Handschumacher P, Piarroux M, Sudre B, Ekwanzala M, et al. Lakes as source of cholera outbreaks, Democratic Republic of Congo. *Emerging Infectious Diseases*. 2008; 14(5):798–800. WOS:000255508300016. <https://doi.org/10.3201/eid1405.071260> PMID: 18439365
32. Balagizi CM, Darchambeau F, Bouillon S, Yalire MM, Lambert T, Borges AV. River geochemistry, chemical weathering, and atmospheric CO2 consumption rates in the Virunga Volcanic Province (East Africa). *Geochemistry Geophysics Geosystems*. 2015; 16(8):2637–60. <https://doi.org/10.1002/2015gc005999> WOS:000362365600011.
33. Ross KA, Gashugi E, Gafasi A, Wuest A, Schmid M. Characterisation of the Subaquatic Groundwater Discharge That Maintains the Permanent Stratification within Lake Kivu; East Africa. *PloS one*. 2015; 10(3):e0121217–e. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121217> MEDLINE:25799098. PMID: 25799098
34. Smets B, Tedesco D, Kervyn F, Kies A, Vaselli O, Yalire MM. Dry gas vents ("mazuku") in Goma region (North-Kivu, Democratic Republic of Congo): Formation and risk assessment. *Journal of African Earth Sciences*. 2010; 58(5):787–98. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2010.04.008> WOS:000285122200007.
35. Galle B. *inventorMethod and device for measuring emissions of gaseous substances to the atmosphere using scattered sunlight spectroscopy*. United States2006 2006.

36. Galle B, Oppenheimer C, Geyer A, McGonigle AJS, Edmonds M, Horrocks L. A miniaturised ultraviolet spectrometer for remote sensing of SO₂ fluxes: a new tool for volcano surveillance. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*. 2003; 119(1):241–54. [https://doi.org/10.1016/S0377-0273\(02\)00356-6](https://doi.org/10.1016/S0377-0273(02)00356-6).
37. Kaddumukasa M, Nsubuga D, Muyodi FJ. Occurrence of Culturable *Vibrio cholerae* from Lake Victoria, and Rift Valley Lakes Albert and George, Uganda. *Lakes & Reservoirs: Science, Policy and Management for Sustainable Use*. 2012; 17(4):291–9. <https://doi.org/10.1111/lre.12009>
38. Takemura AF, Chien DM, Polz MF. Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment, from the genus to the population level. *Front Microbiol*. 2014; 5:38. Epub 2014/02/28. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00038> PMID: 24575082; PubMed Central PMCID: PMC3920100.
39. Huq A, Small EB, West PA, Huq MI, Rahman R, Colwell RR. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl Environ Microbiol*. 1983; 43(1):275–83. Epub 1983/01/01. <https://doi.org/10.1128/AEM.45.1.275-283.1983> PMID: 6337551; PubMed Central PMCID: PMC242265.
40. Sims CA. Macroeconomics and Reality. *Econometrica*. 1980; 48(1):1–48. <https://doi.org/10.2307/1912017>
41. Ankamah S, Nokoe KS, Iddrisu WA. Modelling Trends of Climatic Variability and Malaria in Ghana Using Vector Autoregression. *Malaria Research and Treatment*. 2018; 2018:6124321. <https://doi.org/10.1155/2018/6124321> PMID: 30002808
42. de Jong P, Penzer J. Diagnosing Shocks in Time Series. *Journal of the American Statistical Association*. 1998; 93(442):796–806. <https://doi.org/10.1080/01621459.1998.10473731>
43. Lütkepohl H. New introduction to multiple time series analysis. Berlin: Springer-Verlag; 2005. 764 p.
44. Akaike H. Maximum Likelihood Identification of Gaussian Autoregressive Moving Average Models. *Biometrika*. 1973; 60(2):255–65. <https://doi.org/10.2307/2334537>
45. Hannan EJ, Quinn BG. The Determination of the Order of an Autoregression. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*. 1979; 41(2):190–5.
46. Akaike H. Canonical Correlation Analysis of Time Series and the Use of an Information Criterion. In: Mehra RK, Lainiotis DG, editors. *Mathematics in Science and Engineering*. 126: Elsevier; 1976. p. 27–96.
47. Schwarz G. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*. 1978; 6(2):461–4.
48. Granger CWJ. Investigating Causal Relations by Econometric Models and Cross-spectral Methods. *Econometrica*. 1969; 37(3):424–38. <https://doi.org/10.2307/1912791>
49. Colwell RR, Huq A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. The causative agent of cholera. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 740:44–54. Epub 1994/12/15. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb19852.x> PMID: 7840478.
50. Wu J, Yunus M, Ali M, Escamilla V, Emch M. Influences of heatwave, rainfall, and tree cover on cholera in Bangladesh. *Environment International*. 2018; 120:304–11. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.012> PMID: 30107291
51. Baker-Austin C, TriÓanes J, Taylor N, Hartnell RE, Siitonen A, Martínez-Urtaza J, editors. *Emerging Vibrio risk at high latitudes in response to ocean warming 2013*.
52. Levy S. Warming trend: how climate shapes *Vibrio* ecology. *Environ Health Perspect*. 2015; 123(4):A82–9. Epub 2015/04/02. <https://doi.org/10.1289/ehp.123-A82> PMID: 25831488; PubMed Central PMCID: PMC4383571.
53. Hashizume M, Faruque ASG, Wagatsuma Y, Hayashi T, Armstrong B. Cholera in Bangladesh: Climatic Components of Seasonal Variation. *Epidemiology*. 2010; 21(5).
54. Sack DA, Sack RB, Nair GB, Siddique AK. Cholera. *Lancet*. 2004; 363(9404):223–33. Epub 2004/01/24. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)15328-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)15328-7) PMID: 14738797.
55. Ali M, Kim DR, Yunus M, Emch M. Time series analysis of cholera in Matlab, Bangladesh, during 1988–2001. *J Health Popul Nutr*. 2013; 31(1):11–9. Epub 2013/04/27. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v31i1.14744> PMID: 23617200; PubMed Central PMCID: PMC3702354.
56. Lipp EK, Huq A, Colwell RR. Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(4):757–70. Epub 2002/10/05. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.4.757-770.2002> PMID: 12364378; PubMed Central PMCID: PMC126864.
57. Faruque SM, Naser IB, Islam MJ, Faruque AS, Ghosh AN, Nair GB, et al. Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(5):1702–7. Epub 2005/01/18. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408992102> PMID: 15653771; PubMed Central PMCID: PMC547864.
58. Telford RJ, Barker P, Metcalfe S, Newton A. Lacustrine responses to tephra deposition: examples from Mexico. *Quaternary Science Reviews*. 2004; 23(23):2337–53. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2004.03.014>.

59. Anonymous. Deuxième enquête démographique et de santé (EDS-RDC II 2013–2014). Ministère du Plan et Suivi de la Mise en œuvre de la Révolution de la Modernité, 2014.
60. Totoiu A, Nenciu M-I, Nicolae CG. ASSESSING THE INTER-RELATIONS BETWEEN FISH HEALTH AND STOCK STATUS ON HUMAN HEALTH AND CONSUMER PERCEPTION. *Scientific Papers-Series D-Animal Science*. 2018; 61(2):268–73. WOS:000454345800047.
61. Kademi HI, Zeberé GC, Guvenir M, Adun P, Susever S, Suer K. Prevalence of *Vibrio Parahaemolyticus* in Various Seafood Consumed in North Cyprus. *Cyprus Journal of Medical Sciences*. 2018; 3(2):54–8. <https://doi.org/10.5152/cjms.2018.338> WOS:000444741800003.
62. Faja OM, Abd Sharad A, Younis KM, Alwan MG, Mohammed BJ, Ahmad A. Isolation, detection of virulence genes, antibiotic resistance genes, plasmid profile, and molecular typing among *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Malaysian seawater from recreational beaches and fish. *Veterinary World*. 2019; 12(7):1140–9. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1140-1149> WOS:000478803100032. PMID: 31528045
63. Senderovich Y, Izhaki I, Halpern M. Fish as reservoirs and vectors of *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2010; 5(1):e8607. Epub 2010/01/13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008607> PMID: 20066040; PubMed Central PMCID: PMC2797615.
64. Tang JYH, Mat-Sa'ad SH, Banerjee SK, Ho LH, Son R. Survivability of *Vibrio parahaemolyticus* in satar and otak-otak, Malaysian fish-based street food. *Int Food Res J*. 2017; 24(3):1000–5. WOS:000427097900014.
65. Ro SL, Woodburn M, editors. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Korean-style salted oysters 1976.
66. Ogur S, Erkan N. Microbiological and chemical quality of different types of salted pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811). *Journal of Food Safety*. 2020; 40(1):e12717. <https://doi.org/10.1111/jfs.12717>
67. Bwire G, Debes AK, Orach CG, Kagirita A, Ram M, Komakech H, et al. Environmental Surveillance of *Vibrio cholerae* O1/O139 in the Five African Great Lakes and Other Major Surface Water Sources in Uganda. *Front Microbiol*. 2018; 9:1560. Epub 2018/08/21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01560> PMID: 30123189; PubMed Central PMCID: PMC6085420.
68. Oberbeckmann S, Fuchs BM, Meiners M, Wichels A, Wiltshire KH, Gerdt G. Seasonal dynamics and modeling of a *Vibrio* community in coastal waters of the North Sea. *Microb Ecol*. 2012; 63(3):543–51. Epub 2011/12/29. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9990-9> PMID: 22202887.
69. Eyckmans L. Le problème du choléra en Afrique de l'Est. *Bulletin des séances de l'académie royale des sciences d'outre mer*. 1979; 3:445–50.
70. Eeckels R. Choléra, in: *Médecine et hygiène en Afrique Centrale de 1885 à nos jours*. *Tropical Medicine*. 1992;(2):1075–83.
71. Brassinne J. *Courrier hebdomadaire du CRISP*. 1971; 532(27):1–25. <https://doi.org/10.3917/crisp.532.0001>
72. Schyns C, Fossa A, Mutombo N, Kabuyahiya, Hennart P, Piot P, et al. Cholera in Eastern Zaire, 1978. *Ann Soc Belg Med Trop*. 1979; 59(4):391–400. Epub 1979/01/01. PMID: 543736.
73. Capadonni B, Vaselli O, Santo AP, Yalire MM. Monogenic and polygenic volcanoes in the area between the Nyiragongo summit crater and the Lake Kivu shoreline. *Acta Vulcanologica*. 2003; 14(1–2):129–36. <https://doi.org/10.1400/19086>
74. Wauthier C, Cayol V, Kervyn F, d'Oreye N. Magma sources involved in the 2002 Nyiragongo eruption, as inferred from an InSAR analysis. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*. 2012; 117(B5). <https://doi.org/10.1029/2011jb008257>
75. Balgizi CM, Kasereka MM, Cuoco E, Liotta M. Rain-plume interactions at Nyiragongo and Nyamulagira volcanoes and associated rainwater hazards, East Africa. *Applied geochemistry*. 2017; 2017 v. 81: pp. 14–89. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.03.018> PMID: 5667708.
76. Muyembe JJ, Bompangue D, Mutombo G, Akilimali L, Mutombo A, Miwanda B, et al. Elimination of Cholera in the Democratic Republic of the Congo: The New National Policy. *Journal of Infectious Diseases*. 2013; 208:S86–S91. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit204> WOS:000325766800013. PMID: 24101651

CHAPITRE 5

Facteurs de risque individuels de contamination par le choléra à Bukavu (République démocratique du Congo) : influence relative de la transmission environnementale et humaine.

(Soumis au journal Plos)

Chapitre 5. Facteurs de risque individuels de transmission du choléra à Bukavu (République démocratique du Congo) : influence relative de la transmission environnementale et humaine.

Résumé de l'article 3

Cet article s'est penché sur le volet anthropique à travers la compréhension des mécanismes de contamination individuelle du choléra dans une ville de la vallée du Rift, sanctuaire au choléra. Une étude cas-témoins a été menée sur des patients ayant eu une culture de selles positive au *Vibrio cholerae* à Bukavu soignés au Centre de traitement du choléra de Bukavu de l'Hôpital Général Provincial de Référence (HGPR). Ces patients ou cas ont été comparés aux témoins selon les critères raisonnés.

Les résultats ont permis d'établir un modèle de contamination par le choléra avec deux voies de transmission d'importance différente. Le premier facteur de risque était environnemental (utilisation d'eau provenant d'une source non protégée ou d'eau de surface, le risque étant renforcé par la manipulation/consommation de produits provenant du lac). Le deuxième facteur de risque, moins déterminant, était lié au contact avec un malade du choléra et à la consommation d'eau ou d'aliments dans la rue. Les modèles arborescents ont identifié les facteurs environnementaux comme étant les plus déterminants dans la contamination. Une probabilité de contamination par le choléra supérieure à 90% était observée lorsqu'un individu utilisait régulièrement de l'eau provenant d'une source non protégée ou d'un lac et manipulait des produits du lac (pêche ou vente de poisson). Le risque augmentait lorsqu'un individu combinait deux ou plusieurs facteurs de risque environnementaux. Ce travail permet d'identifier les populations les plus précaires comme particulièrement vulnérables à ces facteurs de contamination et d'orienter les mesures préventives pour limiter les risques de contamination lors des pics de choléra.

Cet article est déjà soumis dans le journal Plos.

Article 3 : Individual risk factors for cholera transmission in Bukavu (Democratic Republic of the Congo) : relative influence of environmental and human transmission.

Short title: individual risk factors for cholera contamination

Doudou Batumbo B^{1,2}, Didier Bompangue^{1,2}, Patrick Giraudoux¹, Alain Mwishingo², Bertrand Bamuleke³, Ghislain Maheshe³, Raphael Chirimwami², Gudrun Bornette^{1*}

¹ UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, University of Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France

² Department of Medical biology, Faculty of Medicine, University of Kinshasa, Kinshasa, Democratic Republic of Congo

³ Bukavu Provincial Hospital, Bukavu, Democratic Republic of Congo

* Corresponding author

E-mail: Gudrun Bornette gudrun.bornette@univ-fcomte.fr (GB)

Abstract

A recurrence of epidemic cholera occurred between August 2017 and March 2018, in the eastern region of the Democratic Republic of Congo, in the city of Bukavu. Given the frequency with which cholera emerges in this region, we examined the factors that influence the transmission of the causative agent, *Vibrio cholerae*.

We hypothesized that the consumption of *Vibrio cholerae*-laden water or fish increase the risk of developing cholera, with human-to-human transmission

playing only a secondary role in transmission of the pathogen.

To examine this hypothesis, a case-control study was conducted to examine the association between the status of the interviewee (case or control) and the factors tested (situations of interpersonal contact and transmission routes of environmental origin). The results generated a model of cholera infectivity, highlighting two routes of transmission of varying importance. The primary risk factor was environmental, specifically, the

consumption or handling of untreated lake water or materials. The secondary risk factor involved fecal-oral transmission, which was categorized as contact with a cholera patient. The tree models (are methods that provide both explanatory and predictive models) identified environmental factors as the most as having the highest probability of infectivity. The likelihood of developing cholera was greater than 90 percent when an individual

regularly used water from an unprotected source or from the lake and handled lake products (fishing or selling fish). The risk increased when an individual combined two or more environmental risk factors. Our research provides a framework with which to potentially identify populations that are vulnerable to cholera transmission and infectivity due to the aforementioned risk factors.

Author summary

The city of Bukavu in the DRC is an area at risk of cholera. This city in the Rift Valley, bordered by Lake Kivu, is full of Health Zones (HZ) with uninterrupted reporting of cholera cases on the one hand and frequently suffers from cholera epidemic waves on the other. In our study, we have documented one of the longest epidemics that Bukavu has historically experienced from August 2017 to March 2018 (i.e., 8 months of epidemic). The objectives were (1) prioritize the risk factors for cholera transmission between environmental and feco-oral factors on the one hand (2) search for significant interactions between factor.

the risk factors involved. We hypothesized that the consumption of *Vibrio cholerae*-laden water or fish increases the risk of developing cholera, with human-to-human transmission playing only a secondary role in transmission of the pathogen. The primary risk factor was environmental, specifically, the consumption or handling of untreated lake water or materials. The secondary risk factor involved fecal-oral transmission, which was categorized as contact with a cholera patient. The probability of cholera infection was higher in subjects who had more than one risk

Introduction

Infectious diarrhoeal diseases are a major public health problem in emergent nations [1,2]. Among them, cholera is an endemic and epidemic disease linked to the microorganism *Vibrio cholerae*. *Vibrio cholerae* is a motile gram-negative bacterium found in brackish water and the etiological agent of the fecal-oral disease cholera. Classical and El Tor are two main biotypes that make up the *V. cholerae* O1 serogroup, which each display unique genotypic and phenotypic characteristics that allow for reliable biotype characterization [3].

The causative agent of cholera, *Vibrio cholerae*, is endemic in Southeast Asia [4], Sub-Saharan Africa [5], and Latin America [4].

The spread of cholera in the epidemic phase is sometimes attributed to direct person-to-person transmission [6]. Previous studies in Bangladesh have shown that contact with infected family members increases the likelihood of developing *Vibrio cholerae* infection compared with the overall infection rate of the urban population [7-9]. Several parameters have thus been identified as risk factors: being a child under five years

of age [9], eating food prepared by a recently ill person [10], not complying with handwashing recommendations before eating [11], and eating food from street vendors [12].

The persistence of *Vibrio cholerae* is facilitated by the bacteria's long-term survival in aquatic ecosystems [13-17]. When human populations are situated close to contaminated environments such as reservoirs, oxbow lakes, and lake shores, transmission may occur via consumption of the bacillus [6]. Several studies have confirmed that environmental transmission of *Vibrio cholerae* occurs. Thus, several routes, such as consumption of water sold on the street [18], hand contact with stored domestic water [19], swimming in a river [19-21], and consumption of contaminated crabs carried in traveller luggage [22,23], could induce transmission. In addition, cholera has been associated with the consumption of fish and other aquatic foods (e.g., crustaceans and molluscs) in different parts of the world [17,19,24-28]. This suggests that water and food transmission could be important and potentially predominant routes of transmission of *V. cholerae* infection.

Even in areas where there is an environmental signature of *V. cholerae*, few studies have attempted to understand the effect of multiple routes of transmission on the risk of developing clinical cholera. Yet, multiple routes of transmission increase the likelihood of absorbing the high dose of bacterial inoculum (in the range of 10^8 - 10^{11} bacteria) required to manifest clinical signs of cholera [29]. Moreover, research on some infectious diseases, such as malaria, has shown that the risk factors for transmission can have interactions with each other additionally. A subsequent amplification of risks may be observed, and it is linked to these synergistic effects between the different risk factors for transmission [30].

In Africa, since 2013, three countries (DRC, Somalia and Nigeria) account for more than 60 % of the total number of cholera cases reported each year on the continent [31]. Over the past five years, the Democratic Republic of Congo (DRC) has remained among the top two most affected countries in Africa [31]. In 2019, DRC reported more than half of all African cholera cases. Almost 90% of the cases recorded in DRC in the same year occurred in the endemic provinces of the

African Rift Valley region. Despite the implementation of the multisectoral plan for the elimination of cholera put in place by the DRC to reduce the annual incidence rate to less than 1 confirmed case per 100,000 inhabitants [31]. For more than 12 years, the DRC continues to be subject to recurrent epidemics, which generally start in the lake health zones of the Rift Valley called "cholera sanctuary zones" (Eastern DRC Lake Health Zone of persistence and re-emergence of cholera epidemics) [32]. The most affected areas are Kivu and former Katanga, which border Lake Kivu and Lake Tanganyika. These zones are the starting points for cholera epidemics observed in the rest of the DRC [32]. Cholera is endemic to the city of Bukavu in its three health zones (Kadutu, Bagira and Ibanda). This city, located on the shores of Lake Kivu, has a high population density and a strong migratory flow.

In the Katana Lake health zone, an area fifty km north of Bukavu, a recent study showed that the incidence of cholera within the population was correlated with both the presence and abundance of *V. cholerae* in Lake Kivu [17]. Moreover, *V. cholerae* was also positively correlated

with salinity, water temperature, and volcanic activity [17].

The crucial question in this context is to determine the role of each factor in the transmission and occurrence of clinical cholera: are they essentially linked to human interactions, starting with a few cases contaminated by the environment, or on the contrary, does the environment act as a reservoir in which humans continuously contaminate themselves, with inter-human circulation being a secondary factor of transmission? The study on the population of the Katana health zone supports the second hypothesis, insofar as epidemic peaks are very strongly correlated in time with the presence of vibriions in the environment.

The aim of this study was to identify and prioritise individual factors of cholera transmission in the city of Bukavu bordering Lake Kivu. To conduct this study, we hypothesised that (1) environmental factors, namely, the

Methods

Study site

The study was conducted in the city of Bukavu, located in South Kivu in the eastern DRC (Fig 1). The city of Bukavu is

consumption of contaminated water or contaminated lake fish, are the determining factors in *Vibrio cholerae* transmission, with human-to-human transmission playing only a secondary role and (2) the likelihood of the subject developing clinical cholera increases when the subject accumulates exposure factors to transmission. We conducted a survey of 180 cholera patients hospitalised at Bukavu Provincial General Hospital during the 2017-2018 epidemic as well as 180 control subjects. These 360 subjects were subjected to a questionnaire based on risk factors for cholera transmission (environmental vs. fecal-oral). The specific objectives of the study were as follows: (1) prioritise the risk factors for cholera transmission between environmental and feco-oral factors on the one hand (2) search for significant interactions between the risk factors involved.

bordered to the west and south by the territory of Kabare, to the north by Lake Kivu and to the east by the valley of the Ruzizi River, flowing from Lake Kivu to Lake Tanganyika. The population of the city of

Bukavu is estimated at 951,720 inhabitants (2019) over an area of 60.1 km² (~15,400 inhabitants/km²). The city of Bukavu has three Health Zones (HZ), several health facilities and the Bukavu Provincial General Hospital (BPGH). The HZ is the operational level of the DRC's health pyramid. Each HZ is composed of one reference general hospital and 15-20 centers. There are

between 100 000 and 300 000 inhabitants per HZ [33].

In this town fishing is practiced in Lake Kivu. Fishermen are organised in teams of often eight to ten men. Cholera is endemic in this city, particularly in the Kadutu health zone, a cholera sanctuary area [31,32].

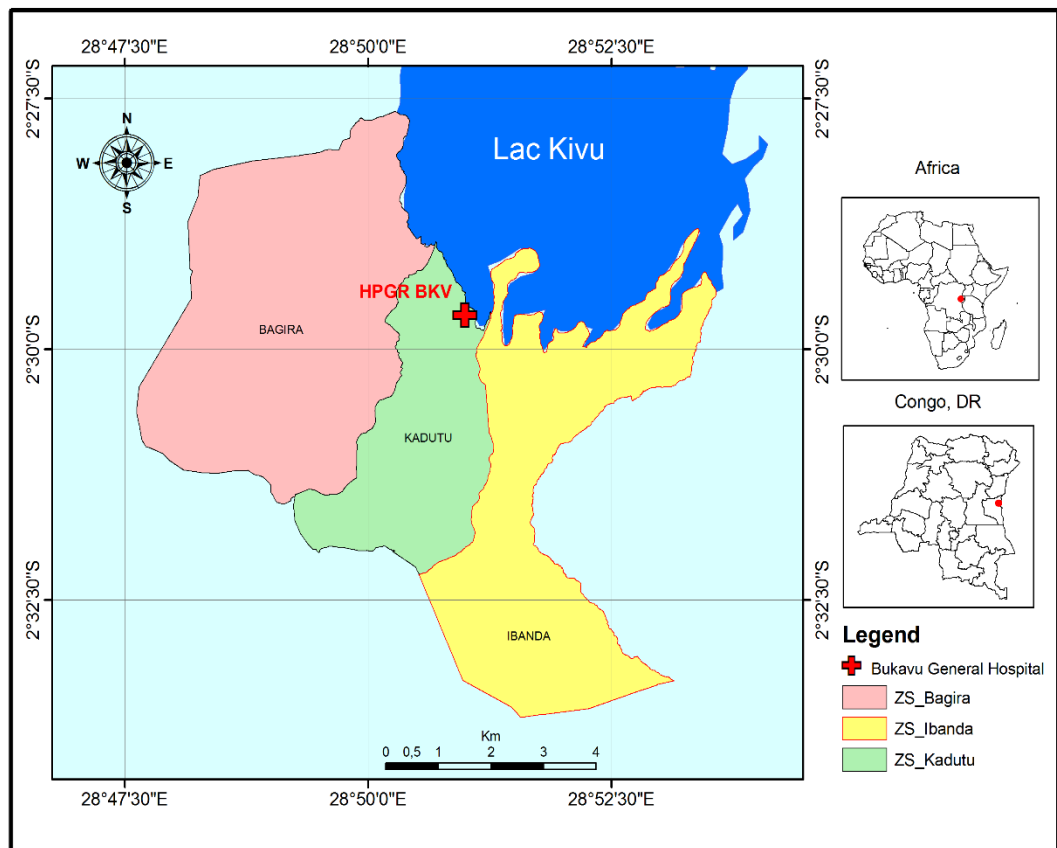


Fig 1. City of Bukavu with Three Health Zones (Ibanda, Kadutu, Bagira) and Bukavu Provincial General Hospital.

Study variables

A questionnaire was submitted to 180 cholera patients (cases) and 180 witnesses (controls). Cases were defined based on people who had suffered from cholera as defined by the World Health Organisation (WHO) [34] and who were treated at the Cholera Treatment Center (CTC) of the Bukavu Provincial General Hospital (BPGH) in Bukavu from October 2017 to March 2018.

In this study, clinical cholera case or disease is a person suffering from acute watery diarrhoea and severe dehydration in a household in the city of Bukavu who was hospitalised for at least one night and treated in the CTC (of the Bukavu Provincial General Hospital) between October 2017 and March 2018 and whose illness was confirmed as cholera based on a laboratory analysis (isolation of *V. cholerae* serotypes 01 or 0139 in stool culture).

Biological confirmation of the cases was performed at the laboratory of the National Institute of Biomedical Research (INRB) in Kinshasa according to standard protocols [3]. Stool samples were taken from fecal sections of cholera patients. The stool samples were enriched in alkaline

peptone water broth for six hours, spread on thiosulphate citrate agar bile sucrose plates and incubated for 24 hours. Serotyping was performed using the latex test [3,29].

Each sick case was matched with a control. The control was defined as member of the same community as the case but with no clinical signs of cholera disease. The control was of the same sex as the case, no more than five years older than the case, and had not travelled in the last three weeks, and who consented to the study. The control was randomly selected from the 10 households to the right and to the left of the household of the case, respectively. If there was more than 1 person of the same sex as the case in a selected control household, the one closest to the age of the case was selected.

We calculated a minimum sample size of 163 for each group, comprising 163 cases and 163 controls, using the Open Epi Save® program. Assumptions for the sample size calculation included a 50 % exposure rate for controls (in the absence of a rate in the literature that corresponded to the city of

Bukavu), 90% study power, 95% confidence intervals (CIs), and an odds ratio (OR) to desired detection of 2 for public health interest. In the end, we enrolled a total of 360 people in the study, i.e., 180 cases and 180 controls.

The same survey questionnaire was submitted to the cases and controls, and the interviews were individual. These risk variables were chosen based on the literature review [5,8,9,15,16] and knowledge of the situation in the field. The questionnaire was administered by trained

field staff to cases and controls through face-to-face interviews. The questions focused on demographic and socioeconomic information and on possible cholera risk factors such as handwashing practices, water sources, sources of food, contact with cholera patient, regular consumption of water sold in bags on streets, regular consumption of food sold on the streets and Fish consumption frequency by week. The study variables are summaris

Table 1. Variables of Study, their Nature and Modalities.

Variables	Nature	Modalities
Environmental		
Health zone residence	Independent Nominated	Ibanda, Kadutu and Bagira
Main drinking water source	Independent Category	- Undeveloped source/Lake - Developed source/Taps
Fish consumption frequency by week	Independent Category	≤ 3 days by week > 3 days by week
Anthropic		
Status of the respondent	Independent Category	-Case -Control
Health Zone residence	Independent Nominal	Ibanda, Bagira and Kadutu
Gender	Independent Category	Male and female
Study level	Independent Category	None, primary, secondary or university
Socioeconomic level	Independent Category	< 1 \$ USD/Day ≥ 1 \$ USD/Day
Regular consumption of water sold in bags on streets	Independent Category	Yes No
Regular consumption of food sold on the streets	Independent Category	Yes No
Washing hands with soap before eating	Independent Category	Yes No

Washing hands with soap after using the toilet	Independent Category	Yes No
Contact with cholera patient	Independent Category	Yes No
Marital status	Independent Category	Married, single, divorced, widowed, or not concerned (child)
Occupation of respondent	Independent Category	Farmer, civil servant, housewife, vendor of lake fish, School child, Student, unemployed
Age of respondent	Numeric	

For the study, an indicator of the economic status of the respondents was constructed by combining information on the number of people in the household and the amount spent per day feeding the household. The relationship between these two variables allowed us to define the socioeconomic level of each respondent in the study. Thus, a ratio < 1 USD/person represented a low socioeconomic level, and ≥ 1 USD/person was considered high.

Statistical analyses

The data were entered and organised in an Excel© dataset and cleaned and analysed using R© software version 3.4.4. The variables were analysed using conditional logistic regression [35]. Relative risks and 95% confidence intervals (CIs) were calculated and all significant variables ($p \leq 0.05$). We made a careful selection of cholera transmission risk variables based on obvious biological assumptions. Then we built a conditional

logistic regression model that includes all variables. We then constructed a series of biologically based models and compared them. The model with the lowest AKAIKE index (AIC) was retained [36].

Conditional logistic regression is the standard tool for the analysis of matched case-control studies in which cases, i.e., patients, are each matched to one or more healthy controls. This type of analysis provides estimates of model coefficients that can be interpreted as logarithmic relative risks, so the exponential of the coefficient gives the relative risk.

Subsequently, the hierarchical interactions between significant dependent variables in the multivariate conditional logistic regression model were investigated using classification tree models or CART (Classification and Regression Trees) models with SPM© software (Salford Predictive Modeler 8.2). Classification tree-based models are

complementary alternatives to classical linear regression models. The CART approach can highlight relationships between linear or additive variables, and the interactions do not need to be predefined. The CART model therefore provides more flexible links between variables, multicollinearity and outliers [37]. In addition, the CART model offers further advantages over traditional multivariate analyses by determining the overall discriminatory power of each explanatory variable, the relationship between risk factors and possibly their relative importance. Therefore, the CART model can provide additional insights into the results obtained by multivariate analysis and vice versa. By quantifying the results of the CART analysis, we obtained more accurate results and a better understanding of the true importance and interaction between risk factors [38,39].

CART models were fitted by recursive binary partitioning of a multidimensional covariate space in which the data set was successively divided into increasingly homogeneous subsets until a specified criterion was stratified [39-41]. The standard error rule was applied to select the best tree for which the standard

error was minimal. The classification tree partitioned the different risk factors according to the power of the variables on the set of discriminant factors. Each class was then divided into two further subcategories.

Ethical considerations

The study was approved by the Institutional Committee for Health Ethics, Bukavu, DRC (Approval number: UCB/CIES/NC/08/2018).

The anonymity and confidentiality of the answers provided by the respondents were guaranteed. All respondents were informed of the purpose of the study through a written message that was read before the questionnaire was administered. Consequently, each person gave his or her written consent before answering the questions. Participation in the study was voluntary.

Results

During the study period, the Cholera Treatment Centre (CTC) at Bukavu Provincial Hospital recorded a total of 2,182 cholera cases, almost 50% of which originated from the lake health zone of Ibanda. Out of a total of 360 persons

included in the survey, 57% lived in the Ibanda health zone (Table 2). All 180 clinical cholera cases were 100% stool culture positive for *Vibrio cholerae* O1. The most abundant serotype was Ogawa (72%) followed by Inaba (28%) (Biological data table).

The median age of the interviewees was 20 years (1-79 years). No significant difference between the ages of the cases and the controls was found ($p = 0.77$). The cases and their controls were similar in terms of gender and household size. Nearly 60% of participants in both groups had an improved source of drinking water or taps (e.g., protecting water from external contamination, particularly from faecal matter, see WHO Guidelines for Drinking Water Quality (4th edition, 2011)).

. However, all respondents used untreated drinking water sources or lake water. Nearly 85% of all participants were living below the poverty line (less than a dollar a day). Of all respondents, 38% were married, 15% were single, and 43% had children. A quarter of the respondents had been in contact with cholera patients. Sixty-three percent of the respondents had

a frequency of fish consumption of less than four times a week (Table 2).

In the simple logistic regression models, exposure factors significantly associated with cholera transmission were identified. Sick subjects were significantly more likely to use unimproved water sources or lake water as their main source of drinking water, consumed fish from the lake more than three days a week, and had a history of contact with a cholera patient. They also tended to regularly drink water sold in bags, consume food sold on the streets and were less likely to wash their hands before eating. Commercial activities such as selling fish from the lake and low educational attainment were also more common among the sick persons (Table 2).

The multivariate conditional logistic regression analysis also showed that cholera infection was significantly associated with the following risk factors: an undeveloped drinking water source or lake water as the main source of drinking water (OR= 36.4; CI = 10.3-121.5), a history of contact with a cholera patient (OR 19.8; CI = 6.7-54.5), professional activity selling fish (OR 15.5; CI = 1.2-181.2), regular consumption of water sold in bags (OR 5.9; CI = 2.2-15.7), food sold in the streets (OR

4.6; CI = 1.7-12.3), and frequent consumption of fish from the lake more

than three days a week (OR 1.6; CI = 1.1-2.3) (Table 3).

Table 2. Univariate Analysis of Factors Associated with Cholera Transmission in Bukavu, DRC, October 2017 to March 2018, Bukavu.

Factors	Total (n=360)	Status		OR (95% CI)	p-value
		Case n (%)	Control n (%)		
HZ of residence					
Ibanda	204 (56.7)	102 (56.7)	102 (56.7)		
Kadutu	100 (27.7)	50 (27.7)	50 (27.7)		
Bagira	56 (15.6)	28 (15.6)	28 (15.6)		
Sex of respondents	360 (100.0)	180 (50.0)	180 (50.0)		
Age of respondents (years)	20 (1 ; 79)				0.77
Fish consumption frequency					
> 3 days per week	130 (36.1)	113 (62.8)	17 (9.4)	5.4 (3.5-8.6)	0.01
≤ 3 days per week	230 (63.9)	67 (37.2)	163 (90.6)	1	
Marital status					
Single	57 (15.3)	31 (17.2)	26 (14.4)	1.4 (0.7-2.6)	0.26
Child	156 (43.3)	82 (45.6)	74 (41.1)	1.3 (0.8-21.0)	0.23
Widow (widower)	12 (3.3)	6 (3.3)	6 (3.3)	1.2 (0.4-3.8)	0.76
Divorced	1 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.6)	1.1 (0.2-10.2)	0.96
Married	134 (37.2)	61 (33.9)	73 (40.6)	1	
Level of education					
None/Child	123 (34.2)	78 (43.3)	45 (25.0)	20.2 (2.5-154)	0.01
Primary	108 (30.0)	77 (42.8)	31 (17.2)	20.0 (2.0-148)	0.01
Secondary	117 (32.5)	24 (13.3)	93 (51.7)	2.8 (0.3-22.1)	0.32
University	12 (3.3)	1 (0.6)	11 (6.1)	1	
Occupation					
Housewife	24 (6.7)	4 (2.2)	20 (11.1)	1	
Student/School child	133 (36.9)	64(35.5)	69 (38.3)	4.9 (1.5-15.4)	0.01
Unemployed	89 (24.7)	36 (20.0)	53 (29.3)	3.4 (1.1-10.6)	0.03
Cultivator	11 (3.3)	3 (1.7)	8 (4.4)	1.9 (0.3-10.1)	0.47
Civil servant	14 (3.9)	11 (6.1)	3 (1.7)	18.1 (3.3-99.4)	0.01
Fisherman	6 (1.7)	6 (3.3)	0 (0.0)	1.4 (0.1-270.0)	0.99
Vendor of lake fish	58 (16.1)	47 (26.1)	11 (6.1)	21.3 (6.1-73.6)	0.01
Teacher	5 (1.4)	0 (0.0)	5 (2.8)	0.1 (0.0-99.0)	0.99

Other	20 (5.3)	9 (5.1)	11 (6.3)	2.5 (0.55-11.2)	0.23
Socioeconomic level					
< 1 \$ USD/Day	301 (83.6)	154 (85.6)	147 (81.7)	1.2 (0.9-1.6)	0.19
≥ 1 \$ USD/Day	59 (16.4)	26 (14.4)	33 (18.3)	1	
Contact with cholera patient					
Yes	89 (24.7)	55 (30.6)	34 (18.9)	1.9 (1.2-3.1)	0.01
No	271 (75.3)	125 (69.4)	146 (81.1)	1	
Main drinking water source					
Undeveloped source/Lake	143 (39.7)	130 (72.2)	13 (7.2)	33.4 (17.4-64.1)	0.01
Developed source/Taps	217 (60.3)	50 (27.8)	167 (92.8)	1	
Regular consumption of water sold in bags					
Yes	186 (51.7)	149 (82.8)	37 (20.6)	18.6 (10.9-31.5)	0.01
No	174 (48.3)	31 (17.2)	143 (79.4)	1	
Regular consumption of street food					
Yes	222 (61.7)	147 (81.7)	75 (41.7)	6.2 (3.9-10.1)	0.01
No	138 (38.3)	33 (18.3)	105 (58.3)	1	
Washing hands with soap after using the toilet					
Yes	98 (27.2)	43 (23.9)	55 (30.6)	1	
No	262 (72.8)	137 (76.1)	125 (69.4)	0.7 (0.5-1.1)	0.09
Washing hands with soap before eating					
Yes	120 (33.3)	49 (27.2)	71 (39.4)	1	
No	240 (66.7)	131 (72.8)	109 (60.6)	1.6 (1.1-2.7)	0.01

Table 3. Factors Independently Associated with Cholera transmission Analysed with a Multivariate Model Fitted by Conditional Logistic Regression (n = 360).

Risk factors	OR (95% CI)	p-value
Undeveloped drinking water source/Lake	36.4 (10.3-121.5)	< 0.01
Contact with a cholera patient (Yes)	19.8 (6.7-54.5)	< 0.01
Seller of lake fish	15.5 (1.2-181.2)	0.03
Regular consumption water sold in bags in the street (Yes)	5.9 (2.2-15.7)	0.01
Regular consumption of street food (Yes)	4.6 (1.7-12.3)	0.01
Fish consumption > 3 days/week	1.6 (1.1-2.3)	0.01

OR = matched Odds Ratio; CI = Confidence Interval.

The CART model allowed us to analyse the interactions between these different risk factors and to deduce the cumulative risk of cholera transmission. This analysis showed that the individual's main source of drinking water was the most discriminating variable in the risk classification tree (Fig 2, with "consumption of water from unplanned sources" and "consumption of lake water" as the first risk factors identified in the cholera transmission risk tree (91% risk of transmission). The risk increased to 97% if the person also consumed food from a street vendor on a regular basis. The probability of consumption reached 99% if the person was a fish or lakefood vendor.

The tree shows a risk probability of 89% when the subject had a history of contact with a person suffering from cholera and was a fish or lakefood vendor. Consumption of lake products (fish) for more than three days a week, combined with regular consumption of water sold in bags, increased the probability of the person becoming infected with cholera to 86%. If consumption of lake products (fish) for more than three days a week was associated with regular eating of street foods, the probability of the person becoming infected with cholera changed to 77%, even if the person used tap water as the main source of drinking water (Fig 2).

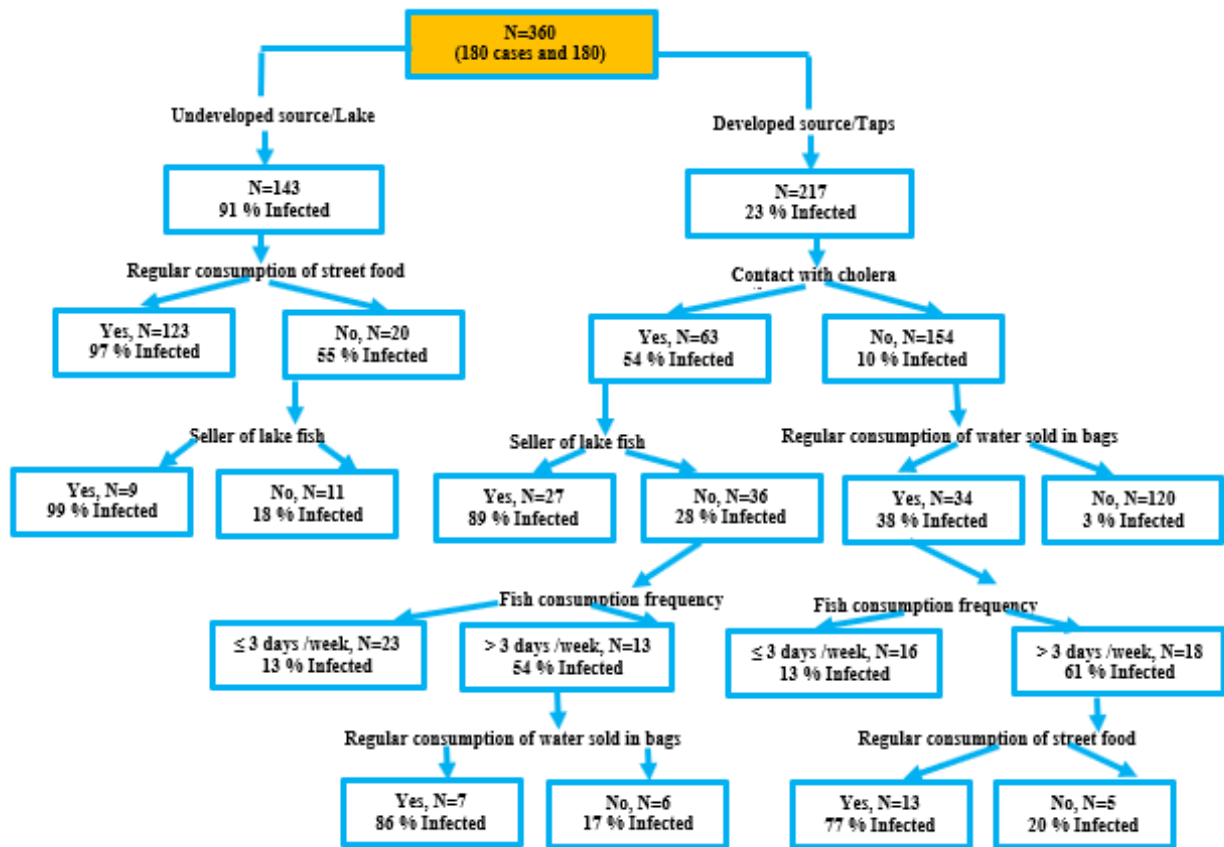


Fig 2. Classification Tree of the Risk Factors for Cholera Infection with Target Variables:

(1) main source of drinking water; (2) contact with a subject suffering from cholera; (3) subject's occupation; (4) regular consumption of street food; (5) regular consumption of water sold in bags in the streets; and (6) number of days per week of fish consumption.

Each modality of the variable is associated with a level of risk of cholera contamination. The interactions between the modalities of the different variables express the proportion of people infected by cumulative risk factors.

Discussion

The choice of a case-control study for this study is deliberate. Indeed, the case-control study has the advantage of being inexpensive, does not require heavy logistical support and, above all, can be

performed in the daily routine of a CTC. As a result, its conclusions will be closer to the practitioner's reality, and it is one of the methods of choice for the analytical approach from an epidemiological point of view. However, to overcome the

drawbacks, often linked to the identification of controls made difficult by numerous uncontrollable confounding factors, we have chosen to compensate for them by using conditional logistic regression.

Our hypothesis was that environmental factors, namely, the consumption of contaminated water or contaminated lake fish, are the determining factors in *Vibrio cholerae* transmission, with human-to-human transmission playing only a secondary role. The results of this study showed that drinking water from lakes or from undeveloped water sources was the most important risk factor. Consumption and/or handling of fish from the lake also significantly increases the risk of catching cholera in Bukavu. This result validates our hypothesis and demonstrates that environmental factors are the main factors of cholera transmission, with interpersonal contact playing a much lesser role. This observation was also made by Grant in his study on cholera transmission routes in Bangladesh. He demonstrated in his study that the primary routes of cholera transmission are those from the reservoir to the host, while the secondary routes are those from faeces to the new host [42].

In several studies, the regular use of undeveloped water sources or surface water (such as lakes or rivers) is recognised as a key element of cholera transmission [11,43-45]. Other studies conducted in this region have highlighted the link between cholera epidemics and living on the banks of a lake or river, particularly when people drink, bathe and wash their belongings in their waters [4,17,46,47]. Generally, in the city of Bukavu, similar to many other cities in the DRC, a large section of its population consumes untreated and poorly conserved water. The latest national demographic and health survey (EDS-DRC, 2014) indicates that on a national average basis almost half of Congolese households (49.4%) obtain their water from unimproved sources (unprotected wells, lake, river) [48]. However, these figures are more alarming in rural areas and villages. According to the same survey, in rural areas, almost seven out of ten households (68%) obtain their water from an unimproved source (unprotected springs, lakes and rivers) [48]. The low consumption of tap water (approximately 25% of the population nationwide) may be partly due to irregularities in water distribution. However, populations without water

supply systems and living close to the lake tend to consume lake water directly according to an earlier study [4], and people living in neighbourhoods and villages lacking tap water must look for water elsewhere. In the same study, more than half of the cholera patients lived in the Ibanda Lake health zone (Table 2). This also confirms the results of a recent study conducted in the region, where people living on the shores of Lake Kivu were most at risk of cholera transmission [17]. The population is exposed not only through the consumption of lake water but also through the consumption of raw/smoked fish contaminated by *Vibrio cholerae* [17]. Consumption of fish more than three days a week was identified as a risk factor for cholera transmission (Table 2). Fish plays an important role as a reservoir and vector of *Vibrio cholerae*. The bacterium can colonise the intestines of crustaceans and fish [23,28,49]. Evidence collected over the past 20 years indicates a close association between *Vibrio cholerae* and copepods and fish. Where communities depend on untreated environmental water sources for washing, cooking and drinking, accidental ingestion of copepods, which carry a high "dose" of *Vibrio cholerae*, can lead to

cholera transmission [50,51]. Similarly, eating contaminated fish is a risk of cholera infection [47]. Generally, this transmission is favoured by insufficient cooking of fish harbouring *Vibrio cholerae* or the consumption of raw or smoked fish. A 2018 study found a high prevalence of *Vibrio cholerae* in the gills, intestines and scales of fish commonly caught and consumed in Bangladesh [52]. Other studies have suggested that fish handling may be another factor leading to transmission of *Vibrio cholerae* [53,54]. Scheelbeek et al. [55] suggested that under difficult hygienic conditions, transmission is higher through cleaning fish than through consumption. Fish sellers are therefore particularly exposed to transmission and transmission of the bacillus. Indeed, in addition to handling contaminated food, this activity promotes human-to-human contact, which increases the risk of human transmission. Previous studies on the epidemiology of cholera in DRC have shown that traders are a professional category vulnerable to cholera [56].

In addition to these environmental factors, this study showed that anthropogenic factors such as contact with a cholera patient are also present. A history of

contact with people infected with cholera was also a risk factor, albeit of lesser importance, identified in this study (Table 2). This fecal oral transmission has been documented in Zambia and other African countries [57]. Cholera patients have been shown to release large amounts of germs in their faeces, which they can transmit directly to healthy people. Studies have shown that cholera *vibrios* can persist for more than two weeks in convalescent patients [58]. Other studies show that household contacts of cholera patients have a high level of risk of infection even in areas where cholera is endemic [7]. If street vendors live in contact with cholera or have even indirect contact with their customers, they may contribute to the transmission of the bacillus, which may partly explain why street food consumers present a significant risk of transmission. This is consistent with other studies in Guatemala, Nigeria, India and South Africa, which have shown that food and water sold on the streets are important risk factors for the transmission of *Vibrio cholerae* [18,57,59]. One proposed explanation is that contaminated hands and flies could be vectors of the disease [20]. The quality of food consumed (origin of water and food,

hygiene in food preparation) is not guaranteed in such situations and can also be a risk factor. For example, epidemiological studies in Asia, Africa and Latin America have demonstrated the significant risk associated with food prepared or stored in unsanitary conditions, such as those prepared on the street, in the transmission of cholera [44]. In this study, we also hypothesised that the likelihood of the subject developing clinical cholera increases when the subject accumulates exposure factors to transmission. Our study results validated this hypothesis in that people who used surface water as their main source of drinking water and handled fish from the lake had the highest probability of transmission (99 %).

The various elements mentioned above underline the need for a sustainable water supply and basic sanitation facilities to protect populations. The risks related to environmental transmission by water could be significantly reduced by informing the population of the existence of environmental reservoirs of cholera. Food warnings about eating undercooked fish and handling it carelessly could also be promoted.

The level of resources of the interviewees did not appear to be a significant risk factor, contrary to other studies [60]. This can be explained by the socioeconomic crisis affecting the whole country, reducing living conditions above the poverty line to a small proportion of the population. The latest DRC demographic and health survey shows that for South Kivu Province, only 10% of the population is classified in the top quintile in terms of economic well-being [4]. However, exposure to cholera transmission is implicitly dictated by a person's social status. Indeed, the social risk linked to poverty exposes the individual to risk factors. Indeed, the poor consume more street food, unsafe water sold in bags and untreated lake water.

The results of this work show that the active transmission of cholera in Bukavu depends primarily on environmental factors, although secondary factors, whose independence from the environment is not certain, have been identified. When an individual accumulates several environmental risk factors, the probability of cholera transmission is close to 100 %. All of these events are therefore the basis for the maintenance of residual cholera cases and the recurrence of epidemics in

this city. On the one hand, faecal waste can easily contaminate drinking water, especially during rainy periods. On the other hand, culinary habits (superficial cooking of fish and consumption of raw or smoked fish) can contribute to the transmission and maintenance of cholera in the population of this Rift Valley town. Thus, through the Multisectoral Strategic Plan for the Elimination of Cholera 2018-2022, the DRC must capitalise on these results to reduce these risk factors. In addition to measures to improve access to drinking water, significant results could be achieved thanks to low-cost aid (setting up public drinking water fountains, supplying high-quality water bottles and disinfectant tablets, and providing information on the risks associated with the lake).

relatively inexpensive measures could significantly reduce the risk of infection.

Conclusion

This study opens new perspectives on the main factors of cholera transmission in at-risk areas such as Bukavu, and it provides elements for readjusting cholera control strategies. The results of this study show that the issue of cholera transmission

remains complex, even if the vulnerability of the populations is strongly dependent on the environmental context (existence of environmental reservoirs). Moreover, the

poverty of the population makes it difficult to implement effective preventive measures. However, better information for the population and the implementation of

References

1. Harris JB, Larocque RC, Charles RC, Mazumder RN, Khan AI, Bardhan PK. Cholera's western front. *Lancet*. 2010;376: 1961-1965.
2. Orish V. Economic burden of infectious diseases and benefit of control and prevention in Sub-Saharan Africa. *Open Access Libr J*. 2015;2: e2138.
3. Tarh, Jacqueline Ebob J. A Review on Diagnostic Methods for the Identification of *Vibrio cholerae*. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*.2020; 32(8): 136-164.
4. Shapiro RL, Otieno MR, Adcock PM, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Kumar L, et al. Transmission of epidemic *Vibrio cholerae* O1 in rural western Kenya associated with drinking water from Lake Victoria: an environmental reservoir for cholera? *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60: 271-276.
5. Osunla C and Okoh A. *Vibrio* Pathogens: A Public Health Concern in Rural Water Resources in Sub-Saharan Africa. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2017;14: 1188.
6. Deen J, Mengel MA, Clemens JD. Epidemiology of cholera. *Vaccine*. 2020;38 Suppl 1: A31-A40.
7. Weil AA, Khan AI, Chowdhury F, Larocque RC, Faruque AS, Ryan ET, et al. Clinical outcomes in household contacts of patients with cholera in Bangladesh. *Clin Infect Dis*. 2009;49: 1473-1479.
8. Burrowes V, Perin J, Monira S, Sack D A, Rashid M, Mahamud T, Rahman Z, Mustafiz M, Bhuyian SI, Begum F, Zohura F, Biswas S, Parvin T, Hasan T, Zhang X, Sack BR, Saif-Ur-Rahman KM, Alam M, and Marie George C. Risk Factors for Household Transmission of *Vibrio cholerae* in Dhaka, Bangladesh (CHoBI7 Trial). *Am J Trop Med Hyg*. 2017 ; 96(6) : 1382-1387.
9. Mamady K, Mafoule S. Cholera in Guinea: the implication for safe water sources and sanitations. *Open J Prev Med*. 2014;4: 535-544.
10. Holmberg SD, Harris JR, Kay DE, Hargrett NT, Parker RD, Kansou N, et al. Foodborne transmission of cholera in Micronesian households. *Lancet*. 1984;1: 325-328.
11. Taylor DL, Kahawita TM, Cairncross S, Ensink JH. The impact of water,

- sanitation and hygiene interventions to control cholera: a systematic review. *PLoS One*. 2015;10: e0135676.
12. Richterman A, Sainvilien DR, Eberly L, Ivers LC. Individual and household risk factors for symptomatic cholera infection: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2018;218: S154-S164.
 13. Islam MS, Zaman MH, Islam MS, Ahmed N, Clemens JD. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. *Vaccine*. 2020;38: A52-A62.
 14. Lutz C, Erken M, Noorian P, Sun S, McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol*. 2013;4: 375.
 15. Alam MT, Weppelmann TA, Weber CD, Johnson JA, Rashid MH, Birch CS, et al. Monitoring water sources for environmental reservoirs of toxigenic *Vibrio cholerae* O1, Haiti. *Emerg Infect Dis*. 2014;20: 356-363.
 16. Bwire G, Debes AK, Orach CG, Kagirita A, Ram M, Komakech H, et al. Environmental surveillance of *vibrio cholerae* O1/O139 in the five african great lakes and other major surface water sources in Uganda. *Front Microbiol*. 2018;9: 1560.
 17. Batumbo DB, Giraudoux P, Deniel C, Garnier E, Mauny F, Kasereka CM, et al. Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14: e0008406.
 18. Sinclair GS, Mphahlele M, Duvenhage H, Nichol R, Whitehorn A, Küstner HG. Determination of the mode of transmission of cholera in Lebowa. An epidemiological investigation. *S Afr Med J*. 1982;62: 753-755.
 19. Acosta CJ, Galindo CM, Kimario J, Senkoro K, Urassa H, Casals C, et al. Cholera outbreak in southern Tanzania: risk factors and patterns of transmission. *Emerg Infect Dis*. 2001;7: 583-587.
 20. Hughes JM, Boyce JM, Levine RJ, Khan M, Aziz KM, Huq MI, et al. Epidemiology of eltor cholera in rural Bangladesh: importance of surface water in transmission. *Bull World Health Organ*. 1982;60: 395-404.
 21. Swerdlow DL, Malenga G, Begkoyian G, Nyangulu D, Toole M, Waldman RJ, et al. Epidemic cholera among refugees in Malawi, Africa: treatment and

- transmission. *Epidemiol Infect.* 1997;118: 207-214.
22. Guthmann JP. Epidemic cholera in Latin America: spread and routes of transmission. *J Trop Med Hyg.* 1995;98: 419-427.
23. Harris JB, LaRocque RC, Chowdhury F, Khan AI, Logvinenko T, Faruque AS, et al. Susceptibility to *Vibrio cholerae* infection in a cohort of household contacts of patients with cholera in Bangladesh. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2: e221.
24. Pandit C, Hora S. The probable role of the hilsa fish, hilsa ilisha (Ham) in maintaining cholera endemicity in India. *Indian J Med Sci.* 1951;5: 343-356.
25. McIntyre RC, Tira T, Flood T, Blake PA. Modes of transmission of cholera in a newly infected population on an atoll: implications for control measures. *Lancet.* 1979;1: 311-314.
26. Maggi P, Carbonara S, Fico C, Santantonio T, Romanelli C, Sforza E, et al. Epidemiological, clinical and therapeutic evaluation of the Italian cholera epidemic in 1994. *Eur J Epidemiol.* 1997;13: 95-97.
27. Forssman B, Mannes T, Musto J, Gottlieb T, Robertson G, Natoli JD, et al. *Vibrio cholerae* O1 El Tor cluster in Sydney linked to imported whitebait. *Med J Aust.* 2007;187: 345-347.
28. Carvajal GH, Sanchez J, Ayala ME, Hase A. Differences among marine and hospital strains of *Vibrio cholerae* during Peruvian epidemic. *J Gen Appl Microbiol.* 1998;44: 27-33.
29. Quilici M-L. Le diagnostic bactériologique du choléra. *Rev Francoph Lab.* 2011;2011: 51-65.
30. Thang ND, Erhart A, Speybroeck N, Hung LX, Thuan LK, Hung CT, et al. Malaria in central Vietnam: analysis of risk factors by multivariate analysis and classification tree models. *Malar J.* 2008;7: 28.
31. Plan stratégique multisectoriel d'élimination du cholera en République Démocratique du Congo 2018-2022. Ministère du Plan de la RDC; 2018.
32. Muyembe JJ, Bompangue D, Mutombo G, Akilimali L, Mutombo A, Miwanda B, et al. Elimination of cholera in the democratic Republic of the Congo: the new national policy. *J Infect Dis.* 2013;208 Suppl 1: S86-S91.

33. Mandja BM, Brembilla A, Handschumacher P, Bompangue D, Gonzalez JP, Muyembe JJ and Mauny F. Temporal and Spatial Dynamics of Monkeypox in Democratic Republic of Congo, 2000-2015. *EcoHealth*. August 2019.
34. WHO. Guidelines for cholera control. Geneva: WHO; 1996.
35. Heinze G, Puhr R. Bias-reduced and separation-proof conditional logistic regression with small or sparse data sets. *Stat Med*. 2010;29: 770-777.
36. Rakotomalala R. Pratique de la Régression Linéaire Multiple Diagnostic et sélection de variables. Support de cours.
http://eric.univ-lyon2.fr/~ricco/cours/cours/La_regression_dans_la_pratique.pdf
37. Cardoen S, Van Huffel X, Berkvens D, Quoilin S, Ducoffre G, Saegerman C, et al. Evidence-based semiquantitative methodology for prioritization of foodborne zoonoses. *Foodborne Pathog Dis*. 2009;6: 1083-1096.
38. Krzywinski M, Altman N. Classification and regression trees. *Nat Methods*. 2017;14: 757-758.
39. Speybroeck N, Berkvens D, Mfoukou-Ntsakala A, Aerts M, Hens N, Van Huylenbroeck G, et al. Classification trees versus multinomial models in the analysis of urban farming systems in Central Africa. *Agric Syst*. 2004;80: 133-149.
40. Gaudart J, Poudiougou B, Ranque S, Doumbo O. Oblique decision trees for spatial pattern detection: optimal algorithm and application to malaria risk. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5: 22.
41. Kitsantas P, Hollander M, Li L. Using classification trees to assess low birth weight outcomes. *Artif Intell Med*. 2006;38: 275-289.
42. Grant S. Exploring the influence of seasonal hazards on cholera transmission routes in the light of climate change and the climate change narrative in Bangladesh. Copenhagen, Denmark: University of Copenhagen; 2019.
43. Kaponda P, Muthukrishnan S, Barber R, Holm RH. Drinking water quality and human dimensions of cholera patients to inform evidence-based prevention investment in Karonga District, Malawi. *Water Supply*. 2019;19: 2079-2087.

44. Mintz E, Popovic T, Blake P. Transmission of *V. cholerae* O1. In: Wachsmuth IK, Blake P, Olsvik O, editors. *Vibrio cholerae and cholera: molecular to global perspectives*. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1994. p. 345-356.
45. Deen JL, von Seidlein L, Sur D, Agtini M, Lucas ME, Lopez AL, et al. The high burden of cholera in children: comparison of incidence from endemic areas in Asia and Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2: e173.
46. Bompangue D, Giraudoux P, Handschumacher P, Piarroux M, Sudre B, Ekwanzala M, et al. Lakes as source of cholera outbreaks, Democratic Republic of Congo. *Emerg Infect Dis*. 2008;14: 798-800.
47. Birmingham ME, Lee LA, Ndayimirije N, Nkurikiye S, Hersh BS, Wells JG, et al. Epidemic cholera in Burundi: patterns of transmission in the Great Rift Valley Lake region. *Lancet*. 1997;349: 981-985.
48. Ministère du Plan et Suivi de la Mise en œuvre de la Révolution de la Modernité. Deuxième enquête démographique et de santé (EDS-RDC II 2013-2014). Maryland, U.S.A.: Measure DHS, ICF International Rockville.
49. Hounmanou YMG, Mdegela RH, Dougnon TV, Madsen H, Withey JH, Olsen JE, et al. Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a putative reservoir host for survival and transmission of *Vibrio cholerae* O1 Biotype El Tor in the aquatic environment. *Front Microbiol*. 2019;10: 1215.
50. Lipp EK, Huq A, Colwell RR. Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15: 757-770.
51. Halpern M, Izhaki I. Fish as hosts of *vibrio cholerae*. *Front Microbiol*. 2017;8: 282.
52. Hossain ZZ, Farhana I, Tulsiani SM, Begum A, Jensen PKM. Transmission and toxigenic potential of *vibrio cholerae* in Hilsha Fish (*Tenualosa ilisha*) for human consumption in Bangladesh. *Front Microbiol*. 2018;9: 222.
53. Islam MS, Drasar BS, Sack RB. The aquatic flora and fauna as reservoirs of *Vibrio cholerae*: a review. *J Diarrhoeal Dis Res*. 1994;12: 87-96.
54. Miller CJ, Feachem RG, Drasar BS. Cholera epidemiology in developed and

- developing countries: new thoughts on transmission, seasonality, and control. *Lancet*. 1985;1: 261-262.
55. Scheelbeek P, Treglown S, Reid T, Maes P. Household fish preparation hygiene and cholera transmission in Monrovia, Liberia. *J Infect Dev Ctries*. 2009;3: 727-731.
56. Bompangue D. Dynamique des épidémies de choléra dans la région des grands Lacs Africains. Thèse de doctorat. France: Université Franche Comte; 2009.
57. Mahale D, Khade R, Vaidya V. Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India. *Internet J Food Saf*. 2008;10: 31-34.
58. Gidado S, Awosanya E, Haladu S, Ayanleke HB, Idris S, Mamuda I, et al. Cholera outbreak in a naïve rural community in Northern Nigeria: the importance of hand washing with soap, September 2010. *Pan Afr Med J*. 2018;30: 5.
59. Hutin Y, Luby S, Paquet C. A large cholera outbreak in Kano City, Nigeria: the importance of hand washing with soap and the danger of street-vended water. *J Water Health*. 2003;1: 45-52.
60. Leckebusch GC, Abdussalam AF. Climate and socioeconomic influences on interannual variability of cholera in Nigeria. *Health Place*. 2015;34: 107-117.

Supporting Information Legends

Excel Table Data

Epidemiological survey data on cholera cases and their controls conducted in the city of Bukavu in 2018: Status of the respondent, Health Zone residence, Gender, Marital status, Study, Occupation of respondent, Socio-economic level, Contact with cholera patient, Main drinking water source, Regular consumption of water sold in bags on streets, Washing hands with soap before eating, Regular consumption of food sold on the streets, Washing hands with soap after using the toilet, Antecedent cholera, Number of days fish consumed/week and Age of the respondent.

CHAPITRE 6

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Chapitre 6. Discussion Générale et Perspectives

1. Principaux résultats apportés par cette étude

En réalisant une étude de la dynamique du choléra à l'échelle du continent, j'ai pu démontrer qu'après une période de 50 années pendant laquelle on observe une forte variabilité spatio-temporelle des cas, les foyers se concentrent à partir des années 1994 au niveau des pays de la vallée du Rift Africain (RDC, Kenya, Malawi, Tanzanie, Zambie, Burundi, Ouganda et Mozambique), et autour du bassin du lac Tchad (Niger, Tchad et Cameroun), et aussi dans les pays côtiers (Mauritanie, Gambie, Angola, Ghana, Sénégal et Somalie) (Batumbo et al, en préparation).

Dans un deuxième temps, j'ai pu démontrer que l'incidence du choléra en zone continentale était principalement corrélée en premier lieu à la présence de masses d'eau saumâtres, et dans une moindre mesure à un indice de développement bas, à l'instabilité du pays due aux conflits ou aux guerres à répétition (Batumbo et al., in prep).

Dans un troisième temps, j'ai pu démontrer dans la zone de santé de Katana, située au bord du lac Kivu, dans le Rift, en RDC, que 1) la salinité et la température du lac Kivu sont régies par l'activité volcanique (Batumbo et al., 2020), 2) que ces paramètres sont fortement corrélés à la présence du bacille dans l'eau et dans les poissons du lac, et 3) que ces paramètres sont très corrélés avec la dynamique des cas de choléra dans la zone de santé. J'ai également pu démontrer que l'augmentation de l'activité volcanique entraînait une augmentation des cas de choléra avec un délai temporel de 7 jours, et que le pic de cette influence est observé après 3 semaines (Batumbo et al., 2020).

Dans un quatrième temps, à l'échelle individuelle, j'ai pu démontrer que les facteurs de risque individuels au choléra sont liés majoritairement à la qualité de l'eau de boisson, la manipulation et à la consommation des produits du lac (plus particulièrement les poissons), les personnes cumulant plusieurs facteurs de risque étant les plus exposés à la contamination (Batumbo et al, soumis).

J'ai pu mettre en évidence que les cas de choléra sont plus nombreux dans les pays de la région de la vallée du Rift Africain, les espaces côtiers et autour du lac Tchad. Ce résultat corrobore ceux trouvés dans plusieurs études antérieures (Griffith et al., 2006; Hounmanou et al., 2019; Zerbo et al., 2020). Cette situation pourrait-être expliquée par les caractéristiques physico-chimiques (salinité et température) des espaces géographiques de ces deux régions du continent Africain. En effet, plusieurs auteurs ont montré que la composition physico-chimique de ces masses d'eau était très similaire à celles du Bengale. Cette région du continent asiatique, plus particulièrement le delta du Gange, est considérée comme le "sanctuaire du choléra", avec des épidémies récurrentes du choléra. Cette situation est liée à l'habitat estuarien faisant de cet environnement une niche optimale pour la survie du *V. cholerae* (Mandal, 2011). Le Bengale, plus vaste région deltaïque au monde, est le point de rencontre entre les eaux douces fluviales (le Gange, le Brahmapoutre et la Meghna) provenant de l'amont et l'eau saline remontant de l'océan Indien (Sherin et al., 2020). Les eaux y sont généralement alcalines, chaudes et salées (Chowdhury & Zafar, 2018). Toutes ces conditions permettent au bacille cholérique de persister dans l'environnement aquatique, favorisant l'endémicité du choléra dans cette région de l'Asie. Les études menées ailleurs (par exemple, en Asie et en Amérique du Sud) montrent que les eaux saumâtres, estuariennes et côtières favorisent la persistance et la prolifération de *V. cholerae* (Gwenzi & Sanganyado, 2019). En outre, certains auteurs ont démontré le rôle prépondérant de la salinité et la température du milieu aquatique dans l'entretien de la niche du bacille cholérique (Huq et al., 1984; Takemura et al., 2014; Gwenzi & Sanganyado, 2019). Zerbo et collaborateurs ont démontré que la salinité des eaux est un facteur clé de l'occurrence du *Vibrio cholerae*. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré une association positive entre la température et l'incidence du choléra (Wu et al., 2018). Ainsi, l'augmentation de la température minimale de 1°C est associée à une augmentation de 6 % de l'incidence du choléra à Matlab, au Bangladesh (Ali et al., 2013).

Le rôle essentiel de la salinité et de la température dans la niche du bacille cholérique a été également confirmé par notre étude scientifique réalisée dans la zone de santé du Katana (localisée dans le Rift et bordant le lac Kivu). Les travaux menés ont mis en évidence des corrélations fortes entre la température de l'eau et la salinité du lac Kivu avec d'une part

l'occurrence du bacille cholérique dans l'eau et les poissons d'autre part, l'incidence des cas de choléra au sein de la population (Batumbo et al., 2020).

Cette recherche a pu aussi montrer que la salinité et la température observée dans ce lac sont très corrélées à l'activité volcanique du Nyiragongo, qui régit la physico-chimie du lac Kivu, au travers en particulier de nombreuses sources géothermales (Schmid et al., 2004; Kling, 2006). Ainsi, il est probable que les conditions physico-chimiques favorables au bacille dans le lac soient directement liées à l'activité volcanique.

Cette étude est la première à formuler l'hypothèse selon laquelle les systèmes volcano-tectoniques, en contrôlant largement le fonctionnement hydrothermal des milieux aquatiques, peuvent induire des conditions physico-chimiques favorables au bacille en eau douce, et régir les épidémies de choléra.

Mes travaux suggèrent que le cas du Rift n'est pas un cas isolé en Afrique, et que le bassin du lac Tchad pourrait répondre aux mêmes critères fonctionnels, et induire les mêmes effets écologiques sur *Vibrio cholerae*. En effet, le lac Tchad est situé dans la ligne volcanique du Cameroun (Vicat et al., 2002; Chang & Song, 2016). Ainsi donc, les volcans par leur fonctionnement (roches alcalines, riches en sels minéraux et réchauffement local des masses d'eau environnantes) créeraient des conditions de survie de l'agent pathogène du choléra en eau douce.

Moins inattendu, ce travail a également montré que les zones côtières sont également des zones à risque de survenue de choléra en Afrique (Mauritanie, Gambie, Angola, Ghana, Sénégal et Somalie). En effet, diverses zones urbaines côtières africaines, en particulier dans les lagunes estuariennes et les ports comme Luanda (Angola), Cape Coast et Accra au Ghana ont été identifiées comme zones à risque (Zerbo et al., 2020). Le surpeuplement de ces espaces côtiers associé à de mauvaises installations sanitaires et un accès limité à l'eau potable (Rebaudet et al., 2013), aggrave potentiellement la situation sanitaire vis-à-vis du choléra (risque de transmission élevé). Ce risque de propagation du choléra dans les zones côtières pourrait aussi être en lien direct avec la surexploitation de l'eau douce en zone côtière, qui favorise les incursions d'eau de mer et leur salinisation (Rahman et al., 2019), ce qui pourrait

favoriser la contamination des cours d'eau et des eaux souterraines par le choléra (Tamrakar et al, 2009 ; Djaouda et al, 2020), et augmenter sa survie, ou affecter directement la sensibilité des populations au bacille, par la consommation d'eau plus salée (Chakraborty et al., 2019). Les puits non gérés et les forages peu profonds, sensibles à la contamination fécale, pourraient également constituer des facteurs de risque importants dans certaines régions (Schneider et al, 2015).

J'ai également démontré que les facteurs socio-économiques sont susceptibles d'aggraver les épidémies de choléra. En explorant les caractéristiques des pays, mon travail a montré que le faible niveau socio-économique des pays et l'instabilité liée aux conflits et les guerres agissent positivement sur le taux de contamination des populations. Pendant une épidémie en Amérique latine, les cas de choléra étaient fortement corrélés aux faibles scores obtenus pour plusieurs indices de développement socio-économique, ce qui reflète probablement le degré d'exposition de la population à l'eau et aux aliments contaminés (Ackers et al., 1998; Root et al., 2013; Bwire et al., 2017).

D'Après l'OMS, la majorité des pays pauvres ou en voie développement sont caractérisés par une faible proportion de la population desservie en eau potable et sont caractérisés par de sérieux problèmes d'assainissement (OMS, 2019). La transmission du choléra est fortement corrélée à la déficience de ces structures de base dans les sociétés et cette situation se pose avec beaucoup d'acuité dans les endroits à risque, comme les bidonvilles périurbains qui ne bénéficient ni d'adduction d'eau potable, ni de système d'évacuation des déchets (Penrose et al., 2010; Rebaudet et al., 2013). Dans ce contexte, une grande majorité de la population recourt à des systèmes précaires (camions citernes, puits, sources non aménagées, rivières, lacs etc.) pour satisfaire leur alimentation en eau, et à des dispositifs d'évacuation des déchets improvisés (Sy et al., 2017). Le contrôle de la qualité de l'eau a un impact direct sur la santé car il permet de rompre le cycle de transmission du choléra, comme de nombreuses maladies gastro-intestinales et autres liées à la consommation d'eau et d'aliments contaminés (Sy et al., 2017). Ainsi, plus le niveau socio-économique du pays est élevé, plus la source d'approvisionnement en eau de la population est contrôlée, plus les ménages bénéficient

d'une bonne séparation entre les systèmes d'adduction d'eau et les égouts, plus la prévalence diarrhéique régresse de manière significative (Sy et al., 2017).

J'ai pu confirmer que les pays déstabilisés fréquemment par la guerre et les conflits armés sont plus exposés au risque épidémique. Depuis 1980, près de la moitié de pays d'Afrique subsaharienne sont en guerre. Les migrations qui en résultent perturbent l'accès à l'eau potable, l'élimination des déchets et les soins de santé. D'importantes populations déplacées à l'intérieur du pays et réfugiées en Afrique ont souffert d'épidémies de choléra. A titre d'exemple, la grande épidémie de Goma en 1994, qui s'est déroulée dans un contexte d'exode important des populations fuyant le génocide rwandais, a entraîné, selon les estimations, 58 000 à 80 000 cas de choléra en l'espace d'un mois, et un taux de létalité d'au moins 6 % (Bompangue, 2009). Dans ce contexte, le réservoir environnemental de *Vibrio* constitué par le lac Kivu a agi comme une allumette dans une botte de paille, les populations déplacées utilisant l'eau du lac tombant malades, et entretenant ainsi la contamination des eaux de surface du fait de conditions sanitaires extrêmement précaires. Cette épidémie, probablement initiée par un pic d'activité volcano-tectonique, a ainsi pu perdurer au-delà de ce pic.

Cette situation de conflits et de guerres récurrents est rencontrée dans certains pays de la vallée du Rift (comme la RDC), qui connaissent à répétition les crises humanitaires les rendant vulnérables au choléra (Bompangue, 2009). Les situations d'urgence peuvent favoriser la diffusion du choléra, du fait de la migration de porteurs de germes depuis des foyers endémiques d'origine, vers de nouvelles zones. Notre travail suggère que l'installation durable du bacille dans ces nouvelles zones et les épidémies qui en découlent sont liées à l'existence de niches environnementales pour le bacille. Un corolaire important de mon travail serait donc de démontrer que la situation endémique de choléra n'a lieu que dans les endroits où existe un réservoir environnemental. A titre d'illustration, les provinces du Nord et du Sud Kivu, situées à l'Est de la RDC au bord du lac Kivu, théâtre de nombreux événements dramatiques, dont principalement les conflits et les guerres civiles, sont parmi celles les plus touchées par le choléra (Bompangue, 2009). L'existence de la niche environnementale

constituée par le lac Kivu, associée à la situation instable depuis le début des années 90 font de cet espace géographique d'Afrique l'un des plus actifs foyers du choléra au monde (Bompangue, 2009).

La contamination individuelle au choléra est liée à des pratiques qui conduisent les individus à ingérer une quantité importante d'inoculum du bacille cholérique. Sans surprise, j'ai montré dans ce travail qu'à l'échelle individuelle, la consommation d'eau ou d'aliments vendus dans la rue était associée au risque cholérique. En effet, la littérature rapporte que la nourriture et l'eau de boisson vendue en sachets dans les rues abritent généralement une grande variété d'agents pathogènes entériques, notamment *Escherichia coli*, *Listeria*, *Salmonella* et *V. cholerae* (Von Nguyen et al., 2014). Plusieurs études ont souligné le lien entre les épidémies de choléra et le fait d'habiter sur les bords d'un lac ou d'une rivière, d'en boire l'eau et d'y laver ses affaires. Une de ces études a été menée à Rumonge, au Burundi, au bord du lac Tanganyika, non loin de la ville congolaise d'Uvira (Birmingham et al., 1997; Shapiro et al., 1999).

La mise en place de protocoles pour empêcher l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés est essentielle pour réduire la transmission du choléra. Dans cette région d'Afrique, récemment atteinte par *Vibrio*, la population n'est pas historiquement adaptée au risque cholérique, et n'a pas mis en place des pratiques destinées à se protéger de la contamination. Apporter à la population les informations sur la localisation du bacille (eau de surface, poissons) et sur les moyens de l'éliminer (cuisson intense des aliments, non consommation de l'eau du lac sans ébullition, en particulier pendant les périodes d'activité volcanique intense, pourrait permettre à la population, qui a déjà une analyse fine de l'écologie du lac, de se préserver du risque épidémique. Cette modification des pratiques n'est pas triviale, car les modes de préparation du poisson, par exemple, peuvent s'inscrire dans des pratiques culinaires anciennes, auxquelles les populations sont profondément attachées. Les sources d'eau et l'assainissement doivent être améliorés, la surveillance et les installations de soins de santé doivent être développées et des vaccins appropriés sont nécessaires pour résoudre le problème du choléra en tant que préoccupation majeure de santé publique dans les communautés. Mais le plus important serait d'informer la population sur la localisation du

risque (le lac ou les points d'eau alimentés par des sources géothermales, et les produits de la pêche), les périodes à risque (augmentation de l'activité volcanique, qui s'accompagne de l'augmentation de la température du lac et de blooms algaux) et les voies de transmission du choléra.

Dans ce contexte, le contact avec un malade du choléra est un facteur de risque secondaire de contamination. Le contact avec les patients souffrants du choléra constitue une voie de contamination non négligeable au choléra (Schneider et al, 2015). En effet, le sujet malade excrète des bacilles, exposant ainsi les proches qui le soignent. Cette voie de contamination est plus fréquente entre les membres de familles. Pendant les visites familiales au sujet malade, les actes sont exécutés par le visiteur dans le but de montrer son attachement à la personne malade, il s'agit notamment de le saluer en lui serrant la main, de se jeter sur lui en pleurant et de s'asseoir sur la natte auprès de lui. Le personnel de santé peut sensibiliser la famille et l'entourage du patient afin de limiter les contacts avec les patients hospitalisés de choléra pour éviter les risques de transmission.

2. Limites de l'étude

Ce travail apporte une contribution nouvelle et porteuse d'enjeux dans la compréhension de la dynamique et la persistance du choléra en Afrique en général et la vallée du Rift en particulier, mais il y a lieu de relever certaines limites.

- A l'échelle de l'Afrique, les informations sur la physico-chimie des masses d'eaux sont essentiellement bibliographiques, et ne sont pas forcément exhaustives. On ne peut pas exclure que l'absence de données dans certains secteurs ait pu modifier les liens corrélatifs observés. Il sera donc important de renforcer ce travail avec des données complémentaires si possible à des échelles géographiques plus fines, en particulier dans les pays à risque, afin d'identifier avec une bonne précision les réservoirs environnementaux potentiels du bacille. Dans les pays non touchés, on ne peut pas exclure l'existence de réservoirs potentiels, non exprimés car le bacille n'y aurait

jamais été introduit. Cette situation peut paraître peu probable, cependant, c'est ce qui s'est déroulé dans la vallée du rift en 1970, et en Haïti en 2010.

- La question de l'existence d'autres niches favorables à *Vibrio* dans la chaîne du rift n'est pas élucidée. Ainsi, la manière dont les eaux contaminées diffusent de l'amont vers l'aval vers le sud détermine la vitesse de propagation du bacille et le timing de la flambée épidémique vers le sud. L'énigme de la beaucoup plus faible incidence de choléra sur la rive est du lac Tanganyika pourrait ainsi être expliquée par des facteurs hydrologiques (qualité et débit des cours d'eau et turnover des masses d'eau) et hydrogéologiques (origine et circulation des eaux souterraines, configuration des bassins versants). De même, nous ne savons pas comment le bacille se distribue vers le nord, en l'absence de connexions hydrologiques superficielles, et dans quelle mesure les lacs Albert, George et Edward sont potentiellement des habitats favorables à *Vibrio* (Bwire et al., 2017). On peut ainsi regretter que la recherche de *Vibrio* dans les eaux de surface ne s'accompagne jamais ou presque d'une recherche des facteurs favorables à la survie du bacille, facteurs pourtant beaucoup plus faciles à documenter. En effet, la mauvaise hygiène de vie des populations est systématiquement évoquée, sans que ne soit envisagée une causalité environnementale de la persistance de *Vibrio* dans les eaux de surface (Monje et al., 2020).
- Notre budget contraint n'a pas permis la réalisation des analyses génotypiques sur les souches de *Vibrio cholerae* isolées dans le lac et la détermination des gènes de toxicité du vibron. Toutefois, les études antérieures ont démontré que les sérogroupes du *Vibrio cholerae* O1 toxinogènes sont abondants dans cette zone sanctuaire de Katana.

3. Perspectives

Plusieurs pays d'Afrique possèdent les espaces à risque pouvant servir de niches à *Vibrio cholerae*. Le présent travail a démarré une cartographie en fonction de la salinité des masses d'eaux recensées par la revue de la littérature. Pour anticiper les émergences du choléra, une meilleure connaissance de la physico-chimie des masses d'eaux est indispensable. Ces enquêtes permettront l'identification de ces espaces potentiellement à risque au niveau de

chaque pays à des échelles plus fines. Ces espaces pourront constituer des sites de surveillance renforcée du choléra pour chaque pays. Ces études pourraient être associées à des études phylogéniques des souches de *Vibrio cholerae* dans l'environnement aquatique ainsi que chez les humains et les produits aquatiques (poissons, crevettes et mollusques essentiellement).

Dans les secteurs du Rift et du bassin du lac Tchad, une analyse plus fine du contrôle physico-chimique des eaux de surface par l'activité volcano-tectonique s'impose. *Ad minima* une analyse systématique de la température et de la salinité des principales masses d'eau, permettrait de bâtir des programmes de prévention adaptés aux risques écologiques. L'existence de capteurs légers et peu coûteux de la température et de la conductivité rend cette analyse de plus en plus réaliste, malgré la dimension gigantesque de la tâche et la situation humaine parfois très compliquée sur le terrain.

Nous avons observé qu'au niveau des pays des grands lacs de la vallée du Rift Africain, les pays de la rive lacustre ouest étaient plus touchés par les épidémies de choléra que ceux de la rive est. Il est important d'élucider les mécanismes qui sous-tendent les hétérogénéités de nombre de cas de choléra constatés entre les deux rives au niveau de la région des grands lacs Africains. Une analyse hydrologique du réseau hydrographique du rift (vitesse du courant, débit, alimentation phréatique, turnover et origine des eaux de surface), intégrant les contrôles volcano-tectoniques, permettrait d'affiner la cartographie physico-chimique de ce secteur, et d'identifier potentiellement d'éventuelles zones de risque différent, même au sein d'un même lac, comme cela est rencontré dans des écosystèmes analogues (Gikuma-Njuru et al., 2013). Ainsi, une étude portant sur le lac Albert montre une variabilité spatiale significative de la chimie de l'eau même à petite échelle, qui pourrait être imputée aux caractéristiques des cours d'eau nombreux alimentant le lac, et qui pourrait expliquer la distribution spatio-temporelle des cas de choléra (Mosley et al., 2013).

L'étude de la synchronicité du démarrage des épidémies (partant du signal volcanique) tout le long des berges lacustres du Rift serait un élément d'importance pour mieux identifier la vitesse de propagation du signal environnemental du nord au sud (lié à la salinisation des eaux) dans les écosystèmes aquatiques de la chaîne lacustre et dans les cours d'eau afférents.

Par ailleurs, il serait important d'initier une étude sur le lien choléra avec l'activité volcanique au niveau de la région contrôlée par la ligne volcanique du Cameroun. Ces résultats permettront de réaliser une comparaison avec ceux obtenus au niveau de la vallée du Rift en vue d'affiner la compréhension de ce déterminant sur l'incidence du choléra dans ces deux espaces à risque du choléra en Afrique (la vallée du Rift et l'espace autour du lac Tchad).

La question subsiste des refuges spatiaux du bacille entre deux périodes d'activité volcanique. Le bacille descend-il dans la colonne d'eau avec les particules organiques planctoniques ? se maintient-il à proximité des sources géothermales ? Survit-il dans un compartiment biologique (eg mollusques, poissons) à faible effectif ? Cette question est essentielle car l'identification de ces refuges spatiaux permettrait peut-être de mieux anticiper sa dynamique.

Les produits de la pêche et en particulier les poissons peuvent être un vecteur de contamination au choléra. La population s'expose probablement à ce risque, nouveau pour elle, à travers les modes de préparation de ces aliments. Il serait nécessaire de s'intéresser aux différents modes de préparation des produits du lac, afin de rechercher dans les aliments consommés la présence du bacille. Cette présence est avérée pour le poisson cru, mais qu'en est-il des poissons séchés ou fumés, ou des autres produits du lac, après préparation ? Si certaines habitudes culinaires augmentent le risque d'ingestion, quelle est la marge de manœuvre de la population pour modifier ses pratiques ? Avec quel pas de temps ? Par exemple, les poissons séchés sont un mode de conservation du poisson très pratique et incontournable. S'il s'avérait que le bacille pouvait survivre dans ces poissons, il apparaît difficile de protéger la population sans considérer des modes de consommation qui limitent l'exposition. La question survient alors de la perméabilité des sociétés à des modifications de mode de préparation des aliments qui sont potentiellement fortement ancrées dans les habitudes. L'intérêt d'aborder les clés des changements de pratiques face à un risque sanitaire est indéniable, et ouvrira potentiellement des pistes sociologiques de réflexion importantes.

4. Perspectives opérationnelles

Du point de vue opérationnel, les résultats de nos travaux imposent de porter une plus grande attention au fonctionnement hydrologique et hydrogéologique des écosystèmes aquatiques en zone tropicale et équatoriale et au rôle de l'environnement géologique (incluant le volcanisme) dans le contrôle des caractéristiques physico-chimiques des habitats d'eau douce. Pour la lutte contre le choléra, l'OMS a mis en place une feuille de route mondiale jusqu'en 2030. En mettant en œuvre cette stratégie d'ici 2030, les partenaires du Groupe de travail mondial sur la lutte contre le choléra (GTFCC) aideront les pays à réduire de 90 % les décès dus au choléra. Grâce à l'engagement des pays touchés par le choléra, des partenaires techniques et des donateurs, pas moins de 20 pays pourraient éliminer la transmission de la maladie d'ici 2030 (Legros, 2018). La stratégie invite également les pays et les partenaires à se concentrer sur les "points chauds" du choléra, c'est-à-dire les zones relativement petites les plus touchées par la maladie, et qui jouent un rôle important dans la propagation de la bactérie à d'autres zones ou régions.

Ces orientations imposent donc que l'OMS mette sur pied, au niveau de chaque pays endémique, de la recherche innovante multidisciplinaire pour identifier non seulement les points chauds de la maladie, mais aussi les facteurs qui sous-tendent sa persistance dans ces zones foyers. Mes résultats soulignent que les pays touchés doivent intégrer la surveillance environnementale dans les axes des programmes de lutte contre le choléra. Il serait en particulier indispensable, surtout pour les pays endémiques comme la RDC, d'installer des sites sentinelles de surveillance renforcée des facteurs de risque environnementaux dans les points chauds du choléra pour permettre une anticipation de la survenue des épidémies.

Le personnel soignant des pays endémiques au choléra en Afrique, plus particulièrement ceux du Rift et du bassin du lac Tchad, devrait être formé sur la connaissance des facteurs de risques environnementaux du choléra ainsi que sur la recherche opérationnelle intégrant ces données et celles issues de la surveillance épidémiologique classique.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Aaberg. (2013). *WARMING AND STRATIFICATION CHANGES IN LAKE KIVU, EAST AFRICA*. 1, 1–28.
- Abd, H., Saeed, A., Weintraub, A., Nair, G. B., & Sandström, G. (2007). *Vibrio cholerae* O1 strains are facultative intracellular bacteria, able to survive and multiply symbiotically inside the aquatic free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *FEMS Microbiology Ecology*, 60(1), 33–39. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00254.x>
- Abd, H., Weintraub, A., & Sandström, G. (2004). Interaction between *Vibrio cholerae* and *Acanthamoeba castellanii*. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 16(1), 51–57. <https://doi.org/10.1080/08910600410029190>
- Ackers, M. L., Quick, R. E., Drasbek, C. J., Hutwagner, L., & Tauxe, R. V. (1998). Are there national risk factors for epidemic cholera? The correlation between socioeconomic and demographic indices and cholera incidence in Latin America. *International Journal of Epidemiology*, 27(2), 330–334. <https://doi.org/10.1093/ije/27.2.330>
- Akselman, R., Jurquiza, V., Costagliola, M. C., Fraga, S. G., Pichel, M., Hozbor, C., Peressutti, S., & Binsztejn, N. (2010). *Vibrio cholerae* O1 found attached to the dinoflagellate *Noctiluca scintillans* in Argentine shelf waters. *Marine Biodiversity Records*, 3(June 2014). <https://doi.org/10.1017/s1755267210001077>
- Alam, M., Sultana, M., Balakrish Nair, G., Siddique, A. K., Hasan, N. A., Bradley Sack, R., Sack, D. A., Ahmed, K. U., Sadique, A., Watanabe, H., Grim, C. J., Huq, A., & Colwell, R. R. (2007). Viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in biofilms in the aquatic environment and their role in cholera transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(45), 17801–17806. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705599104>
- Alam, M., Sultana, M., Nair, G. B., Sack, R. B., Sack, D. A., Siddique, A. K., Ali, A., Huq, A., & Colwell, R. R. (2006). Toxigenic *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Mathbaria, Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4), 2849–2855. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2849-2855.2006>
- Albert, M. J. (1994). *Vibrio cholerae* O139 Bengal. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(10), 2345–2349. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.10.2345-2349.1994>
- Ali, M., Kim, D. R., Yunus, M., & Emch, M. (2013). Time series analysis of cholera in Matlab, Bangladesh, during 1988–2001. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 31(1), 11–19. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v31i1.14744>
- Ali, M., Nelson, A. R., Lopez, A. L., & Sack, D. A. (2015). Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003832>
- Almagro-Moreno, S., Pruss, K., & Taylor, R. K. (2015). Intestinal Colonization Dynamics of *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathogens*, 11(5), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004787>

- Amara, N. (2018). *Assessment of the situation of women. March.*
- Arakawa, O., Hwang, D.-F., Taniyama, S., & Takayani, T. (2010). Toxins of Pufferfish That Cause Human Intoxications. *Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea, January*, 227–244. <http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/23514>
- Bag, P. K., Bhowmik, P., Hajra, T. K., Ramamurthy, T., Sarkar, P., Majumder, M., Chowdhury, G., & Das, S. C. (2008). Putative virulence traits and pathogenicity of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 isolates from surface waters in Kolkata, India. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(18), 5635–5644. <https://doi.org/10.1128/AEM.00029-08>
- Barua, D. (1972). Cholera: The Global Epidemiology of Cholera in Recent Years. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 65(5), 423–428. <https://doi.org/10.1177/003591577206500501>
- Batumbo Boloweti, D., Giraudoux, P., Deniel, C., Garnier, E., Mauny, F., Kasereka, C. M., Kizungu, R., Muyembe, J. J., Bompangue, D., & Bornette, G. (2020). Volcanic activity controls cholera outbreaks in the East African Rift. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(8), e0008406. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406>
- Bhattacharya, D., Dey, S., Pazhani, G. P., Ramamurthy, T., Parande, M. V., Kholkute, S. D., & Roy, S. (2016). *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant and emergence of Haitian ctxB variant in the strains isolated from South India. *Medical Microbiology and Immunology*, 205(2), 195–200. <https://doi.org/10.1007/s00430-015-0433-y>
- Birmingham, M. E., Lee, L. A., Ndayimirije, N., Nkurikiye, S., Hersh, B. S., Wells, J. G., & Deming, M. S. (1997). Epidemic cholera in Burundi: Patterns of transmission in the Great Rift Valley Lake region. *Lancet*, 349(9057), 981–985. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)08478-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)08478-4)
- Bompangue, D. (2009). *Dynamique des épidémies de cholera dans la region des grands lacs africains : cas de la R epublique Democratique du Congo.* 1–264.
- Bourdelais, P., Raulot, J.-Y., & Demonet, M. (1978). La marche du choléra en France: 1832 et 1854. *Annales. Histoire, Sciences Sociales*, 33(1), 125–142. <https://doi.org/10.3406/ahess.1978.293912>
- Brown, M. R. W., & Barker, J. (1999). Unexplored reservoirs of pathogenic bacteria: Protozoa and biofilms. *Trends in Microbiology*, 7(1), 46–50. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01425-5](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01425-5)
- Brown, V., Jacquier, G., Bachy, C., Bitar, D., & Legros, D. (2003). Prise en charge des épidémies de cholera dans un camp de refugies. *Bulletin de La Societe de Pathologie Exotique*, 95(5), 351–354.
- Bueno, E., Pinedo, V., & Cava, F. (2020). Adaptation of *Vibrio cholerae* to Hypoxic Environments. *Frontiers in Microbiology*, 11(April), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00739>
- Bwire, G., Munier, A., Ouedraogo, I., Heyerdahl, L., Komakech, H., Kagirita, A., Wood, R., Mhlanga, R., Njanpop, B., Malimbo, M., Makumbi, I., Wandawa, J., Gessner, D., Orach, C. G., & Mengel, M. A. (2017). *Epidemiology of cholera outbreaks and socio- economic characteristics of the communities in the fishing villages of Uganda : 2011-2015.* 2011–2015.

- Calia, K. E., Waldor, M. K., & Calderwood, S. B. (1998). Use of representational difference analysis to identify genomic differences between pathogenic strains of *Vibrio cholerae*. *Infection and Immunity*, *66*(2), 849–852. <https://doi.org/10.1128/iai.66.2.849-852.1998>
- CDC. (2013). Laboratory identification of *Vibrio cholerae*. *Journal of Infectious Diseases*, *208*(November), 38–67. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-2-15.Voir>
- Chakraborty, R., Khan, K. M., Dibaba, D. T., Khan, M. A., Ahmed, A., & Islam, M. Z. (2019). Health implications of drinking water salinity in coastal areas of Bangladesh. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(19), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193746>
- Chang, C., & Song, I. (2016). Geochemistry, Geophysics, Geosystems. *Geochemistry Geophysics Geosystems*, *17*, 4641–4668. <https://doi.org/10.1002/2016GC006298>.Received
- Chiavelli, D. A., Marsh, J. W., & Taylor, R. K. (2001). The Mannose-Sensitive Hemagglutinin of *Vibrio cholerae* Promotes Adherence to Zooplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(7), 3220–3225. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3220-3225.2001>
- Chowdhury M, R. A., & Zafar, M. (2018). Physico–chemical parameters of water and sediment during spring period in parts off bay of Bengal, Bangladesh. *MOJ Ecology & Environmental Sciences*, *3*(3), 150–154. <https://doi.org/10.15406/mojes.2018.03.00080>
- Codeço, C. T. (2001). Endemic and epidemic dynamics of cholera: the role of the aquatic reservoir. *BMC Infectious Diseases*, *1*, 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-1-1>
- Collin, B., & Rehnstam-Holm, A. S. (2011). Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the South Coast of Sweden. *FEMS Microbiology Ecology*, *78*(2), 306–313. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01157.x>
- Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: The cholera paradigm. *Science*, *274*(5295), 2025–2031. <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2025>
- Colwell, R. R., Brayton, P. R., Grimes, D. J., Roszak, D. B., Huq, S. A., & Palmer, L. M. (1985). Viable but non-culturable vibrio cholerae and related pathogens in the environment: Implications for release of genetically engineered microorganisms. *Bio/Technology*, *3*(9), 817–820. <https://doi.org/10.1038/nbt0985-817>
- Colwell, Rita R. (2004). Infectious disease and environment: Cholera as a paradigm for waterborne disease. *International Microbiology*, *7*(4), 285–289. <https://doi.org/10.2436/im.v7i4.9485>
- Conner, J. G., Teschler, J. K., Jones, C. J., & Yildiz, F. H. (2016). Staying Alive: *Vibrio cholerae*'s Cycle of Environmental Survival, Transmission, and Dissemination. *Microbiology Spectrum*, *4*(2), 1–32. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0015-2015>
- Constantin de Magny, G., & Colwell, R. R. (2009). Cholera and climate: a demonstrated relationship. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, *120*, 119–128.
- Contre, A., Jessica, D., Veolia, F., Haaser, E., Le, F., Nicolas, G., & Farcha, L. (2011). *Version n ° 1 du*

21072011 Mode opératoire : Recherche de *Vibrio Cholerae* dans l' environnement hydrique. 1–28.

- Dalsgaard, A., Albert, M. J., Taylor, D. N., Shimada, T., Meza, R., Serichantalergs, O., & Echeverria, P. (1995). Characterization of *Vibrio cholerae* non-O1 serogroups obtained from an outbreak of diarrhea in Lima, Peru. *Journal of Clinical Microbiology*, *33*(10), 2715–2722. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.10.2715-2722.1995>
- Dalsgaard, A., Forslund, A., Sandvang, D., Arntzen, L., & Keddy, K. (2001). *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the *aadA2* gene located on class 1 integrons. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *48*(6), 827–838. <https://doi.org/10.1093/jac/48.6.827>
- Dalusi, L., Lyimo, T. J., Lugomela, C., Hosea, K. M. M., & Sjöling, S. (2015). Toxigenic *Vibrio cholerae* identified in estuaries of Tanzania using PCR techniques. *FEMS Microbiology Letters*, *362*(5), 1–8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv009>
- Dan-Nwafor, C. C., Ogbonna, U., Onyiah, P., Gidado, S., Adebobola, B., Nguku, P., & Nsubuga, P. (2019). A cholera outbreak in a rural north central Nigerian community: An unmatched case-control study. *BMC Public Health*, *19*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-6299-3>
- De Magny, G. C., Hasan, N. A., & Roche, B. (2014). How community ecology can improve our understanding of cholera dynamics. *Frontiers in Microbiology*, *5*(APR), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00137>
- de Magny, G. C., Mozumder, P. K., Grim, C. J., Hasan, N. A., Naser, M. N., Alam, M., Sack, R. B., Huq, A., & Colwell, R. R. (2011). Role of zooplankton diversity in *Vibrio cholerae* population dynamics and in the incidence of cholera in the Bangladesh sundarbans. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(17), 6125–6132. <https://doi.org/10.1128/AEM.01472-10>
- Diop, B. M., Gueye, L., Kamara, M., Roche, B., & Murtugudde, R. (2012). *Cholera Outbreak in Senegal in 2005 : Was Climate a Factor ?* *7*(8), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044577>
- du Preez, M., van Der Merwe, M. R., Cumbana, A., & le Roux, W. (2010). A survey of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in estuarine. *Water SA*, *36*(5), 615–620. <https://doi.org/10.4314/wsa.v36i5.61995>
- Dutta, D., Chowdhury, G., Pazhani, G. P., Guin, S., Dutta, S., Ghosh, S., Rajendran, K., Nandy, R. K., Mukhopadhyay, A. K., Bhattacharya, M. K., Mitra, U., Takeda, Y., Balakrish Nair, G., & Ramamurthy, T. (2013). *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 serogroups and cholera-like Diarrhea, Kolkata, India. *Emerging Infectious Diseases*, *19*(3), 464–467. <https://doi.org/10.3201/eid1903.121156>
- et al Lon S. Schneider, M. D. (2015). New England Journal. *New England Journal of Medicine*, *2006*, 687–696.
- Faruque, S. M., Albert, M. J., & Mekalanos, J. J. (1998). Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *62*(4), 1301–1314. <https://doi.org/10.1128/mmb.62.4.1301-1314.1998>
- Faruque, S. M., & Mekalanos, J. J. (2003). Pathogenicity islands and phages in *Vibrio cholerae*

evolution. *Trends in Microbiology*, 11(11), 505–510. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2003.09.003>

- Faruque, S. M., Naser, I. Bin, Islam, M. J., Faruque, A. S. G., Ghosh, A. N., Nair, G. B., Sack, D. A., & Mekalanos, J. J. (2005). Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), 1702–1707. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408992102>
- Fernández-delgado, M., García-amado, M. A., & Contreras, M. (2015). *SURVIVAL , INDUCTION AND RESUSCITATION OF Vibrio cholerae FROM THE VIABLE BUT NON-CULTURABLE STATE IN THE SOUTHERN CARIBBEAN SEA*. 57(1), 21–26.
- Finkelstein, R. A. (1996). Cholera, *Vibrio cholerae* O1 and O139, and Other Pathogenic Vibrios. *Medical Microbiology*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413330>
- Gaffga, N. H., Tauxe, R. V., & Mintz, E. D. (2007). Cholera: A new homeland in Africa? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(4), 705–713. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.77.705>
- Ghouth, A. Bin. (2020). Descriptive and Clinical Epidemiology of Cholera in Al-Hudaydah, Yemen. *Journal of Health, Medicine and Nursing*, October. <https://doi.org/10.7176/jhmn/80-04>
- Gikuma-Njuru, P., Hecky, R. E., Guildford, S. J., & Macintyre, S. (2013). Spatial variability of nutrient concentrations, fluxes, and ecosystem metabolism in Nyanza Gulf and Rusinga Channel, Lake Uictoria (East Africa). *Limnology and Oceanography*, 58(3), 774–789. <https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.3.0774>
- Gildas Hounmanou, Y. M., Mdegela, R. H., Dougnon, T. V., Madsen, H., Withey, J. H., Olsen, J. E., & Dalsgaard, A. (2019). Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a Putative Reservoir Host for Survival and Transmission of *Vibrio cholerae* O1 Biotype El Tor in the Aquatic Environment. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01215>
- Guegan, J.-F. (2006). *Quantification des risques d'émergence d'épidémies à choléra dans le bassin méditerranéen en relation avec le changement climatique*. 79.
- Gwenzi, W., & Sanganyado, E. (2019). Recurrent Cholera Outbreaks in Sub-Saharan Africa: Moving beyond Epidemiology to Understand the Environmental Reservoirs and Drivers. *Challenges*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.3390/challe10010001>
- Halpern, M., & Izhaki, I. (2017). Fish as hosts of *Vibrio cholerae*. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00282>
- Halpern, M., Senderovich, Y., & Izhaki, I. (2008). Waterfowl - The missing link in epidemic and pandemic cholera dissemination? *PLoS Pathogens*, 4(10), 10–12. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000173>
- Hounmanou, Yaovi M.G., Mdegela, R. H., Dougnon, T. V., Mhongole, O. J., Mayila, E. S., Malakalinga, J., Makingi, G., & Dalsgaard, A. (2016). Toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in vegetables and fish raised in wastewater irrigated fields and stabilization ponds during a non-cholera outbreak period in Morogoro, Tanzania: An environmental health study. *BMC Research Notes*, 9(1), 1–8.

<https://doi.org/10.1186/s13104-016-2283-0>

- Hounmanou, Yaovi Mahuton Gildas, Leekitcharoenphon, P., Kudirkiene, E., Mdegela, R. H., Hendriksen, R. S., Olsen, J. E., & Dalsgaard, A. (2019). Genomic insights into *Vibrio cholerae* O1 responsible for cholera epidemics in Tanzania between 1993 and 2017. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *13*(12), 1–14. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0007934>
- Huerre, M., & Hofman, P. (2000). Les maladies infectieuses émergentes. *Annales de Pathologie*, *20*(4), 323–342. <https://doi.org/10.4267/10608/1752>
- Huq, A., Small, E. B., West, P. A., Huq, M. I., Rahman, R., & Colwell, R. R. (1983a). Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Applied and Environmental Microbiology*, *45*(1), 275–283. <https://doi.org/10.1128/aem.45.1.275-283.1983>
- Huq, A., Small, E. B., West, P. A., Huq, M. I., Rahman, R., & Colwell, R. R. (1983b). Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Applied and Environmental Microbiology*, *45*(1), 275–283. <https://doi.org/10.1128/aem.45.1.275-283.1983>
- Huq, A., West, P. A., Small, E. B., Huq, M. I., & Colwell, R. R. (1984). Influence of water temperature, salinity, and pH on survival and growth of toxigenic *Vibrio cholerae* serovar O1 associated with live copepods in laboratory microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, *48*(2), 420–424. <https://doi.org/10.1128/aem.48.2.420-424.1984>
- Huq, A., Xu, B., Chowdhury, M. A. R., Islam, M. S., Montilla, R., & Colwell, R. R. (1996). A simple filtration method to remove plankton-associated *Vibrio cholerae* in raw water supplies in developing countries. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*(7), 2508–2512. <https://doi.org/10.1128/aem.62.7.2508-2512.1996>
- Huq, Anwar, Sack, R. B., Nizam, A., Longini, I. M., Nair, G. B., Ali, A., Morris, J. G., Khan, M. N. H., Siddique, A. K., Yunus, M., Albert, M. J., Sack, D. A., & Colwell, R. R. (2005). *Critical Factors Influencing the Occurrence of*. *71*(8), 4645–4654. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4645>
- Islam, M. S., Rahim, Z., Alam, M. J., Begum, S., Moniruzzaman, S. M., Umeda, A., Amako, K., Albert, M. J., Sack, R. B., Huq, A., & Colwell, R. R. (1999). Association of *Vibrio cholerae* O1 with the cyanobacterium, *Anabaena* sp., elucidated by polymerase chain reaction and transmission electron microscopy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *93*(1), 36–40. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(99\)90171-2](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(99)90171-2)
- Islam, M. Sirajul, Zaman, M. H., Islam, M. S., Ahmed, N., & Clemens, J. D. (2019). Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. *Vaccine*, *38*, A52–A62. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.033>
- Islam, M. Sirajul, Zaman, M. H., Islam, M. S., Ahmed, N., & Clemens, J. D. (2020). Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. *Vaccine*, *38*, A52–A62. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.033>
- Ivers, L. C., & Walton, D. A. (2012). The “first” case of cholera in Haiti: Lessons for global health. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *86*(1), 36–38.

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0435>

- Jain, V., Dongre, M., & Raychaudhuri, S. (2006). Interaction of *Vibrio cholerae* O139 with an intestinal parasite, *Entamoeba histolytica* [3]. *Journal of Medical Microbiology*, 55(12), 1755–1756. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46812-0>
- Janny, T. (2004). *Epidémies de choléra en Afrique : Analyse d' une étiologie multifactorielle Remerciements*. 1–61.
- Jensen, M. A., Faruque, S. M., Mekalanos, J. J., & Levin, B. R. (2006). Modeling the role of bacteriophage in the control of cholera outbreaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(12), 4652–4657. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600166103>
- Jessica Dunoyer. (2013). *Lutter contre le choléra !*
- Johnson, C. N., Bowers, J. C., Griffitt, K. J., Molina, V., Clostio, R. W., Pei, S., Laws, E., Paranjpye, R. N., Strom, M. S., Chen, A., Hasan, N. A., Huq, A., Noriega, N. F., Grimes, D. J., & Colwell, R. R. (2012). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal and estuarine waters of Louisiana, Maryland, Mississippi, and Washington (United States). *Applied and Environmental Microbiology*, 78(20), 7249–7257. <https://doi.org/10.1128/AEM.01296-12>
- Jubair, M., Morris, J. G., & Ali, A. (2012). Survival of *Vibrio cholerae* in Nutrient-Poor Environments Is Associated with a Novel “Persister” Phenotype. *PLoS ONE*, 7(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045187>
- Jutla, A. S., Akanda, A. S., & Islam, S. (2013). A framework for predicting endemic cholera using satellite derived environmental determinants. *Environmental Modelling and Software*, 47, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2013.05.008>
- Kacou-N'douba, A., Anné, J. C. B., Okpo, L. S., Elogne-Kouamé, C., Koffi, S., Koffi, V., N'Guessan, K., Coulibaly, D., Dagnan, S. N. ch., Eholié, S. P., & Dosso, M. (2012). Antimicrobial resistance of *Vibrio cholerae* O1 isolated during a cholera epidemic in 2011 in dry season in Cote d'ivoire. *Journal of Infection in Developing Countries*, 6(7), 595–597. <https://doi.org/10.3855/jidc.2001>
- Katsev, S., Aaberg, A. A., Crowe, S. A., & Hecky, R. E. (2014). Recent warming of lake kivu. *PLoS ONE*, 9(10), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109084>
- Kemenkes. (2010). Peraturan Menteri Kesehatan Nomor: 1501/MENKES/PER/X/2010. In *Principles and Practice of Infectious Diseases* (Seventh Ed). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-06839-3.00214-9>
- Kevin Range, and D. M. Y. A. M. (2012). NIH Public Access. *Bone*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Kirchberger, P. C., Orata, F. D., Barlow, E. J., Kauffman, K. M., Case, R. J., Polz, M. F., & Boucher, Y. (2016). A small number of phylogenetically distinct clonal complexes dominate a coastal *Vibrio cholerae* population. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(18), 5576–5586. <https://doi.org/10.1128/AEM.01177-16>

- Kirs, M., DePaola, A., Fyfe, R., Jones, J. L., Krantz, J., Van Laanen, A., Cotton, D., & Castle, M. (2011). A survey of oysters (*Crassostrea gigas*) in New Zealand for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. *International Journal of Food Microbiology*, *147*(2), 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.012>
- Kling, G. (2006). *Lake Kivu Gas Extraction Report on Lake Stability Lake Kivu Gas Extraction Report on Lake Stability*. April.
- Koch, R. (1884). An address on cholera and its bacillus. *British Medical Journal*, *2*(1236), 453–459. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1236.453>
- Kopprio, G. A., Neogi, S. B., Rashid, H., Alonso, C., Yamasaki, S., Koch, B. P., Gärdes, A., & Lara, R. J. (2020). *Vibrio* and Bacterial Communities Across a Pollution Gradient in the Bay of Bengal: Unraveling Their Biogeochemical Drivers. *Frontiers in Microbiology*, *11*(April), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00594>
- Lama, J. R., Seas, C. R., León-Barúa, R., Gotuzzo, E., & Sack, R. B. (2004). Environmental temperature, cholera, and acute diarrhoea in adults in Lima, Peru. *Journal of Health, Population and Nutrition*, *22*(4), 399–403. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v22i4.289>
- Legros, D. (2018). Global cholera epidemiology: Opportunities to reduce the burden of cholera by 2030. *Journal of Infectious Diseases*, *218*(Suppl 3), S137–S140. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy486>
- Lessler, J., Moore, S. M., Luquero, F. J., McKay, H. S., Grais, R., Henkens, M., Mengel, M., Dunoyer, J., M'bangombe, M., Lee, E. C., Djingarey, M. H., Sudre, B., Bompangue, D., Fraser, R. S. M., Abubakar, A., Perea, W., Legros, D., & Azman, A. S. (2018). Mapping the burden of cholera in sub-Saharan Africa and implications for control: an analysis of data across geographical scales. *The Lancet*, *391*(10133), 1908–1915. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33050-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33050-7)
- Leung, D. T., Chowdhury, F., Calderwood, S. B., Qadri, F., & Ryan, E. T. (2012). Immune responses to cholera in children. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *10*(4), 435–444. <https://doi.org/10.1586/eri.12.23>
- Lipp, E. K. (2002). *Effects of Global Climate on Infectious Disease: the Cholera Model*. *15*(November 2002), 757–770. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.757>
- Lobitz, B., Beck, L., Huq, A., Wood, B., Fuchs, G., Faruque, A. S. G., & Colwell, R. (2000). Climate and infectious disease: Use of remote sensing for detection of *Vibrio cholerae* by indirect measurement. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(4), 1438–1443. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.4.1438>
- Lucie, C. (1988). La France et le choléra : Patrice Bourdelais, Jean- Yves Raulot, Une peur bleue. Histoire du choléra en France 1832-1854. *Revue d'histoire de La Pharmacie*, *76*, 101–103.
- Lutz, C., Erken, M., Noorian, P., Sun, S., & McDougald, D. (2013). Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Frontiers in Microbiology*, *4*(DEC), 1–15.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00375>

- Malengreau. (1979). *A propos de l'épidémie de choléra à l'Est du Zaïre*.
- Mandal, S. (2011). Cholera epidemic in and Around Kolkata, India: Endemicity and Management. *Oman Medical Journal*, 26(4), 288–289. <https://doi.org/10.5001/omj.2011.71>
- Martinez-Urtaza, J., Blanco-Abad, V., Rodriguez-Castro, A., Ansedo-Bermejo, J., Miranda, A., & Rodriguez-Alvarez, M. X. (2012). Ecological determinants of the occurrence and dynamics of *Vibrio parahaemolyticus* in offshore areas. *ISME Journal*, 6(5), 994–1006. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.156>
- Martínez Pérez, M. E., Macek, M., & Castro Galván, M. T. (2004). Do protozoa control the elimination of *Vibrio cholerae* in brackish water? *International Review of Hydrobiology*, 89(2), 215–227. <https://doi.org/10.1002/iroh.200310644>
- Maschinen, B., Investition, A., Beschaffungen, G., Ersatzbeschaffungen, B., & Mittelherkunft, S. (2009). *Le Rift est-Africain, une singularité plurielle*.
- Matz, C., McDougald, D., Moreno, A. M., Yung, P. Y., Yildiz, F. H., & Kjelleberg, S. (2005). Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(46), 16819–16824. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505350102>
- McDougald, D., Rice, S. A., Weichart, D., & Kjelleberg, S. (1998). Nonculturability: Adaptation or debilitation? *FEMS Microbiology Ecology*, 25(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(97\)00063-9](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(97)00063-9)
- Miller, C. J., Drasar, B. S., Feachem, R. G., & Hayes, R. J. (1986). The impact of physico-chemical stress on the toxigenicity of *Vibrio cholerae*. *Journal of Hygiene*, 96(1), 49–57. <https://doi.org/10.1017/S0022172400062525>
- Mintz, E. D., & Tauxe, R. V. (2013). Cholera in Africa: A closer look and a time for action. *Journal of Infectious Diseases*, 208(SUPPL. 1), 4–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit205>
- Mishra, A., Taneja, N., & Sharma, M. (2012). Viability kinetics, induction, resuscitation and quantitative real-time polymerase chain reaction analyses of viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in freshwater microcosm. *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 945–953. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05255.x>
- Monje, F., Ario, A. R., Musewa, A., Bainomugisha, K., Mirembe, B. B., Aliddeki, D. M., Eurien, D., Nsereko, G., Nanziri, C., Kisaakye, E., Ntono, V., Kwesiga, B., Kadobera, D., Bulage, L., Bwire, G., Tusiime, P., Harris, J., & Zhu, B. P. (2020). A prolonged cholera outbreak caused by drinking contaminated stream water, Kyangwali refugee settlement, Hoima District, Western Uganda: 2018. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00761-9>
- Morillon, M., & Garnotel, E. (2004). Choléra. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1(2), 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2004.03.002>

- Mosley, L., Barnett, L., Corkhill, E., Fradley, K., Lacopetta, J., Jolley, A. M., Mettam, P., Natt, A., Palmer, D., & Scott, P. (2013). Water quality in the Lower Lakes during a hydrological drought. In *Water Quality Monitoring Report, SA Environment Protection Authority*.
- Muvundja, F. A., Wüest, A., Isumbisho, M., Kaningini, M. B., Pasche, N., Rinta, P., & Schmid, M. (2014). Modelling lake kivu water level variations over the last seven decades. *Limnologia*, 47(May), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.02.003>
- Muyembe, J. J., Bompangue, D., Mutombo, G., Akilimali, L., Mutombo, A., Miwanda, B., Mpuruta, J. D. D., Deka, K. K., Bitakyerwa, F., Saidi, J. M., Mutadi, A. L., Kakongo, R. S., Birembano, F., Mengel, M., Gessner, B. D., & Ilunga, B. K. (2013). Elimination of cholera in the democratic republic of the congo: The new national policy. *Journal of Infectious Diseases*, 208(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1093/infdis/jit204>
- N. Lekshmi, Iype Joseph, T. R. & S. T. (2018). Changing facades of *Vibrio cholerae*: An enigma in the epidemiology of cholera. *Indian J Med Res*, pp 133-141. <https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR>
- Nalin, D. R., Daya, V., Reid, A., Levine, M. M., & Cisneros, L. (1979). Adsorption and growth of *Vibrio cholerae* on chitin. *Infection and Immunity*, 25(2), 768–770. <https://doi.org/10.1128/iai.25.2.768-770.1979>
- Odada, E. O. and D. O. O. (2002). THE EAST AFRICAN GREAT LAKES: LIMNOLOGY, PALAEO-LIMNOLOGY AND BIODIVERSITY. *KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS*.
- Olafsen, J. A., Mikkelsen, H. V., Glaever, H. M., & Hansen, G. H. (1993). Indigenous bacteria in hemolymph and tissues of marine bivalves at low temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(6), 1848–1854. <https://doi.org/10.1128/aem.59.6.1848-1854.1993>
- Oliver, J. D. (2010). Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4), 415–425. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
- OMS. (1960). *Le cholera*.
- OMS. (2011). *Surveillance intégrée maladie*.
- Parola, P., & Raoult, D. (2004). Changements climatiques et maladies bactériennes: Global climate change and infectious disease. *Archives de Pédiatrie*, 11, 1018–1025. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(03\)00709-7](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(03)00709-7)
- Penrose, K., De Castro, M. C., Werema, J., & Ryan, E. T. (2010). Informal urban settlements and cholera risk in Dar es Salaam, Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000631>
- Pflumio, C., Boulègue, J., & Tiercelin, J. J. (1994). Hydrothermal activity in the Northern Tanganyika Rift, East Africa. *Chemical Geology*, 116(1–2), 85–109. [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(94\)90159-7](https://doi.org/10.1016/0009-2541(94)90159-7)
- Pham, T. D., Nguyen, T. H., Iwashita, H., Takemura, T., Morita, K., & Yamashiro, T. (2018). Comparative analyses of CTX prophage region of *Vibrio cholerae* seventh pandemic wave 1 strains isolated in Asia. *Microbiology and Immunology*, 62(10), 635–650.

<https://doi.org/10.1111/1348-0421.12648>

- Qadri, F., Ahmed, F., Karim, M. M., Wenneras, C., Begum, Y. A., Salam, M. A., Albert, M. J., & McGhee, J. R. (1999). Lipopolysaccharide- and cholera toxin-specific subclass distribution of B-cell responses in cholera. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 6(6), 812–818. <https://doi.org/10.1128/cdli.6.6.812-818.1999>
- Quilici, M. (2011). *Le diagnostic bactériologique du choléra*. 2, 51–65.
- Quilici, M. L. (2011). Le diagnostic bactériologique du choléra. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(431), 51–65. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)70902-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)70902-9)
- Rabbani, G. H., & Greenough, W. B. (1999). Food as a vehicle of transmission of cholera. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, 17(1), 1–9.
- Racault, M. F., Abdulaziz, A., George, G., Menon, N., Jasmin, C., Punathil, M., McConville, K., Loveday, B., Platt, T., Sathyendranath, S., & Vijayan, V. (2019). Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*: Challenges and opportunities for ocean-color remote sensing. *Remote Sensing*, 11(23). <https://doi.org/10.3390/rs11232763>
- Rafique, R., Rashid, M., Monira, S., & Rahman, Z. (2016). *Transmission of Infectious Vibrio cholerae through Drinking Water among the Household Contacts of Cholera Patients (CHOB17 Trial)*. 7(October), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01635>
- Rahman, M. M., Penny, G., Mondal, M. S., Zaman, M. H., Kryston, A., Salehin, M., Nahar, Q., Islam, M. S., Bolster, D., Tank, J. L., & Müller, M. F. (2019). Salinization in large river deltas: Drivers, impacts and socio-hydrological feedbacks. *Water Security*, 6(May 2018), 100024. <https://doi.org/10.1016/j.wasec.2019.100024>
- Rebaudet, S., Sudre, B., Faucher, B., & Piarroux, R. (2013). Cholera in Coastal Africa: A systematic review of its heterogeneous environmental determinants. *Journal of Infectious Diseases*, 208(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1093/infdis/jit202>
- Reen, F. J., Almagro-Moreno, S., Ussery, D., & Boyd, E. F. (2006). The genomic code: Inferring Vibrionaceae niche specialization. *Nature Reviews Microbiology*, 4(9), 697–704. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1476>
- Rémy, G., & Dejours, H. (2018). *L' Africainisation du choléra*. 105–138.
- Root, E. D., Rodd, J., Yunus, M., & Emch, M. (2013). The Role of Socioeconomic Status in Longitudinal Trends of Cholera in Matlab, Bangladesh, 1993–2007. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001997>
- Ross, K. A., Gashugi, E., Gafasi, A., Wüest, A., & Schmid, M. (2015). Characterisation of the subaquatic groundwater discharge that maintains the permanent stratification within Lake Kivu; East Africa. *PLoS ONE*, 10(3), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121217>
- Rowe, H. M., Withey, J. H., & Neely, M. N. (2014). Zebrafish as a model for zoonotic aquatic pathogens. *Developmental and Comparative Immunology*, 46(1), 96–107.

<https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.02.014>

- Ruiz-Moreno, D. H. (2009). *The role of primary and secondary transmission on the dynamics of cholera in endemic areas. January 2009*, 123.
- Ryan, S. J., Stewart-Ibarra, A. M., Ordóñez-Enireb, E., Chu, W., Finkelstein, J. L., King, C. A., Escobar, L. E., Lupone, C., Heras, F., Tauzer, E., Waggoner, E., James, T. G., Cárdenas, W. B., & Polhemus, M. (2018). Spatiotemporal variation in environmental vibrio cholerae in an estuary in southern coastal Ecuador. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/ijerph15030486>
- Saemundsson, K. (2008). *East African Rift System-An Overview.pdf*. 1–8.
- Safa, A., Nair, G. B., & Kong, R. Y. C. (2010). Evolution of new variants of Vibrio cholerae O1. *Trends in Microbiology*, 18(1), 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>
- Schmid, M., Halbwachs, M., & Wehrli, B. (2004). *Report of the scientific expeditions to Lake Kivu in November 2003 and February 2004. An investigation of physical and chemical properties of Lake Kivu as a base for gas outburst risk assessment. February*, 1–17.
- Schuster, B. M., Tyzik, A. L., Donner, R. A., Striplin, M. J., Almagro-Moreno, S., Jones, S. H., Cooper, V. S., & Whistler, C. A. (2011). Ecology and genetic structure of a northern temperate Vibrio cholerae population related to toxigenic isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(21), 7568–7575. <https://doi.org/10.1128/AEM.00378-11>
- Sedas, V. T. P. (2007). Influence of environmental factors on the presence of Vibrio cholerae in the marine environment: a climate link. *Journal of Infection in Developing Countries*, 1(3), 224–241. <https://doi.org/10.3855/jidc.359>
- Senderovich, Y., Izhaki, I., & Halpern, M. (2010a). Fish as reservoirs and vectors of Vibrio cholerae. *PLoS ONE*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008607>
- Senderovich, Y., Izhaki, I., & Halpern, M. (2010b). Fish as reservoirs and vectors of Vibrio cholerae. *PLoS ONE*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008607>
- Senoh, M., Ghosh-Banerjee, J., Ramamurthy, T., Hamabata, T., Kurakawa, T., Takeda, M., Colwell, R. R., Nair, G. B., & Takeda, Y. (2010). Conversion of viable but nonculturable Vibrio cholerae to the culturable state by co-culture with eukaryotic cells. *Microbiology and Immunology*, 54(9), 502–507. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2010.00245.x>
- Shapiro, R. L., Otieno, M. R., Adcock, P. M., Phillips-Howard, P. A., Hawley, W. A., Kumar, L., Waiyaki, P., Nahlen, B. L., Slutsker, L., Mintz, E., Hutwagner, L., Ouma, C., Onyango, M., Alaii, J., Yongo, W., Okullo, J., Okech, R., Oluoch, N., Oginga, T., ... Obel, J. (1999). Transmission of epidemic Vibrio cholerae O1 in rural western Kenya associated with drinking water from Lake Victoria: An environmental reservoir for cholera? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60(2), 271–276. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.271>
- Sherin, V. R., Durand, F., Papa, F., Islam, A. S., Gopalakrishna, V. V., Khaki, M., & Suneel, V. (2020). Recent salinity intrusion in the Bengal delta: Observations and possible causes. *Continental Shelf Research*, 202(January), 104142. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2020.104142>

- Shikuma, N. J., & Hadfield, M. G. (2010). Marine biofilms on submerged surfaces are a reservoir for *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *Biofouling*, 26(1), 39–46. <https://doi.org/10.1080/08927010903282814>
- Silva, A. J., & Benitez, J. A. (2016). *Vibrio cholerae* Biofilms and Cholera Pathogenesis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(2), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004330>
- Singleton, F. L., Attwell, R., Jangi, S., & Colwell, R. R. (1982). Effects of temperature and salinity on *Vibrio cholerae* growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(5), 1047–1058. <https://doi.org/10.1128/aem.44.5.1047-1058.1982>
- Smets, B., Tedesco, D., Kervyn, F., Kies, A., Vaselli, O., & Yalire, M. M. (2010). Dry gas vents (“mazuku”) in Goma region (North-Kivu, Democratic Republic of Congo): Formation and risk assessment. *Journal of African Earth Sciences*, 58(5), 787–798. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2010.04.008>
- Spira, W. M., Huq, A., Ahmed, S. Q. S., & Saeed, Y. A. (1981). Uptake of *Vibrio cholerae* biotype eltor from contaminated water by water hyacinth (*Eichornia crassipes*). *Applied and Environmental Microbiology*, 42(3), 550–553. <https://doi.org/10.1128/aem.42.3.550-553.1981>
- Stability, L. (2006). *Lake Kivu Gas Extraction Report on Lake Stability* (Issue July).
- Stroeher, U. H., Karageorgos, L. E., Morona, R., & Manning, P. A. (1992). Serotype conversion in *Vibrio cholerae* O1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(7), 2566–2570. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.7.2566>
- Sy, I., Traoré, D., Diène, A. N., Koné, B., Lô, B., Faye, O., Utzinger, J., Cissé, G., & Tanner, M. (2017). Eau potable, assainissement et risque de maladies diarrhéiques dans la Communauté urbaine de Nouakchott, Mauritanie. *Sante Publique*, 29(5), 741–750. <https://doi.org/10.3917/spub.175.0741>
- Sylviane Tabarly. (2012). *Choléra : géographie d’une pandémie . Étude de cas : Haïti , 2010 - 2012 Le choléra : panorama mondial. données, 2010–2012.*
- Takemura, A. F., Chien, D. M., & Polz, M. F. (2014). *Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment , from the genus to the population level.* 5(February), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00038>
- Tamplin, M. L., Gauzens, A. L., Huq, A., Sack, D. A., & Colwell, R. R. (1990). Attachment of *Vibrio cholerae* serogroup O1 to zooplankton and phytoplankton of Bangladesh waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1977–1980. <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1977-1980.1990>
- Tassi, F., Vaselli, O., Tedesco, D., Montegrossi, G., Darrah, T., Cuoco, E., Mapendano, M. Y., Poreda, R., & Huertas, A. D. (2009). Water and gas chemistry at Lake Kivu (DRC): Geochemical evidence of vertical and horizontal heterogeneities in a multibasin structure. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 10(2). <https://doi.org/10.1029/2008GC002191>
- Thom, S., Warhurst, D., & Drasar, B. S. (1992). Association of *Vibrio cholerae* with fresh water amoebae. *Journal of Medical Microbiology*, 36(5), 303–306. <https://doi.org/10.1099/00222615->

- Thomas, K. U., Joseph, N., Raveendran, O., & Nair, S. (2006). Salinity-induced survival strategy of *Vibrio cholerae* associated with copepods in Cochin backwaters. *Marine Pollution Bulletin*, 52(11), 1425–1430. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.04.011>
- Torres Codeco, C. (2001). Endemic and epidemic dynamics of cholera: The role of the aquatic reservoir. *BMC Infectious Diseases*, 1(1). <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed5&AN=2004253640>
- Valia, R., Taviani, E., Spagnoletti, M., Ceccarelli, D., Cappuccinelli, P., & Colombo, M. M. (2013). *Vibrio cholerae* O1 epidemic variants in Angola: A retrospective study between 1992 and 2006. *Frontiers in Microbiology*, 4(NOV), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00354>
- Vezzulli, L., Pruzzo, C., Huq, A., & Colwell, R. R. (2010). Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environmental Microbiology Reports*, 2(1), 27–33. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x>
- Von Nguyen, D., Sreenivasan, N., Lam, E., Ayers, T., Kargbo, D., Dafaie, F., Jambai, A., Alemu, W., Kamara, A., Islam, M. S., Stroika, S., Bopp, C., Quick, R., Mintz, E. D., & Brunkard, J. M. (2014). Cholera epidemic associated with consumption of unsafe drinking water and street-vended water-Eastern Freetown, Sierra Leone, 2012. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(3), 518–523. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0567>
- Waldor, M. K., & Mekalanos, J. J. (1996). Lysogenic Conversion by a Filamentous Phage Encoding Cholera Toxin. *Science*, 272(5270), 1910–1914. <https://doi.org/10.1126/science.272.5270.1910>
- Wauthier, C., Cayol, V., Kervyn, F., & D'Oreye, N. (2012). Magma sources involved in the 2002 Nyiragongo eruption, as inferred from an InSAR analysis. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, 117(5). <https://doi.org/10.1029/2011JB008257>
- Weichert, D., McDougald, D., Jacobs, D., & Kjelleberg, S. (1997). In situ analysis of nucleic acids in cold-induced nonculturable *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2754–2758. <https://doi.org/10.1128/aem.63.7.2754-2758.1997>
- Weill, F., Domman, D., Njamkepo, E., Tarr, C., Rauzier, J., Fawal, N., Keddy, K. H., Salje, H., Moore, S., Mukhopadhyay, A. K., Bercion, R., Luquero, F. J., Koeck, J., Fournier, J., & Dougan, G. (2017). pandemic of cholera in Africa. *Science*, 358(November), 785–789.
- Whitesides, M. D., & Oliver, J. D. (1997). Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from the viable but nonculturable state. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1002–1005. <https://doi.org/10.1128/aem.63.3.1002-1005.1997>
- Wu, J., Yunus, M., Ali, M., Escamilla, V., & Emch, M. (2018). Influences of heatwave, rainfall, and tree cover on cholera in Bangladesh. *Environment International*, 120(August), 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.012>

Zerbo, A., Castro Delgado, R., & González, P. A. (2020). A review of the risk of cholera outbreaks and urbanization in sub-Saharan Africa. *Journal of Biosafety and Biosecurity*, 2(2), 71–76.
<https://doi.org/10.1016/j.jobb.2020.11.004>

Liste de publications et communications relatives aux travaux de recherche de la thèse.

Publications

- Batumbo BD, Bompangue D, Giraudoux P, Mauny F, Garnier E, Deniel C, Kizungu R, Muyembe JJ, Bornette G. Volcanic activity controls cholera epidemics in the East African Rift. *PLoS Negl Trop Dis*. August 2020 ; <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008406>.
- Batumbo BD, Bompangue D, Giraudoux P, Mauny F, Mwishingo A, Bamuleke B, Maheshe G, Chirimwami R, Bornette G. Individual risk factors for cholera contamination in Bukavu (Democratic Republic of the Congo): relative influence of environmental and human transmission. Soumis dans le journal *PLoS* ;
- Batumbo BD, Giraudoux P, Deniel C, Mauny F, Muyembe JJ, Bompangue D, Bornette G. Dynamics and risk factors of the seventh cholera pandemic in Africa.

Communication orale

- Batumbo BD (2018). Epidémie de choléra en République démocratique du Congo (RDC) : premier bilan à partir de données de la SIMR, 2017-2018. Séminaire IRESAP veille sanitaire, Faculté de médecine, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 08 février 2018.
- Batumbo BD (2018). Dynamique spatio-temporelle des épidémies de choléra dans les zones lacustres du Rift de la République Démocratique du Congo (RDC). Conférence Internationale sur la pathologie infectieuse et parasitaire (CIPIP). Lubumbashi, RDC. 20-23 juin 2018.
- Batumbo BD (2018). Déterminismes hydrogéologiques et écologiques du choléra le long du Rift Africain. Workshop de cloture PICS eco-épidémiologie des maladies infectieuses, Laboratoire Chrono-Environnement, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 14 novembre 2018.

- Batumbo BD (2018). Epidemies de choléra et activités volcaniques en République Démocratique du Congo (RDC). Réunion de recherche, Faculté de médecine, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 07 décembre 2018.
- Batumbo BD (2021). Surveillance du choléra en République démocratique du Congo (RDC) et données du monitoring volcanique : premier bilan. Séminaire IRESAP veille sanitaire, Faculté de médecine, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 12 février 2021.

Culture scientifique et Communications pour tout publique

- Atelier Expérimentarium auprès d'une classe de CM2 de l'école Helvétie. Besançon, 7 avril 2017.
- Atelier Expérimentarium dans le festival Arles en France, du 19 au 20 mai 2017.



- Atelier Expérimentarium dans le festival de Rouen en France, du 18 au 19 mai 2018.



- Atelier Expérimentarium dans le festival de Dole en France, du 17 au 18 mai 2019.



RENCONTREZ LES CHERCHEURS DANS LA VILLE!

**VOUS AIMEZ L'EXPERIMENTARIUM ?
VOUS AIMEREZ SON FESTIVAL
À DOLE EN MAI !**

Venus des quatre coins de France, des dizaines de chercheurs et médiateurs se retrouveront à Dole (Jura, 40 min de Dijon) les vendredi 17 et samedi 18 mai 2019 à l'occasion du 4^e Festival National des Expérimentarium et... ils vous donnent rendez-vous !

Dans la rue, à la bibliothèque, au café ou encore au musée (samedi 18 mai, c'est en effet la Nuit Européenne des Musées), vous pourrez rencontrer des chercheurs de toutes disciplines, en toute convivialité et parfois de façon insolite, sans barrière de savoirs.

**A Dole, 17 et 18 mai, les chercheurs envahissent la ville.
Venez les rencontrer !**

Infos à venir sur :
www.experimentarium.fr
Facebook : Experimentarium - Le Réseau / Twitter : @ReseauExpe

Tableau 2. Liste des abréviations et acronymes

ADN	Acide désoxyribonucléique
BCZS	Bureau Central de la Zone de Santé
CART	Classification and Regression Tree
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CS	Centre de Santé
CTC	Centre de Traitement du Choléra
DGLM	Division Générale de la Lutte contre la Maladie
DPS	Division Provinciale de Santé
DRC	Democratic Republic of Congo
ESP	Ecole de Santé Publique
EDS	Enquête Démographique et Sanitaire
HGR	Hôpital Général de Référence
HZ	Health Zone
IDH	Indice de Développement Humain
IDSR	Integrated Disease Surveillance and Response
INRB	Institut National de Recherche Biomédical
MSF/F	Médecins sans Frontière France
MSP	Ministère de la Santé Publique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odds Ratio
PCA	Paquet Complémentaire d'Activités
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEV	Programme Elargi de vaccination
PMA	Paquet Minimum d'Activités
PMSEC	Plan Multisectoriel d'Elimination du Choléra
PS	Poste de santé

RDC	République Démocratique du Congo
RR	Risque Relatif
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquis
UNIKIN	Université de Kinshasa
USA	United States of America
WHO	World Health Organization
ZS	Zone de Santé

Liste des tableaux

Tableau 1. Répartition des foyers et cas de choléra en Afrique.	43
Tableau 2. Liste des abréviations et acronymes	172

Table des figures

Figure 1. Photographie électronique du <i>Vibrio cholerae</i>	13
Figure 2. Classification des types de souches de <i>Vibrio</i>	17
Figure 3. Cycle de la transmission du choléra dans l'environnement.	21
Figure 4. Etapes de la pathogénèse du <i>Vibrio cholerae</i>	22
Figure 5. Enfant atteint de choléra	24
Figure 6. Dispositif utilisé par MSF pour le transport au laboratoire des échantillons de selles en vue de la recherche de vibrion cholérique.....	25
Figure 7. Aspect des colonies de <i>Vibrio cholerae</i> sur le milieu TCB.....	27
Figure 8. Méthode d'isolement et d'identification du <i>Vibrio cholerae</i>	28
Figure 9. Analyses de régression indiquant que la température et la salinité expliquent la plupart des variations de l'abondance totale de <i>Vibrio cholerae</i> dans l'eau.	33
Figure 10. <i>Vibrio cholerae</i> (points jaunes) fixé à un copépode coloré par des techniques fluorescentes.....	36
Figure 11. Diffusion de la septième pandémie du choléra dans le monde	40
Figure 12. Evolution de la situation épidémiologique du choléra de 1970 à 2019 dans les pays de la vallée du Rift Africain.....	44
Figure 13. Carte topographique du continent Africain avec les pays du Rift	52
Figure 14. Les volcans du Rift Africain actifs	53
Figure 15. Photo de l'éruption volcanique du Nyiragongo I	54
Figure 16. Variation de hauteur d'eau du lac Kivu et précipitations depuis 1940	55
Figure 17. Modèle conceptuel de l'interaction des apports d'eaux souterraines subaquatiques (SEES) avec le système volcanique/géothermal présent sous le lac Kivu et au nord du lac vers Nyiragongo.	57
Figure 18. Coupe transversale du lac Kivu et Tanganyika, le mode d'afflux et d'infiltration de l'eau douce et saline.....	57
Figure 19. Ensemencement des échantillons par le biologiste du laboratoire de l'Institut Supérieur des Techniques Médicales de Bukavu, RDC.....	61


ANNEXE

Annexe

Poster de vulgarisation des résultats de la thèse à travers le réseau Experimentarium.

**UN AUTRE REGARD SUR LES
ÉPIDÉMIES DE CHOLÉRA EN AFRIQUE**

→ ÉPIDÉMIOLOGIE



DOUDOU BATUMBO BOLOWETI est un jeune chercheur en Environnement-Santé à l'université de Franche comté, affecté au Laboratoire Chrono-Environnement. Il est aussi membre de l'Unité de Recherche et de Formation en Écologie et Contrôle des Maladies Infectieuses de l'université de Kinshasa en République Démocratique du Congo. Sa spécialité s'appelle l'éco-épidémiologie : Doudou travaille sur les épidémies de choléra le long du Rift Africain. Il tente de comprendre les facteurs environnementaux qui sont impliqués dans ces épidémies.

« Exige beaucoup de toi-même et attends peu des autres. Ainsi tu réussiras dans tes entreprises. »

Doudou Batumbo Boloweti

L'EXPE