

LA FILTRATION SUR LE FOULARD DE TÊTE : UNE VOIE SIMPLE D'ÉLIMINATION DU *Vibrio Cholerae* DES EAUX PRÉLEVÉES AU LAC KIVU / RIFT EST AFRICAIN

[THE FILTRATION BY HEADSCARF: A SIMPLE WAY OF REMOVING *VIBRIO CHOLERAE* IN WATER TAKEN FROM THE LAKE KIVU / EASTERN AFRICA RIFT]

Louissette K. Wimba¹⁻², Sandra Sibazuri¹, John M. Ndachetere¹, George L. Alunga², Pius T. Mpiana³, Koto-te-Nyiwa Ngbolua³, Marie C. Yandju³, Joseph K. Lumande³, and Boniface M. Kaningini²

¹Institut supérieur des techniques médicales de Bukavu (ISTM- Bukavu) B.P. 3036 Bukavu, RD Congo

²Unité d'enseignement et recherche en Hydrobiologie appliquée, Institut supérieur pédagogique de Bukavu (UERHA/ISP- Bukavu) B.P. 854 Bukavu, RD Congo

³Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, B.P. 190, Kinshasa XI, RD Congo

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The aim of this study is to verify if the endemic cholera around Lake Kivu is consecutive to the colonization of plankton by *V. cholerae*. We undertook the search of *V. cholerae* germs in samples of water from this Lake then trying their elimination in removing zooplankton by filtration. Thus, from November 2011 to June 2013, we analyzed 64 samples of coastal water from 3 different sites of the Lake Kivu; one site in a rural basin (Ishungu) and 2 sites in a urban basin (Bukavu). The detection and numeration of *V. cholerae* were made by culture methods completed by biochemical tests. Filtration was done thanks to zooplankton's nets and headscarf. *V. cholerae* was detected in 92.18 % of the samples with the density in the order of 10³UFT/mL. Samples from Bukavu contained more of them than those from Ishungu (P<0.001). 18 µm mesh filter of zooplankton or 8 layers of a nylon headscarf, striped with alternation of transparent and opaque zones, wide of 5 cm, have removed more than 99.9 % of *V. cholerae* detected. It has been found that almost all of cultivable *V. cholerae* colonize the seston of more than 18 µm of diameter and are removable by means of filtration using a headscarf as described in the present study.

KEYWORDS: Water of Lake Kivu, *Vibrio cholera*, filtration, headscarf.

RESUME: Dans le but de vérifier si l'endémicité du choléra aux abords du lac Kivu est consécutive à la colonisation du plancton par *Vibrio cholerae*, nous avons entrepris de rechercher *Vibrio cholerae* dans les prélèvements d'eaux dudit lac puis de tenter son élimination en enlevant le zooplancton par filtration. Ainsi, entre novembre 2011 et juin 2013 étaient prélevés 64 échantillons d'eaux littorales du lac Kivu sur trois sites, un rural (bassin d'Ishungu) et 2 urbains (bassin de Bukavu). La détection et la numération de *Vibrio cholerae* étaient réalisées via les méthodes culturales. Les membranes filtrant étaient les filets à zooplancton et les foulards de tête. *Vibrio cholerae* a été détecté dans 92,18% de prélèvements avec une densité de l'ordre de 10³ UFT/mL. Les échantillons de Bukavu en contenaient plus que ceux d'Ishungu (P<0.001). La filtration sur un filet à zooplancton de 18µm de mailles ou sur huit couches d'un foulard de tête en nylon, zébré des bandes transparentes et opaques larges de 5cm, a éliminé plus de 99.9 % de *Vibrio cholerae* détectés. Il en résulte que, la quasi-totalité de *V. cholerae* cultivables du lac Kivu colonisent le seston de diamètre supérieur à 18µm et, sont éliminables des prélèvements d'eau par filtration sur foulard de tête comme décrit ci-haut.

MOTS-CLEFS: Eau du lac Kivu, *Vibrio cholerae*, filtration, foulard de tête.

1 INTRODUCTION

Le choléra existe depuis plus de deux millénaires dans le delta du Gange à l'actuel Bangladesh débordant parfois sur les territoires limitrophes d'Extrême-Orient [1]. L'arrivée des échanges intercontinentaux a conduit en 1817 au début de l'ère classique du choléra, caractérisée par les six premières pandémies ayant épargné l'Afrique continentale. Le rôle primordial de l'eau dans la diffusion du choléra fut reconnu en 1854 par J. Snow, avant l'identification de son agent causal, *Vibrio cholerae* par Koch en 1883 [2].

La septième pandémie qui sévit encore aujourd'hui, a débuté en 1961 dans les îles Célèbes en Indonésie et a marqué le passage du choléra dans l'ère moderne de son histoire. Elle est due à un biotype particulier dénommé *Vibrio cholerae*, sérotype O1, biotype El Tor découvert en 1905 sur des pèlerins de la Mecque par Gotilich au Lazaret El Tor dans le Sinaï. Cette souche, revêt des caractéristiques toxigènes et un comportement environnemental particulier. Elle est restée confinée pendant une trentaine d'années dans l'archipel des Célèbes, régions d'eaux saumâtres qui lui offre un environnement propice à sa survie [2]. Il est à ce jour établi que son hôte aquatique en milieux estuariens est le zooplancton copépode qui lui offre une source de nourriture et un micro-habitat la protégeant contre des conditions environnementales défavorables [3-8]. Du point de vue sanitaire, les risques d'ingestion de doses infectieuses par les humains augmentent alors pendant le bloom planctonique. Ainsi, l'élimination des copépodes par filtration induisant à une diminution considérable de *V. cholerae*, concourt à la réduction des risques d'infection cholérique. Après avoir découvert que le sari, tissu en coton local du Bangladesh, pouvait servir de membrane filtrant pour cette fin, son usage en milieu rural de ce pays, a pu y réduire de 48% les risques cholériques. Cette stratégie de lutte s'avère être la plus efficace pour la situation d'endémie cholérique [6, 9,10].

C'est vers 1970 que cette pandémie arriva en Afrique subsaharienne, à Conakry via les pèlerins de retour de la Mecque par avion. La maladie prit au niveau continental la forme de flambées épidémiques successives allant d'un pays à l'autre. A dater de cette période, le choléra n'a plus quitté l'Afrique et c'est là qu'il est plus persistant et plus violent, en particulier aux abords des grands lacs du rift Est Africain où il s'installe de façon pérenne et frappe par flambées épidémiques presque tous les pays [1]. Ainsi la République Démocratique du Congo (RDC), pays bordé par la quasi-totalité de ces grands lacs dans sa partie Est, se place actuellement en tête des pays ayant déclaré le plus de cas à l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). La situation du choléra y devient de plus en plus inquiétante. En effet de 2000 à 2008, il a à lui seul réalisé 15 % des cas et 20 % des décès relatifs au choléra rapportés dans le monde pour cette période à l'OMS [11], cas provenant essentiellement des provinces de l'Est, riveraines des grands lacs. Presque toutes les épidémies qui frappent le reste du pays partent de cette région, le choléra y présente un caractère endémo-épidémique [12, 13].

Les taux d'attaque les plus élevés sont enregistrés au Sud-Kivu [14], province entièrement bordée à l'Est par le lac Kivu, son exutoire la rivière Ruzizi et le lac Tanganyika. Elle compte ainsi trois des sept sanctuaires de choléra recensés en RDC [12], parmi lesquels le sanctuaire Bukavu-Katana riverain des bassins de Bukavu et d'Ishungu au lac Kivu. C'est en 1978 que le choléra a émergé aux abords de ce lac, dans le bassin d'Ishungu à l'île d'Ibinja. Les habitants des îles et des rives consommateurs d'eau de ce lac, sont souvent victimes du choléra [13, 15,16] et jusque-là, aucune stratégie de lutte n'a pu le soulager de ce fléau. Bien que l'extrême gravité du choléra soit reconnue en RDC, les politiques de lutte se limitent souvent aux conséquences sans se soucier des causes de la maladie. La stratégie jusque-là adoptée est basée sur une lutte épidémique alors qu'elle devrait s'adapter au caractère endémo-épidémique de la maladie par une nouvelle approche. On assiste ainsi à une répétition d'actions sur plusieurs années sans qu'une solution durable ne soit trouvée [17].

A l'instar des eaux saumâtres du Bangladesh [5,6,18], cette endémicité du choléra qui se manifeste dans les communautés riveraines du lac Kivu, suggère que cet écosystème abriterait les organismes réservoirs du vibron cholérique [12, 15, 19].

Dans l'hypothèse que le zooplancton du lac Kivu serve d'hôte au *V. cholerae*, faisant de ce lac un réservoir aquatique du choléra en RDC, nous avons entrepris de :

- Rechercher ces bacilles dans les eaux de la littorale du lac Kivu ;
- Essayer de les éliminer en écartant le zooplancton par filtration et
- Rechercher une étoffe accessible localement pouvant servir à éliminer ces bacilles en retenant le zooplancton par filtration de ces eaux.

2 MATERIEL ET METHODES

Les 64 échantillons d'eau du lac Kivu sur lesquels ont porté nos investigations ont été prélevés au lieu de puisage de Lugendo (village le plus affecté dans le bassin d'Ishungu) et à deux lieux de baignade dans le bassin de Bukavu : Kalengera en milieu périurbain et Ndendere en zone urbaine. A Lugendo, un total de 32 échantillonnages a été réalisé dont 16 au rythme bihebdomadaire, de novembre 2011 à juin 2012 et 16 autres hebdomadairement, de mars 2013 à juin 2013. Au courant de cette dernière période, étaient aussi collectés 32 prélèvements dans le bassin de Bukavu, 16 à Kalengera et 16 autres à Ndendere. Chaque fois, trois échantillons d'environ 3L d'eau étaient recueillis dans des bidons propres préalablement rincés à l'eau du lac juste avant le prélèvement, puis transportés au laboratoire dans une boîte isotherme à moins de 10°C, pour les analyses dans les 6 heures qui suivent.

Les filets disponibles au laboratoire et dont les maillages sont proches de ceux utilisés dans la littérature [9, 10] ont été utilisés. Les critères de choix de l'étoffe étaient : celle qui est fréquemment utilisée à des fins diverses par les femmes en milieu rural, disponible sur le marché et à moindre frais. En outre, elle devrait être très perméable à l'eau et avoir un bon rendement de décontamination de l'eau. Les essais étaient alors faits sur deux types de foulards de tête en nylon d'environ 9 dm² de surface, l'un totalement opaque et l'autre zébré des bandes pleines et de bandes transparentes d'environ 5 cm de largeur. Ce dernier a été sélectionné (Fig.1b).

Des échantillons d'eau du lac fraîchement arrivés au laboratoire, environs deux litres, étaient chaque fois filtrés dans des bocaux stériles tour-à-tour sur les filets à zooplancton et sur le foulard de tête plié (4 lits ou 8 lits). Après usage, ces tissus étaient chaque fois bien lavés au savon, rincés à l'eau puis séchés au soleil pendant 2h.

La détection et le dénombrement des présumés souches de vibrions étaient faits simultanément par la méthode du nombre le plus probable (NPP), utilisant trois séries des trois tubes de dilutions respectives : 1/100, 1/1000 et 1/10000, préparées successivement au départ d'1 mL d'eau du lac Kivu mélangé avec 9 mL d'EPA. Toutes ces séries de dilutions étaient analogues à la dilution mère. Le nombre le plus probable des cellules bactériennes dans 1mL du prélèvement d'eau du lac Kivu était obtenu via la table de Mac Grady en constituant un nombre à trois chiffres correspondant au nombre des tubes positifs pour chacune des séries de dilution 1/100, 1/1000 et 1/10000 respectivement, dans les tubes où on a détecté la présence présomptive de *Vibrio cholerae*.

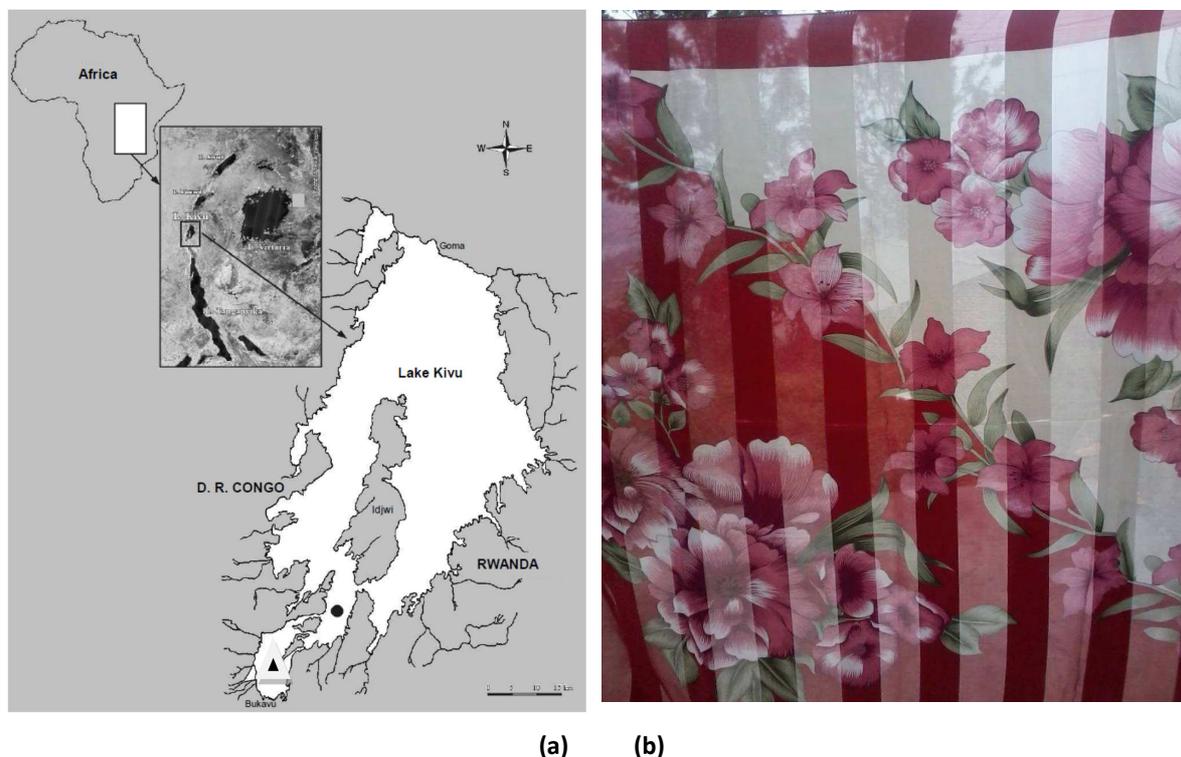


Figure 1 : Localisation des grands lacs du Rift Est-Africain, repérage des bassins d'Ishungu ● et de Bukavu ▲ sur le lac Kivu (a) et Phototype de foulard choisi (b)

Il s'en est suivi une incubation des tubes à 37°C pendant 6 à 12 h. Après incubation, l'apparition de turbidité dans le tube est un test positif présomptif de la présence des bactéries du genre *Vibrio*. La présence de vibrions cholériques est confirmée en ensemençant en strie un prélèvement de la partie superficielle du tube positif sur la gélose sélective TCBS agar. Après 24 à 48h d'incubation à 37°C, sur les colonies jaunes (fermentant le saccharose) suspectées être *V. cholerae*, se poursuivait une série de tests des caractères cultureux, morphologique et biochimiques répertoriés dans le tableau 1.

3 RESULTATS

ISOLEMENT, FRÉQUENCE ET ABONDANCE DE *VIBRIO CHOLERA*E DANS LES PRÉLÈVEMENTS BRUTS DE L'EAU DU LAC KIVU

Des 64 échantillons d'eau prélevés au lac Kivu entre novembre 2011 et juin 2013, *Vibrio cholera* a été détecté dans 59 soit un taux de fréquence de 92,2 %.

Le tableau 1 présente les caractéristiques des isolats de ces échantillons d'eau du lac Kivu présumés *V. cholerae*. Les données de ce tableau révèlent que seuls 61 % de ces souches sont présumées *V. cholerae* O1.

Tableau 1. Caractéristiques morphologiques, culturelles et biochimiques des isolats des eaux littorales du lac Kivu présumés *V. cholerae*

TEST (n=59)	CARACTERISTIQUE	(%)
Coloration Gram	BGN incurvé ou droit	100
Mobilité	+	100
Croissance EPA 0-6% NaCl	+	100
Croissance EPA ≥ 8% NaCl	-	100
Croissance à 42°C	+	100
Catalase	+	100
Indole	+	100
Oxydase	+	100
Citrate	+	100
Saccharose	+	100
Glucose	+	100
Lysine décarboxylase	+	100
Gaz à partir du glucose	-	100
ONPG	+	100
String test (test de fil)	+	100
Preparation à frais	Petits bâtonnets avec mobilité en flèche	100
Sérum anti-O1	+	61

Les abondances moyennes de ces germes typiques au *V. cholerae*, présentées par la figure 2, se situent entre $1,71 \cdot 10^3$ UFT/mL d'eau, au point de puisage à Lugendo (point de puisage en milieu rurale, bassin d'Ishungu,) et $8,93 \cdot 10^3$ UFT/mL d'eau, à Kalengera (site de baignade périurbain, bassin de Bukavu).

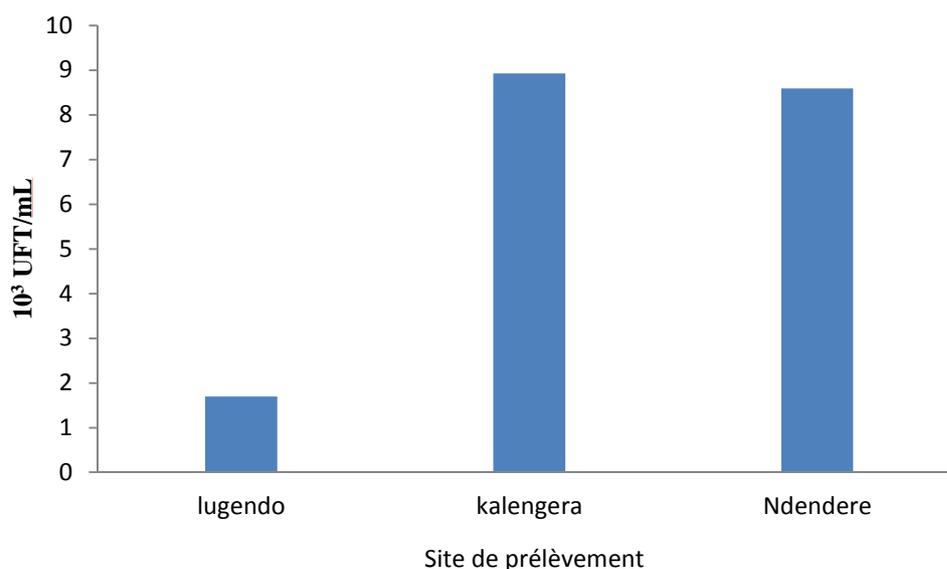


Figure 2 : Abondances moyennes de *V. cholerae* dans les échantillons d'eau du lac Kivu prélevés à Lugendo, Kalengera et Ndendere entre novembre 2011 et juin 2013

Les résultats du test T de Student présentés par le tableau 2, montre qu'en 2013 les échantillons d'eau prélevées sur le site urbain (Ndendere) étaient plus chargés en *V. cholerae* que ceux prélevés pendant la même période sur le site rural (Lugendo).

Tableau 2. Données du test T de Student pour les niveaux de contamination des sites Lugendo et Ndendere, échantillons de l'année 2013 contaminés au *Vibrio cholerae*

Site	Moyenne UFT/mL	N	Ecart-type
Rural (Lugendo)	1,68 10 ³	14	0,49 10 ³
Urbain (Ndendere)	8,59 10 ³	14	4,59 10 ³
Test T de Student	T = 13,0378	ddl=13	P=0,0003***

FREQUENCE DE *V. CHOLERAE* DANS LES FILTRATS DES ECHANTILLONS D'EAU DU LAC KIVU ET RENDEMENT DE REDUCTION DE CES GERMES VIA LA RETENTION DU ZOOPLANCTON PAR FILTRATION

La fréquence des *V. cholerae* résiduels dans les filtrats des 59 échantillons d'eau contaminée du lac Kivu et les taux d'élimination de ces germes pour les filtrats contaminés sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3. Fréquence de pousse sur TCBS et taux moyens de réduction de l'abondance de germes des échantillons d'eau du lac Kivu contaminés au *V. cholerae* après filtration

Membrane filtrant	Fréquence de Pousse sur TCBS	(%)	Taux moyen de réduction de germes (%)	Ecart-type
Filet 50µm (n=15)	15	100,00	52,21	0,08
Filet 37µm (n=15)	11	73,33	82,78	8,21
Filet 28µm (n=15)	5	33,33	97,85	1,45
Filet 18µm (n=44)	1	2,27	99,99	0,00
4 lits Foulard (n=15)	15	100,00	42,59	2,41
8 lits Foulard (n=59)	1	1,69	99,98	0,00

Ce tableau révèle que toutes les membranes utilisées pour la filtration de l'eau ont retenu plus de 50% des cellules de *V. cholerae* cultivable. Le filet de 18 µm et 8 lits de foulard zébré en ont retenu plus 99,9%. Les données du tableau 4 montrent que ces deux dernières membranes sont très similaires.

Tableau 4. Résultats de l'analyse de variance de rendement de filtration sur le filet de 18 µm et sur 8 lits de foulard zébré

Ettoffe filtrant	Observations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type
filet 18µ	44	99,990	100,000	99,999	0,001
8 plis de foulard	44	99,980	100,000	99,999	0,003
Test de Mann-Whitney		Variance (U)=954,000		P=1,000	

4 DISCUSSION

Les investigations menées dans cette étude ont été limitées par le manque de laboratoire approprié pour la confirmation moléculaire d'appartenance des isolats à l'espèce *Vibrio cholerae*. Néanmoins, les caractéristiques culturales et biochimiques de ces isolats présentées dans le tableau 1, sont typiques à celles des souches de *V. cholerae* [20]. Les résultats de ce travail, révèlent une quasi permanence du *V. cholerae* dans les eaux littorales du lac Kivu. Ce germe a été isolé dans 59 échantillons sur les 64 prélevés de ce lac, soit 92,19%. Dans 61% des cas, il s'est agi du *V. cholerae* sérotype O1, pathogène du choléra.

Les moyennes de cellules bactériennes cultivables dans les échantillons contaminés de l'année 2013 sont respectivement de 1,68 10³ UFT/mL d'eau prélevée à Lugendo et 8,59 10³ UFT/mL d'eau prélevée à Ndendere. Cette différence hautement significative (P=0,0003) serait due à une pollution organique accrue caractérisant les rives urbaines fortement anthropisées en Afrique [21] comme celle où se situe ce dernier site, contrairement au premier qui lui, est situé dans une zone rurale. Ce lac constitue ainsi un réservoir pérenne du bacille *V. cholerae*, pathogène du choléra avec une densité de l'ordre de 10³ UFT/mL, densité atteignant les doses infectieuses [3, 18, 22]. Les consommateurs de ces eaux sont permanemment exposés au risque de contracter le choléra. Ce fait explique l'endémicité de cette pathologie dans le bassin dudit lac [11], particulièrement dans la zone de santé rurale de Katana où les riverains consomment l'eau du lac non traitée [16]. Il est fort probable que ça soit le cas pour les autres lacs du rift Albertin car, touchés tous par ce problème d'endémicité cholérique [11, 19, 23].

Etant donné que le pH des eaux superficielles du lac Kivu se situe généralement entre 8 et 9, avec une température comprise entre 23 et 25 °C [24, 25], et la prédominance des copépodes dans la communauté zooplanctonique [26], la présence permanente du *V. cholerae* dans ce lac est un fait prévisible. En effet, le pH optimal de survie de ce germe dans l'eau à 25 °C se situe entre 7,0 et 8,5 lorsque la salinité est moyenne et, entre 7,5 et 9,0 lorsque la salinité est faible [3, 5, 27, 29]. Aussi son hôte privilégié en milieu aquatique est le micro crustacé copépode [6, 8].

Toutes les membranes utilisées pour la filtration de l'eau ont retenu plus de 50% des cellules de *V. cholerae* cultivable. L'élimination quasi totale est obtenue en utilisant le filet à zooplancton de 18µm ou 8 lits de foulard de tête zébré. En effet, sur les 59 échantillons contaminés, un seul a donné un test positif après filtration sur 8 lits de ce foulard avec une densité résiduelle de moins de 30 UFT/ mL, soit un taux de réduction de plus de 99,98%. Le foulard ainsi plié a accusé une très forte similarité de comportement avec le filet à zooplancton de 18 µm (P=1,0000).

Ces résultats très comparables à ceux trouvés par l'équipe de Colwell à Bangladesh en utilisant le sari plié 8 fois ou un filet de 20 µm de mailles [9, 10] indiquent que la quasi-totalité des *V. cholerae* cultivables du lac Kivu vit en association avec les organismes planctoniques de diamètre supérieur à 18µm et sont de ce fait plus redoutable pour la santé humaine. En effet, associé au zooplancton, *V. cholerae* parvient non seulement à échapper aux aléas environnementaux du milieu aquatique naturel, mais aussi à braver les effets de la chloration des eaux de boisson et à franchir la barrière lui imposée par la forte acidité de l'estomac. Outre cette protection contre les agressions du milieu extérieur, l'adhésion de *V. cholerae* au zooplancton augmente sa pathogénicité par le fait que, grâce aux pilis dont il se sert pour s'attacher au zooplancton, il arrive à s'agripper commodément sur les tissus membranaires de l'intestin grêle et ainsi infecter facilement l'homme [30, 31].

Bien qu'en milieu aquatique l'abondance de bactéries viables mais non cultivables soit de loin supérieure à celle de bactéries cultivables [32], débarrasser les eaux de boissons de cette forme redoutable de *V. cholerae* par filtration sur le filet de 18 µm de mailles ou sur 8 lits de foulard de tête zébré s'avère être la stratégie la mieux indiquée pour lutter efficacement contre le choléra endémique à l'Est de la RDC. En effet, à l'instar de ce qu'a produit le sari au Bangladesh [6, 10], la décontamination de l'eau par filtration sur 8 lits de foulard de tête zébré, étoffe portée de coutume par les riveraines de ces

lacs, tel que décrite dans ce travail, pourra contribuer efficacement à la réduction de l'incidence du choléra dans toute cette région.

5 CONCLUSION

Cette étude, pionnière du genre en Afrique continentale sub-saharienne présage un mode de prévention du choléra dans les bassins des grands lacs du rift Est Africain approprié à son caractère endémo-épidémique. En outre, elle révèle que le lac Kivu est un réservoir de *V. cholerae*. La poursuite des investigations est importante pour élucider l'écologie de ce bacille dans cet écosystème.

REFERENCES

- [1] T. Janny, "Etiologie de choléra en Afrique : Analyse d'une étiologie multifactorielle", *Mémoire de l'ENSP, Renne*, 2004.
- [2] B. Carme, M. N. Mavumu, J. F. Trape, F. Yala, et M. Felix, "L'implantation du choléra en Afrique noire : 1970-1980" *Rev. Mcd. Congo*, tome 2, no. 34, pp. 17-29, 1983.
- [3] A. Huq, E. B. Small, P. A. West, M. I. Huq, R. Rahman, and R. R. Colwell, "Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods" *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 45, pp. 275–283, 1983.
- [4] A. Huq, P. West, E. Small, M. Huq, R. Colwell, "Influence of water temperature, salinity, and pH on survival and growth of toxigenic *Vibrio cholerae* serovar O1 associated with live copepods in laboratory microcosms" *Appl Environ Microbiol.*, vol. 48, pp. 420–424, 1984.
- [5] R. J. Borroto, "Ecology of *Vibrio cholerae* serogroup O1 in aquatic environments" *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, vol. 2, no. 5, pp. 328-333, 1997.
- [6] R. R. Colwell, "Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease" *International microbiology*, vol. 7, pp. 285–289, 2004.
- [7] G. C. De Magny, R. Murtugudde, M. R. Sapiano, A. Nizam, C. W. Brown and al., "Environmental signatures associated with cholera epidemics" *PNAS*, vol. 105, no. 46, pp. 17676–17681, 2008.
- [8] G. C. De Magny, P. K. Mozumder, C. J. Grim, N. A. Hasan, M. N. Naser and al., "Role of zooplankton diversity in *Vibrio cholera* population dynamics and in the incidence of cholera in Bangladesh sundarbans" *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 77, no. 17, pp. 6125-6129. DOI :10.1128/AEM.01472-10, 2011.
- [9] R. Colwell, A. Huq, M. Islam, K. Aziz, M. Yunus, N. Khan, and al., "Reduction of cholera in Bangladesh villages by simple filtration" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* vol. 100, pp. 1051–1055, 2003.
- [10] A. Huq, M. Yunus, S. S. Sohel, A. Bhuiya, M. Emch, and al., "Simple sari cloth filtration of water is sustainable and continues to protect villagers from cholera in Matlab, Bangladesh" *mBio*, vol. 1, no. 1, pp. 1-5. Doi:10.1128/mBio.00034-10, 2010.
- [11] WHO, "Cholera, 2009" *Wkly Epidemiol Rec*, vol. 85, pp. 293–308, 2010. <http://www.who.int/wer/2010/wer8531.pdf>
- [12] D. Bompangue, P. Giraudoux, P. Handschumacher, M. Piarroux, B. Sudre, and al., "Lakes as source of cholera outbreaks, Democratic Republic of Congo" *Emerg Infect Dis.*, vol. 14, pp. 798–800. Doi:10.3201/eid1405.071260, 2008.
- [13] R. Piarroux, D. Bompangue, P.-Y. Oger, F. Haaser, A. Boinet and T. Vandeveld, "From research to field action: example of the fight against cholera in the Democratic Republic of Congo" *Field Actions Sci. Rep.*, vol. 2, pp. 69–77, 2009.
- [14] Ministère de la Santé de la RDC, "Situation du choléra en République Démocratique du Congo en 2011", *Cellule Choléra MINISANTE RDC*, 2012.
- [15] D. Bompangue, P. Giraudoux, M. Piarroux, G. Mutombo, R. Shamavu, and al., "Cholera epidemics, war and disasters around Goma and Lake Kivu: an eight-year survey", *PLoS Negl Trop Dis.*, vol. 3, pp. 1-17. Doi:10.1371/journal.pntd.0000436, 2009.
- [16] K. L. Wimba, S. Bigawa, K. P. Kaleme, K. N. Ngbolua, P. T. Mpiana, and al., "Lake Kivu (rift Albertin) proximity and incidence of cholera in Katana rural health zone", *J. of Advancement in Medical and Life Sciences*, vol. 3, no. 2, pp. 1-4. Doi:10.15297/JALS.V3I2.02, 2015.
- [17] Unicef, "Le cholera : les solutions contre la maladie des pauvres", *UNICEF ; Kinshasa*, 2011.
- [18] R. R. Colwell, "Global climate and infectious disease: the cholera paradigm", *Science*, vol. 274, pp. 2025–2031, 1996.
- [19] R. L. Shapiro, M. Otieno, P. Adcock, P. Phillips-Howard, W. Hawley, and 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.*, vol. 60, pp. 271–6, 1999.
- [20] WHO/CDS/CSR/EDC /99.8, "Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la dysenterie épidémique et du choléra", *Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, Georgia*, 2002.

- [21] T. Njine, A. Monkiedje, M. Nola, V. Sikati-Foko, "Évaluation de la charge polluante et de la charge bactérienne des rejets des stations d'épuration à boues activées à Yaoundé (Cameroun) ", *Cahiers Santé*, vol. 11, pp. 79-84, 2001.
- [22] J. Heidelberg, K. Heidelberg and R. Colwell, "Bacteria of the gamma-subclass Proteobacteria associated with zooplankton in Chesapeake Bay", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 68, pp. 5498–5507, 2002.
- [23] M. E. Birmingham, L. Lee, N. Ndayimirije, S. Nkurikiye, B. Hersh, J. Wells, and al., "Epidemic cholera in Burundi: patterns of transmission in the Great Rift Valley Lake region", *Lancet*, vol. 349, pp. 981–985. Doi:10.1016/S0140-6736(96)08478-4, 1997.
- [24] H. Sarmento, M. Isumbisho, and J.-P. Descy, "Phytoplankton ecology of Lake Kivu (Eastern Africa) ", *J. Plankton Res.*, vol. 28, no. 9, pp. 815-829, 2006.
- [25] K. L. Wimba, "Contribution à l'étude du bactérioplancton du Lac Kivu (Afrique de l'Est) : Abondance, distribution et profils des acides gras", *Mémoire de Master, FUNDP, Namur*, 2009.
- [26] M. Isumbisho, "Ecologie du Zooplancton du lac Kivu (Afrique de l'Est) ", *Thèse de doctorat, FUNDP, Namur*, 2006.
- [27] M. Hood, and G. Ness, "Survival of *Vibrio cholera* and *Escherichia coli* in estuarine waters and sediments", *Appl Environ Microbiol*, vol. 43, pp. 578–584, 1982.
- [28] C. Miller, B. Drasar and R. Feachem, "Response of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 to physicochemical stress in aquatic environments", *J Hyg (Lond)*, vol. 93, pp. 475–495 1984.
- [29] C. Miller, B. S. Drasar, R. Feachem and R. Hayes, "The impact of physico-chemical stress on the toxigenicity of *Vibrio cholerae* ", *J Hyg (Lond)*, vol. 96, pp. 49–57, 1986.
- [30] M. A. R. Chowdhury, A. Huq, B. Xu, F. J. Madeira, B. Andrita and R. Colwell, "Effect of Alum on Free-Living and Copepod-Associated *Vibrio cholerae* O1 and O139", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 63, no. 8, pp. 3323-3326, 1997.
- [31] J. Reidl, and K.E. Klose, " *Vibrio cholerae* and cholera: out of the water and into the host", *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 26, pp. 125-139, 2002.
- [32] A. T. Garcia and P. Servais, "Enumeration of viable *E. coli* in rivers and waste waters by fluorescent in situ hybridization", *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 58, pp. 269-279, 2004.