



# GLOBAL TASK FORCE ON **CHOLERA CONTROL**

---

## **Note technique** **Surveillance environnementale** **dans le cadre de la lutte contre le choléra** Octobre 2022

## Résumé

Lors d'une épidémie de choléra suspectée ou confirmée, l'objectif principal de l'analyse d'échantillons environnementaux est de déterminer si des sources d'eau de boisson (eau de surface, eau stockée) sont contaminées par des matières fécales. Si les sources d'eau font partie d'un système ou d'un programme de chloration, la mesure du taux de chlore résiduel libre (CRL) est également nécessaire. Deux analyses sont donc essentielles :

1. **Mesure du taux de chlore résiduel libre (CRL)** dans toutes les sources d'eau censées être chlorées. Les tests doivent être effectués systématiquement dès le début puis pendant toute la durée des épidémies. Le taux de **CRL** doit être maintenu comme suit :
  - ✓ **0,5 mg/l** tout au long de la chaîne d'approvisionnement ;
  - ✓ **1,0 mg/l** au niveau des bornes de distribution et des puits ;
  - ✓ **2,0 mg/l** dans les camions-citernes aux points de remplissage.
2. **Détection des bactéries indicatrices de contamination fécale (BIF)** (*Escherichia coli*, coliformes thermotolérants) pour les sources d'eau protégées qui ne sont pas régulièrement chlorées (forages, puits protégés, etc.). Les résultats doivent être les suivants :
  - ✓ **Zéro BIF** détectées dans un échantillon de 100 ml d'eau destiné à la consommation.

*Pour les sources d'eau non protégées et fermées ayant un CRL faible ou nul, on présume que l'eau est contaminée et nécessite une chloration appropriée. Une fois la chloration effectuée, les tests de détection des BIF ne sont pas essentiels car on assume alors que l'eau est consommable. Les tests de détection des BIF peuvent néanmoins être effectués en seconde intention si les délais et les ressources le permettent.*

**Le dosage de la chloration<sup>a</sup> pour le traitement de l'eau** (temps de contact d'au moins 30 minutes) doit donner les résultats suivants :

- ✓ **2 mg/l** pour l'eau claire/cristalline (<10 unités néphélométriques de turbidité [UNT])
- ✓ **4 mg/l** pour l'eau turbide (>10 UNT, mais <20 UNT)

**Stratégies d'analyse et de traitement selon le contexte :**

- **Contextes à haut risque** (camps de réfugiés, catastrophes naturelles, etc.)  
Objectif : prévenir les flambées épidémiques
  - ✓ Présumer une contamination fécale et chlorer immédiatement tout en effectuant une surveillance systématique des taux de CRL pendant la durée du risque d'exposition.
  - ✓ Commencer les tests de détection des BIF dans les sources d'eau jugées sûres et destinées à un usage domestique. Si les indicateurs sont détectés, chlorer immédiatement.
- **Flambées épidémiques actives de choléra**  
Objectif : atténuer les flambées épidémiques, prévenir la propagation
  - ✓ Surveiller les taux de CRL tout au long de la chaîne d'approvisionnement en eau (sources, systèmes ou points de distribution, de collecte et d'utilisation).
  - ✓ Rechercher les BIF aux points de distribution d'eau des sources d'approvisionnement individuelles ou collectives. Si les résultats des tests sont positifs, chlorer immédiatement l'eau aux points de distribution ou d'eau stockée et mesurer régulièrement les taux de CRL.
- **Entre les épidémies et lors des interventions de contrôle à long terme**  
Objectif : surveiller l'efficacité des services en charge du suivi de la qualité de l'eau de boisson
  - ✓ Rechercher les BIF et/ou mesurer les taux de CRL dans le réseau d'eau de boisson. Si les résultats des tests de détection des BIF sont positifs ou si les taux de CRL sont inférieurs aux valeurs recommandées, chlorer immédiatement.

À ce jour, la surveillance environnementale de *Vibrio cholerae* n'a pas été utilisée systématiquement pour générer des alertes permettant d'anticiper les épidémies de choléra ni pour suivre l'évolution des épidémies.

<sup>a</sup> L'efficacité de la chloration peut être affectée si la turbidité de l'eau est élevée (> 5 UNT). Il peut être nécessaire d'effectuer une analyse néphélométrique avant de déterminer le dosage pour la chloration.

# Note technique, Surveillance environnementale dans le cadre de la lutte contre le choléra, Octobre 2022

## Objectif

Fournir des recommandations au Ministère de la Santé et Ministères à charge de la qualité de l'eau, ainsi qu'aux acteurs de santé publique sur les analyses essentielles pour la surveillance environnementale visant à prévenir, combattre et surveiller le choléra.

## Choléra et environnement

Le choléra est une maladie diarrhéique qui fait suite à l'ingestion de la bactérie *Vibrio cholerae* des sérogroupes O1 et plus rarement O139. La dose infectieuse individuelle varie considérablement en fonction de plusieurs facteurs liés à l'hôte et se situe généralement entre  $10^4$  et  $10^8$  organismes. L'ingestion peut être directement liée à un manque d'hygiène personnelle ou domestique (lavage des mains) ou à la consommation d'eau ou d'aliments contaminés.

Il existe plus de 200 sérogroupes de *V. cholerae* qui peuvent causer des cas sporadiques de diarrhée ou des infections alimentaires collectives localement, sans donner lieu à des épidémies généralisées. Parmi les souches de *V. cholerae* du séro groupe O1, seules certaines populations produisant la toxine cholérique et appartenant à la lignée El Tor responsable de la septième pandémie (7PET), sont à l'origine des épidémies et de la pandémie actuelle de choléra. D'autres souches locales de *V. cholerae* O1 El Tor, bien que toxinogènes, ne contiennent pas tous les déterminants de virulence des souches responsables de la septième pandémie et ne sont pas associées à des épidémies généralisées ; ces souches appartiennent à des lignées non-7PET.<sup>1</sup> Le séro groupe O139 de *V. cholerae*, qui produit la toxine cholérique, est apparu en Asie en 1992 et a provoqué des épidémies majeures dans certains pays asiatiques, mais est aujourd'hui rarement isolé.<sup>2</sup>

Le vibron cholérique se propage par l'eau contaminée par des matières fécales. L'environnement aquatique (en particulier les eaux de surface et l'eau de boisson stockée) est un élément clé de la chaîne de transmission du choléra. Des études ont montré que la bactérie *V. cholerae* pouvait être présente dans l'eau de boisson stockée dans les habitations de patients atteints de choléra et un programme encourageant le traitement de cette eau avec des pastilles de chlore a mis en évidence une réduction de la transmission du choléra au sein des ménages.<sup>3, 4</sup> Plusieurs études ont démontré un risque de transmission du choléra par l'eau des rivières ou par des eaux récemment contaminés par des matières fécales (dus à la défécation à l'air libre, des fuites de latrines, des inondations ou des débordements de rivières par exemple). En Haïti, le choléra s'est déclaré dans le bassin hydrographique de l'Artibonite en 2010, probablement en raison d'une évacuation inadéquate des eaux usées en amont.<sup>5</sup> La réémergence d'épidémies de choléra a également été associée à des événements naturels tels que l'ouragan Matthew en Haïti en 2016,<sup>6</sup> ainsi qu'à une saisonnalité variable selon les pays (saison des pluies, saison sèche), par exemple en Équateur en 1998.<sup>7</sup> Dans la région africaine des Grands Lacs, certains auteurs ont mis en évidence une intensification des flambées épidémiques de choléra associées à de fortes précipitations pendant les périodes épidémiques.<sup>8</sup>

Les bactéries *V. cholerae* peuvent se trouver dans des biotopes aquatiques tels que les eaux saumâtres des estuaires fluviaux, sous forme de bacilles libres ou associés à d'autres organismes comme le zooplancton (par exemple les copépodes), les cyanobactéries, le phytoplancton, les jacinthes d'eau, les algues protozoaires, les crabes, les bivalves, etc.<sup>9</sup> Elles peuvent également être isolées à partir d'intestins de poissons, de dauphins et d'oiseaux aquatiques.<sup>10</sup> Cependant, le rôle de ces biotopes en tant que réservoirs persistants des souches pandémiques actuelles de *V. cholerae* (O1, El Tor) et en tant que sources d'épidémies n'a jamais été formellement démontré, y compris en Afrique.<sup>11</sup> Les analyses génomiques indiquent l'existence d'une transmission interhumaine de cette maladie : des études de

séquençage du génome entier des souches impliquées dans les récentes épidémies de choléra ont toutes corroboré l'hypothèse selon laquelle la propagation et la réémergence des épidémies étaient dues aux souches pandémiques de *V. cholerae* El Tor apportées par les voyageurs.<sup>12-14</sup> De plus, des études génomiques menées à l'échelle mondiale ont montré que toutes les épidémies explosives en Afrique et dans les Amériques depuis le début de la 7<sup>e</sup> pandémie de choléra étaient apparues après l'arrivée de nouvelles souches qui avaient précédemment évolué en Asie.<sup>15, 16</sup> Dans les zones où des cas de choléra sont enregistrés tout au long de l'année, comme certaines parties de l'Asie du Sud et d'Haïti entre 2010 et 2019,<sup>17-20</sup> il est impossible de savoir si la présence de *V. cholerae* dans le milieu aquatique est le résultat d'une contamination par les selles de patients atteints de choléra ou si elle reflète la présence permanente de la bactérie dans l'environnement qui infecterait les premiers patients.

Jusqu'à présent, la surveillance environnementale de *Vibrio cholerae* n'a pas été utilisée systématiquement pour générer des alertes permettant d'anticiper les épidémies de choléra ni pour suivre l'évolution des épidémies. Aujourd'hui, les épidémies sont confirmées par l'identification de l'agent pathogène dans les selles des patients, puis, le suivi épidémiologique est effectué à travers le dénombrement des cas suspects et des décès, dont un sous-ensemble seulement est confirmé par des analyses microbiologiques. La présence de bactéries *V. cholerae* toxinogènes dans l'environnement n'indique pas nécessairement que des cas cliniques continuent de se déclarer. La non-détection des bactéries dans une source d'eau spécifique à un moment précis n'est pas nécessairement représentative de la situation à d'autres lieux et d'autres moments, ce qui rend les résultats de l'échantillonnage environnemental difficiles à interpréter aux fins d'actions de santé publique. Dans la plupart des cas, la surveillance de *V. cholerae* dans l'environnement en tant qu'outil pratique de santé publique pour réduire le risque de transmission du choléra n'est ni utile ni nécessaire, et n'est donc pas recommandée.

La surveillance environnementale de *V. cholerae* peut néanmoins être utile dans plusieurs cas particuliers : i) dans des contextes où il n'existe pas de preuve récente ou historique de présence du choléra, ii) dans le cadre d'une enquête sur la salubrité des aliments/de l'eau, si les données épidémiologiques indiquent une origine unique d'une flambée épidémique dont la suppression permettrait probablement de maîtriser la flambée et, iii) dans le cas de projets de recherche évaluant le rôle de l'environnement dans la résurgence du choléra dans les zones endémiques, l'impact des événements naturels (ouragans, inondations, etc.), ou la caractérisation des liens entre les cycles humain-humain et humain-environnement ainsi que leur interaction.

## **Approche simplifiée de l'analyse d'échantillons environnementaux pour guider l'action de santé publique dans les contextes où il existe un risque de choléra**

Il est essentiel de surveiller la contamination fécale de toutes les sources d'eau de boisson, quelle qu'en soit l'origine (par exemple les réseaux d'adduction en zone urbaine, les camions-citernes, les vendeurs privés, les forages). Les indicateurs de contamination fécale à rechercher en priorité sont les coliformes thermotolérants, *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux. La surveillance de ces indicateurs est plus simple à mettre en œuvre et plus efficace pour caractériser un risque global de transmission d'agents pathogènes fécaux que la recherche directe de *V. cholerae*. Dans le contexte d'une épidémie en cours, la mise en évidence de la contamination fécale d'une source d'eau de boisson indique un risque de transmission du choléra, même si *V. cholerae* n'a pas été retrouvé dans l'échantillon analysé.

Lors des épidémies de choléra ou dans les zones à haut risque de choléra, l'objectif est de veiller à ce que les populations à risque ou touchées par l'épidémie aient accès à une eau salubre en quantité suffisante. L'identification des agents pathogènes spécifiques est généralement de moindre importance. Seules deux analyses sont essentielles dans ce contexte :

- La mesure du taux de chlore résiduel libre (CRL)<sup>21-23</sup> dans toutes les sources d'eau censées être chlorées. L'analyse initiale doit être suivie d'une surveillance systématique/continue et régulière pendant les épidémies.

Dans le contexte d'une flambée épidémique, le taux de CRL doit être maintenu comme suit : 0,5 mg/l tout au long de la chaîne d'approvisionnement ; 1,0 mg/l au niveau des bornes d'approvisionnement et des puits ; 2,0 mg/l dans les camions-citernes aux points de remplissage.

Remarque : La turbidité de l'eau peut réduire l'efficacité de la chloration. Il est recommandé d'obtenir un taux de CRL d'environ 2 mg/l pour l'eau claire/cristalline (<10 unités néphélométriques de turbidité [UNT]) et un taux deux fois plus élevé, soit 4 mg/l, pour l'eau turbide (>10 UNT mais <20 UNT),<sup>b</sup> avec un temps de contact d'au moins 30 minutes. Cependant, même une eau présentant une faible turbidité peut nécessiter le maintien d'un taux élevé de chlore en raison de la charge de carbone organique total qui n'est pas détectée par les analyses néphélométriques. Il est essentiel de mesurer régulièrement le taux de CRL et d'ajuster la chloration si nécessaire.

- Les tests de détection des bactéries indicatrices de contamination fécale (BIF) (*Escherichia coli*, coliformes thermotolérants), sont principalement réservés aux sources d'eau fermées qui ne sont pas régulièrement chlorées (forages, puits protégés, etc.). Pour les sources d'eau ouvertes et celles ayant un CRL faible ou nul, on présume que l'eau est contaminée et nécessite une chloration appropriée. Dans ce cas, les tests de détection des BIF ne sont pas essentiels car cette chloration permet d'obtenir une eau potable. Ils peuvent cependant être utilisés comme tests complémentaires si les ressources le permettent.

Les directives sur la qualité de l'eau de boisson établies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) indiquent qu'aucune BIF ne doit être détectée dans un échantillon de 100 ml d'eau destinée à la consommation. Dans le cas d'une flambée épidémique active, toute eau de boisson doit être rendue propre à la consommation par une chloration adéquate.

Pour les agents pathogènes diarrhéiques courants véhiculés par l'eau, l'assurance d'une eau de boisson salubre<sup>c</sup> repose sur i) un traitement immédiat (chloration) couplé à la mesure du taux de CRL<sup>d</sup> ou ii) la vérification de l'absence de contamination fécale de l'eau (tests de détection des bactéries indicatrices de contamination fécale). Ces mesures doivent être suivies d'analyses régulières pour confirmer la présence d'un taux de chlore adéquats et/ou l'absence de bactéries indicatrices de contamination fécale.

Pour obtenir des informations sur les méthodes d'analyse, se référer aux [Directives de qualité pour l'eau de boisson élaborées par l'OMS](#).

---

<sup>b</sup> Le pH et la température de l'eau peuvent également influencer sur la quantité de chlore à utiliser et le temps de contact.

Néanmoins, l'impact est moindre que la présence de carbone organique total. Dans tous les cas, il est nécessaire de mesurer régulièrement le CRL.

<sup>c</sup> Il faut s'assurer que l'eau potable ne contienne à aucun moment des taux élevés de produits chimiques toxiques. La recherche d'une contamination chimique (arsenic, plomb, etc.) sort du cadre du présent document.

<sup>d</sup> La turbidité de l'eau peut avoir une incidence sur la quantité de chlore requis. La chloration doit être adaptée aux taux de CRL obtenus par l'analyse d'échantillons d'eau séquentiels.

- **Contextes à haut risque (camps de réfugiés, catastrophes naturelles, etc.)**
  - Objectif : prévenir les flambées épidémiques
  - Après une évaluation du site :
    - Présumer une contamination fécale et chlorer immédiatement tout en effectuant une surveillance systématique des taux de CRL pendant la durée du risque d'exposition.
    - Commencer les tests de détection des BIF dans les sources d'eau jugées sûres et destinées à un usage domestique. Si les résultats sont positifs, chlorer immédiatement.
  
- **Flambées épidémiques actives de choléra :**
  - Objectif : atténuer les flambées épidémiques, prévenir la propagation
    - Surveiller les taux de CRL tout au long de la chaîne d'approvisionnement en eau (sources, systèmes de distribution, points de collecte et d'utilisation).<sup>24</sup>
    - Rechercher les BIF aux points de distribution d'eau des sources d'approvisionnement individuelles ou collectives. Si les résultats des tests sont positifs, chlorer immédiatement l'eau aux points de distribution ou l'eau stockée et mesurer régulièrement les taux de CRL.
  
- **Périodes inter-épidémiques et interventions de lutte à long terme :**
  - Objectif : surveiller l'efficacité des services en charge du suivi de la qualité de l'eau de boisson.
    - Rechercher les BIF et/ou mesurer les taux de CRL dans le réseau d'eau de boisson. Si les résultats des tests de détection des BIF sont positifs ou si les taux de CRL sont inférieurs aux valeurs recommandées, la quantité de chlore doit être ajustée immédiatement.

## Surveillance de la présence de *V. cholerae* dans l'environnement

Jusqu'à présent, la recherche de *V. cholerae* dans des échantillons environnementaux et/ou d'eaux usées a été utilisée dans différents contextes et selon différentes méthodes.<sup>24-30</sup> Ces méthodes peuvent être utilisées pour alerter les autorités de la présence ou d'une élévation de la concentration de *V. cholerae*, bien qu'elles ne soient pas faciles à mettre en œuvre et souvent coûteuses. Les bactéries *V. cholerae* ont été recherchées dans les eaux de surface, les puits, les forages, les réserves d'eau domestique et même dans les eaux usées.

Les méthodes actuelles d'identification de *V. cholerae* dans l'environnement sont basées sur l'isolement et l'identification par culture des souches de *V. cholerae* contenues dans des échantillons d'eau. Certains auteurs recommandent la filtration d'un grand volume d'eau par échantillon (jusqu'à 30 L),<sup>28, 30</sup> tandis que d'autres proposent de commencer par une étape d'enrichissement en ajoutant de l'eau peptonée alcaline aux échantillons, ce qui rend ces derniers plus faciles à manipuler mais empêche la quantification de *V. cholerae*.<sup>30, 31</sup> Dans tous les cas, les échantillons doivent être envoyés le plus rapidement possible au laboratoire et ne doivent pas être congelés pendant le transport.<sup>28, 30</sup> Pour distinguer les souches environnementales non toxigènes des souches toxigènes qui circulent pendant une flambée épidémique, l'identification doit comprendre la détermination du sérotype O1 et l'identification des gènes de la toxine cholérique<sup>27, 32, 33</sup> par la méthode de réaction de polymérase en chaîne (Polymerase Chain Reaction, PCR) ou par la méthode enzymatique.<sup>30</sup>

Au-delà des difficultés techniques de détection des souches épidémiques de *V. cholerae*, se pose la question de l'interprétation à savoir si les sources d'eau dans lesquelles *V. cholerae* a été détecté sont à l'origine de l'infection ou si elles ont simplement été contaminées récemment du fait de la circulation du choléra. De plus, l'analyse de l'eau ne fournit qu'un instantané de la présence de l'agent pathogène recherché au moment de l'échantillonnage. Un résultat faussement négatif pour le choléra peut minimiser la nécessité de sécuriser la source d'eau tandis qu'un résultat positif peut être mal interprété et se révéler inutilement alarmant.

En résumé, lors d'une épidémie, les sources d'eau doivent être exemptes de pathogènes. La mesure des taux de chlore résiduel libre et/ou la recherche de coliformes fécaux permet d'évaluer la salubrité de l'eau et appliquer directement les mesures correctives nécessaires. Les analyses pour rechercher la présence du *V. cholerae* n'offrent pas une plus-value à l'objectif de santé publique consistant à garantir la disponibilité d'eau potable.

**Des analyses spécifiques pour détecter *V. cholerae* dans les sources d'eau et l'environnement peuvent être justifiées à des fins de recherche.**

L'objectif principal de l'identification et/ou de la surveillance des bactéries *V. cholerae* toxinogènes de la lignée de la septième pandémie est de soutenir les efforts de recherche qui élargissent notre compréhension fondamentale de la biologie, du cycle biologique, du rôle et de l'interaction des souches pandémiques et non pandémiques de *V. cholerae*, y compris la façon dont de nouvelles souches pandémiques pourraient apparaître. Un programme de recherche prioritaire portera sur les éléments suivants :

- L'étude des écosystèmes aquatiques et des interactions dynamiques qui régissent l'équilibre des populations entre les bactéries, les phages et leur biome afin d'étudier leurs rôles dans la promotion et le maintien de souches de choléra distinctes qui vont ensuite toucher l'Asie, l'Afrique et les Amériques.<sup>34</sup>
- Une recherche systématique de la présence ou de l'absence de souches pandémiques de *V. cholerae* entre les flambées épidémiques afin de comprendre si elles persistent ou non dans les réservoirs aquatiques et contribuent à de nouvelles flambées, si elles peuvent constituer une dose infectieuse pour l'homme à l'état libre dans l'eau et/ou se concentrent pour être à l'origine d'infections via les produits alimentaires récoltés dans l'environnement destinés à la consommation humaine (poissons, mollusques et crustacés) et déterminer si leur isolement a une valeur prédictive d'une flambée épidémique imminente.
- L'amélioration des connaissances relatives à l'impact sur la santé publique de l'évolution des écosystèmes aquatiques sous l'influence de l'activité humaine, de la mondialisation et des changements climatiques, ce qui pourrait éclairer les politiques de gestion et d'exploitation des habitats terrestres et aquatiques.
- La surveillance des souches pandémiques actuelles de *V. cholerae* dans le milieu aquatique au fil du temps dans les pays qui s'efforcent de parvenir à l'élimination durable du choléra ou qui y sont parvenus, afin de déterminer si la persistance aquatique signale une transmission continue du choléra chez les humains qui échappe à la détection du système de surveillance de la santé publique.
- L'étude du rôle des souches non pandémiques de *V. cholerae* O1 et des souches non-O1/non-O139 de *V. cholerae* dans les flambées épidémiques de maladie diarrhéique qui peuvent être une source de confusion quant à la véritable épidémiologie de la souche pandémique.
- L'élaboration d'une nouvelle méthode spécifique, efficace et rentable de détection de *V. cholerae* dans des environnements ciblés.

**Compte tenu des points mentionnés ci-dessus, il est essentiel que les enquêtes utilisent des méthodes permettant de distinguer sur le plan génotypique les souches pandémiques O1 actuelles des souches non pandémiques O1 et des souches non O1-non O139, et que ces souches soient clairement signalées comme telles.**

## Références bibliographiques

1. Wachsmuth IK, Bopp CA, Fields PI, Carrillo C. Difference between toxigenic *Vibrio cholerae* O1 from South America and US gulf coast. *Lancet*. 1991;337(8749):1097-8.
2. Dorman MJ, Domman D, Uddin MI, Sharmin S, Afrad MH, Begum YA, et al. High quality reference genomes for toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* serogroup O139. *Sci Rep*. 2019;9(1):5865.
3. Rashid MU, Rahman Z, Burrowes V, Perin J, Mustafiz M, Monira S, et al. Rapid dipstick detection of *Vibrio cholerae* in household stored and municipal water in Dhaka, Bangladesh: CHoBI7 trial. *Trop Med Int Health*. 2017;22(2):205-9.
4. Saif-Ur-Rahman KM, Parvin T, Bhuyian SI, Zohura F, Begum F, Rashid MU, et al. Promotion of cholera awareness among households of cholera patients: a randomized controlled trial of the cholera-hospital-based-intervention-for-7 days (CHoBI7) intervention. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;95(6):1292-8.
5. Lantagne D, Balakrish Nair G, Lanata CF, Cravioto A. The cholera outbreak in Haiti: where and how did it begin? *Curr Top Microbiol Immunol*. 2014;379:145-64.
6. Pasetto D, Finger F, Camacho A, Grandesso F, Cohuet S, Lemaitre JC, et al. Near real-time forecasting for cholera decision making in Haiti after Hurricane Matthew. *PLoS Comput Biol*. 2018;14(5):e1006127.
7. Gabastou JM, Pesantes C, Escalante S, Narváez Y, Vela E, García L, et al. [Characteristics of the cholera epidemic of 1998 in Ecuador during El Niño]. *Rev Panam Salud Publica*. 2002;12(3):157-64.
8. Bompangue Nkoko D, Giraudoux P, Plisnier PD, Tinda AM, Piarroux M, Sudre B, et al. Dynamics of cholera outbreaks in Great Lakes region of Africa, 1978-2008. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(11):2026-34.
9. 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.
10. Halpern M, Izhaki I. Fish as hosts of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol*. 2017;8:282.
11. Rebaudet S, Sudre B, Faucher B, Piarroux R. Cholera in coastal Africa: a systematic review of its heterogeneous environmental determinants. *J Infect Dis*. 2013;208 Suppl 1:S98-106.
12. Katz LS, Petkau A, Beaulaurier J, Tyler S, Antonova ES, Turnsek MA, et al. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio*. 2013;4(4).
13. Moore S, Thomson N, Mutreja A, Piarroux R. Widespread epidemic cholera caused by a restricted subset of *Vibrio cholerae* clones. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(5):373-9.
14. Mutreja A, Kim DW, Thomson NR, Connor TR, Lee JH, Kariuki S, et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011;477(7365):462-5.
15. Weill FX, Domman D, Njamkepo E, Tarr C, Rauzier J, Fawal N, et al. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017;358(6364):785-9.
16. Domman D, Quilici ML, Dorman MJ, Njamkepo E, Mutreja A, Mather AE, et al. Integrated view of *Vibrio cholerae* in the Americas. *Science*. 2017;358(6364):789-93.
17. Rebaudet S, Piarroux R. Monitoring water sources for environmental reservoirs of toxigenic *Vibrio cholerae* O1, Haiti. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(1):169-70.
18. 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(3):356-63.
19. Baron S, Lesne J, Moore S, Rossignol E, Rebaudet S, Gazin P, et al. No evidence of significant levels of toxigenic *V. cholerae* O1 in the Haitian aquatic environment during the 2012 rainy season. *PLoS Curr*. 2013;5.

20. Hill VR, Cohen N, Kahler AM, Jones JL, Bopp CA, Marano N, et al. Toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in water and seafood, Haiti. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(11):2147-50.
21. Global Task Force on Cholera Control. Cholera Outbreak Response: Field Manual. 2019. <https://www.gtfcc.org/wp-content/uploads/2020/04/gtfcc-cholera-outbreak-response-field-manual.pdf>.
22. Médecins Sans Frontières. Prise en charge d'une épidémie de choléra. 2018. <https://medicalguidelines.msf.org/fr/viewport/CHOL/francais/prise-en-charge-dune-epidemie-de-cholera-23447565.html>
23. Organisation mondiale de la Santé. Guide pour la lutte contre le choléra. 1993. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/36834>.
24. International Federation of the Red Cross and Red Crescent Societies. Household water treatment and safe storage in emergencies. 2008. <https://www.ircwash.org/sites/default/files/IFRCRCS-2008-Household.pdf>
25. Lutz C, Erken M, Noorian P, Sun S, McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol*. 2013;4:375.
26. Theron J, Cilliers J, Du Preez M, Brözel VS, Venter SN. Detection of toxigenic *Vibrio cholerae* from environmental water samples by an enrichment broth cultivation-pit-stop semi-nested PCR procedure. *J Appl Microbiol*. 2000;89(3):539-46.
27. Yadava JP, Jain M, Goel AK. Detection and confirmation of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in environmental and clinical samples by a direct cell multiplex PCR. *Water SA*. p. 611-4.
28. Organización Panamericana de la Salud. [Procedures for the search for *Vibrio cholerae* in environmental samples]. 2010. [https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Muestreo\\_ambiental\\_V\\_cholerae.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Muestreo_ambiental_V_cholerae.pdf).
29. United States Environmental Protection Agency. Standard analytical protocol for *Vibrio cholerae* O1 and O139 in drinking water and surface water. 2010. [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_file\\_download.cfm?p\\_download\\_id=500411&Lab=NHSRC](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=500411&Lab=NHSRC).
30. Centers for Disease Control. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. 2002. <https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-6.pdf>.
31. Ntema VM, Potgieter N, Barnard TG. Detection of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* by molecular and culture based methods from source water to household container-stored water at the point-of-use in South African rural communities. *Water Sci Technol*. 2010;61(12):3091-101.
32. Fields PI, Popovic T, Wachsmuth K, Olsvik O. Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. *J Clin Microbiol*. 1992;30(8):2118-21.
33. Olsvik O, Wahlberg J, Petterson B, Uhlén M, Popovic T, Wachsmuth IK, et al. Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. *J Clin Microbiol*. 1993;31(1):22-5.
34. Nelson EJ, Chowdhury A, Flynn J, Schild S, Bourassa L, Shao Y, et al. Transmission of *Vibrio cholerae* is antagonized by lytic phage and entry into the aquatic environment. *PLoS Pathog*. 2008;4(10):e1000187.