# Épidémie de gastro-entérite en Isère

Novembre 2002







## Institutions et personnes ayant contribué à l'investigation

#### Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) d'Isère, Grenoble

Agnès Alexandre-Bird Laurence Josso Katy Rousselle
Xavier Giraudeau Marie-Noëlle Crisi Sylvette Entresangle
Luc Belleville Marie-France Valentin Murielle Mothais
Lysiane Rey-Giraud Anne-Marie Coquelle Bernard Anxionnaz

#### Cellule interrégionale d'épidémiologie d'intervention (Cirei) Rhône-Alpes, Lyon

Nathalie Encrenaz (Programme de formation à l'épidémiologie de terrain)

#### Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice

Estelle Checlair Eugénia Gomes do Espirito Santo Pascal Beaudeau Hélène Tillaut (Programme de formation à l'épidémiologie de terrain)

#### Laboratoire de virologie du centre hospitalier universitaire de Dijon

Evelyne Kohli

#### Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer), Nantes

Pierre Le Cann

Rapport rédigé par Hélène Tillaut, Nathalie Encrenaz, Estelle Checlair, Eugénia Gomes do Espirito Santo, Pascal Beaudeau.

#### Liste des abréviations

**AEP**: Adduction d'eau potable **CHU**: Centre hospitalier universitaire

Cirei : Cellule interrégionale d'épidémiologie d'intervention

CNR: Centre national de référence

Ddass: Direction départementale des affaires sanitaires et sociales

**DUP**: Déclaration d'utilité publique

GE: gastro-entérite

**GEA** : gastro-entérite aiguë **IC** : Intervalle de confiance

**Ifremer** : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer **Insee** : Institut national de la statistique et des études économiques

InVS: Institut de veille sanitaire

RR: Risque relatif

Sise-Eaux: Système d'information santé / environnement eaux destinées à la consommation humaine

Step: Station d'épuration

#### Résumé

#### Introduction

Le 19 novembre 2002, la Ddass de l'Isère est alertée de la survenue d'un nombre élevé de cas de gastroentérite dans les communes d'Apprieu, Colombe, Saint-Blaise-du-Buis et Réaumont desservies par le même réseau d'eau. Une investigation à visée descriptive et analytique a été réalisée afin de confirmer l'existence d'une épidémie et d'en préciser l'origine infectieuse et/ou environnementale.

#### Méthode

Une enquête auprès des pharmaciens et des médecins généralistes ayant accepté de participer a permis de recueillir le nombre de consultations totales et pour gastro-entérite avant, pendant et après la période épidémique ainsi que la consommation des principaux médicaments utilisés pour traiter ces affections. Une enquête de cohorte rétrospective a été conduite sur un échantillon de 176 foyers inscrits sur les listes téléphoniques (soit 521 personnes) des quatre communes concernées. Les sujets ont été inclus par sondage aléatoire en grappe à 2 degrés. Un cas était défini comme toute personne résidente d'une des quatre communes ayant présenté diarrhée ou vomissements entre le 15 et le 28 novembre 2002. L'exposition au facteur de risque était définie comme la consommation habituelle d'eau du robinet non bouillie pour la boisson. Des analyses virologiques des selles des malades et de l'eau du réseau, ainsi qu'une enquête environnementale ont été réalisées.

#### Résultats

Les consultations pour gastro-entérite des médecins généralistes des communes ont représenté 20 % des consultations totales entre le 18 et le 24 novembre 2002 (8 % après le 24 novembre). Une augmentation dans la consommation de médicaments pour traiter la gastro-entérite aigue confirme cette observation. Le taux d'attaque observé dans la cohorte a été de 41 % (212/521). Le risque de survenue d'une gastro-entérite était plus élevé chez les consommateurs d'eau du robinet (RR=4,6 IC<sub>95 %</sub>=[2,6-8,0]) ; ce risque augmentait avec la quantité d'eau consommée. Les analyses virologiques ont montré la présence de Norovirus du génogroupe II dans les selles de 7 des 9 malades prélevés et dans l'eau du réseau. Un dysfonctionnement de la station d'épuration située en amont du captage et l'inondation du périmètre de protection immédiate lors des fortes pluies ayant précédé l'épidémie, ainsi que le mauvais état du puits de captage ont entraîné la contamination du réseau d'eau potable par des eaux parasites provenant de la rivière.

#### Conclusion

Les conditions ayant entraîné la contamination du réseau par des eaux usées ne sont pas exceptionnelles ; d'autre part, la possibilité d'intrusion d'eaux parasites provenant de la rivière dans le captage lors de l'inondation du périmètre de protection immédiat est connue depuis 1994, les travaux préconisés n'ont pas été réalisés. L'ensemble des investigations menées montre qu'une épidémie du même type est susceptible de se reproduire, le captage alimentant ces quatre communes d'Isère doit être considéré comme une installation à risque.

## **Sommaire**

I. Cor	ntexte	<b>7</b>
II. Ob	jectifs de l'investigation	<b>7</b>
III. M	éthodes	8
III.1 E	Enquête auprès des médecins et des pharmaciens des quatre communes	8
III.2 E	Enquête de cohorte rétrospective dans quatre communes d'Isèred'	8
	I. Définition de la population	
2	2. Echantillonnage et effectif de la cohorte	9
3	3. Recueil des données	9
4	I. Analyse des données	10
III.3 A	Analyses microbiologiques	10
1	I. Analyses virologiques des selles	10
2	2. Analyses microbiologiques de l'eau	10
III.4 E	Enquête environnementale	10
IV. Ré	sultats de l'enquête chez les pharmaciens et médecins libéraux	11
IV.1 (	Consultations des médecins libéraux	11
IV.2 I	Médicaments vendus pour traiter les GEA par des pharmaciens	11
V. Ré	sultats de l'enquête de cohorte retrospective	12
V.1 [	Description de la cohorte	12
1	I. Les répondants	12
2	2. Représentativité de la cohorte	12
3	3. Modalités d'alimentation en eau potable	14
4	1. Consommation d'eau dans la cohorte avant la diffusion des restrictions d'usage	14
V.2 [	Description de l'épidémie	16
1	I. Taux d'attaque	16
2	2. Courbe épidémique	17
3	3. Description des symptômes	18
4	I. Recours aux soins et impact social	19
5	5. Impact des mesures de restriction d'usage de l'eau	20
6	6. Recherche des facteurs de risque	21
7	7. Fraction de risque attibuable et estimation du nombre de malades dans les communes d'Apprieu, Saint-Blaise-du-Buis, Réaumont et Colombe	23

VI. Résultats des analyses microbiologiques	24
VI.1 Analyses virologiques des selles	24
VI.2 Analyses microbiologiques de l'eau	24
1. Résultats du contrôle sanitaire	24
2. Analyses spécifiques	24
VII. Résultats de l'enquête environnementale	25
VII.1 Description du captage, traitement et distribution de l'eau du réseau	25
VII.2 Environnement du captage	26
VII.3 Protection du puits de captage	27
VII.4 Qualité des eaux	30
VII.5 Situation météorologique juste avant l'épidémie	32
VII.6 Hypothèses de contamination du réseau d'eau	32
VIII. Discussion	33
IX. Recommandations	35
IX.1 Investigations d'épidémie	35
IX.2 Gestion de l'eau potable	35
X. Conclusion	35
Références	36
Annexes	37

#### I. Contexte

La Ddass de l'Isère a été informée le mardi 19 novembre 2002 au matin par un particulier de la survenue de nombreux cas de gastro-entérite dans les communes d'Apprieu, Saint-Blaise-du-Buis, Réaumont et Colombe. Deux pharmaciens installés à Apprieu et La Murette, dans l'Isère, ont par la suite confirmé cette recrudescence de cas. Ils avaient répertorié entre 300 et 400 prescriptions pour gastro-entérite à partir du 17 novembre parmi les résidents des quatre communes. Les médecins et pharmaciens contactés ont rapporté une activité importante de diagnostics pour gastro-entérite aiguë (GEA) avec un tableau clinique dominé par des vomissements, fièvre, nausées, douleurs abdominales et peu de diarrhées. Huit coprocultures ont été réalisées au CHU Dijon au cours de la 2ème semaine d'épidémie et ont montré la présence de Norovirus dans sept prélèvements.

Ces quatre communes étant desservies par un même réseau de distribution d'eau, la consommation d'eau du robinet a été très rapidement soupçonnée d'être à l'origine de l'épidémie. Dès le 19 novembre la Ddass a fait passer un avis recommandant la non-consommation de l'eau du robinet et des mesures pour l'augmentation de la chloration de l'eau ont été mises en oeuvre. Ce même jour, l'analyse de l'eau du réseau d'adduction (AEP) a montré des signes bactériologiques de contamination fécale (*E. coli*, entérocoques). Le Service santé-environnement de la Ddass a réalisé ultérieurement des prélèvements d'eau en des points du réseau où le temps de séjour est prolongé pour des analyses de virus. Les échantillons ont été envoyés à l'Ifremer.

La Ddass a souhaité ainsi qu'une enquête soit menée pour avoir, d'une part, une description détaillée de l'épidémie qui témoigne de l'existence de ce type de problème et, d'autre part, pour qu'une meilleure compréhension du problème serve à améliorer la gestion et la qualité de l'eau distribuée.

D'autre part, le département santé-environnement de l'InVS, ayant inclus dans son programme d'activité un projet visant l'amélioration de la détection et des investigations d'épidémies d'origine hydrique, considère que la réalisation de cette enquête permet de documenter de manière précise ce type d'évènements, ceci afin d'améliorer la connaissance des microorganismes responsables de gastro-entérites d'origine hydrique dans le contexte français.

### II. Objectifs de l'investigation

- Confirmer l'existence d'une épidémie de gastro-entérite survenue à partir du 15 novembre dans les communes d'Apprieu, Réaumont, Colombe et Saint-Blaise-du-Buis.
- Décrire l'épidémie en termes de taux d'attaque, de répartition des cas dans le temps et dans l'espace, décrire les caractéristiques des personnes atteintes par âge, sexe et commune, préciser le tableau clinique et appréhender la proportion de cas médicalisés.
- Connaître l'agent ou les agents pathogènes à l'origine de cette épidémie.
- Tester l'hypothèse de consommation de l'eau du réseau pour expliquer l'origine de l'épidémie.
- Emettre des hypothèses sur les causes de la contamination du réseau d'eau.
- Décrire les effets des mesures de gestion mises en place par la Ddass (recommandation de ne pas consommer l'eau (cf. avis diffusé par les mairies en annexe I) et surchloration).

#### **III. Méthodes**

## III.1 Enquête auprès des médecins et des pharmaciens des quatre communes

Les caractéristiques de l'épidémie sont appréhendées au travers d'une enquête auprès des médecins généralistes des quatre communes et auprès des pharmacies desservant ces communes.

Six médecins généralistes exercent sur les communes d'Apprieu, Colombe, Saint-Blaise-du-Buis et Réaumont. Deux médecins ont accepté de fournir des informations concernant :

- le nombre de consultations par jour entre le 16 novembre et le 11 décembre 2002 ;
- le nombre de consultations par jour pour gastro-entérite.

Deux pharmacies desservent les quatre communes. Les pharmaciens ont été interrogés sur la vente de médicaments entre le 11 et le 30 novembre 2002. Les médicaments les plus vendus pendant cette période sont des médicaments utilisés pour le traitement des gastro-entérites : Lacteol, Motilium, Panfurex, Spasfon, Vogalene, Carbolevure, Smecta.

Les données recueillies ont été exploitées sous Excel.

## III.2 Enquête de cohorte rétrospective dans quatre communes d'Isère

Une enquête de cohorte rétrospective menée par sondage au sein de la population des quatre communes a permis de :

- obtenir une description plus précise des cas ;
- tester l'hypothèse d'une contamination par l'eau du réseau ;
- décrire les effets des mesures de gestion mises en œuvre.

L'événement étudié est la survenue d'une gastro-entérite infectieuse entre le 15 et le 28 novembre 2002. L'exposition étudiée est la consommation d'eau du robinet entre le 15 et le 28 novembre 2002.

#### 1. Définition de la population

#### 1) Définition de cas

Un cas a été défini comme toute personne résidente des communes d'Apprieu, Réaumont, Saint-Blaisedu-Buis et Colombe ayant présenté diarrhée ou vomissement entre le 15 et le 28 novembre 2002.

#### 2) Population exposée

Toutes les personnes incluses dans la cohorte ont été considérées comme étant potentiellement exposées sans distinction du mode d'alimentation du foyer en eau potable. En effet, les personnes alimentées par un puits ont pu consommer de l'eau du réseau des communes en dehors de leur habitation. L'exposition a été définie comme la consommation d'eau du robinet non chauffée comme boisson ainsi que la consommation de boissons allongées d'eau du robinet froide entre le 15 et le 20 novembre 2002, date de la diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau.

#### 3) Population cible

La population cible pour cette cohorte rétrospective est constituée de l'ensemble des personnes ayant séjourné au moins un jour dans les communes de Colombe, Apprieu, St-Blaise-du-Buis, Réaumont entre le 15 et le 28 novembre 2002.

#### 4) Population source

La population source est composée par l'ensemble des résidents des quatre communes précitées disposant d'un numéro de téléphone inscrit sur les listes téléphoniques de France Télécom. Sur l'ensemble des quatre communes, 1 550 foyers disposent d'une ligne téléphonique (Apprieu : 697, Réaumont : 226, Saint-Blaise-du-Buis : 221, Colombe : 413, liste rouge non incluse). En 1999, 1 882 foyers ont été recensés par l'Insee pour ces quatre communes (Apprieu : 859, Réaumont : 263, Saint-Blaise-du-Buis : 282, Colombe : 478). La proportion de foyers non inscrits sur les listes téléphoniques est de 18 %.

#### 2. Echantillonnage et effectif de la cohorte

La base de sondage est constituée par la liste des numéros de téléphone de l'annuaire pour les quatre communes. Les sujets sont inclus par sondage aléatoire en grappe à 2 degrés. Le 1<sup>er</sup> degré correspond aux foyers tirés au sort à partir de l'annuaire téléphonique, le 2<sup>ème</sup> degré (grappe) étant constitué de l'ensemble des membres résidents au foyer. Les numéros téléphoniques appelés sont déterminés par tirage au sort systématique à partir de l'annuaire avec un pas de sondage, le premier numéro de téléphone ayant été tiré au sort aléatoirement à l'intérieur du pas de sondage.

Pour une fréquence d'exposition de  $80~\%^1$  et une fréquence attendue de la maladie chez les sujets non exposés au facteur de risque recherché de 10~% en période épidémique², il est nécessaire d'inclure 189~ sujets exposés (soit 236~ sujets au total), pour mettre en évidence un risque relatif de 3~ avec une puissance de 80~% au risque  $\alpha$ =0,05. Cependant, la faible variance attendue à l'intérieur de chaque foyer concernant la consommation d'eau du réseau risque d'être responsable d'une perte de précision de la relation consommation d'eau/gastro-entérites, incitant à augmenter le nombre de sujets à inclure. En prenant en compte un effet sondage de 2, une proportion attendue de non-répondants de 40~% (d'après les données d'enquêtes similaires antérieures : Gourdon,  $2000^3~$  et Dracy-le-Fort,  $2001^4$ ) et un nombre moyen de personne par foyer de 2,3~ (moyenne nationale), le nombre calculé de foyers à interroger est de 287, qu'on arrondira à 300.

#### 3. Recueil des données

Les données ont été recueillies par appel téléphonique auprès de la population tirée au sort entre le 11 et le 18 décembre 2002. Un questionnaire a été complété pour chaque membre du foyer (en général, la mère de famille répondait pour l'ensemble des membres du foyer) et recueillait les données suivantes (cf. questionnaire en annexe II) :

- Nombre de personnes vivant au foyer ;
- Données démographiques ;
- Modalités d'alimentation en eau potable ;
- Consommation de plats cuisinés, fruits de mer, pâtisseries ou lait cru ;
- Consommation d'eau du robinet avant et après le 20 novembre, ébullition ou non de l'eau du robinet après le 20 novembre ;
- Consommation d'eau en bouteille avant et après le 20 novembre ;
- Information reçue concernant les mesures de restriction, par quel moyen (presse écrite, télévision, radio, courrier...);
- Type et date de début des symptômes, durée des symptômes, impact médical et social,

<sup>1.</sup> Dans cette région, les consommateurs d'eau du robinet sont très majoritaires, Beaudeau et al., 2003, ERS, Vol.2 n°3: 147-158

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>. La probabilité annuelle de gastro-entérite est de 0,8 pour un individu. Sur une période de 15 jours, le nombre attendu de personnes atteintes d'une gastro-entérite est de 3/100. En période épidémique, la fréquence attendue de la maladie chez les personnes non exposées au facteur de risque principal est estimée à 10 % compte tenu des autres expositions possibles (contact avec un cas,...).

<sup>3.</sup> Institut de veille sanitaire et ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Epidémie de gastro-entérite à germes multiples liée à la consommation de l'eau de distribution, Gourdon, Lot (46), 1-48, 2000

<sup>4.</sup> Institut de veille sanitaire, Epidémie de gastro-entérite à Cryptosporidium, Dracy-le-Fort, Saône et Loire (71), septembre 2001, 1-72, 2003

#### 4. Analyse des données

Les données ont été saisies et analysées avec le logiciel Epilnfo 2002. La force de l'association entre l'exposition et la survenue d'une gastro-entérite a été évaluée par l'estimation du risque relatif et de son intervalle de confiance à 95 %, les tests de significativité effectués sont les tests du Khi². L'influence de tiers facteur a été testée ainsi que l'existence d'une relation dose-effet. Les individus ayant une probabilité d'inclusion dans l'échantillon égale, le design de l'échantillonnage n'a pas été pris en compte pour le calcul de prévalence ni pour la construction de l'intervalle de confiance à 95 %.

#### III.3 Analyses microbiologiques

Des analyses microbiologiques sur les selles des patients et sur l'eau du réseau permettent de connaître les microorganismes pathogènes à l'origine de l'épidémie et de tester l'hypothèse d'une contamination du réseau d'eau par le même agent infectieux que celui impliqué chez les malades.

#### 1. Analyses virologiques des selles

Des prélèvements de selles de malades ont donc été envoyés au CHU de Dijon pour une recherche de virus.

#### 2. Analyses microbiologiques de l'eau

Deux prélèvements d'eau avaient été effectués sur le réseau par le service santé-environnement de la Ddass dès le mardi 19 novembre, lorsque l'épidémie battait son plein. L'un des échantillons a été utilisé pour faire les analyses bactériologiques classiques du contrôle sanitaire. Des analyses particulières de microorganismes pathogènes devaient être réalisées sur le 2ème échantillon ; cependant, suite à une erreur, ce prélèvement a été jeté. De nouveaux échantillons d'eau ont été prélevés le 22 novembre 2002 dans des endroits du réseau où les microorganismes pathogènes étaient susceptibles d'avoir survécu à l'ajout de chlore en grande quantité :

- A la station de refoulement de Planche Cattin (commune d'Apprieu) ;
- A la vanne de vidange du réservoir de Plan bois (commune d'Apprieu) ;
- Chez un particulier au lieu-dit le Tramoud (commune de Colombe).

Ces prélèvements (3 échantillons de 1L) ont été placés en glacière réfrigérée et acheminés par transporteur au laboratoire de microbiologie de l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer) à Nantes pour une recherche de virus suivant le protocole décrit en annexe IV.

L'exploitant de la ressource desservant les quatre communes a fait réaliser des recherches de parasites (*Giardia* et *Cryptosporidium* selon la norme NFT 90-455).

#### III.4 Enquête environnementale

La réalisation d'une enquête environnementale permet d'émettre des hypothèses sur les causes possibles de contamination du réseau d'adduction d'eau. Cette enquête comporte plusieurs volets :

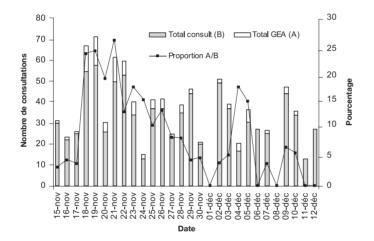
- Description de la production d'eau potable : captage (type et contexte géologique), traitement appliqué, réseau d'adduction. Ce volet a été renseigné par une visite du captage et par une rencontre de l'exploitant ainsi que par la documentation présente au service santé environnement de la Ddass 38 ;
- Description de l'environnement du captage, renseignée par une visite du site et des alentours à l'amont du captage et par la documentation présente au service santé environnement de la Ddass 38 ;
- Description de la qualité de l'eau distribuée aux habitants des quatre communes desservies renseignée par les données de la base Sise-Eaux du ministère de la santé ;
- Description des conditions climatiques avant la survenue de l'épidémie renseignée par les données de Météo-France.

## IV. Résultats de l'enquête chez les pharmaciens et médecins libéraux

#### IV.1 Consultations des médecins libéraux

Entre le 16 novembre et le 12 décembre 2002, le nombre total de consultations réalisées par deux médecins libéraux généralistes installés dans les communes d'Apprieu et de Colombes était de 868 dont 98 (11 %) consultations pour des symptômes de gastro-entérite (GE). Le nombre et la proportion de consultations pour GE ont augmenté à partir du 18 novembre (Figure 1). La proportion de consultations pour GE était de 6 % avant le 18 novembre. Entre le 18 et le 24 novembre, cette proportion atteint 21 % contre 9 % entre le 25 et le 30. Ces chiffres ont diminué sensiblement à partir du 26 novembre jusqu'au 1<sup>er</sup> décembre. La semaine suivante, la proportion de consultations pour gastro-entérite par rapport au nombre de consultations totales semble de nouveau en hausse.

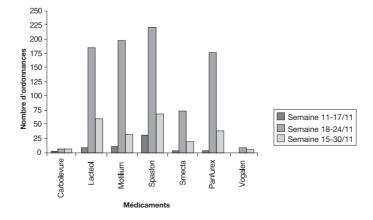
Figure 1. Nombre de consultations générales et pour GEA pour deux médecins libéraux entre le 15 novembre et le 12 décembre 2002, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



## IV.2 Médicaments vendus pour traiter les GEA par des pharmaciens

Les informations sur la figure 2 concernent les ventes de médicaments des deux pharmacies les plus fréquentées par les habitants des quatre communes. Entre le 18 et le 24 novembre une augmentation de la vente de médicaments utilisés couramment pour traiter les gastro-entérites aiguës, a été observée, suivie par une diminution à partir du 25 novembre. Les médicaments présentés à la figure 2 sont ceux pour lesquels une augmentation des ventes a été observée sur l'ensemble des médicaments vendus par ces deux pharmacies.

Figure 2. Vente de médicaments pour le traitement de GEA dans deux pharmacies entre le 11 et le 30 novembre 2002, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



## V. Résultats de l'enquête de cohorte rétrospective

#### V.1 Description de la cohorte

#### 1. Les répondants

Lors de l'enquête en population générale, 303 foyers des communes d'Apprieu, Colombe, Réaumont et St-Blaise-du-Buis ont été contactés ; 127 (42 %) foyers ont été exclus pour diverses raisons :

- 49 ont refusé de répondre à l'enquête (39 %);
- 60 sans réponses après un minimum de 3 appels à 3 moments différents de la journée (47 %);
- 18 numéros non attribués (14 %).

Au total, 176 foyers ont été inclus et 521 personnes ont été interrogées.

L'âge moyen des personnes incluses dans la cohorte est de 34 ans, la médiane est de 35 ans (étendue de 0 à 89 ans). Le sexe ratio H/F est de 1,1 (268/248, le sexe n'était pas renseigné pour 5 personnes). La répartition de la cohorte par classe d'âge et par sexe est présentée dans le tableau 1 (l'âge n'était pas renseigné pour 6 personnes).

Tableau 1. Répartition de la cohorte selon l'âge et le sexe, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Classes d'âge	Hommes n (%)	Femmes n (%)	Total n (%)
0-4	24 (9,1)	14 (5,7)	38 (7,5)
5-14	42 (15,9)	39 (15,9)	81 (15,9)
15-39	85 (32,2)	84 (34,1)	169 (33,1)
40-64	98 (37,1)	86 (35,0)	184 (36,1)
65+	15 (5,7)	23 (9,3)	38 (7,5)
Total	264 (100,0)	246 (100,0)	510* (100,0)

<sup>\*</sup> L'âge ou le sexe n'étaient pas renseignés pour 11 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

#### 2. Représentativité de la cohorte

#### 1) Représentativité par âge et sexe

Les effectifs par classes d'âge de la cohorte sont comparés aux données du recensement Insee de 1999 pour les quatre communes d'Apprieu, Réaumont, Colombe et Saint-Blaise-du-Buis (cf. tableau 2). La distribution des classes d'âge de la cohorte est représentative de la distribution réelle de la population des quatre communes d'Apprieu, Saint-Blaise-du-Buis, Réaumont et Colombe (p=0,06).

Tableau 2. Effectifs observés et attendus dans la cohorte par classes d'âge, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Classe d'âge	Effectif de la c	ohorte %	Effectif I	nsee %	Effectif attendu
0-4	40	7,8	301	5,4	29
5-14	84	16,3	925	16,5	85
15-39	169	32,8	1842	32,9	169
40-64	184	35,7	1942	34,6	179
65+	38	7,4	595	10,6	53
Total	515*	100,0	5605	100,0	515

<sup>\*</sup> L'âge n'était pas renseigné pour 6 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

Le tableau 3 présente les effectifs observés et attendus par sexe dans la cohorte, l'analyse ne montre pas de différence significative entre les répartitions par sexe observées et attendues de la cohorte (p=0,60).

Tableau 3. Effectifs observés et attendus dans la cohorte par sexe, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Sexe	Effectif de la cohorte	%	Effectif Insee	%	Effectif attendu
Н	268	51,9	2846	50,8	262
F	248	48,1	2759	49,2	254
Total	516*	100,0	5605	100,0	516

<sup>\*</sup> Le sexe n'était pas renseigné pour 5 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

#### 2) Représentativité de la cohorte selon la taille des foyers

La comparaison de la taille moyenne des ménages dans la cohorte (2,96 personnes par foyer ; écart-type=1,30) avec la taille moyenne des foyers dans la population cible (2,96 personnes par foyer, données Insee, 1999) ne montre pas que ces 2 moyennes sont différentes.

#### 3) Représentativité de la cohorte au sein des communes

**Tableau 4.** Répartition de la population au sein des quatre communes, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Commune	Effectif observé	%	Effectif Insee	%
Apprieu	286	54,9	2530	45,1
Colombe	48	9,2	1430	25,5
Réaumont	85	16,3	791	14,1
St Blaise	102	19,6	854	15,2
Total	521	100,0	5605	100,0

La répartition de la population de la cohorte dans les quatre communes est différente significativement (p=8.10<sup>-16</sup>) de la répartition de la population source. Cette différence s'explique par une erreur dans la base de sondage, une partie de la population de Colombe n'a pas été interrogée. La base de sondage était constituée par les pages de l'annuaire des quatre communes. Pour la commune de Colombe, une page n'a pas été prise en compte : 73 foyers de Colombe n'ont donc pas été interrogés. En considérant un taux de non réponse de 42 % identique à celui de la cohorte, 31 foyers auraient du être inclus dans la cohorte, soient 91 personnes en considérant une taille de foyer identique dans cette sous population que dans la population de la cohorte. L'influence de cette erreur sera évaluée en testant les hypothèses les plus défavorables quant à la consommation d'eau de cette partie de la population.

#### 3. Modalités d'alimentation en eau potable

Pour les quatre communes considérées, la très grande majorité des foyers (170/176, soit 97 %) était alimentée par le réseau d'eau potable. Quatre foyers déclarent être alimentés par un puits uniquement et 2 foyers possèdent les 2 modes d'alimentation (cf. tableau 5).

**Tableau 5.** Répartition de la cohorte selon le mode d'alimentation en eau, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Mode d'alimentation en eau	Nb de foyers n (%)	Nb de personnes n (%)
Réseau	170 (96,6)	503 (96,5)
Puits	4 (2,3)	14 (2,7)
Les 2	2 (1,1)	4 (0,8)
Total	176 (100,0)	521 (100,0)

Dans le cadre de cette analyse, toutes les personnes incluses dans la cohorte sont considérées comme étant potentiellement exposées sans distinction du mode d'alimentation du foyer en eau potable. En effet, les personnes alimentées par un puits ont pu consommer de l'eau du réseau des communes en dehors de leur habitation.

## 4. Consommation d'eau dans la cohorte avant la diffusion des restrictions d'usage

#### 1) Nature de l'eau consommée avant les mesures de restriction d'usage de l'eau

Le tableau 6 présente le nombre et la proportion de personnes exposées au facteur de risque investigué dans la cohorte. Parmi les résidents des quatre communes, 395 personnes (soit 76 %) déclarent consommer de l'eau du robinet parfois ou exclusivement ; et 229 personnes (soit 44 %) consomment de l'eau en bouteille parfois ou exclusivement. D'autre part, parmi les personnes qui déclarent ne pas consommer de l'eau du robinet, 22/126 (18 %) déclarent consommer des boissons allongées d'eau du robinet.

**Tableau 6.** Consommateurs d'eau du robinet avant les mesures de restriction d'usage de l'eau, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Effectif	%
Consommateurs d'eau du robinet	417	80,0
Non consommateurs d'eau du robinet	104	20,0
Total	521	100,0

#### 2) Quantité d'eau consommée

La quantité médiane d'eau du robinet consommée est de 5 verres par jour et par personne, soit environ 1 litre. Pour les personnes consommant de l'eau en bouteille, la quantité médiane bue est de 4 verres par jour et par personne. Les caractéristiques de la distribution de la quantité d'eau consommée, mesurée en nombre de verres, sont présentées dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Caractéristiques de la distribution de la quantité d'eau consommée, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Min	P25*	Médiane	P75*	Max	Mode	Moyenne	Ecart-type
1 verre/j	3 verres/j	5 verres/j	8 verres/j	15 verres/j	5 verres/j	5,2 verres/j	2,4 verres/j

<sup>\*</sup>P 25 et P75 : percentiles 25 et 75

#### 3) Consommation d'eau du robinet selon l'âge

Le tableau 8 présente la consommation d'eau du robinet selon les différentes classes d'âge.

**Tableau 8.** Consommation d'eau du robinet par classes d'âge avant la diffusion des mesures de restriction d'usage, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Classe d'âge	Consommateurs	Total	%
0-4	26	40	65,0
5-14	76	84	90,5
15-39	141	169	83,4
40-64	144	184	78,3
65+	25	38	65,8
Total	412	515*	80,0

<sup>\*</sup> L'âge n'était pas renseigné pour 6 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

Chez les personnes âgées de plus de 65 ans et de moins de 5 ans, les consommateurs d'eau du robinet sont moins nombreux que dans les autres classes d'âge. Cependant, l'analyse statistique ne permet pas de mettre en évidence une différence significative entre les consommations d'eau par classe d'âge (p=0,47).

#### 4) Consommation d'eau du robinet selon les communes

L'analyse statistique ne met pas en évidence une différence significative entre les consommations d'eau par commune (cf. tableau 9 ; p=0,66).

**Tableau 9.** Consommation d'eau du robinet par commune avant la diffusion des mesures de restriction d'usage, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Commune	Consommateurs	Total	%
Apprieu	216	286	75,5
Saint-Blaise-du-Buis	87	102	85,3
Réaumont	73	85	85,9
Colombe	41	48	85,4

### V.2 Description de l'épidémie

#### 1. Taux d'attaque

Parmi les 521 personnes interrogées, 212 remplissent la définition de cas, soit un taux d'attaque de 41 %. Le tableau 10 présente les taux d'attaque par classe d'âge. L'âge médian des cas est de 29 ans.

Tableau 10. Taux d'attaque par classe d'âge, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Classe d'âge	Nb. cas	Total	Taux d'attaque (%)	ittaque (%) RR I	
0-4	20	40	50,0	2,71	1,3 5,67
5-14	41	84	48,8	2,65	1,31 5,36
15-39	81	169	47,9	2,60	1,31 5,17
40-64	60	184	32,6	1,77	0,88 3,57
65+	7	38	18,4	18,4 Réf.	
Total	209	515	40,6		

<sup>\*</sup> L'âge n'était pas renseigné pour 6 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

Les taux d'attaque par classes d'âge sont significativement différents (p=0,02). Le calcul des risques relatifs dans les différentes classes d'âge par rapport à la classe d'âge des personnes âgées de plus de 65 ans, qui présente le plus faible taux d'attaque, montre que les personnes plus jeunes ont eu un risque significativement plus élevé d'être malades que les personnes plus âgées. Le risque de la survenue d'une gastro-entérite diminue avec l'âge (Khi² de tendance linéaire = 15; p<0,0001).

Le tableau 11 présente les taux d'attaque par sexe dans la cohorte.

Tableau 11. Taux d'attaque par sexe, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Sexe	Nb. cas	Total	Taux d'attaque (%)	RR	IC <sub>95%</sub>
Hommes	104	268*	38,8	0,91	0,74 1,12
Femmes	106	248*	42,7	Réf	

<sup>\*</sup> Le sexe n'était pas renseigné pour 5 personnes (au total, 521 personnes dans la cohorte)

L'analyse statistique ne montre pas de différence significative entre les taux d'attaque par sexe. Les taux d'attaque par communes sont donnés dans le tableau 12.

Tableau 12. Taux d'attaque par commune, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Commune	Nb. cas	Total	Taux d'attaque (%)	RR	IC <sub>95%</sub>	
Apprieu	97	286	33,9 Réf.		-	-
Colombe	20	48	41,7	1,23	0,85 1,7	78
St Blaise	48	102	47,1	1,39	1,07 1	,8
Réaumont	47	85	55,3	1,63	1,27 2,0	09
Total	212	521	40,7			

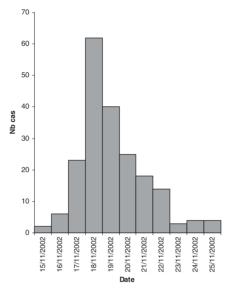
Les taux d'attaque ont été significativement différents entre les communes (p=0,03).

#### 2. Courbe épidémique

#### 1) Courbe épidémique globale

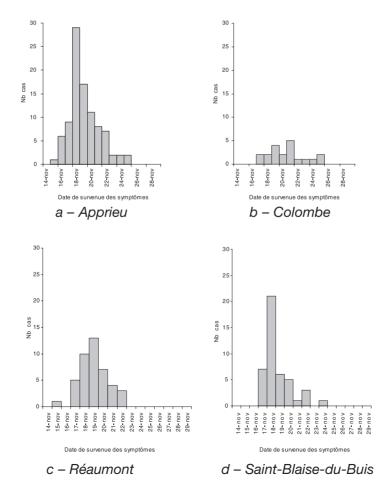
La forme de la courbe épidémique plaide en faveur d'une source commune ponctuelle (cf. figure 3).

Figure 3. Distribution des cas en fonction de la date de survenue des symptômes, épidémie de gastroentérite, Isère, novembre 2002



#### 2) Courbe épidémique par commune

Figure 4. Distribution des cas en fonction de la date de survenue des symptômes par commune, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



L'observation des courbes épidémiques par commune (figure 4) montre que l'épidémie a commencé le 16 novembre à Apprieu et le 17 novembre dans les autres communes. Le maximum du nombre de cas est apparu le 18 novembre à Apprieu et Saint-Blaise-du-Buis et le 19 novembre à Réaumont et Colombe.

#### 3. Description des symptômes

Le tableau 13 présente les effectifs et les pourcentages des cas ayant déclaré chacun des symptômes. Parmi les cas ayant déclarés d'autres symptômes, 72 % ont déclaré une fatigue.

Tableau 13. Fréquence des symptômes déclarés par les cas, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Symptôme	Effectif	%	Total
Diarrhée	175	82,9	211*
Vomissements	123	60,0	205*
Douleurs abdominales	169	84,1	201*
Nausées	143	72,2	198*
Fièvre	53	27,5	193*
Maux de Tête	90	46,2	195*
Perte d'appétit	140	69,7	201*
Autres	25	12,4	202*

<sup>\* 212</sup> cas /521, les données manquantes sont des données non renseignées

Les cas déclarés avant le mercredi 20 novembre présentaient vomissements et diarrhées alors qu'après le mercredi 20 novembre, la diarrhée restait le symptôme prédominant (cf. tableau 14).

**Tableau 14.** Présence de diarrhées et vomissements en fonction de la date d'apparition des symptômes, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002

Date déclaration	Symptôme	Effectif	%	Total
Avant 20/11/2002	Diarrhées	108	81,8	132*
	Vomissements	87	67,4	129*
Après 20/11/2002	Diarrhées	59	86,8	68*
	Vomissements	33	49,3	67*

<sup>\*</sup> La date de déclaration des symptômes était renseignée pour 201/212 cas, 133 cas sont apparus avant le 20/11/2002, 68 cas sont apparus après cette date. Les données manquantes sont des données non renseignées.

Le tableau 15 présente les caractéristiques des distributions des nombres de selles et de vomissements par jour pour lequel la maladie était la plus intense.

**Tableau 15.** Distributions des nombres de selles liquides et de vomissements par jour, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Minimum	P25*	Médiane	P75*	Maximum	Mode
Diarrhées	1	3	4	6	20	4
Vomissements	1	2	3	4	20	3

<sup>\*</sup> P25 et P75 : percentiles 25 et 75.

La durée des symptômes varie de 1 à 15 jours, la médiane est de 3 jours. Le jour de l'interrogatoire, 12 personnes ont déclaré que leurs symptômes persistaient (diarrhée : 5/12, douleurs abdominales : 7/12, perte d'appétit : 5/12).

#### 4. Recours aux soins et impact social

#### 1) Recours à des activités de soins et modification des activités quotidiennes

Le tableau 16 présente les effectifs et pourcentages des cas ayant eu recours à une consultation et à la consommation de médicaments, ainsi que le nombre de cas qui ont arrêté leurs activités, qui sont restés alités et les cas hospitalisés.

Tableau 16. Effectifs et pourcentages des cas ayant eu recours à des activités de soins et ayant modifié leurs activités, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Nb. cas ayant eu recours à :	Effectif	%
Consultation d'un médecin	63	210*	30,0
Consommation de médicaments	164	208*	78,8
Arrêt des activités	106	209*	50,7
Alitement	72	207*	34,8
Hospitalisation	3	210*	1,4

<sup>\* 212</sup> cas /521, les données manquantes sont des données non renseignées

Le nombre de jours d'arrêt des activités varie de 1 à 7, la médiane est de 2 jours. La somme des jours d'arrêt des activités s'élève à 191 jours. Le nombre médian de jours d'alitement est de 1 (étendue : 1 à 5 jours). Les 3 personnes hospitalisées ne sont pas restées plus de 2 jours à l'hôpital.

#### 2) Provenance et nature des médicaments consommés

Le tableau 17 présente la provenance des médicaments consommés.

**Tableau 17.** Provenance des médicaments consommés par les cas, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Type de médicar	ments	Fréquence	%
Prescription médi	icale	67	42,1
Automédication	Pharmacie	30	18,9
Adtornedication	Stock	62	39,0
Total		159*	100,0

<sup>\*164</sup> personnes déclarent avoir consommé des médicaments, les données manquantes sont des données non renseignées

Les médicaments les plus consommés ont été Imodium (10 %), Panfurex (7 %), Smecta (13 %), Spasfon (13 %), Lacteol (8 %), Motilium (10 %). Le tableau 18 présente les classes de médicaments consommés durant cette épidémie et leur provenance.

Tableau 18. Classes et provenance des médicaments consommés, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002

Type de médicament	Analgésique (%)	Antidiarrhéique (%)	Antibactérien (%)	Antiémétique (%)	Antispasmodique (%)	Total (%)
Prescription	13 (10,1)	44 (34,1)	17 (13,2)	28 (21,7)	27 (20,9)	129 (100,0)
Pharmacie	5 (9,4)	34 (64,2)	2 (3,8)	7 (13,2)	5 (9,4)	53 (100,0)
Stock	14 (16,7)	32 (38,1)	6 (7,1)	15 (17,9)	17 (20,2)	84 (100,0)
Total	32 (12,0)	110 (41,4)	25 (9,4)	50 (18,8)	49 (18,4)	266 (100,0)

#### 3) Caractéristiques des cas ayant consulté un médecin

La proportion de médicaments antiémétiques consommée est plus importante chez les personnes ayant consulté un médecin que chez les personnes ayant acheté leurs médicaments sans prescription médicale (22 % vs 13 %, cf. tableau 18). Les personnes atteintes de vomissements ont plus souvent consulté un médecin. Cette tendance est confirmée par le fait que parmi les cas qui ont consulté un médecin, les proportions de personnes présentant diarrhées et vomissements sont identiques (80 %). Parmi les cas n'ayant pas consulté de médecins, cette proportion reste la même pour les diarrhées, mais la proportion de personnes présentant des vomissements est de 50 % (cf. tableau 19).

**Tableau 19.** Caractéristiques des cas et consultation d'un médecin, épidémie de gastro-entérite, lsère, novembre 2002

	Diarrhée (%)	Total	Vomissements (%)	Total
Cas ayant consulté un médecin	51 (81,0)	63*	49 (79,0)	62*
Cas n'ayant pas consulté un médecin	122 (83,6)	146*	73 (51,8)	141*

<sup>\* 63/209</sup> cas déclarent avoir consulté un médecin, les données manquantes sont des données non renseignées

#### 5. Impact des mesures de restriction d'usage de l'eau

Lorsque la Ddass a été alertée de l'épidémie de gastro-entérite (le mardi 19 novembre 2002), la consigne a été donnée aux maires des communes en cause d'émettre la recommandation de ne pas consommer l'eau du robinet jusqu'à nouvel ordre (cf. annexe I). Cet avis fut distribué le mardi 19 novembre au soir dans les boîtes aux lettres des habitants des communes d'Apprieu, Colombe, Réaumont et Saint-Blaise-du-Buis. Les résidents ne l'ont, pour la plupart, reçu que le lendemain, le mercredi 20 novembre, en relevant leur courrier. L'information a été largement diffusée, 511 (511/514 : 99 %, 7 non réponses) personnes ont déclaré avoir été informées des mesures de restrictions d'usage de l'eau ; parmi les personnes ayant reçu l'information, 94 % (444/472, 39 non réponses) étaient informées à la date du mercredi 20 novembre. La très grande majorité des personnes informées (475/480 : 99 %, 31 non réponses) l'ont été par l'intermédiaire du courrier distribué dans les boîtes aux lettres. La presse, la radio, la télévision sont citées de manière anecdotique comme source de l'information. Parmi les personnes ayant cité une autre source d'information, le bouche à oreille et l'information grâce à la connaissance d'un élu d'une des communes interviennent pour respectivement 30 % et 26 %.

Le tableau 20 présente les consommations d'eau directes et indirectes des habitants des quatre communes étudiées avant et après le mercredi 20 novembre (date à laquelle les personnes ont été informées de la non potabilité de l'eau).

Tableau 20. Comparaison des consommations d'eau avant et après la diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Avant 2	0/11/20	02	Après 20/11/2002			
	Consommateurs	Total	%	Consommateurs	Total	%	
Eau robinet	395	521*	75,8	55	519*	10,6	
Thé, café	389	518*	75,1	245	511*	47,9	
Boissons allongées d'eau du robinet	216	518*	41,7	46	518*	8,9	
Lavages des crudités	454	517*	87,8	305	509*	59,9	

<sup>\* 521</sup> personnes sont inclues dans la cohorte, les données manquantes sont des données non renseignées

Les consommations sont significativement différentes (p<0,05) avant et après la diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau. Parmi les personnes ayant bu de l'eau du robinet après la diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau, 29 % (9/31, 24 non réponses) ont déclaré avoir fait bouillir leur eau avant de la consommer.

#### 6. Recherche des facteurs de risque

## 1) Association entre la consommation d'aliments et d'eau avant le 20 novembre 2002 et la survenue d'une gastro-entérite

La recherche d'une association entre la consommation d'aliments (plats cuisinés, fruits de mer, pâtisseries, lait cru) et la survenue d'une gastro-entérite n'a pas mis en évidence la présence d'un facteur de risque. La consommation d'eau du robinet apparaît comme le seul facteur de risque associé à la survenue d'une gastro-entérite (cf. tableau 21).

Tableau 21. Risque de survenue de gastro-entérite suite à la consommation de quelques aliments et d'eau du robinet comme eau de boisson non bouillie, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Consommateurs		Noi	Non consommateurs					
	Nb. cas	Total	Taux d'attaque (%)	Nb. cas	Total	Taux d'attaque (%)	RR	IC <sub>s</sub>	95%
Plats cuisinés	70	189	37,0	141	322	43,8	0,85	0,68	1,06
Fruits de mer	21	76	27,6	189	441	42,9	0,64	0,44	0,94
Pâtisseries	103	279	36,9	103	230	44,8	0,82	0,67	1,02
Lait cru	131	309	42,4	72	202	35,6	1,19	0,95	1,49
Eau en bouteille	61	229	26,6	151	292	51,7	0,52	0,40	0,66
Eau du robinet	201	417	48,2	11	104	10,6	4,56	2,58	8,04

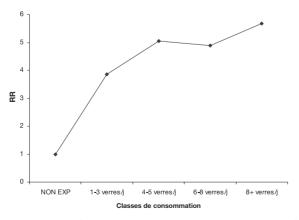
#### 2) Relation exposition risque selon la quantité d'eau consommée

Pour mettre en évidence une relation dose-effet, des classes de consommation d'eau du robinet ont été construites suivant la répartition en quartile de la distribution de la consommation d'eau (cf. Tableau 7). Le tableau 22 et la figure 5 récapitulent ces classes de consommation et présentent le risque relatif associé.

**Tableau 22.** Risque de survenue d'une gastro-entérite selon la quantité d'eau consommée avant la diffusion des mesures de restriction d'usage, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Classe de consommation	Nb cas	TOTAL	Taux d'attaque (%)	RR	IC	95%
NON EXP	11	104	10,6	Réf.		
1-3 verres/j	38	93	40,9	3,86	2,10	7,11
4-5 verres/j	71	133	53,4	5,05	2,82	9,02
6-8 verres/j	44	85	51,8	4,89	2,70	8,88
8+ verres/j	9	15	60,0	5,67	2,83	11,37

Figure 5. Risque de survenue d'une gastro-entérite selon la quantité d'eau du robinet consommée quotidiennement, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002



Le calcul des risques relatifs par rapport à la classe des consommateurs de 1 à 3 verres d'eau du robinet ne met pas en évidence une relation linéaire statistiquement significative entre la quantité d'eau ingérée quotidiennement et la survenue de gastro-entérites (Khi2 de tendance linéaire=2,88, p=0,09). Le risque de survenue d'une gastro-entérite semble se stabiliser lorsque la consommation d'eau dépasse 4-5 verres par jour.

#### 3) Association entre la survenue d'une gastro-entérite et la consommation d'eau par classe d'âge

Le tableau 23 présente les taux d'attaque en fonction de l'exposition et les risques relatifs par classes d'âge.

Tableau 23. Risque de survenue d'une gastro-entérite suite à la consommation d'eau du robinet comme eau de boisson et non bouillie par classe d'âge, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Consommateurs		Non consommateurs						
Classe d'âge	nb cas	Total	Taux d'attaque (%)	nb cas	Total	Taux d'attaque (%)	RR	IC	95%
0-4	16	26	61,5	4	14	28,6	2,15	0,89	5,20
5-39	119	217	54,8	3	36	8,3	6,58	2,21	19,58
40-59	50	129	38,8	3	34	8,8	4,39	1,46	13,22
60+	13	40	32,5	1	19	5,3	6,18	0,87	43,81
							pl	Fischer	= 0,02*
Total	198	412	48,1	11	103	10,7	4,50	2,55	7,94

<sup>\*</sup> Un effectif attendu est inférieur à 5, le résultat du test de Fischer bilatéral est à privilégier

Les risques relatifs brut et de Mantel-Haenszel ne sont pas différents (RRbrut=4,5  $IC_{95\%}$ =[2,6-7,9] ; RR<sub>MH</sub>=4,5  $IC_{95\%}$ =[2,5-8,1]). Cependant, bien que le test d'interaction entre les strates est non significatif (p=0,41), on observe un risque relatif sensiblement supérieur pour les classes d'âge supérieures à 4 ans (5-39 ans et >60 ans).

### 4) Association entre la survenue d'une gastro-entérite et la consommation d'eau du robinet par commune

Le tableau 24 présente les risques relatifs par commune.

Tableau 24. Risque de survenue d'une gastro-entérite suite à la consommation d'eau du robinet comme eau de boisson et non bouillie par commune, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

	Consommateurs		Non consommateurs						
			Taux d'attaque			Taux d'attaque			
Classe d'âge	nb cas	Total	(%)	nb cas	Total	(%)	RR	ICg	95%
Apprieu	90	216	41,7	7	70	10,0	4,17	2,03	8,56
Saint-Blaise	48	87	55,2	0	15	0,0	Inf.	pFische	r=2,5.10 <sup>-5</sup>
Réaumont	44	73	60,3	3	12	25,0	2,41	0,89	6,54
Colombe	19	41	46,3	1	7	14,3	3,24	0,51	20,51

Les risques relatifs brut et de Mantel-Haenszel ne sont pas différents (RRbrut=4,6  $IC_{95\%}$ =[2,6-8,0] ;  $RR_{MH}$ =4,4  $IC_{95\%}$ =[2,5-7,7]). Le fait de résider dans une commune différente ne modifie pas l'effet de la relation entre la survenue d'une gastro-entérite et la consommation d'eau du robinet.

## 5) Association entre la survenue d'une gastro-entérite et la consommation indirecte d'eau du robinet

Le tableau 25 présente les risques de survenue d'une gastro-entérite chez les personnes non consommatrices d'eau du robinet mais ayant été exposées de manière indirecte.

Tableau 25. Risque de survenue d'une gastro-entérite suite à la consommation indirecte d'eau du robinet chez les non consommateurs d'eau, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

		Nb cas	Total	Taux d'attaque (%)	RR	IC	95%
Lavage des crudités	Oui Non	12 4	101 24	11,9 16,7	0,71	0,25	2,02
Thé Café	Consommateurs Non consommateurs	12 4	90 35	13,3 11,4	1,17	0,40	3,38
Glaçons	Consommateurs Non consommateurs	6 9	45 74	13,3 12,2	1,10	0,42	2,88
Lavage des dents	Oui Non	12 4	118 8	10,2 50,0	0,20	0,09 pFisher	0,49 =0,009*

<sup>\*</sup> Un effectif attendu est inférieur à 5, le résultat du test de Fischer bilatéral est à privilégier

La consommation indirecte d'eau du robinet n'est pas un facteur de risque de la survenue d'une gastroentérite, quelque soit la forme sous laquelle l'eau est consommée.

## 7. Fraction de risque attibuable et estimation du nombre de malades dans les communes d'Apprieu, Saint-Blaise-du-Buis, Réaumont et Colombe

On peut estimer la proportion de cas de gastro-entérite qui peuvent être imputés à la consommation d'eau du robinet contaminée par le calcul de la fraction de risque attribuable. Au vu des taux d'attaque chez les exposés et les non exposés (cf. tableau 21), on obtient une proportion de 78 % des cas de gastro-entérite attribuables à la consommation d'eau du robinet.

Dans l'échantillon, la proportion de consommateurs d'eau est de 80 %. On estime alors le nombre de personnes consommatrices d'eau du robinet parmi l'ensemble des 5 605 habitants des quatre communes à 4 500 personnes. En appliquant aux consommateurs d'eau du robinet des quatre communes le taux d'attaque observé dans la cohorte chez les personnes exposées (48 %), on estime à 2 000 le nombre de malades parmi les consommateurs d'eau du robinet. Parmi les non consommateurs d'eau du robinet, le taux d'attaque observé dans la cohorte est de 11 %, on peut alors estimer le nombre de malades chez les non consommateurs d'eau dans la population des quatre communes à 100 cas. Pendant cette épidémie, le nombre total de personnes atteintes d'une gastro-entérite est estimé à 2 100 personnes.

### VI. Résultats des analyses microbiologiques

#### VI.1 Analyses virologiques des selles

Neuf échantillons de selles ont été examinés par le laboratoire de virologie du Centre hospitalier universitaire (CHU) de Dijon (cf. annexe III). Les Astrovirus, Adénovirus types 40 et 41, les Rotavirus et les Calicivirus humains (Norovirus et Sapovirus) ont été recherchés. Sept échantillons se sont avérés positifs aux Calicivirus. Les résultats d'hybridation et le séquençage des produits amplifiés mettent en évidence la présence de 2 souches de Calicivirus différentes appartenant aux génogroupes I et II du genre Norovirus dans 3 échantillons.

#### VI.2 Analyses microbiologiques de l'eau

#### 1. Résultats du contrôle sanitaire

Les prélèvements réalisés par le service santé-environnement de la Ddass 38 le 19 novembre 2002 en différents points du réseau présentent une contamination bactériologique (cf. tableau 26).

**Tableau 26.** Résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les prélèvements Ddass 38 du 19/11/2002, épidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002

Lieux	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Streptocoques fécaux	Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices
	N/100mL	N/100mL	N/100mL	N/20mL
Côte Gagère	4	4	13	<2
Apprieu, mairie	6	0	0	<2
Réaumont, mairie	5	3	0	<2
Colombe	56	42	29	<2
Limite de qualité	0/100mL	0/100mL	0/100mL	0/100mL

#### 2. Analyses spécifiques

Trois échantillons d'eau du réseau d'adduction des communes d'Apprieu, Saint-Blaise-du-Buis, Réaumont et Colombe ont été analysés : les recherches d'astrovirus, de calicivirus, d'entérovirus, des rotavirus et du virus de l'hépatite A ont été effectuées par le laboratoire de microbiologie de l'Ifremer (cf. annexe IV). La présence d'entérovirus, d'astrovirus et de calicivirus a été mise en évidence. Les calicivirus détectés appartiennent au génogroupe II.

La syndicat des eaux de la région d'Apprieu a recherché les parasites *Giardia* et *Cryptosporidium* sur des prélèvements effectués le 21 novembre 2002. Les résultats de ces analyses sont donnés ci-dessous :

• Station Cote Gagère (eau traitée) :

Giardia: (NFT 90-455) <0,006 Kystes/ L et Cryptosporidium: (NFT 90-455) 0,011 Oocystes/ L

• Evier de la mairie de Réaumont (eau traitée) :

Giardia: (NFT 90-455) <0,005 Kystes/ L et Cryptosporidium: (NFT 90-455) <0,005 Oocystes/ L

Captages Planche Cattin (Eau brute hors service) :

Giardia: (NFT 90-455) <0,005 Kystes/ L et Cryptosporidium: (NFT 90-455) <0,005 Oocystes/ L

### VII. Résultats de l'enquête environnementale

## VII.1 Description du captage, traitement et distribution de l'eau du réseau

Le syndicat des eaux de la région d'Apprieu exploite le puits de Côtes Gagères pour alimenter en eau potable les communes d'Apprieu, Colombe, St-Blaise-du-Buis et Réaumont (5 600 habitants).

Le puits d'une profondeur de 8 mètres est situé à Apprieu dans la vallée de la Fure, en rive droite et à une vingtaine de mètres du lit de la Fure. L'eau pompée provient de la nappe alluviale de la Fure. La pompe est mise en marche automatiquement en fonction du niveau du réservoir de stockage. L'eau est traitée au dioxyde de chlore (CIO<sub>2</sub>) injecté directement dans le puits au niveau des pompes. Le résiduel de chlore est mesuré en continu. Ce taux de chlore était enregistré uniquement sur papier à la station de pompage.

Le débit de pompage est de 85m³/h. Une partie de l'eau pompée alimente directement Réaumont et St-Blaise-du-Buis et l'autre partie est stockée dans des réservoirs pour être acheminée ensuite sans rechloration vers les communes de Colombe et Apprieu (cf. figure 6).

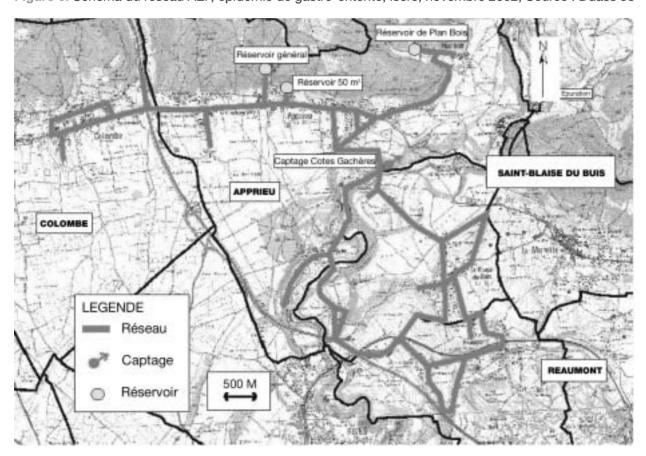


Figure 6. Schéma du réseau AEP, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002, Source : Ddass 38

Le puits est implanté dans la plaine alluviale de la Fure. D'après le forage de reconnaissance de 1977, ces alluvions sont constituées depuis la surface<sup>5</sup> :

- D'une couverture imperméable de 4,50 m de sables argileux et argiles à galets,
- D'une zone aquifère de 3 m d'épaisseur de sables, graviers et galets,
- A 8 m de profondeur, le substratum imperméable est composé d'une molasse.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup>. EDACERE SA, SIE de la région d'Apprieu, Périmètres de protection des captages, Puits de Côtes Gagères, Rapport géologique et étude géologique complémentaire, Ddaf 38, 1995

La nappe alluviale de la Fure est probablement alimentée par des infiltrations provenant de la rivière et de guelques petits affluents drainant les terrasses des versants de la vallée.

D'après une étude géophysique de conductivité datée de septembre 1993<sup>6</sup>, la Fure n'apparaît nulle part en relation directe avec les graviers aquifères. La filtration par la matrice sableuse semble satisfaisante.

#### VII.2 Environnement du captage

Le captage est situé à une vingtaine de mètres de la fure. Cette rivière s'écoule depuis le lac de Paladru jusqu'à sa confluence avec la Morge sur une longueur de 23 km.

L'environnement agricole de la vallée de la Fure est constitué de cultures de maïs et de pâturages bovins.

Un canal de dérivation alimentant l'ancienne papeterie de Planche Catin passe à 3 m du captage. Ce canal peut déborder et par conséquent polluer le captage situé en contrebas (cf. figure 7).

Figure 7. Débordement du canal de dérivation, amont du captage, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



A l'amont du captage sont situées (cf. figure 8) :

- Les papeteries de la Ravignouse, à 800 m à l'Est du puits,
- Les forges et aciéries de Bonpertuis à 1,8 km au nord-est du captage,

Ces industries rejettent des effluents dans la rivière.

• La station d'épuration (Step) de Charavines - lac de Paladru à 2 km au nord-est du puits.

La station d'épuration de Charavines - lac de Paladru a été construite en 1987 et a été conçue pour une capacité de 11 500 équivalents-habitants. Elle est gérée par la Générale des eaux. Sept communes y sont connectées : Bilieu, Charavines, Chirens, Montferrat, Paladru, Le Pin, Valencogne soit une population de 7 800 habitants. Les traitements sur les eaux usées sont les suivants<sup>7</sup> :

<sup>6.</sup> TECHSOL, Prospection électromagnétique à Apprieu, Ddaf 38, 1993

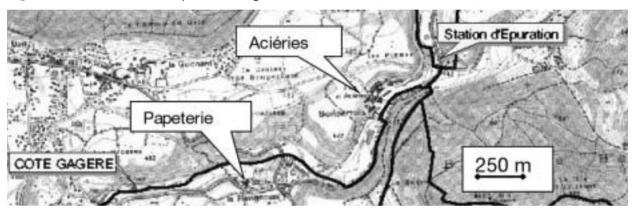
<sup>7.</sup> SOGREAH, Etude d'impact de la station d'épuration de Charavines, Syndicat mixte du lac de Paladru, Ddaf 38, 1986

- prétraitements physiques,
- boues activées, aération prolongée,
- nitrification.
- dénitrification.

L'effluent est rejeté dans la rivière sans traitement spécifique de la charge microbiologique. En régime normal, la station fonctionne avec un débit journalier de 8 000 m³. Le débit rejeté à la rivière, en sortie de Step n'est pas mesuré.

Le réseau de collecte des eaux usées alimentant la Step est un réseau séparatif (i.e. seules les eaux usées domestiques parviennent à la Step, les eaux pluviales sont rejetées directement à la rivière). Cependant, les fortes augmentations de débit observées en entrée de la Step en cas de pluies montrent que de nombreux mauvais raccordements sont probablement à l'origine d'arrivées d'eaux pluviales sur la station d'épuration. Lorsque le débit en entrée de station est trop important, un système de trop-plein dérive le surplus de débit : les eaux usées sont rejetées sans traitement dans la rivière. Cette situation est fréquente en période de fortes pluies.

Figure 8. Plan de situation, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002, Source : Ddass 38.



#### VII.3 Protection du puits de captage

Dans le cadre des études de mise en conformité des périmètres de protection du captage<sup>8,9</sup>, réalisées entre 1993 et 1995, des enregistrements du niveau de la nappe en fonction de la pluviométrie montrent une recharge anormalement rapide de la nappe lors de fortes précipitations quand la Fure déborde et inonde ainsi une partie du périmètre de protection immédiate. Une infiltration de l'eau à travers le remblai perméable qui ceinture le puits et le massif annulaire de gravier filtre semble l'hypothèse la plus probable pour expliquer une participation directe de l'eau de la Fure à la réalimentation du puits. Le puits était initialement entouré d'une galette de béton de 30 cm d'épaisseur de 3 m de largeur pour le protéger des infiltrations<sup>9</sup>. Cette galette a été recouverte d'un remblai perméable de 2 m de hauteur (cf. figure 9) qui a pu provoqué son affaissement et sa désolidarisation du puits : un espace a ainsi pu s'ouvrir permettant des infiltrations d'eau de surface.

Cette hypothèse a été confirmée par la suite par une expérience réalisée en octobre 1994<sup>10</sup>. Au cours de cette expérience, l'eau du puits a été pompée pendant plusieurs heures en l'absence d'inondation, un rabattement très important de la nappe est observé, un échantillon prélevé et analysé montre que l'eau est de bonne qualité bactériologique (1 coliforme dans 100mL, absence de germes témoins de contamination fécale). La base du remblai de protection du puits a ensuite été inondée artificiellement avec l'eau de la Fure, pour reconstituer de manière plus modeste ce qui se passe lorsque la Fure déborde de son lit à l'amont du captage. Le niveau de la nappe accuse alors une remontée spectaculaire dans le

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup>. Ddaf 38, Syndicat des eaux de la région d'Apprieu : observations sur la protection du puits de Côtes Gagères, 1994

<sup>9.</sup> EDACERE SA, SIE de la région d'Apprieu, Puits de Côtes Gagères : descriptif technique détaillé, Ddaf 38, 1995

<sup>&</sup>lt;sup>10</sup>. Ddaf 38, Syndicat des eaux de la région d'Apprieu : mise en évidence de la participation occasionnelle de la Fure dans l'alimentation du puits de Côtes Gagères, 1994

puits 15 à 20 minutes après le début de l'expérience. L'analyse bactériologique de cette eau montre un nombre élevé de coliformes (400 dans 100mL) et la présence importante de germes témoins de contamination fécale. A l'arrêt des pompes de la Fure, l'eau résiduelle au pied du remblai s'infiltre très rapidement. Les mesures des conductivités de l'eau de la nappe avant et pendant l'expérience et de l'eau de la Fure ont permis de montrer que près de 50 % de l'eau pompée pendant la simulation de l'inondation provenait de la Fure.

Les protections autour du puits (remblai, margelle de protection) ne sont donc plus imperméables. En période de crue, la Fure déborde fréquemment et inonde le périmètre de protection immédiate (cf. figure 9, figure 10, figure 11), provoquant ainsi une infiltration rapide et massive d'eau de la rivière dans la nappe. Le puits est alors alimenté pour moitié par la rivière et peut être plus en cas de fortes inondations.

Deux hydrogéologues ont préconisé la construction de digues pour protéger le captage des débordements de la Fure et l'agrandissement du périmètre de protection immédiate du puits<sup>5,10</sup>. Le dossier sur l'établissement des périmètres de protections passe en Déclaration d'utilité publique (Dup). Les travaux demandés ne seront obligatoires que lorsque la Dup sera signée mais peuvent cependant être réalisés avant cette signature.

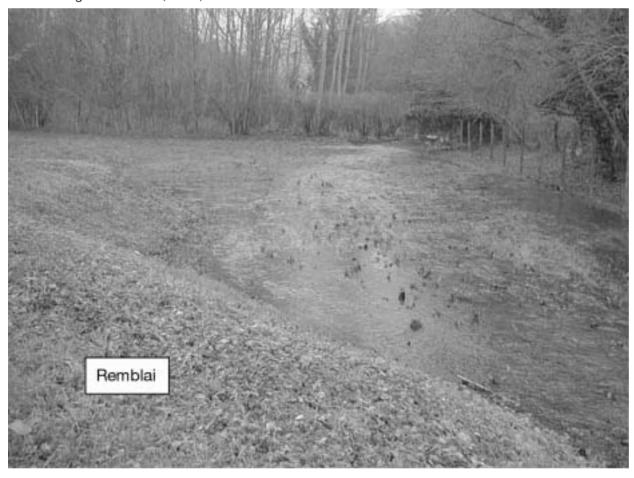
Figure 9. Situation du captage, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



Figure 10. Inondation du périmètre de protection immédiat, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



Figure 11. Inondation du pied du remblai du captage, périmètre de protection immédiat, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002



#### VII.4 Qualité des eaux

La qualité bactériologique n'est pas parfaite. La Ddass 38 nous a fourni les résultats du contrôle sanitaire en interrogeant la base Sise-Eaux. Trois types d'eau sont analysés :

- Eau brute prélevée dans le puits de Côtes Gagères (arrêt de la chloration),
- Eau traitée (chloration au puits) prélevée dans le puits de Côtes Gagères,
- Eau distribuée prélevée en différents points du réseau de distribution.

Les paramètres bactériologiques analysés par le contrôle sanitaire au niveau de cette unité de distribution sont les suivants :

- Bactéries aérobies revivifiables à 22°C-72h.
- Bactéries aérobies revivifiables à 37°C-24h,
- Coliformes thermotolérants/100ml-MS,
- Coliformes totaux /100ml-MS.
- Entérocoques /100ml-MS,
- Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices / 20ml.

Les données transmises ont été l'intégralité des données enregistrées : depuis 1991 pour l'eau brute et l'eau distribuée (soit 11 ans de données), et depuis 1993 pour l'eau traitée (soit 9 ans de données). Il y a eu 27 prélèvements d'eau brute, 30 d'eau traitée et 145 d'eau distribuée.

Nous avons analysé ces données en considérant les coliformes thermotolérants et les entérocoques comme indicateur de pollution fécale. Une analyse contenant au moins un coliforme thermotolérant est considérée comme non conforme pour ce paramètre et une analyse contenant au moins un entérocoque est considérée comme non conforme pour ce paramètre pour les eaux traitées et distribuées. Une eau est non-conforme au plan de la bactériologie si l'un ou l'autre de ces deux paramètres est non-conforme. Les résultats sont illustrés dans le tableau 27.

Tableau 27. Résultats des analyses du contrôle sanitaire pour l'unité de distribution desservant Apprieu, Réaumont, St-Blaise-du-Buis et Colombe, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002

Type d'eau	Eau brute	Eau traitée	Eau distribuée
Période (années)	11	9	11
Nombre de prélèvements	27	30	145
* Coliformes thermotolérants (CTh) seuls	14,8 %	3,3 %	2,1 %
* Entérocoques (E) seuls	0,0 %	6,7 %	0,7 %
* CTh et E	14,8 %	0,0 %	2,8 %
* Pas de CTh ni de E	70,4 %	90,0 %	94,5 %
Total	100 %	100 %	100 %
Taux de contamination fécale (*Cth ou E)	29,6 %	10,0 %	5,5 %

<sup>\*</sup> Proportion d'échantillons contenant les paramètres indiqués

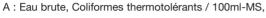
La distribution statistique des contaminations a été faite pour tous les paramètres biologiques (cf. figure 12 et annexe V). La présence en germes témoins de contamination fécale est peu importante sur l'eau brute et rare sur l'eau chlorée.

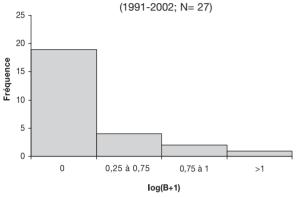
Figure 12. Distribution statistique des contaminations selon trois types d'eau, et deux indicateurs bactériologiques. Données du contrôle sanitaire de la Ddass 38. Epidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002. B = Bactérie; N = nombre de prélèvements.

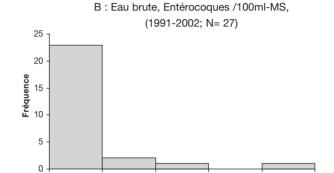
Valeur de log (B+1)	Nombre bactéries /100 mL
0	0
0,25 à 0,5	1 ou 2
0,5 à 0,75	3 ou 4
0,75 à 1	5
>1	> 6

0

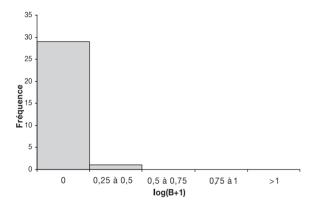
0,25 à 0,5







C : Eau traitée, Coliformes thermotolérants / 100ml-MS, (1993-2002; N= 30)



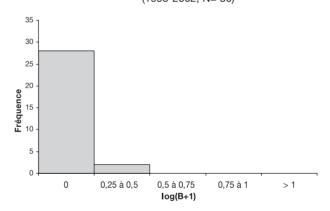
D : Eau traitée, Entérocoques /100ml-MS, (1993-2002; N= 30)

0,5 à 0,75

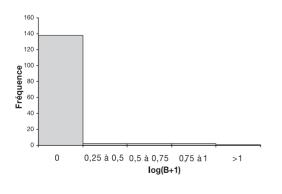
log(B+1)

0,75 à 1

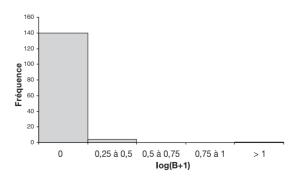
> 1



E : Eau distribuée, Coliformes thermotolérants / 100ml-MS, (1991-2002; N= 145)



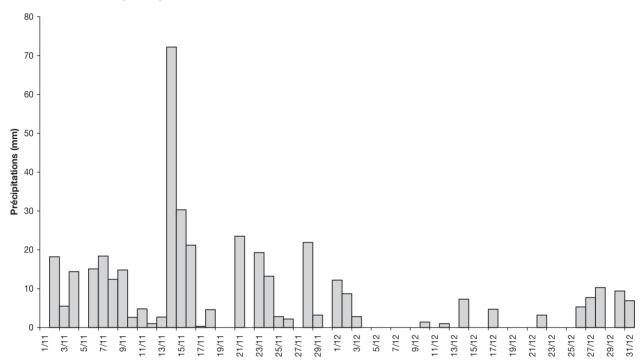
F: Eau distribuée, Entérocoques /100ml-MS, (1991-2002; N= 145)



#### VII.5 Situation météorologique juste avant l'épidémie

Les 14, 15 et 16 novembre 2002 ont été particulièrement pluvieux. Les précipitations ont atteint 72,2 mm le jeudi 14 novembre, 30,3 mm le 15 novembre et 21,2 mm le 16 novembre. Donc 123,7 mm de pluie sont tombés en 3 jours (cf. figure 13).

Figure 13. Précipitations quotidiennes des mois de novembre et décembre 2002, épidémie de gastroentérite, Isère, novembre 2002



#### VII.6 Hypothèses de contamination du réseau d'eau

La contamination du réseau d'eau peut être le résultat de la conjonction de plusieurs facteurs.

- D'une part, à la suite des quelques jours de fortes pluies de la mi-novembre, le ruisseau de la Fure a débordé provoquant une inondation du périmètre de protection immédiate et par conséquent une infiltration des eaux de la Fure au niveau du captage les 15 et 16 novembre. Cette situation est relativement fréquente (plusieurs fois par an) mais n'entraîne pas la survenue d'une épidémie remarquable à chaque débordement.
- Les 14, 15 et 16 novembre 2002, la capacité de traitement de la Step a été dépassée provoquant un rejet d'eau non traitée dans la Fure. De plus, le jeudi 14, en raison d'un trop fort débit en entrée, les boues sont remontées à la surface du décanteur et ont été chassées directement dans le ruisseau, cet incident a entraîné l'arrêt la station. Toutes les eaux usées arrivant à la station ont été rejetées sans traitement dans la Fure pendant la période d'inactivité de la Step.
- La présence de calicivirus dans l'eau du réseau, témoins d'une contamination fécale d'origine humaine, nous oriente vers une possible pollution par des eaux usées. La période d'incubation d'un Norovirus étant de 24 ou 48h en général, la contamination du réseau a probablement eu lieu à partir du 15 ou 16 novembre 2002.

La mesure de chlore résiduel n'a pas été enregistrée les jours précédant l'épidémie investiguée à la suite d'une pénurie de papier du rouleau enregistreur. Il n'est donc pas possible de vérifier si la chloration était effective pendant les jours précédant l'épidémie.

La contamination du réseau semble donc être le résultat de l'inondation du périmètre de protection immédiate par les eaux de la Fure très chargées en microorganismes d'origine fécale humaine suite au dysfonctionnement de la station d'épuration de Charavines située en amont.

#### **VIII.** Discussion

Cette étude a permis de confirmer l'existence d'une épidémie de gastro-entérite d'origine virale dans quatre communes de l'Isère. L'enquête auprès des médecins a montré une augmentation de la proportion de consultations pour gastro-entérites par rapport au nombre de consultations totales. L'enquête en population générale a permis de montrer que le risque de survenue d'une gastro-entérite était quatre fois plus élevé chez les consommateurs d'eau du robinet que chez les non-consommateurs (RR=4,6 IC<sub>95%</sub>=[2,6-8,0]). D'autre part, ce risque augmente avec la quantité d'eau consommée quotidiennement. Les analyses virologiques réalisées ont révélé la présence de norovirus du génogroupe II dans les selles des malades et dans des échantillons d'eau du réseau. Enfin, l'enquête environnementale a permis de mettre en évidence l'enchaînement des évènements ayant conduit à la contamination du réseau d'eau : depuis les dysfonctionnements de la station d'épuration située en amont du captage en période de fortes précipitations aux infiltrations d'eaux parasites de la rivière dans le puits de captage lors d'inondations du périmètre de protection immédiat du captage. La contamination du réseau de distribution d'eau potable par des microorganismes pathogènes est la cause très vraisemblable de l'épidémie de gastro-entérite survenue dans les communes de Colombe, Réaumont, Apprieu et Saint-Blaise-du-Buis en novembre 2002. La contamination est probablement d'origine virale, cependant aucune analyse bactériologique et parasitologique n'a été réalisée pour écarter l'hypothèse d'une contamination polymicrobienne.

Les conditions météorologiques ayant entraîné le dysfonctionnement de la station d'épuration et l'inondation du périmètre de protection du captage ne sont pas exceptionnelles et sont susceptibles de se reproduire plusieurs fois au cours d'une année. D'autre part, la vulnérabilité du captage vis-à-vis des intrusions d'eau parasites est connue depuis 1994 (date des études réalisées dans le cadre de la mise en place des périmètres de protection), les travaux préconisés n'ont toujours pas été réalisés. Le captage de Côtes Gagères peut être considéré comme une installation à risque, d'autres épidémies comme celle investiguée ici sont susceptibles de survenir.

L'erreur d'échantillonnage (ayant entraîné la sous représentation de la commune de Colombe dans la cohorte) ne biaise pas sensiblement le résultat : en considérant les deux hypothèses les plus défavorables quant à la consommation d'eau du robinet dans cette population (i.e. 1) les 91 personnes consomment de l'eau du robinet et 2) les 91 personnes ne consomment pas d'eau du robinet), la survenue d'une gastro-entérite reste associée de manière significative à la consommation d'eau du robinet (RR=4,4  $IC_{95\%} = [2,5-7,8]$  et RR=2,0  $IC_{95\%} = [1,5-2,6]$  respectivement).

Le mode de recueil de l'information sur les symptômes ressentis par les cas est basé sur leur déclaration. Dès qu'une personne déclarait avoir présenté des symptômes objectifs tels que l'apparition d'une diarrhée (à partir d'une selle molle par jour) ou de vomissements (à partir d'un vomissement par jour), elle était considérée comme étant un cas. Cette définition sensible a pu permettre d'appréhender l'étendue des symptômes, qui peuvent varier en intensité en fonction de la quantité d'eau consommée. D'autre part, compte tenu du délai de 3 semaines entre l'épidémie et l'enquête, seuls 50 % des cas interrogés ayant présenté diarrhées ou vomissements ont été capables de renseigner le nombre de selles ou de vomissements par jour (l'information était connue pour 85 cas/175 et 64 cas/123 respectivement). Pour appréhender l'effet de la définition de cas sur le calcul du risque relatif, les résultats obtenus ont été comparés avec le niveau de risque calculé avec une définition de cas plus restrictive (diarrhée  $\geq$  3 selles/j ou vomissement) : la nouvelle définition de cas augmente le risque relatif de survenue de gastro-entérite suite à la consommation d'eau du robinet (RR=5,5  $\mid$  C<sub>95%</sub> =[2,7-11,3] vs. RR=4,6  $\mid$  C<sub>95%</sub> = [2,6-8,0]).

Les premiers contacts avec les pharmaciens au moment de l'alerte laissaient à penser que les vomissements étaient prédominants dans le tableau clinique, l'enquête a montré par la suite qu'il n'en était rien. Cet artefact peut provenir du fait que les premiers cas présentaient plus souvent des vomissements que les cas plus tardifs. D'autre part, les personnes ayant consulté un médecin présentaient plus souvent des vomissements que les personnes n'ayant pas consulté. Enfin, on peut supposer que les stocks familiaux de médicaments contiennent plus souvent des médicaments antidiarrhéiques qu'antiémétiques. Ces observations montrent que la seule interrogation des médecins et pharmaciens lors d'une épidémie peut être à l'origine d'un biais de sélection. La mise en œuvre d'une étude de cohorte rétrospective auprès d'un échantillon de la population générale permet de décrire les effets de la maladie chez les personnes non médicalisées et d'appréhender de manière globale le tableau clinique.

L'information sur la quantité d'eau consommée était recueillie après l'épidémie. La mobilisation des cas autour de cette épidémie a pu être à l'origine d'un biais de médiatisation et donc d'une surestimation de la consommation d'eau pendant la période épidémique ; ce phénomène a pu entraîner ainsi une surestimation du risque. D'autre part, on peut s'interroger sur la représentativité des informations concernant la distribution de la consommation d'eau dans la population recueillies lors d'une épidémie.

Certains habitants des communes desservies par le captage de Côte Gagères se sont constitués en association pour tenter d'obtenir la mise en place de traitements supplémentaires ou l'abandon de ce captage qu'ils soupçonnent de fournir une eau de qualité médiocre. La mobilisation de la population à ce sujet a pu être à l'origine d'un biais d'information et d'une surestimation de la consommation d'eau du robinet chez les personnes atteintes de gastro-entérite ou une exagération dans la déclaration des symptômes entraînant ainsi une surestimation du risque de survenue d'une gastro-entérite suite à la consommation d'eau du robinet.

Les analyses virologiques réalisées ont permis de mettre en évidence la présence de Calicivirus de génogroupe II dans les selles des malades et dans l'eau du réseau. Cependant, les signes cliniques ayant orienté dès le départ vers une origine probablement virale, aucune recherche bactériologique ni parasitologique n'a été réalisée dans les selles des malades. Des recherches de microorganismes pathogènes plus poussées dans les selles des malades et dans l'eau auraient pu mettre en évidence une éventuelle contamination par plusieurs pathogènes et apporter ainsi des informations supplémentaires sur l'origine de la pollution.

Les limites de cette étude, passées en revue, ne remettent pas en cause le lien de causalité très vraisemblable entre la consommation d'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite dans les communes d'Apprieu, de Réaumont, de Colombe et de Saint-Blaise-du-Buis entre le 15 et le 28 novembre 2002.

La vulnérabilité du captage de Côtes Gagères en Isère n'est pas une situation isolée. Les unités de production de petite taille exploitent souvent des ressources souterraines, disposent parfois de traitements simples (filtration sans chloration, simple chloration...) voire inexistants et sont ainsi particulièrement sensibles au risque microbiologique (d'origine humaine ou animale) lorsque la ressource est vulnérable aux intrusions parasites. La mise en place et le respect des périmètres de protection est un processus long. Les réseaux de distribution peuvent aussi présenter des défaillances dues à l'usure, des interconnexions, un manque d'entretien... Cette situation laisse supposer que des épidémies d'origine hydrique sont susceptibles de se produire, or peu d'évènements de ce type sont rapportés : en France, 3 épisodes ont été documentés auparavant (Gourdon³, Dracy⁴, Strasbourg, non publié). Aux Etats-Unis, un système de notification des épidémies d'origine hydrique a été mis en place depuis 1971. Ce système recense le nombre d'épidémies survenues par an dans quelques états volontaires, le type de ressource et de distribution mis en cause, la défaillance survenue, le nombre de cas et l'agent étiologique lorsqu'il est identifié. En 1999 et 2000 par exemple, 39 épidémies ont été recensées dans 25 états<sup>11</sup>. Ces épidémies ont mis en cause 2068 cas dont 2 morts. Un agent étiologique a été identifié pour 22 (56 %) des 39 épidémies ; 20/22 ont été associées à un microorganisme pathogène (7 i.e. 35 % d'origine parasitaire, 9 i.e. 45 % d'origine bactérienne et 4 i.e. 20 % d'origine virale) et 2/22 à une pollution d'origine chimique. Une ressource souterraine a été mise en cause dans 28 (72 %) des 39 épidémies.

Le risque épidémique lié à l'ingestion d'eau provenant du réseau de distribution d'eau potable est mal connu en France, l'appréhender par l'amélioration de la notification et la standardisation des investigations pourrait permettre de promouvoir la sécurisation de l'ensemble des installations de production et de distribution d'eau potable en France. On pourra ici s'interroger sur la pertinence de réaliser des études de cohorte, par définition assez lourdes à mettre en œuvre, pour investiguer ces épidémies d'origine hydrique. L'amélioration de la connaissance du risque hydrique ne pourrait-elle passer par la mise en place de procédures relativement légères pour documenter les épisodes épidémiques ?

<sup>11.</sup> Lee S.H., Levy D.A., Craun G.F. et al., Surveillance for waterborne disease outbreaks – United-States, 1999-2000. In: Surveillance Summaries, November 22, 2002. MMWR 2002;51(No. SS-8):1-48

#### IX. Recommandations

L'expérience tirée de cette épidémie de gastro-entérite liée à la contamination du réseau d'eau potable permet de formuler des recommandations.

#### IX.1 Investigations d'épidémie

- Surveillance et alerte
- Rappeler aux médecins libéraux leur rôle de sentinelle pour l'alerte lorsqu'apparaissent des cas groupés d'une symptomatologie identique.
- Appeler les pharmaciens d'officine à jouer un rôle de sentinelle pour l'alerte quand les ventes de médicaments anti-diarrhéiques dépassent un certain seuil fixé à l'avance.
- Analyses microbiologiques
- Identifier les différents partenaires susceptibles de réaliser la recherche des microorganismes pathogènes dans les selles des malades et dans l'eau et demander cette recherche rapidement.
- Recueillir des échantillons d'eau le plus rapidement possible et les stocker en prévision d'éventuelles analyses.
- Nécessité d'un partenariat à multiples compétences pré-organisé
- Identifier et formaliser la liste des différents partenaires susceptibles d'intervenir lors d'une investigation : microbiologie des selles, de l'eau, investigation environnementale, investigation épidémiologique, gestion.

#### IX.2 Gestion de l'eau potable

- Les conditions qui ont entraîné la survenue de cette épidémie ne sont pas exceptionnelles, le périmètre de protection du captage est inondé plusieurs fois par an et la station d'épuration atteint régulièrement sa capacité maximale. En conséquence, ce captage doit être considéré comme une installation de distribution d'eau à risque ; il convient donc de réaliser sans délai les travaux demandés par l'hydrogéologue agréé lors de la mise en place du périmètre de protection du captage.

#### X. Conclusion

Cette étude a permis de confirmer la survenue d'une épidémie de gastro-entérite dans quatre communes du département de l'Isère : Apprieu, Réaumont, Saint-Blaise-du-Buis et Colombe. La consommation d'eau du réseau d'adduction en eau potable est à l'origine de cette épidémie (RR=4,6 IC<sub>95%</sub>=[2,6-8,0]). Le taux d'attaque est élevé (41 %). L'hypothèse de contamination du réseau la plus probable est l'infiltration d'eaux parasites, provenant de la rivière la Fure, au droit du captage suite à l'inondation du périmètre de protection immédiat. Les dysfonctionnements de la station d'épuration située en amont sur la Fure, après les fortes précipitations des jours précédant l'épidémie, pourraient être à l'origine d'une pollution fécale d'origine humaine. Cette hypothèse est renforcée par la présence de Calicivirus de génogroupe II dans les selles des malades et dans l'eau du réseau.

Les conditions qui ont entraîné la pollution du réseau ne sont pas exceptionnelles, le périmètre de protection immédiat du captage qui alimente les quatre communes est inondé plusieurs fois par an et la station d'épuration atteint régulièrement son débit maximum. En conséquence, le puits de Côtes Gagère à Apprieu peut être considéré comme une installation de distribution d'eau à risque, il convient donc de faire réaliser les travaux préconisés pour protéger ce captage dans les plus brefs délais.

#### Références

Beaudeau P, Zeghnoun A, Ledrans M, Volatier JL. Consommation d'eau du robinet pour la boisson en France métropolitaine : résultats tirés de l'enquête alimentaire INCA1. Environnement, Risques et Santé 2003; Vol. 2, n°3:147-158.

Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus Activity – United States [published erratum appears in MMWR; 52:113]. MMWR 2002; 52:41-45.

Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS et al. Epidemiologic and molecular trends of « Norwalk-like viruses » associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. The Journal of Infectious Diseases 2002; 186:1-7.

Institut de veille sanitaire et ministère de l'Emploi et de la Solidarité. Epidémie de gastro-entérite à germes multiples liée à la consommation de l'eau de distribution, Gourdon, Lot (46). 2000; 1-48.

Institut de veille sanitaire. Epidémie de gastro-entérite à Cryptosporidium, Dracy-le-Fort, Saône et Loire (71), septembre 2001. 2003; 1-72.

Lee SH, Levy DA, Craun GF et al. Surveillance for waterborne disease outbreaks – United-States, 1999-2000. In:Surveillance Summaries, November 22, 2002. MMWR 2002; 51 (No. SS-8):1-48.

#### Annexe I:

## Avis de restriction d'usage de l'eau du robinet, épidémie de gastro-entérite, lsère, novembre 2002

Diffusé le 19 novembre 2002 dans les boîtes aux lettres des résidents des communes d'Apprieu, Colombe, Réaumont et Saint-Blaise-du-Buis



### **URGENT**

De nombreux cas de gastro-entérites ont été signalés sur les territoires des Communes d'APPRIEU, de COLOMBE, de REAUMONT et ST BLAISE DU BUIS.

Suite aux fortes pluies des derniers jours, un risque de contamination microbiologique des eaux distribuées reste envisageable.

Des mesures de chloration ont été renforcées et des prélèvements réalisés en vue de contrôler la qualité de l'eau.

Par précaution, les autorités sanitaires demandent de ne pas utiliser l'eau pour la boisson sauf après ébullition.

Les autres usages domestiques : cuisson, toilettes, sanitaires restent autorisés.

Des eaux embouteillées sont disponibles en Mairie jusqu'au retour à la normale.

Le Président du Syndicat des Eaux de la Région d' APPRIEU

#### **Annexe II:**

# Questionnaire administré aux personnes interrogées pour l'enquête de cohorte, épidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002

Enquête Isère – Décembre 2002 – FICHE FOYER
Nom de l'enquêteur :
SUIVI DE L'ENQUETE – MISE A JOUR  date du 1er appel //_/ // ///  Résultat :
<ul> <li>□ Refus</li> <li>□ Dossier clos</li> <li>□ Dossier incomplet</li> <li>□ Pas de réponse</li> <li>□ Rappeler à la date du / _ / _ / _ / _ / _ / _ / _ / _ / _ /</li></ul>
□ N° de téléphone à rappeler si différent /// // // // // // // // Foyer exclus : tous les habitants étaient absents pendant la période d'alerte
date du 2 <sup>ème</sup> appel /// ///  Résultat :  □ Refus □ Dossier clos □ Dossier incomplet □ Pas de réponse □ Rappeler à la date du /// /
date du 3 <sup>ème</sup> appel /// ///  Résultat :  Refus  Dossier clos  Dossier incomplet  Pas de réponse  Foyer exclus : tous les habitants étaient absents pendant la période d'alerte
Bonjour, Je suis (nom) de la Ddass de l'Isère et nous enquêtons sur l'épidémie de gastro-entérite qui est survenue dans les communes de Colombe, St-Blaise-du-Buis, Apprieu et Réaumont au mois de novembre.  Accepteriez-vous de me consacrer du temps pour répondre à un questionnaire pour chaque membre du foyer pour nous permettre de documenter cet évènement ?  Combien de personnes vivent au foyer ?  Le questionnaire prendra donc environ XXX minutes, à raison de XXX minutes par personne résidant au foyer.  Y a-t-il des personnes résidentes au foyer absentes depuis le vendredi 15 novembre ?
Nombre de personnes : (Si $nb = nb$ de pers. résidentes, critère d'exclusion, arrêter le questionnaire pour tout le foyer et remercier) Nom de rue, N°, étage :
(vérifier si la commune est bien Colombe, St-Blaise-du-Buis, Apprieu ou Réaumont)

Enquête Isère – Décembre 2002							
	FI	CHE	SUJET				
Date de l'entretien	// 12/20	002					
Caractéristiques du foyer							
N° du foyer /_/_/_/_	/		N° pers	onne	//_	_/	
Données démographiques			•				
Nom /	/	Pré	nom	/		/	
Age // (ans) Age							
Sexe: □ M □ F							
1. Vous êtes-vous absenté (la la l	- Non						
Si oui, à quelles périodes étiez	-vous absent (précise	er les d	ates)				//
							//
				du	//_	_/ au	//
INFORMATION SUR LES	CONSOMMATION	NS:					
Les questions suivantes ont alimentaires et votre consomm	-	onnaîtr	re votre cor	nsomma	tion habit	uelle d	e certains produits
2. Depuis le vendredi 15 nove	embre, avez-vous (l	a pers	onne a-t-ello	e) conso	mmé :		
Des plats cuisinés surgelés ou	traiteurs		□ 1 - Oui		2 - Non	<b>a</b> 3	3 - Ne sait pas
Des fruits de mer crus ou peu o	cuits		□ 1 - Oui		2 - Non	<b>a</b> 3	3 - Ne sait pas
Des pâtisseries ou crèmes glac	ées		□ 1 - Oui		2 - Non	<b>a</b> 3	3 - Ne sait pas
Du lait cru (fromage au lait cru	ı) ou lait de ferme		□ 1 - Oui	۵	2 - Non	<b>a</b> 3	3 - Ne sait pas
3. Votre habitation est-elle al	imentée par :						
	· ·	un p	ouits privé				
		le ré	seau de la v	ille			
		les d	leux				
4. Avant le mercredi 20 nover	mbre, avez-vous (la	persoi	nne a-t-elle)	conson	ımé de l'e	eau du 1	robinet ?
□ 1 – Jamais		,•	, ,				
□ 2 – Parfois :	Nombre de verr		//				
□ 3 – Exclusivement :	Nombre de verr	es /jr	//				
5. Avant le mercredi 20 nove	mbre, avez-vous (la	perso	nne a-t-elle)	conson	nmé de l'e	eau en l	oouteille ?
□ 1 – Jamais							
□ 2 – Parfois :	Nombre de verr		//			iez le n re = 3 i	b de verres
□ 3 – Exclusivement	Nombre de verr	es	//		1 litre	re = 3 ( = 5 ve re = 8	erres

(	•	١	J
(		1	5
(	ī	5	١
(	Ċ	`	J
	9	1	)
	3	1	2
٠	4	2	4
	ξ		
	9	1	)
	÷		)
	(		)
	2		1
	ç	1	j
,	i		5
	Ċ	i	i

6. <u>Avant le mercredi 20 novembre</u> , avez-vous (la personne a-t-elle) : - consommé des crudités préparées avec l'eau du robinet ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
- consommé du thé ou du café préparés avec l'eau du robinet ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
- consommé des boissons allongées d'eau du robinet (dilution d'un jus de fruit par exemple) ?  □ 1 - Oui □ 2 - Non □ 3 Ne sait pas				
- consommé des glaçons préparés avec l'eau du robinet ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
7. <u>Avant le mercredi 20 novembre</u> , vous êtes-vous (la personne s'est-elle) brossé les dents en utilisant l'eau d robinet ?	u			
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
8. <u>A partir du mercredi 20 novembre</u> , avez-vous (la personne a-t-elle) consommé de l'eau du robinet ?				
□ 1 – Jamais				
□ 2 – Parfois : Nombre de verres // □ 3 – Exclusivement Nombre de verres / /				
Si parfois ou exclusivement, l'eau a-t-elle été bouillie ?  □ 1 - Oui □ 2 - Non □ 3 Ne sait pas				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
9. <u>A partir du mercredi 20 novembre</u> , avez-vous (la personne a-t-elle) consommé de <u>l'eau en bouteille</u>				
□ 1 – Jamais				
□ 2 − Parfois : Nombre de verres // □ 3 − Exclusivement Nombre de verres / /				
10. A partir du mercredi 20 novembre, avez-vous (la personne a-t-elle) :				
- consommé des crudités préparées avec l'eau du robinet ?				
☐ 1 - Oui ☐ 2 – Non ☐ 3 Ne sait pas - consommé du thé ou du café préparés avec l'eau du robinet ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
- consommé des boissons allongées d'eau du robinet (dilution d'un jus de fruit par exemple) ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
- consommé des glaçons préparés avec l'eau du robinet ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
11. Après le mercredi 20 novembre, vous êtes-vous (la personne s'est-elle) brossé les dents en utilisant l'eau d	u			
robinet?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non □ 3 Ne sait pas				
12. Avez-vous (la personne a-t-elle) été informé sur les mesures de restriction d'usage de l'eau ?				
□ 1 - Oui □ 2 – Non				
Si « OUI », à quelle date avez-vous été informé ? // 11/2002				
Si « OUI », avez-vous été (la personne a-t-elle) été informé par :				
La radio       □ 1 - Oui       □ 2 - Non         La télévision       □ 1 - Oui       □ 2 - Non				
La télévision				
Une lettre				
L'affichage en mairie				
Autres:   1 - Oui  2 - Non				
Préciser :				
INFORMATIONS SUR LA MALADIE				
Les questions suivantes ont pour objectif de caractériser les symptômes ressentis lors de cette épidémie de gastro	)-			
entérite.				
13. Depuis le vendredi 15 novembre avez-vous (la personne a-t-elle) eu ?				
De la diarrhée				
Si oui, nombre de selles liquides maximum par jour :// / jour				
Si oui, y avait-il du sang dans les selles :				

	ssements maximum par jour : // / jo	
Douleurs abdominales		□ 2 – Non
Nausées		□ 2 – Non
Fièvre (>38°)		□ 2 – Non
Maux de tête	□ 1 - Oui	
Perte d'appétit	□ 1 - Oui	
D'autres symptômes	□ 1 - Oui	□ 2 – Non
Si oui lesquels:		
•••••		
Si la réponse est « non »	à tous ces symptômes passer à la que	estion 24
	sont-ils accompagnés d'une perte de	poids?
□ 1 - Oui	□ 2 – Non	
15. A quelle date sont a	npparus ces symptômes ? : //_	/ 2002
16. Des symptômes per	rsistent-ils aujourd'hui ? : 🛛 1 - Ou	ui 🗆 2 – Non
Si Oui, préciser lesquels		
Diarrhée	□ 1 - Oui □ 2 – No	
Vomissements	□ 1 - Oui □ 2 – No	
	ssements maximum par jour : // / jo	
Douleurs abdominales	□ 1 - Oui □ 2 – No	
Nausées	□ 1 - Oui □ 2 - No	
Fièvre (>38°)	□ 1 - Oui □ 2 - No	
Maux de tête	□ 1 - Oui □ 2 - No	
Perte d'appétit	□ 1 - Oui □ 2 - No	
D'autres symptômes	□ 1 - Oui □ 2 – No	on
Si oui lesquels : Si Non, combien de jour	rs avez-vous été malade ? : // jou	ırs
17 Avez veus (le neus	nno o t ollo) consultá un mádosin no	um ang grummtâman 2
☐ 1 Oui	onne a-t-elle) consulté un médecin po 2 Non	our ces symptomes :
Si oui à quelle date :	/ / /02/	
Nom du médecin :	//	
10 4 4		4.9
Oui   Oui	onne a-t-elle) consommé des médican Non 🗆	nents ?
•		
Si oui, les médicament	ts vous ont-ils été prescrits par le méde	ecin?
	achetez directement à la pharmacie?	
	de votre stock ?	
1 TO VICINICITE-IIS	de voire stock :	<u> </u>
19. Avez-vous (la nerso	onne a-t-elle) eu un examen des selles	s ?
	Non (si « non », allez à la question 21	
	s du laboratoire (nom et commune): /_	
	(nom et esimilare), , _	<del></del>
20. Quel était le résult	at des examens réalisés sur les selles	? (coproculture)
□ Positif		entifié://
□ Négatif	2 2 1	
□ Ne sait pas		
•		
21. Avez-vous (la pers	sonne a-t-elle) interrompu vos (ses)	activités quotidiennes (loisirs, écoles, travail) en
raison de ces symptôm	es?	
□ 1 – Oui Combien o	de jours : $/$ / $\square$ 2 – No	on

22. Avez-vous été (la personne a-t-elle été) alité(e) en raison de ces symptômes ?  □ 1 - Oui Combien de jours : // □ 2 - Non
23. Avez-vous (la personne a-t-elle) été hospitalisé pour ce problème ?  □ 1 - Oui □ 2 - Non
Si OUI, date : //02/ Nom de l'hôpital //
Service //
Combien de temps avez-vous (la personne a-t-elle) été hospitalisé : // jours
24. Dans les jours précédant la maladie, avez-vous (la personne a-t-elle) pris des antibiotiques ?  □ 1 - Oui □ 2 - Non
25. Dans les jours précédant la maladie, avez-vous (la personne a-t-elle) pris des antiacides (contre les brûlures d'estomac)?
□ 1 - Oui □ 2 - Non
26. Dans les jours précédant la maladie, avez-vous pris (la personne a-t-elle) des corticoïdes ? □ 1 - Oui □ 2 - Non
A la fin du questionnaire penser à questionner les autres sujets du foyer  A la fin du dernier questionnaire rempli, remercier la personne pour sa collaboration et indiquer que les résultats feront l'objet d'une communication publique à la fin du mois de janvier

#### Annexe III:

#### Analyses virologiques des selles - Résultats - Epidémie de Gastro-entérite, Isère, novembre 2002

#### CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE DIJON

#### Laboratoire de Virologie

2, Boulevard de Lattre de Tassigny, 21034 Dijon - Tel: 03-80-29-34-37 - Fax: 03-80-29-36-04

Date de réception des examens : 26 Novembre 2002

Examens transmis par: Laboratoire JABIN-PERNOUD 38690 Le Grand Lemps

26 Décembre 2002 Date du compte - rendu :

#### RECHERCHE DES VIRUS ENTERIQUES

Astrovirus, Adénovirus types 40 et 41, Rotavirus (1) Calicivirus humains (Genres Sapovirus anciennement Sapporo-like et Norovirus anciennement Norwalk-like) (2)

N°	IDENTITE	Astrovirus	Adénovirus 40-41	Rotavirus	Calicívirus
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
.5		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif
		Négatif	Négatif	Négatif	Positif

Les résultats d'hybridation ainsi que le séquençage des produits amplifiés pour les échantillons E408, E411 et E413 mettent en évidence la présence de 2 souches différentes appartenant aux génogroupes I et II :

- la souche de calicivirus isolée dans l'échantillon E413 appartient au genre Norovirus, génogroupe II et présente 90,9% d'identité avec la souche Lordsdale et 99,2% d'identité avec la souche Grimsby sur la région amplifiée codant l'ARN
- la souche de calicivirus isolée dans l'échantillon E411 appartient au genre Norovirus, génogroupe I et présente 98,6% d'identité avec la souche Birmingham sur la région amplifiée codant la capside.
- L'échantillon E408 contient les 2 souches

Dr Evelyne Kohli

(1) Techniques immuno-enzymatiques.

(2) Amplification génique par RT-PCR.



#### Annexe IV:

### Analyses virologiques de l'eau – Résultats – Epidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002

A la suite de la demande de la Ddass de l'Isère du 25 novembre 2002, la recherche des virus entériques humains suivants a été réalisée par RT-PCR dans l'eau de distribution des communes de Apprieu, Colombe, Réaumont et Saint Blaise du Buis (Isère) : astrovirus, calicivirus, entérovirus, rotavirus et virus de l'hépatite A.

#### Matériel et méthodes

Echantillons. Trois échantillons d'eau de distribution (1 l) ont été prélevés le 22 novembre 2002 par le service Santé Environnement de la Ddass (Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales) de l'Isère aux lieux suivants :

- station de refoulement de Planche Catin (commune d'Apprieu) : prélèvement n° 1
- vanne de vidange du réservoir de Plambois (commune d'Apprieu) : prélèvement n° 2
- chez un particulier au lieu dit le Tramoud (commune de Colombe) : prélèvement n° 3

Ces prélèvements ont été placés en glacière réfrigérée et acheminés par transporteur au laboratoire de Microbiologie de Nantes.

Extraction des ARN viraux

100 ml d'eau sont centrifugés à 186 000 g pendant 1h30 à 4°C dans une ultracentrifugeuse Beckman XL80. Le culot est repris dans 200µl d'eau stérile et les ARN viraux sont extraits en utilisant le kit High Pure Viral RNA Kit (Roche Molecular Diagnostics, Mannheim, Germany) selon les instructions du fabricant.

Amorces de RT-PCR et sondes pour l'hybridation des produits de PCR. Les amorces Beg 9, End 9 et la sonde RFP4 décrites par Gouvea (1990), Con2, Con 1 et la sonde VP4 décrites par Gentsch (1992), ont été utilisées pour la détection des rotavirus humains ; les amorces NVp110 (Le Guyader et al., 1996), NVp36 (Wang et al., 1994), SR48-50-52 (Ando et al., 1995) et NI (Green et al., 1995) et les sondes SR 47-61-63, UK3, JV5 et GGII (Vinje et Koopmans, 2000) pour la détection des virus Norwalk-like ; les amorces H7, H8 et la sonde H9 (Bosch, soumis) pour la détection du virus de l'hépatite A ; les amorces AV1, AV2 et la sonde AV3 (Mitchell, 1995) pour la détection des astrovirus ; les amorces PV444, P1 et la sonde P2 (Bosch, 1996 ; Shieh, 1997) pour la détection des entérovirus.

RT-PCR. 2µl d'extrait d'acides nucléiques sont utilisés pour la reverse transcription avec 2.5 µM du primer amont dans un mélange contenant la murine leukemia virus reverse transcriptase (MuLV-RT) (Perkin Elmer, USA). Pour l'ARN double brin de rotavirus, une étape de dénaturation est réalisée par addition de 10 mM hydroxyde de methylmercure dans un mélange contenant l'échantillon et le primer aval. Après incubation à température ambiante pendant 5 minutes, les autres composants de la RT sont ajoutés (Dubois et al., 1997). Après incubation à 42°C pendant 15 minutes et dénaturation pendant 5 minutes à 95°C les microtubes sont disposés sur la glace. Le mélange de PCR est ajouté pour obtenir une solution contenant 1 µM de chaque amorce selon les instructions du fabricant de la Taq polymerase (Perkin-Elmer). Les conditions d'amplification sont les suivantes : dénaturation initiale à 94 °C pendant une minute; 40 cycles de dénaturation à 94°C pendant 30 s, hybridation des amorces à 50°C pendant 30 s et élongation à 72°C pendant 7 min dans un thermocycleur.

Les produits d'amplification sont détectés par électrophorèse en gel de polyacrylamide à 9 % et coloration au bromure d'éthidium.

Pour améliorer la sensibilité de la détection, les produits d'amplification sont déposés sur membrane et hybridés avec une sonde spécifique détectée par chémiluminescence.

#### Résultats

La présence d'entérovirus, d'astrovirus et de calicivirus a été mise en évidence après hybridation des produits de PCR. Il n'a pas été détecté de rotavirus ni de virus de l'hépatite A.

Les résultats obtenus suggèrent une faible contamination. Les calicivirus détectés appartiennent au génogroupe II, comme ceux détectés dans les selles par le laboratoire de Virologie du CHU de Dijon. Des essais vont être réalisés pour essayer d'augmenter la qualité du signal obtenu en PCR en vue d'un séquençage de la souche détectée.

#### Références bibliographiques :

Ando, T., Monroe, S. S., Gentsch, J. R., Jin, Q., Lewis, D. C., and Glass, R. I. (1995). Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses (Norwalk-like viruses) by reverse transcription-PCR and southern hybridization. *J Clin Microbiol* **33**(1),64-71.

Bosch A., Gajardo R., Diez J.M., Pinto R.M. (1996). Non isotopic automatable molecular procedures for the detection of enteroviruses. *Mol Cel Probes*, **10**:81-89.

Gentsch, J. R., Glass, R. I., Woods, P., Gouvea, V., Gorziglia, M., Flores, J., Das, B. K., and Bhan, M. K. (1992). Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **30**(6),1365-73.

Gouvea, V., Allen, J. R., Glass, R. I., Fang, Z. Y., Bremont, M., Cohen, J., McCrae, M. A., Saif, L. J., Sinarachatanant, P., and Caul, E. O. (1991). Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **29**(3),519-23.

Gouvea, V., Glass, R. I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H. F., Forrester, B., and Fang, Z. Y. (1990). Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* **28**(2),276-82.

Green, J., Gallimore, C. I., Norcott, J. P., Lewis, D., and Brown, D. W. (1995). Broadly reactive reverse transcriptase polymerase chain reaction for the diagnosis of SRSV-associated gastroenteritis. *J Med Virol* **47**(4),392-8.

Le Guyader, F., Estes, M. K., Hardy, M. E., Neill, F. H., Green, J., Brown, D. W., and Atmar, R. L. (1996). Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human caliciviruses. *Arch Virol* **141**(11),2225-35.

Shieh Y.S., Baric R.S., Sobsey M.D. (1997). Detection of low level of enteric viruses in metropolitan and airplane sewage. Appl Environ Microbiol **63**,4401-4407.

Vinje, J., and Koopmans, M. P. (2000). Simultaneous detection and genotyping of Norwalk-like viruses by oligonucleotide array in a reverse line blot hybridization format. *J. Clin. Microb.* **38** (7),2595-2601.

Wang, J., Jiang, X., Madore, H. P., Gray, J., Desselberger, U., Ando, T., Seto, Y., Oishi, I., Lew, J. F., Green, K. Y., and et al. (1994). Sequence diversity of small, round-structured viruses in the Norwalk virus group. *J Virol* **68**(9),5982-90.

#### Annexe V:

## Distribution statistique des contaminations selon trois types d'eau, et deux indicateurs bactériologiques.

Données du contrôle sanitaire de la Ddass 38. Epidémie de gastro-entérite, Isère, nov. 2002

B = Bactérie ; N = nombre de prélèvements.

A: Eau brute, bactéries aérobies revivifiables à 22°-72h, (1991-2002; N= 27).

B: Eau brute, bactéries aérobies revivifiables à 37°-24h, (1991-2002; N= 27)

C: Eau brute, coliformes totaux /100ml-MS, (1991-2002; N= 27)

D: Eau brute, spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices / 20ml, (1991-2002; N= 27)

E: Eau traitée, bactéries aérobies revivifiables à 22°-72h, (1993-2002; N= 30).

F: Eau traitée, bactéries aérobies revivifiables à 37°-24h, (1993-2002; N= 30).

G: Eau traitée, coliformes totaux /100ml-MS, (1993-2002; N= 30).

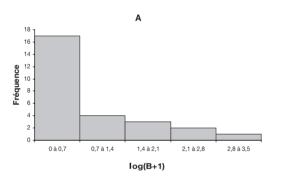
H: Eau traitée, spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices / 20ml,(1993-2002; N= 30).

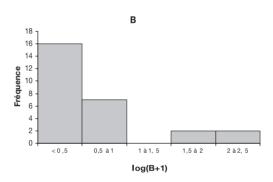
I : Eau distribuée, bactéries aérobies revivifiables à 22°-72h, (1991-2002; N= 145).

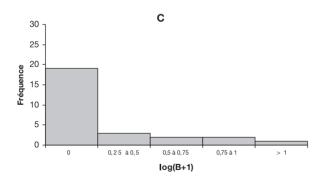
J: Eau distribuée, bactéries aérobies revivifiables à 37°-24h, (1991-2002; N= 145).

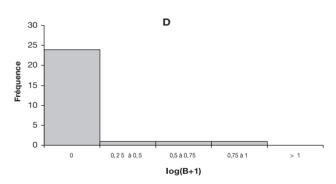
K: Eau distribuée, coliformes totaux /100ml-MS, (1991-2002; N= 145).

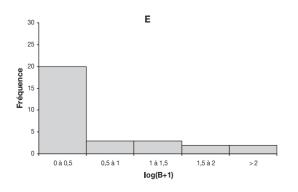
L: Eau distribuée, spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices / 20ml, (1991-2002; N= 145).

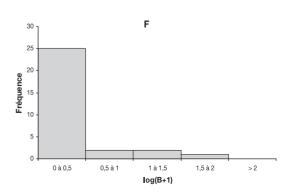


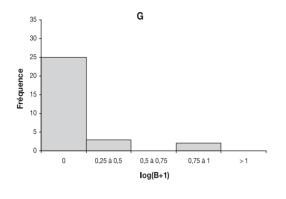


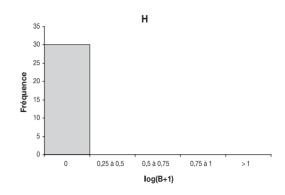


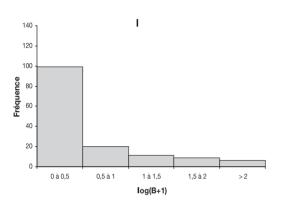


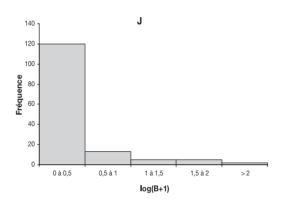


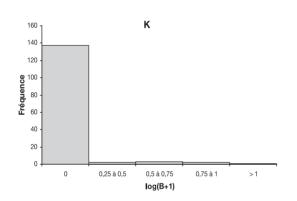


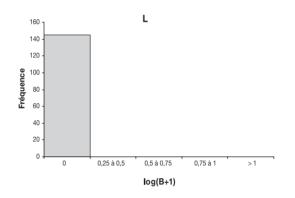












valeur de log (B+1)	nombre bactéries aérobies n/mL
0 à 0,5	0 à 2
0,5 à 1	3 à 9
1 à 1,5	10 à 16
1,5 à 2	17 à 99
> 2	> 100

valeur de log (B+1)	nombre coliformes n/100 mL	nombre B sulfito-red, n/20 mL
0	0	0
0,25 à 0,5	1 ou 2	1 ou 2
0,5 à 0,75	3 ou 4	3 ou 4
0,75 à 1	5	5
>1	> 10	> 10

Notes