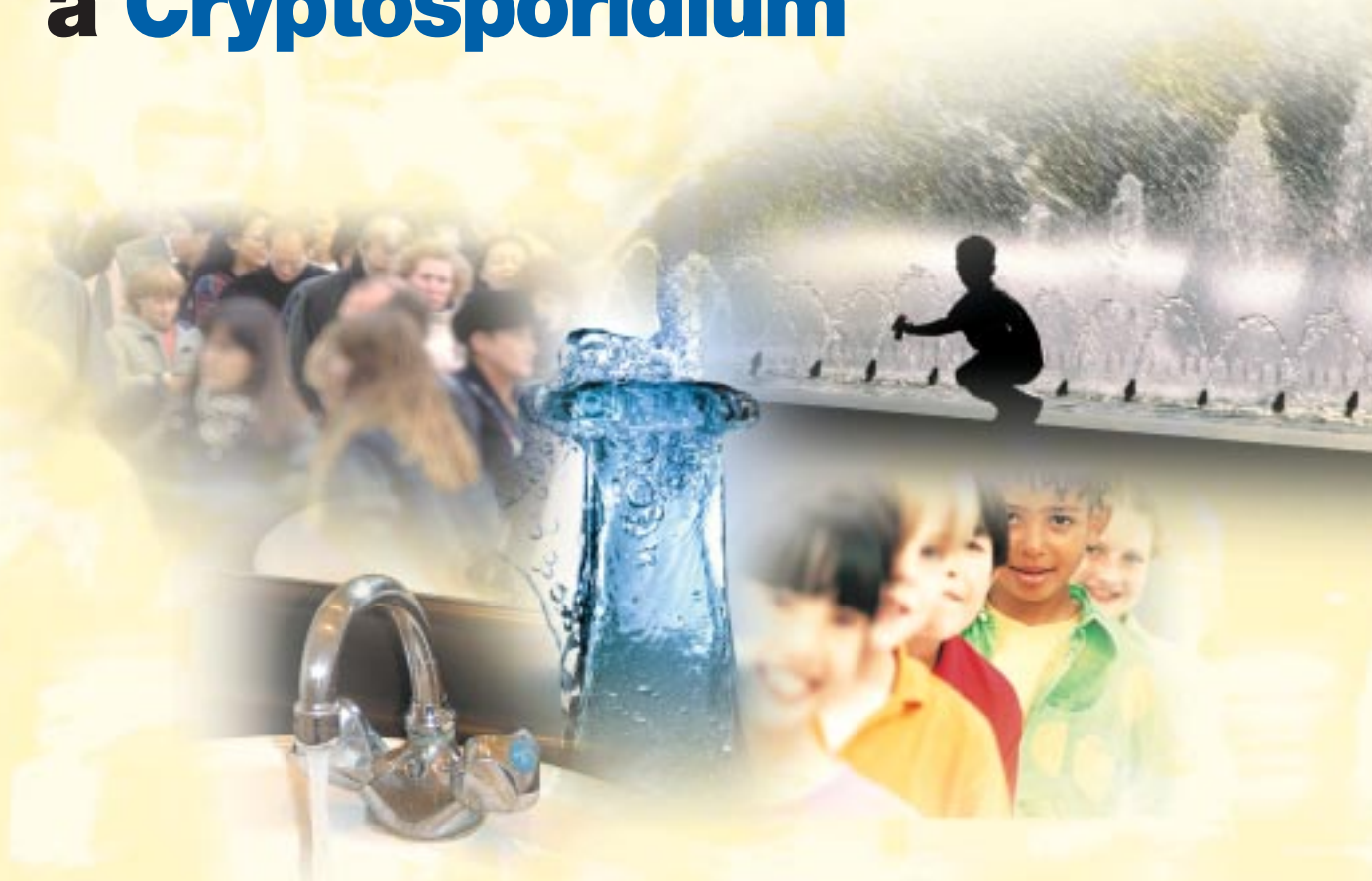


Marc Di Palma, Sylvia Carbonel, Pascal Beaudeau, Estelle Checlair et Anne Gallay

Épidémie de **gastro-entérite** à **Cryptosporidium**



DRASS DE BOURGOGNE
CIRE DIJON

Dracy-le-Fort, Saône et Loire (71)
Septembre 2001



INSTITUT DE
VEILLE SANITAIRE

Marc Di Palma, Sylvia Carbonel, Pascal Beaudeau, Estelle Checlair et Anne Gallay

Épidémie de **gastro-entérite** à **Cryptosporidium**



Dracy-le-Fort, Saône et Loire (71)
Septembre 2001



Drass de Bourgogne
CIRE Dijon





Institutions et personnes ayant contribué à l'investigation

Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) de Saône-et-Loire, Mâcon

C. Tillier
E. Altaber
C. Bonnard
M.G. Fleischmann
M.N. Loizeau
S. Malecki
H. Bertrand

Cellule interrégionale d'épidémiologie d'intervention (Cire) Centre-Est, Dijon

M. Di Palma
S. Carbonel
K. Besse
B. Bonin

Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice

P. Beaudeau (DSE)
E. Checlair (DSE)
A. Gallay (DMI)
Ph. Germonneau (DSE)

Laboratoire de microbiologie du centre hospitalier de Chalon-sur-Saône

A. Le Coustumier
L. Villeneuve

Laboratoire de virologie du centre hospitalier universitaire de Dijon (Pr Pierre POTHIER)

E. Kohli
F. Bon
C. Sancey

Laboratoire de parasitologie du centre hospitalier universitaire de Dijon (Pr Alain Bonnin)

A. Bonnin

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

P. Le Cann

Ce rapport a été rédigé par

Marc Di Palma (Cire), Sylvia Carbonel (Cire), Pascal Beaudeau (InVS), Estelle Checlair (InVS) et Anne Gallay (InVS)

Sommaire

Institutions et personnes ayant contribué à l'investigation	3
Sommaire	5
Résumé	9
Introduction	11
Objectifs	13
Méthodologie	15
1. Enquête auprès des participants à un stage dans un hôtel de la commune	15
1.1. Type, population d'étude et définition de cas	15
1.2. Collecte des données	15
2. Enquête auprès des médecins	16
3. Enquête en population générale	16
3.1. Type d'enquête et population d'étude	16
3.2. Définition de l'exposition à l'eau du robinet	16
3.3. Définition de cas	17
3.4. Calcul du nombre de sujets nécessaires	17
3.5. Modalités d'échantillonnage	17
3.6. Collecte des données	17
4. Analyse des données	18
5. Analyses microbiologiques des selles	18
6. Enquête environnementale	18
6.1. Description du captage, traitement et distribution de l'eau du réseau	18
6.2. Analyse de l'eau	19
6.3. Recherche de l'origine de la contamination	19
Résultats	21
1. Enquête auprès de la cohorte de stagiaires	21
1.1. Description de la cohorte	21
1.2. Relation entre l'exposition à certains aliments, à l'eau du robinet ou au jus de fruit et la survenue d'une gastro-entérite	24
1.3. Durée d'incubation	25
2. Enquête auprès des médecins	25
2.1. Les répondants	25
2.2. Les résultats	25

3. Enquête en population générale de Dracy-le-Fort	26
3.1. Description de la cohorte	27
3.2. Description des cas certains et probables	29
3.3. Incidence des gastro-entérites : répartition par quartier et par semaine	32
3.4. Association entre la consommation de l'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite	35
3.5. Relation exposition à l'eau du robinet et survenue d'une gastro-entérite aiguë selon la quantité d'eau consommée	35
3.6. Association entre la consommation d'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite par classe d'âge	35
3.7. Association entre la consommation indirecte d'eau et la survenue d'une gastro-entérite	36
3.8. Association entre la consommation d'aliments avant le 20 septembre 2001 et la survenue d'une gastro-entérite	36
3.9. Estimation du nombre de malades dans la population	36
4. Résultats des coprocultures	37
4.1. Bactériologie	37
4.2. Virologie	37
4.3. Parasitologie	37
5. Enquête environnementale	37
5.1. Microbiologie de l'eau	37
5.2. Recherche de l'origine de la contamination	41
5.3. Mesures de gestion	41
6. Estimation de la période de contamination	42
Discussion	43
Recommandations	47
Conclusion	49
Références bibliographiques	51
Annexe 1	53
Annexe 2	55
Annexe 3	61
Annexe 4	63
Annexe 5	65
Annexe 6	67



Liste des abréviations

AEP :	Alimentation en eau potable
CH :	Centre hospitalier
CHU :	Centre hospitalier régional et universitaire
Ddass :	Direction départementale des affaires sanitaires et sociales
GEA :	Gastro-entérite aiguë
IC :	Intervalle de confiance
Ifremer :	Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
LABM :	Laboratoire d'analyses biologiques et médicales
RR :	Risque relatif
SAUR :	Société d'aménagement urbain et rural
STEP :	Station d'épuration
TIAC :	Toxi-infection alimentaire collective
UD :	Unité de distribution
VA :	Variable aléatoire



Résumé

Introduction

A la suite du signalement aux autorités sanitaires locales d'une augmentation de cas de gastro-entérites dans une commune de Saône-et-Loire en septembre 2001, une investigation à visée descriptive et analytique a été conduite afin de confirmer l'existence d'une épidémie et d'en préciser l'origine infectieuse.

Méthodes

L'activité totale de consultation et de consultation pour gastro-entérite a été recueillie auprès des médecins généralistes. Une étude de cohorte rétrospective a été conduite auprès de l'ensemble des foyers inscrits sur l'annuaire téléphonique. Les cas certains étaient définis par la survenue de 3 selles liquides ou plus par 24 h ou de vomissements et les cas probables par la présence de 1 ou 2 selles liquides ou de douleurs abdominales. Des analyses microbiologiques des selles et de l'eau ont été réalisées ainsi qu'une enquête environnementale.

Résultats

Les consultations pour gastro-entérites représentaient 13 % de l'activité totale des médecins généralistes entre le 14 et le 26 septembre et moins de 1 % pour la période comprise entre le 01 et le 13 septembre. Le taux d'attaque observé était de 62 % (483/781), 397 étaient des cas certains et 86 des cas probables. La consommation d'eau du robinet était associée à un risque plus élevé d'être malade (RR de 2 ; IC95 % : 1,6-2,4) et ce risque augmentait avec le volume d'eau consommé ($p < 0,001$). Les symptômes étaient principalement de la diarrhée, des douleurs abdominales et des vomissements. L'examen microbiologique des selles a mis en évidence une flore fécale polymorphe : *C. parvum* génotype 1 (61,3 %), Rotavirus (20 %), Enterovirus (14 %), *Campylobacter jejuni* (14 %), *E. Coli* entérotoxigène (12 %), et adénovirus (6 %). Des cryptosporidies ont été isolées dans l'eau. Une défaillance des réseaux de distribution d'eau de la station d'épuration a été identifiée.

Conclusions

L'investigation a permis de conclure à la survenue d'une épidémie de gastro-entérites d'origine hydrique à *C. parvum* de génotype 1. Ce génotype, ainsi que la nature des virus trouvés dans les selles, signent l'origine humaine de la pollution fécale. L'importance du taux d'attaque observés indique une contamination ponctuelle massive de l'eau par les cryptosporidies. La répartition spatio-temporelle des cas et la mise en évidence de défauts de conception des réseaux de distribution d'eau de la station d'épuration corroborent l'hypothèse d'une contamination du réseau d'eau potable par des eaux usées.



Introduction

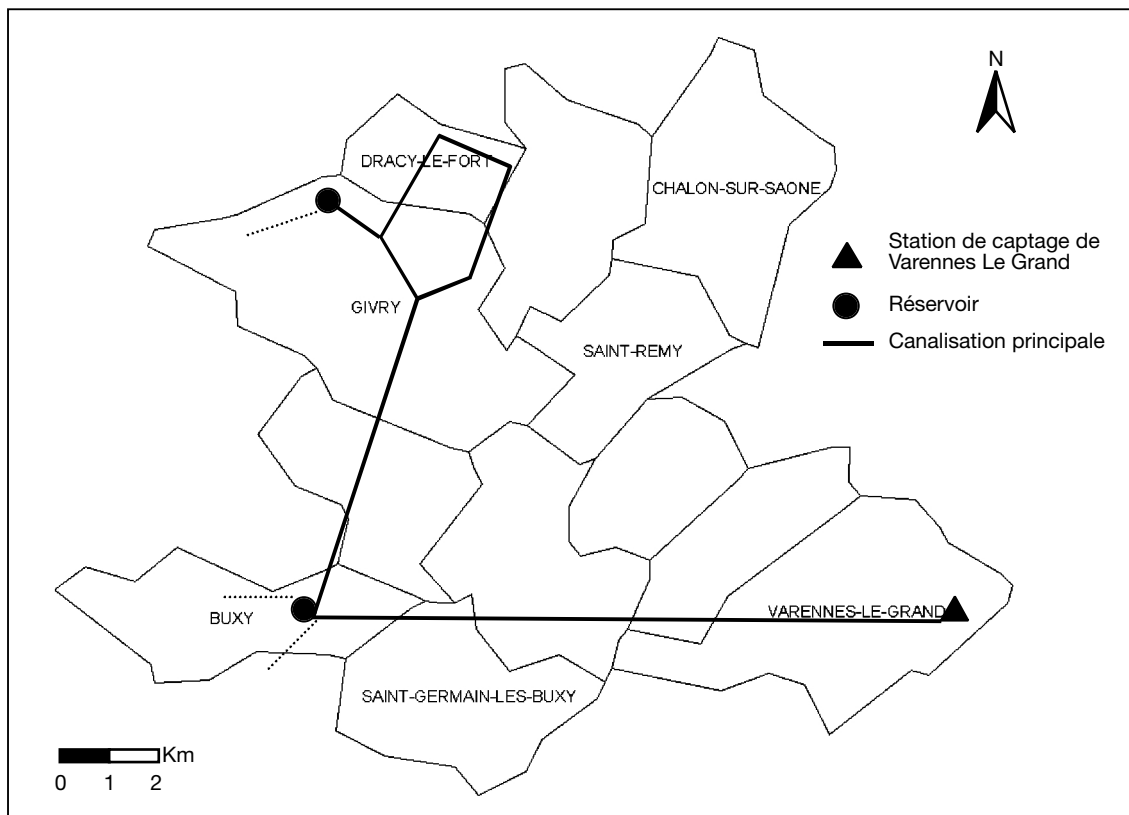
Le 20 septembre 2001, la Ddass de Saône-et-Loire est informée par un appel de SOS médecins de Chalon-sur-Saône de la survenue d'une toxi-infection alimentaire collective dans un hôtel de la commune de Dracy-le-Fort. Lors de l'investigation, réalisée le jour même, il s'avérait que les cas de gastro-entérite touchaient non seulement les clients de l'hôtel mais aussi le personnel, l'école primaire, le centre médico-chirurgical et la communauté.

L'hypothèse d'une contamination de l'eau potable a été rapidement envisagée s'agissant du dénominateur commun le plus vraisemblable en termes d'exposition. Des prélèvements d'eau ont été réalisés et des mesures de restriction d'usage de l'eau à des fins alimentaires ont été diffusées le 20 après-midi auprès de la population de la commune dans l'attente des résultats d'analyse. La chloration du réseau de distribution a été renforcée sur la commune de Dracy-le-Fort.

Dracy-le-Fort, commune de 1 100 habitants est intégrée dans une unité de distribution d'eau desservant 26 communes soit environ 16 000 personnes. La commune de Dracy-le-Fort est située en bout de réseau et son alimentation en eau est assurée par deux canalisations issues d'un réservoir situé dans la commune voisine de Givry [1]. Depuis le 14 septembre 2001, plusieurs plaintes avaient été enregistrées par la SAUR et par la mairie pour une couleur d'eau marron. Suite aux plaintes, la SAUR avait procédé à une purge de réseau le 18 et 19 septembre 2001. Ce fait n'a été porté à la connaissance des autorités sanitaires que postérieurement au démarrage des investigations épidémiologiques.

Compte tenu de l'importance et du caractère de l'épidémie, la Ddass de la Saône-et-Loire chargée de la gestion du risque sanitaire a demandé à la Cellule Interrégionale d'Epidémiologie (Cire) Centre-Est de procéder à une investigation épidémiologique avec l'Institut de Veille Sanitaire. Les analyses microbiologiques ont été réalisées par les laboratoires d'analyses microbiologiques et médicales (LABM) locaux, le laboratoire d'analyses microbiologiques de l'hôpital de Chalon-sur-Saône, les laboratoires de virologie et de parasitologie du CHRU de Dijon. Les analyses d'eau ont été réalisées par le laboratoire d'hydrologie du centre hospitalier de Mâcon, le laboratoire central de la SAUR de Maurepas et l'Ifremer.

FIGURE 1. Réseau AEP de Chalon-Sud-Ouest, vue partielle, représentation schématique. Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001. ©BD CARTO®1999





Objectifs

- Eliminer ou confirmer une toxi-infection alimentaire collective au niveau de l'hôtel.
- Confirmer l'existence de l'épidémie de gastro-entérite survenue sur la commune de Dracy-le-Fort et la décrire.
- Déterminer le rôle de l'eau du robinet comme source de contamination.
- Déterminer l'origine et les circonstances de la contamination afin de préconiser des mesures de contrôle et de prévention adaptées.
- Evaluer l'efficacité de la diffusion des mesures de restriction de consommation d'eau sans arrêt de distribution.



Méthodologie

Investigations :

Les investigations suivantes ont été réalisées :

- Enquête auprès des clients (participants à un stage) de l'hôtel de la commune de Dracy-le-Fort. Il s'agit du point d'appel de l'investigation. Cette enquête de cohorte rétrospective a été traitée séparément de l'enquête en population générale du fait des spécificités de la population (court séjour) et de la problématique du moment (hypothèse d'une TIAC).
- Enquête auprès des médecins généralistes du secteur de l'Unité de Distribution (UD) de l'eau. L'enquête auprès des médecins a permis très rapidement d'apprécier l'étendue géographique de l'épidémie, de conforter ainsi la piste de l'origine hydrique.
- Enquête auprès de la population générale de Dracy-le-Fort.
- Analyses microbiologiques des selles.
- Enquête environnementale :
 - Suivi analytique quotidien de la qualité de l'eau ;
 - Recherche de l'origine de la contamination.

Contexte :

Parallèlement, des mesures de gestion de la crise ont été prises pendant l'épidémie :

- Elaboration et diffusion de recommandations de ne pas utiliser l'eau du réseau à des fins alimentaires,
- Désinfection et purges répétées du réseau.

1. Enquête auprès des participants à un stage dans un hôtel de la commune

1.1. Type, population d'étude et définition de cas

Une enquête de cohorte rétrospective a été réalisée auprès de tous les participants à un stage qui s'est déroulé entre les 18 et 19 septembre 2001 au sein d'un hôtel de la commune.

Définition de cas :

- cas certains : diarrhée (≥ 3 selles liquides par jour) ou vomissements ;
- cas probables : diarrhée (1 ou 2 selles liquides par jour) ou douleurs abdominales.

1.2. Collecte des données

Les entretiens ont été réalisés par téléphone entre le 04 et le 10 octobre.

Les données recueillies sur la base d'un questionnaire standardisé (cf. annexe 1) exploraient les points suivants :

- caractéristiques cliniques (date de début des symptômes, type et durée des symptômes) ;
- impact médical (consultation, examen de selles, hospitalisation ; alitement, interruption des activités) ;
- consommation d'eau du robinet ;
- consommation de jus de fruit en carafe ;
- exposition alimentaire (plats consommés aux différents repas) : la liste des plats proposés aux trois repas a été fournie par le restaurateur ;
- antécédents médicaux et traitements en cours.

2. Enquête auprès des médecins

Une enquête téléphonique a été réalisée par la Cire auprès des médecins installés sur 21 des 26 communes¹ appartenant à la même unité de distribution d'eau que celle de Dracy-le-Fort. Les informations suivantes ont été demandées pour la période comprise entre le 01 et le 26 septembre 2001 :

- Nombre de consultations par jour depuis le 01 septembre.
- Nombre de consultations par jour pour gastro-entérite.
- Lieu de résidence des personnes ayant consulté pour gastro-entérite (dans certaines communes dont celle de Dracy-le-Fort, il n'existait aucun cabinet de médecine générale, les patients originaires de ces communes devaient donc consulter sur d'autres communes).

Au total, 22 médecins ont été sollicités le 26/09 entre 18 et 20 h 00 et le 27/09 matin pour communiquer leurs données. Ces praticiens étaient répartis sur les communes de Givry (n = 5), Mercurey (n = 2), Buxy (n = 5), Varennes le Grand (n = 2), Saint Loup de Varennes (n = 1), Saint Désert (n = 1), Mellecey (n = 1) et Châtenoy (n = 5).

Les urgences du CH de Chalon ont également été sollicitées par la Ddass de Saône-et-Loire, ainsi que SOS Médecins basé sur la commune de Chalon-sur-Saône.

Les données recueillies ont été saisies et exploitées sous Excel.

3. Enquête en population générale

3.1. Type d'enquête et population d'étude

Les résultats de l'enquête réalisée auprès des médecins généralistes confirmaient le caractère circonscrit de l'épidémie à une seule commune. Une enquête de cohorte rétrospective a été réalisée auprès de la population de la seule commune de Dracy-le-Fort.

Les personnes incluses dans l'enquête devaient avoir été présentes au moins un jour entre le 1^{er} et le 20 septembre 2001, date de diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau.

3.2. Définition de l'exposition à l'eau du robinet

Une personne a été considérée comme ayant été exposée à l'eau du robinet si elle avait consommé de l'eau du robinet au moins une fois entre le 1^{er} et le 20 septembre.

¹ Liste fournie par la Ddass 71.

3.3. Définition de cas

Les cas ont été définis comme toute personne ayant eu des symptômes de gastro-entérite entre le 1^{er} septembre et le 9 octobre 2001 :

- Cas certains : diarrhée (≥ 3 selles liquides par jour) ou vomissements ;
- Cas probables : diarrhée (1 à 2 selles liquides par jour) ou douleurs abdominales.

3.4. Calcul du nombre de sujets nécessaires

Sous l'hypothèse d'une prévalence de la consommation d'eau du robinet dans la population générale de 50 %, 550 sujets étaient nécessaires pour mettre en évidence un risque relatif de 3 avec un risque de 1^{ère} espèce à 95 % et une puissance de 80 %.

3.5. Modalités d'échantillonnage

Compte tenu du nombre moyen de personnes par foyer de la commune égal à 2,5 (données du recensement général de la population, Insee, 1999), 220 foyers devaient être inclus. Considérant le taux de non réponse observé lors d'enquêtes antérieures (e.g. 40 % à Gourdon, France, 2000 [2]) et la proportion de foyers (10 %) non inscrite sur l'annuaire de téléphone (liste rouge ou téléphone mobile), la commune étant constituée de 429 ménages (Insee 1999), le principe d'interroger tous les foyers a été retenu sur la base de la liste des abonnés au téléphone, soit 387 particuliers abonnés dans l'annuaire. Une questionnaire a été complété pour chaque personne résident au sein des foyers correspondants.

3.6. Collecte des données

Le recueil de l'information a été effectué par entretien téléphonique entre le 3 octobre et le 18 octobre par deux enquêtrices formées. Les foyers ont été contactés au cours de 2 plages horaires les jours ouvrables (du lundi au vendredi) : 11 h 00 à 14 h 00 et 18 h 00 à 21 h 00. En outre, les personnes ont été contactées le samedi 6 octobre entre 9 h et 19 h 00.

Les informations recueillies étaient les suivantes (cf. questionnaire en annexe 2) :

- Les caractéristiques des foyers :
 - nombre de personnes dans le foyer ;
 - dates de présence dans le lieu de résidence.
- Les informations individuelles :
 - 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 septembre, ébullition ou non de l'eau du robinet après le 20 septembre ;
 - information reçue concernant les mesures de restriction, par quel moyen (presse écrite, télévision...) ;
 - consommation d'eau en bouteille avant et après le 20 septembre ;
 - type et date de début des symptômes, durée des symptômes, impact médical et social ;
 - antécédents médicaux et traitements : suivi pour une maladie chronique, traitement prolongé par corticoïdes, traitement par anti-ulcéreux ou anti-acides, antibiothérapie récente.

4. Analyse des données

Les données de la cohorte de stagiaires et de la population générale ont été saisies et exploitées à l'aide du logiciel Epi info 6.04. La force de l'association entre l'exposition et la maladie a été évaluée par l'estimation du risque relatif et de son intervalle de confiance à 95 %. Le risque relatif a été ajusté sur l'âge. Une relation exposition-risque a été recherchée par l'estimation du risque relatif pour des classes croissantes de consommation d'eau du robinet. L'augmentation du risque relatif selon le volume consommé a été testée par un khi2 de tendance linéaire après redistribution des cas par classes quantitatives de consommation.

Le territoire communal a été découpé en quatorze secteurs géographiques déterminés suivant les caractéristiques hydrauliques de l'adduction d'eau potable de la commune de Dracy-le-Fort (débit dans les secteurs desservis, éloignement des secteurs par rapport à l'amenée d'eau, ancienneté du réseau). Le réseau communal étant alimenté par « refoulement-distribution » (cf. paragraphe 5.1), la sectorisation repose sur l'expertise de la société fermière distributrice.

5. Analyses microbiologiques des selles

Jusqu'au 24 septembre, les coprocultures ont été réalisées par les différents laboratoires publics et privés du secteur géographique de Dracy-le-Fort parmi des patients de la population générale de Dracy-le-Fort. A partir du 24 septembre, les analyses bactériologiques ont été réalisées par le laboratoire du Centre Hospitalier de Chalon-sur-Saône.

Les recherches de virus et de parasites ont été réalisées au CHU de Dijon, respectivement, dans le service de virologie (cf. annexe 3) et le service de parasitologie (utilisation de 2 techniques de PCR – cf. annexe 4).

Les agents infectieux bactériens (*Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Escherichia coli*), viraux (rotavirus, entérovirus, adénovirus, calicivirus, astrovirus et virus de l'hépatite A) et parasitaires (*Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, amibes) ont été recherchés.

Il n'y a pas eu de demande de recherche de *Cryptosporidium* dans les selles des patients ayant séjourné à l'hôtel.

6. Enquête environnementale

6.1. Description du captage, traitement et distribution de l'eau du réseau

La commune de Dracy-le-Fort appartient à la communauté de communes de l'agglomération chalonnaise et au syndicat des eaux de Chalon-sur-Saône Sud Ouest. L'alimentation en AEP est déléguée à la SAUR. L'eau provient de la nappe alluviale de La Saône ; elle est pompée au niveau de 7 puits à Varennes-le-Grand. Elle est ensuite chlorée dans une bâche avant d'alimenter 26 communes. L'eau de Dracy-le-Fort est ensuite rechlorée au niveau du réservoir de Buxy. Dracy-le-Fort est située en bout de réseau d'eau potable et alimentée par deux canalisations principales de diamètre Ø125 et Ø200 provenant du réservoir de Givry et alimentant Givry et Dracy-le-Fort.

Il existe plusieurs types d'alimentation en eau potable. Le réseau de Dracy-le-Fort est alimenté par refoulement-distribution. En mode « distribution », le pompage est arrêté, l'eau étant distribuée gravitairement à partir du (ou des) réservoir(s). En mode « refoulement », l'eau est injectée sous pression dans le réseau à partir de l'usine de potabilisation. La partie non distribuée de l'eau remplit le (ou les) réservoir(s) situés en périphérie de réseau. L'eau circule donc

alternativement de l'usine vers les réservoirs et des réservoirs vers l'usine. Cette inversion de sens dans la circulation générale intervient plusieurs fois par jour. Comme le réseau est maillé, il est pratiquement impossible de connaître la circulation et la dispersion d'un contaminant dans le réseau, en dehors de l'existence d'une modélisation informatique de cette circulation.

6.2. Analyse de l'eau

Avant le début de l'épisode épidémique (19/09/01), les analyses de la Ddass sur le réseau d'eau potable étaient conformes microbiologiquement (coliformes et entérocoques) et en terme de turbidité depuis plusieurs années et notamment les dernières analyses le 10 septembre 2001.

Les services sanitaires de la Ddass et la SAUR ont réalisé des prélèvements d'eau (n=228) en différents points du réseau entre le 19 septembre et le 31 octobre 2001. Le Laboratoire d'hydrologie du centre hospitalier de Mâcon et celui de la SAUR à Maurepas ont procédé à des analyses d'indicateurs de conformité de l'eau :

- des analyses physico-chimiques, notamment concentration en chlore résiduel, turbidité ;
- des analyses bactériologiques : dénombrement des micro-organismes totaux (méthode NF EN ISO 6222), des coliformes totaux et fécaux (méthode NF T 90 414), des entérocoques (méthode XP T 90 416), *Escherichia coli* (méthode NF EN ISO 9308-1), spores de bactéries anaérobies (méthode NF EN 26461 2) ;
- recherche de *Cryptosporidium* (méthode T90-455 [3]) dès le 24 septembre dans le laboratoire de la SAUR à la demande de la Ddass et de l'agence locale de la SAUR.

TABLEAU 1 : Analyses d'eau effectuées par la SAUR et la Ddass, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Nombre d'analyses bactériologiques de contrôle	Nombre de recherche de <i>Cryptosporidium</i>
Ddass	23	6
SAUR	149	50
Total	172	56

Le 28 septembre 2001, 4 échantillons d'eau de distribution ont été prélevés pour faire une recherche de virus entériques humains par RT-PCR (Ifremer Nantes) : astrovirus, rotavirus, calicivirus, entérovirus et virus de l'hépatite A (cf. annexe 5).

6.3. Recherche de l'origine de la contamination

La Ddass et la SAUR ont entrepris la recherche systématique des puits privés et autres installations susceptibles d'être connectées hydrauliquement (caractère non conforme à la réglementation) avec le réseau de distribution AEP.

Résultats

1. Enquête auprès de la cohorte de stagiaires

1.1. Description de la cohorte

Trente trois personnes ont participé au stage : 6 sont arrivées le 18/09/01 au matin, 26 le 18/09/01 en fin d'après-midi ou début de soirée et 1 le 19 au matin.

Le groupe était composé de 16 hommes et 17 femmes. L'âge moyen était de 32 ans avec un minimum de 25 ans et un maximum de 55 ans.

1.1.1. Antécédents médicaux et traitements

Parmi les 33 personnes interrogées, 2 personnes ont mentionné la prise de corticoïdes ou d'anti-acides. Six personnes ont précisé qu'elles étaient suivies pour une maladie « chronique » (affection thyroïdienne, cardio-vasculaire, gastro-intestinale, neurologique, allergie).

1.1.2. L'exposition à l'eau du robinet et au jus de fruit

Une large majorité des stagiaires (61 %) a consommé de l'eau du robinet directement (boisson) ou indirectement avec la consommation de jus de fruit.

TABLEAU 2 : Distribution de la cohorte de stagiaires dans l'hôtel selon la consommation d'eau du robinet et de jus de fruit, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé	
	N	(%)
Eau du robinet ¹	20	61,0
Jus de fruit ²	8	24,2
Ni eau ni jus de fruit	5	15,1

¹ consommation directe ou indirecte par l'intermédiaire du jus de fruit en carafe

² exclusivement

1.1.3. L'exposition alimentaire

Tous les plats à l'exception du nougat glacé consommé le 18/09 au soir, ont été consommés par la très large majorité des participants.

TABLEAU 3 : Plats consommés le 18/09 à midi par les stagiaires dans l'hôtel (n=6), épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé	
	N	(%)
Canard	5	83
Poisson	6	100
Tarte	4	67

TABEAU 4 : Plats consommés le 18/09 au soir par les stagiaires dans l'hôtel (n=31), épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé	
	N	(%)
Aumonière	31	100
Pintade	30	97
Nougat	23	74

TABEAU 5 : Plats consommés le 19/09 à midi par les stagiaires dans l'hôtel (n=33), épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé	
	N	(%)
Gibelotte	32	97
Carré de porc	31	94
Crème	28	85

1.1.4. Taux d'attaque

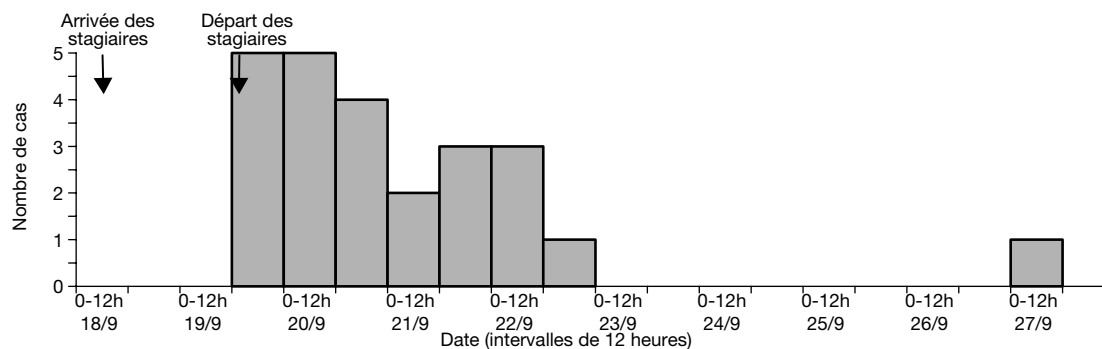
Parmi les 33 participants au stage, 26 personnes (78,8 %) ont eu une gastro-entérite dont 23 cas certains (69,7 %) et 3 cas probables (9,1 %).

Le taux d'attaque était de 76,4 % chez les femmes et de 62,5 % chez les hommes. Cette différence n'était pas significative.

1.1.5. Courbe épidémique

Les cas de gastro-entérite aiguë sont survenus entre le 19 et le 27 septembre. La courbe épidémique montrait une concentration de 24 cas en 4 jours avec un pic épidémique (9 cas) le 20 septembre et un cas plus tardif le 27 septembre.

FIGURE 2 : Distribution des cas de gastro-entérite aiguë selon la date et l'heure de début des symptômes parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



1.1.6. Description des symptômes

La diarrhée, les douleurs abdominales et la perte d'appétit étaient les symptômes les plus fréquents. La présence de sang dans les selles a été signalée par un seul cas. Quinze personnes ont mentionné la survenue d'autres symptômes parmi lesquels : fatigue, vertiges, ballonnements, maux de tête.

Le nombre de selles liquides par jour variait entre un minimum de une et un maximum de dix. La moyenne et la médiane étaient respectivement à 5,0 et 4,5 selles liquides par jour.

TABLEAU 6 : Fréquence des symptômes parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certains* N = 23		Cas probables# N = 3	
	Effectif	%	Effectif	%
Diarrhée	22	95,6	2	66,6
Céphalées	10	43,5	3	100
Vomissements	6	26,0	0	0
Nausées	13	57,5	2	66,6
Dlrs. Abdominales	19	82,6	2	66,6
Fièvre	2	8,7	0	0
Perte appétit	16	69,6	2	66,6
Autres sympt.	15	65,2	2	66,6

* cas certain : diarrhée (≥ 3 selles liquides par jour) ou vomissements

cas probable : diarrhée (1 ou 2 selles liquides par jour) ou douleurs abdominales

1.1.7. La durée des symptômes pour les cas certains

Le jour de l'entretien, 9 personnes ont répondu que les symptômes avaient disparu. La durée de la symptomatologie était comprise entre un minimum de 24 heures et un maximum de 14 jours ; la médiane était à 4 jours. Quatorze personnes (60,9 % des cas certains) ont mentionné la persistance des symptômes le jour de l'entretien avec une durée minimum de 13 jours. Parmi les symptômes qui ont persisté le plus longtemps, les douleurs abdominales et la diarrhée étaient les plus fréquents.

TABLEAU 7 : Fréquence des symptômes persistant le jour de l'entretien parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certains (N = 14) Effectif	%
Diarrhée	6	42,8
Céphalées	3	21,4
Vomissements	0	0
Nausées	4	28,6
Dlrs. Abdominales.	8	57,1
Fièvre	0	0
Perte appétit	2	14,3

1.1.8. Le recours aux soins

A l'exception d'une personne, tous les cas certains ont consulté leur médecin traitant. Plus de la moitié d'entre eux a été alitée pour une durée comprise entre 0,5 jour et 2 jours ; un tiers a interrompu ses activités pour une durée également comprise entre ½ et 2 jours. Aucun malade n'a été hospitalisé.

TABEAU 8 : Recours aux soins (cas certains) parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Effectif (N = 23)	%
Consultation	22	95,7
Interruption des activités	7	30,4
Alitement	13	56,5
Hospitalisation	0	0

Une coproculture a été prescrite à 10 personnes. Pour 3 d'entre elles le résultat était « positif », signifiant la présence d'un agent pathogène sans identification précise de l'agent infectieux, pour 5 autres le résultat était négatif pour les agents infectieux recherchés et pour 2 personnes, le résultat était inconnu.

1.2. Relation entre l'exposition à certains aliments, à l'eau du robinet ou au jus de fruit et la survenue d'une gastro-entérite

1.2.1. Rôle de l'exposition alimentaire

Compte tenu des caractéristiques de la cohorte au regard de la consommation alimentaire (cf. tableaux 5), l'analyse n'a porté que sur le nougat glacé servi au repas du 18/09 au soir. Le risque de survenue d'une GEA n'était pas statistiquement différent ($RR=0,87$) chez les consommateurs par rapport aux non consommateurs de nougat glacé.

TABEAU 9 : Survenue d'une gastro-entérite selon la consommation ou non de nougat glacé, parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Nougat	Cas certain	Total	Taux d'attaque %
Consommé	15	23	65
Non consommé	6	8	75

1.2.2. Survenue d'une gastro-entérite selon la consommation d'eau du robinet ou de jus de fruit

Les participants au stage ayant consommé de l'eau du robinet avait un risque significativement plus élevé ($RR=1,85$; IC 95 % : 1,00 – 3,41) de développer une gastro-entérite. Cette association n'a pas été observée pour la consommation exclusive de jus de fruit.

TABEAU 10 : Taux d'attaque selon la consommation d'eau du robinet, parmi les stagiaires de l'hôtel, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certain	Total	Taux d'attaque %	RR	IC à 95 %
Eau du robinet (1)					
Consommée	17	20	85	1,85	1-3,41
Non consommée	6	13	46		

(1) seule ou mélangée au jus de fruit

1.3. Durée d'incubation

Le délai d'incubation a été calculé en considérant les dates et heures d'arrivée des participants comme début de l'exposition à l'eau du robinet. La moyenne d'incubation était de 2,5 jours et la médiane à 4 jours (min 1 j, max 9 j).

2. Enquête auprès des médecins

2.1. Les répondants

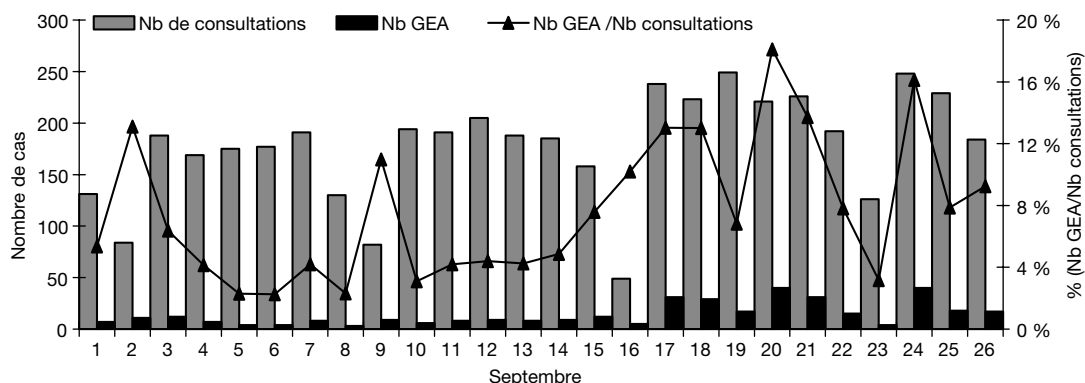
Parmi les 22 médecins contactés, 12 ont transmis leurs données et 10 ont refusé de répondre en raison de la charge de travail induite. Parmi les 12 réponses obtenues, les informations n'ont pu être exploitées que pour 11 médecins. Les urgences du CH de Chalon n'ont pas pu transmettre les informations, l'absence d'informatisation du service obligeait à consulter manuellement un nombre trop important (2000) de dossiers.

Un médecin a transmis une estimation moyenne de son activité quotidienne (30 par jour). Le parti a été pris d'intégrer ce chiffre pour chaque jour malgré le risque d'induire une sous-estimation ou une sur-estimation du pourcentage de consultations pour GEA.

2.2. Les résultats

Entre le 1^{er} et le 26 septembre 2001, les 11 médecins généralistes, ont reçu 4 623 patients en consultation dont 364 (7,9 %) pour GEA. Le nombre de consultations quotidiennes pour GEA a varié entre un minimum de 3 et un maximum de 40. L'évolution au cours du mois de septembre faisait apparaître plusieurs pics dans la fréquence relative des gastro-entérites parmi les consultations : 2 septembre, 9 septembre et à partir du 15 septembre on observait une augmentation du nombre de GEA sans qu'il soit possible d'en préciser le terme, avec un pic le 20/09/02. Les 2 premiers pics, pouvaient correspondre à des artéfacts, le 2 et le 9 étant des dimanches, jour de garde médicale normalement réservé aux consultations ou aux visites en urgence. La part des gastro-entérites dans l'activité totale de consultation ne descend jamais en deçà de 7 % à compter du 15 septembre à l'exception de la journée du 23 septembre qui était un dimanche.

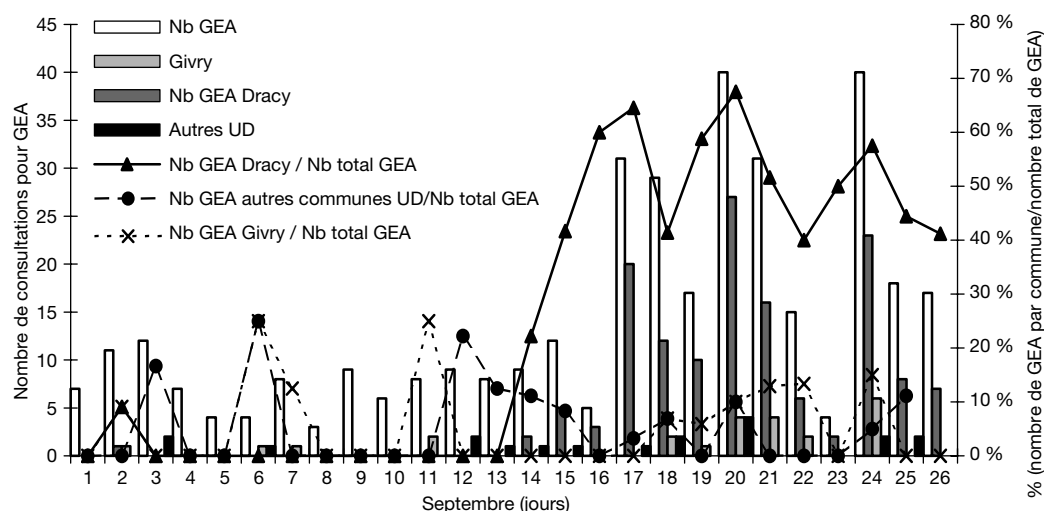
FIGURE 3 : Nombre total de consultations et nombre de consultations pour gastro-entérites, 21 communes de l'Unité de Distribution (UD), Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



L'étude de l'origine des patients ayant consulté pour GEA (cf. figure 4) faisait ressortir les points suivants :

- Jusqu'au 14 septembre 2001, les recours au médecin pour GEA concernaient presque exclusivement des patients résidant sur des communes avoisinantes notamment Givry.
- A partir du 14 septembre, le recours au médecin pour GEA des habitants de Dracy-le-Fort devient très rapidement prépondérant par rapport à Givry et aux autres communes appartenant à la même unité de distribution. Ce recours atteint un maximum le 20 septembre 2001. Au total, à la date du 26 septembre 2001 au-moins 142 résidents de cette commune avaient consulté un médecin pour GEA.
- La part prise par les autres communes apparaît comme marginale. Sur Givry (3 000 h), représentant la plus grosse commune de l'unité de distribution (UD), 24 cas de GEA ont été recensés entre le 1^{er} et le 26 septembre. Deux tiers des patients ont consulté entre le 15 et le 26 septembre. Parmi ceux-ci, on ne peut exclure qu'il s'agissait pour partie au moins de patients ayant une activité professionnelle ou autre sur Dracy-le-Fort.
- En ce qui concerne les autres communes de l'UD, 19 patients originaires de différentes communes ont consulté un médecin généraliste pour GEA (Buxy : 14 cas / 2 098 habitants ; Moroges : 2 cas / 541 habitants ; St Désert : 2 cas / 853 habitants ; Granges : 1 cas / 299 habitants). La répartition des cas de GEA était plus étalée dans le temps par rapport à celle des communes de Dracy-le-Fort et de Givry.

FIGURE 4 : Evolution du nombre de consultations pour gastro-entérites et répartition selon l'origine des consultants, Saône-et-Loire, septembre 2001



* UD = Unité de Distribution, GEA : Gastro-entérites aiguës

3. Enquête en population générale de Dracy-le-Fort

L'enquête téléphonique réalisée auprès des médecins généralistes le 21 septembre confirmait le caractère circonscrit de l'épidémie à Dracy-le-Fort, Givry et les autres communes restant indemnes. Pour cette raison, l'enquête en population générale a été faite à Dracy-le-Fort.

3.1. Description de la cohorte

3.1.1. Les répondants

Trois cent quatre vingt sept foyers de Dracy-le-Fort contactés ; 96 (24,8 %) ont été exclus pour les raisons suivantes :

- N'étaient pas présents dans la commune du 01 au 20 septembre : 2 (2,1 %) ;
- Numéros de téléphone non attribués : 39 (40,6 %) ;
- Refus de participer à l'enquête : 24 (25,0 %) ;
- Sans réponse après un minimum de trois rappels à 3 moments différents de la journée : 31 (32,3 %).

Au total 291 foyers ont été inclus et 781 personnes interrogées. La répartition homme/femme était de 390 hommes et 391 femmes, soit un sex ratio de 1. L'âge moyen était de 41 ans, la médiane de 46 ans (étendue de 1 à 90 ans) et 4 enfants avaient moins de 1 an.

TABLEAU 11 : Répartition de la cohorte selon le sexe et l'âge, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Classes d'âge	Hommes N (%)	Femmes N (%)	Total N (%)
0-9 ans	31 (7,9)	32 (8,2)	63 (8,1)
10-19 ans	59 (15,1)	57 (14,6)	116 (14,9)
20-39 ans	79 (20,2)	72 (18,5)	151 (19,3)
40-59 ans	129 (33,0)	135 (34,6)	264 (33,8)
60-74 ans	79 (20,2)	77 (19,7)	156 (20,0)
75 ans et plus	14 (3,6)	17 (4,4)	31 (4,0)
Total	391	390	781

3.1.2. Représentativité de la cohorte

La cohorte était représentative de la population de la commune de Dracy-le-Fort (RP 1999) sur les classes d'âge et la taille des ménages.

TABLEAU 12 : Comparaison de la cohorte et de la population de Dracy-le-Fort (recensement 1999) selon les classes d'âge, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cohorte	Population Dracy-le-Fort (RP 1999)	Distribution attendue de la cohorte
0-19 ans	179	246	176
20-39 ans	151	205	146
40-59 ans	264	421	301
60-74 ans	156	172	123
75 ans et plus	31	49	35
Total	781	1 093	781

3.1.3. Modalités d'alimentation en eau potable

La très grande majorité des foyers (96 %) était raccordée au réseau de Dracy-le-Fort ; deux foyers étaient alimentés par un réseau extérieur.

TABEAU 13 : Répartition de la cohorte selon le mode d'alimentation en eau, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Nb de foyers	Nb de personnes	% de personnes
Puits	1	2	0,3
Réseau de Dracy-le-Fort	287	765	95,9
Les deux	1	6	0,7
Autre réseau	2	8	3,1
Total	291	781	100

Pour les analyses suivantes, il a été fait l'hypothèse que toutes les personnes résidant sur la commune, quelle que soit la nature de leur alimentation en eau potable, étaient potentiellement exposées. En effet, pour les 2 foyers alimentés par un autre réseau, on ne peut exclure a priori que les occupants aient consommé l'eau de la commune à d'autres occasions (sur le lieu de travail, de loisir).

3.1.4. Consommation d'eau avant le 20 septembre

Avant le 20 septembre, 512 personnes (65,15 %) ont déclaré avoir bu de l'eau du robinet (parfois ou exclusivement) et 269 n'avoir jamais bu d'eau du robinet. Avant le 20 septembre, 475 personnes avaient bu de l'eau en bouteille (parfois ou uniquement), soit 60,8 % des personnes interrogées.

TABEAU 14 : Fréquence de consommation d'eau du robinet ou en bouteille avant le 20 septembre, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Eau de boisson	Ont consommé	
	N = 781	%
Robinet		
Parfois	308	39,4
Exclusivement	204	26,1
Jamais	269	34,4
Bouteille		
Parfois	265	33,9
Exclusivement	210	26,9
Jamais	306	39,1

Les autres formes d'exposition indirecte à l'eau du robinet concernaient une large majorité des personnes interrogées, particulièrement pour la préparation des crudités (95,3 %).

TABEAU 15 : Fréquence des consommations indirectes d'eau du robinet, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Aliments contenant de l'eau	Ont consommé	
	N = 781	%
Crudités	744	95,3
Boissons	407	84,9
Glaçons	479	62,3

3.1.5. Consommation d'eau du robinet selon l'âge

La consommation d'eau du robinet avant le 20 septembre 2001 était différente selon la classe d'âge ($p < 0,05$). Les personnes âgées de 75 ans et plus consommaient moins d'eau du robinet.

TABLEAU 16 : Fréquence de consommation d'eau du robinet avant le 20 septembre selon les classes d'âge, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Classes d'âge	Consommation d'eau du robinet N (%)	Total
0-9 ans	40 (63,5)	63
10-19 ans	90 (72,6)	116
20-39 ans	104 (68,8)	151
40-59 ans	167 (63,2)	264
60-74 ans	97 (62,2)	156
75 ans et plus	14 (45,1)	31
Total	512 (65,5)	781

3.1.6. Antécédents médicaux et traitements

Peu de personnes interrogées avaient un traitement médicamenteux en cours :

- des corticoïdes : N=6 soit 0,8 % ;
- des anti-acides (ou anti-ulcéreux) : N=19 soit 2,4 %.

Vingt personnes avaient pris des antibiotiques dans le mois qui a précédé l'épidémie.

3.2. Description des cas certains et probables

3.2.1. Nombre de cas et taux d'attaque

Parmi les 781 personnes interrogées, 483 (61,8 %) répondaient à la définition de cas dont 397 (50,8 %) étaient des cas certains et 86 (11,0 %) des cas probables.

Parmi les 10 personnes vivant dans des foyers non raccordés au réseau de Dracy-le-Fort, il y avait un cas certain.

a. Taux d'attaque selon la classe d'âge pour les cas certains

Le taux d'attaque était plus important entre 0 et 9 ans ($p < 0,05$).

TABLEAU 17 : Taux d'attaque en fonction des classes d'âge, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certains	Total	Taux d'attaque %
0-9 ans	45	63	71,4
10-19 ans	69	116	59,5
20-39 ans	78	151	51,7
40-59 ans	112	264	42,4
60-74 ans	80	156	51,3
75 ans et plus	13	31	41,9

b. Taux d'attaque selon le sexe pour les cas certains

Le taux d'attaque ne différait pas selon le sexe.

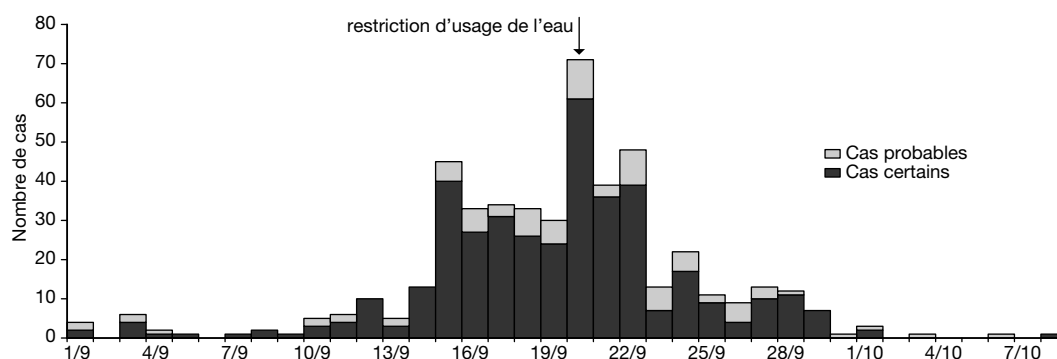
TABEAU 18 : Taux d'attaque en fonction du sexe, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certains	Total	Taux d'attaque %
Hommes	203	391	51,9
Femmes	194	390	49,7

3.2.2. La courbe épidémique

La courbe épidémique montrait une augmentation sur 9 jours du nombre de cas à partir du 12 septembre avec un pic le 20 septembre. La diminution du nombre de cas était rapide et perceptible 4 jours après l'interdiction de consommer l'eau de boisson avec un nombre de cas pouvant correspondre au bruit de fond à partir du 1^{er} octobre.

FIGURE 5 : Répartition du nombre de cas dans la cohorte en fonction de la date de début des symptômes, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



3.2.3. Symptômes

Les douleurs abdominales et l'anorexie étaient les symptômes principaux associés à la diarrhée. Dans un tiers des cas, des vomissements ont été signalés. Parmi les autres symptômes cités, on notait la fatigue et les courbatures.

Le nombre de selles liquides par jour variait entre un minimum de 2 et un maximum de 30. La moyenne et la médiane était respectivement de 7 et 6 selles liquides par jour.

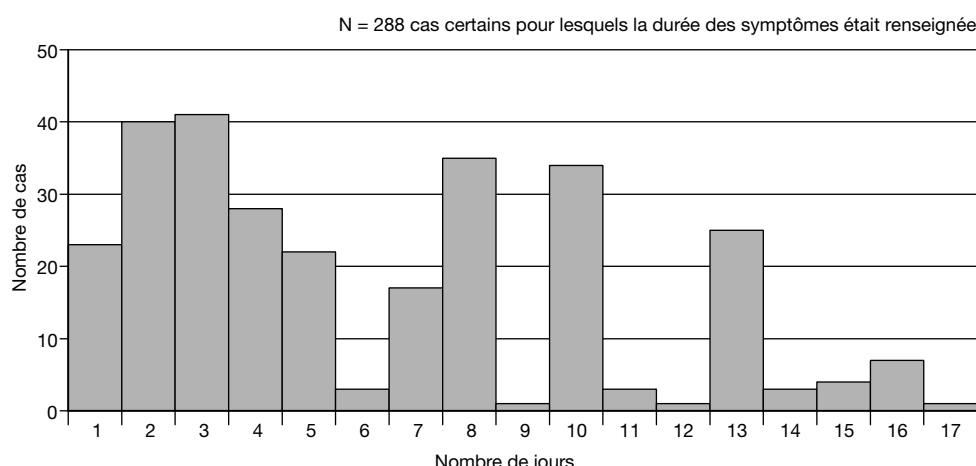
TABEAU 19 : Fréquence des symptômes parmi les cas certains et probables dans la cohorte, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Cas certains		Cas probables	
	Effectif (397)	%	Effectif (86)	%
Diarrhée	392	98,7 %	42	48,8
Douleurs abdominales	352	88,7 %	71	82,6
Anorexie	317	79,8 %	28	32,6
Nausées	268	67,5 %	36	41,7
Céphalées	182	45,8 %	22	25,6
Vomissements	123	31,0 %	0	0
Fièvre	108	27,0 %	8	9,3
Autres	164	41,3 %	23	26,7

3.2.4. Durée des symptômes

Au moment de l'entretien, 288 personnes parmi les cas certains (72,5 %) et 73 cas probables (84,8 %) ont déclaré que leurs symptômes avaient disparu. La durée moyenne de la symptomatologie pour ces personnes était de 6,7 jours (médiane = 5 j, mini = 1 j, max = 22 j). Pour 122 personnes (109 cas certains et 13 cas probables), les symptômes persistaient encore au moment de l'entretien et la durée minimale des symptômes était de 6 jours. Il s'agissait notamment des douleurs abdominales et de la diarrhée.

FIGURE 6 : Distribution de la durée des symptômes dans la cohorte, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



3.2.5. Recours aux soins et impact social

La durée d'interruption des activités a été en moyenne de 4 jours avec une médiane de 3 jours.

Cette épidémie aura été à l'origine de près de 794 jours d'interruption d'activités. La durée d'alitement a été de 3 jours en moyenne avec une médiane de 2 jours et 75 % des personnes ont été alitées entre 1 et 3 jours.

TABEAU 20 : Recours aux soins et impact social dans la cohorte, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	% cas certains (N = 397)	% cas probables (N = 86)
Consultation	54,2	14,0
Interruption des activités	44,6	8,1
Alitement	30,7	4,7
Hospitalisation	0	0

3.2.6. Antécédents médicaux et traitements

Parmi les différents traitements étudiés, seule la consommation d'anti-acides apparaît comme un facteur de risque de survenue de gastro-entérite.

TABEAU 21 : Risque de survenue d'une gastro-entérite selon la prise de médicaments, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé			N'ont pas consommé			RR	IC
	Cas certains	Total	Taux d'attaque %	Cas certains	Total	Taux d'attaque %		
Corticoïdes	3	6	50	394	775	51	0,98	0,44-2,20
Anti-acides	14	19	74	383	762	50	1,47	1,11-1,94
Antibiotiques	9	20	45	388	761	51	0,88	0,54-1,44

Chez les cas certains, l'existence d'une maladie chronique n' était pas associée à la survenue d'une gastro-entérite.

3.3. Incidence des gastro-entérites : répartition par quartier et par semaine

Pour décrire leur évolution spatio-temporelle, les taux d'attaque observés pendant l'épidémie ont été distribués par semaine et par secteur géographique, supposés homogènes au plan de la qualité de l'eau. Parmi les 289 foyers investigués (776 personnes), 201 (69,6 %) comportaient au moins un cas certain.

Il apparaissait une tendance spatio-temporelle dans l'incidence des cas avant et au cours de l'épidémie. Parmi les 11 cas enregistrés pendant la semaine du 4 au 9 septembre, 4 cas se situaient en secteur S5 au nord-est de Dracy-le-Fort (taux d'incidence cumulé de 7 % vs 0,5 % dans le reste de la commune ; $p < 0,01$). Dès la semaine suivante, les taux d'attaque élevés se généralisaient sur la commune.

TABEAU 22 : Taux d'attaque des gastro-entérites entre le 3/09 et le 8/10. Epidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Secteur	Nombre de personnes enquêtées	Taux d'attaque du 3/09 au 9/09/01	Taux d'attaque du 10/09 au 16/09/01	Taux d'attaque du 17/09 au 23/09/01	Taux d'attaque du 24/09 au 30/09/01	Taux d'attaque du 1/10 au 8/10/01	Taux d'attaque cumulé du 3/09 au 8/10
S1	13	8 %	23 %	8 %	0 %	0 %	38 %
S2	27	0 %	26 %	56 %	0 %	0 %	81 %
S3	64	2 %	6 %	27 %	9 %	0 %	44 %
S4	27	4 %	11 %	37 %	11 %	0 %	63 %
S5	54	7 %	19 %	28 %	6 %	0 %	59 %
S6	12	8 %	17 %	25 %	0 %	0 %	50 %
S7	55	2 %	13 %	35 %	7 %	0 %	56 %
S8	31	0 %	3 %	19 %	6 %	0 %	29 %
S9	70	1 %	3 %	10 %	6 %	0 %	20 %
S10	105	0 %	15 %	25 %	11 %	2 %	54 %
S11	42	0 %	12 %	43 %	12 %	0 %	67 %
S12	107	0 %	7 %	33 %	8 %	1 %	50 %
S13	101	0 %	23 %	31 %	5 %	0 %	58 %
S14	68	0 %	13 %	29 %	7 %	0 %	51 %

FIGURE 7 : Taux d'attaque du 3 septembre au 8 octobre 2001. Epidémie de gastro-entérites de Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

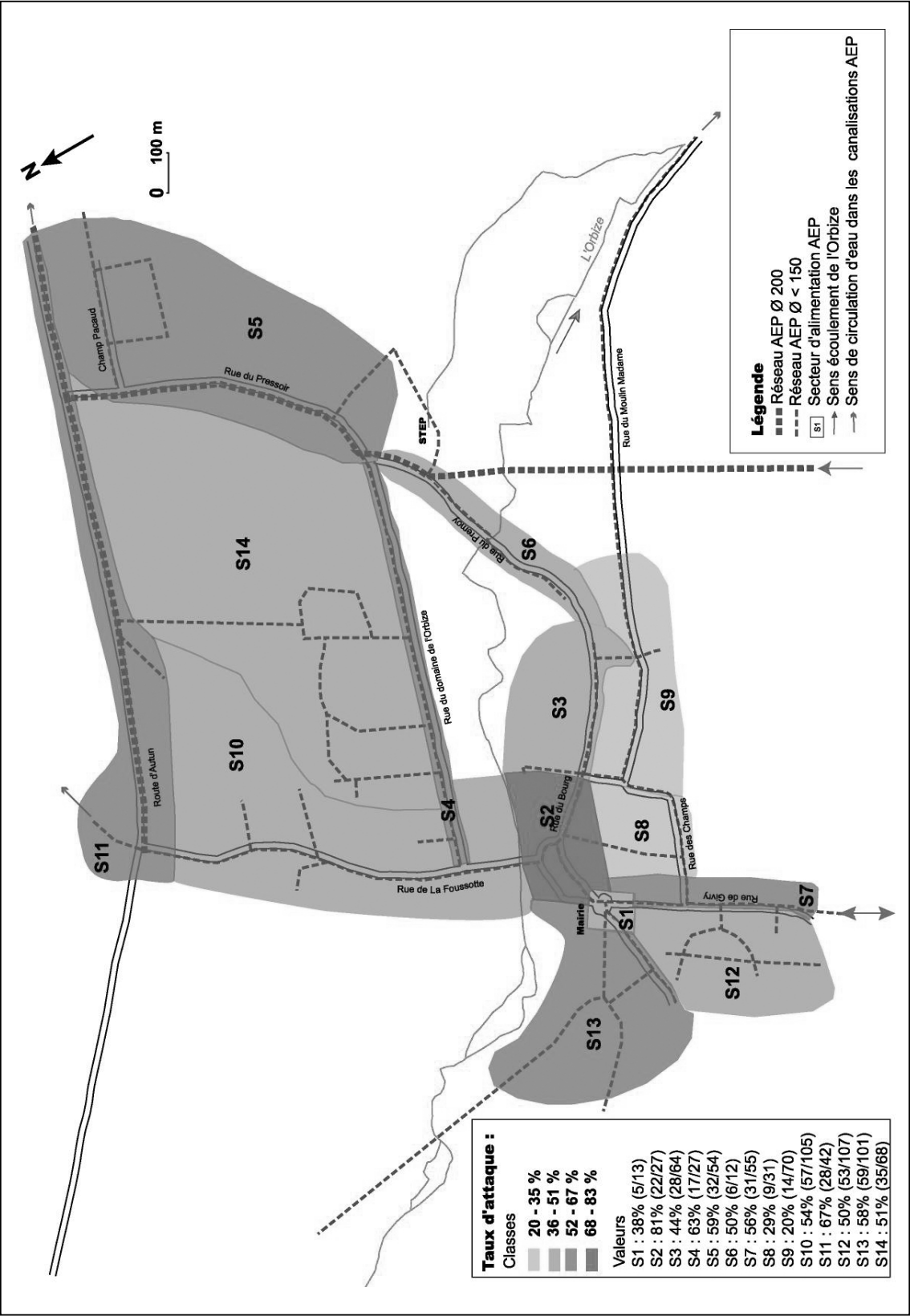
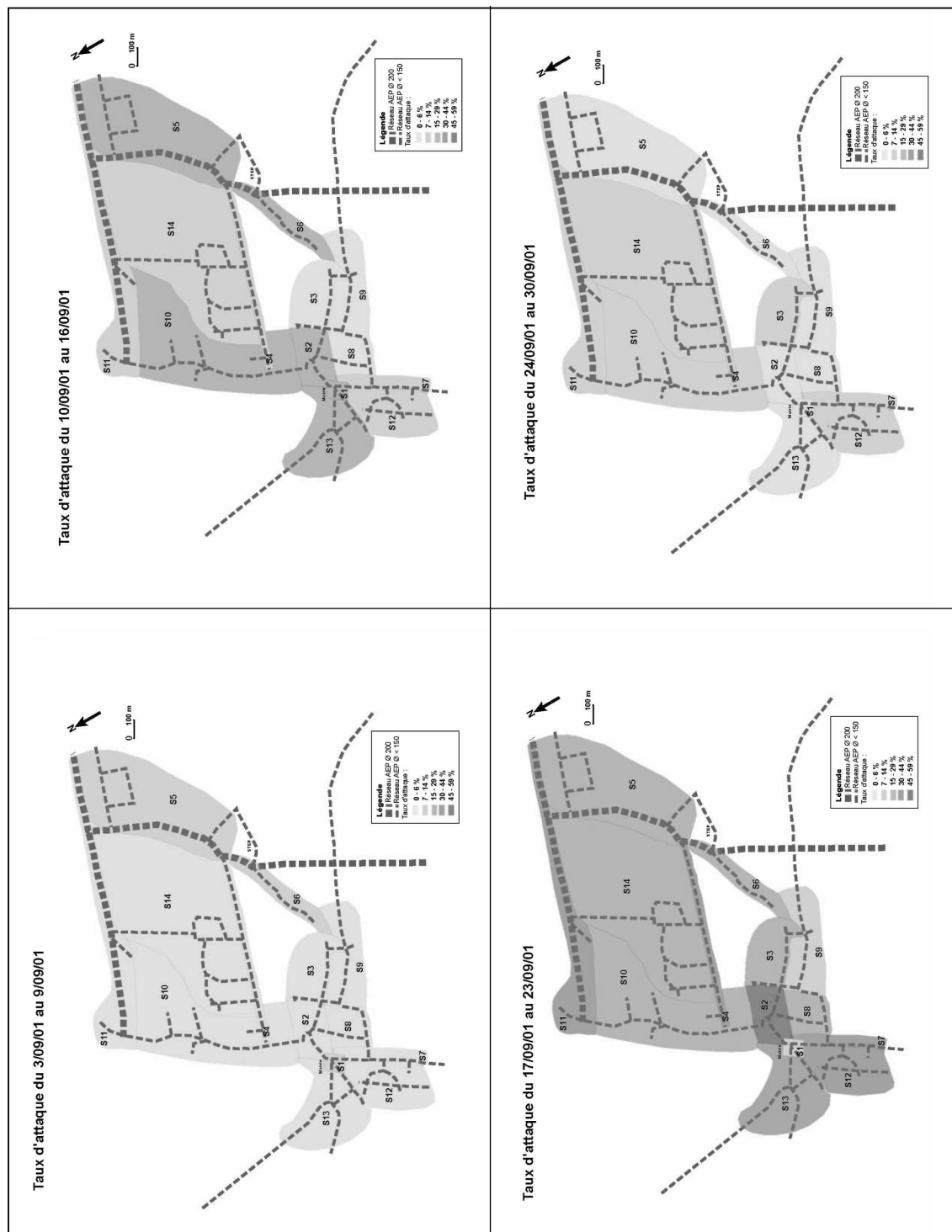


FIGURE 8 : Taux d'attaque hebdomadaire du 3 au 30 septembre. Epidémie de gastro-entérites de Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



3.4. Association entre la consommation de l'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite

Les personnes ayant consommé de l'eau du robinet avant le 20 septembre 2001 (date de diffusion de la restriction d'usage de l'eau) avaient près de deux fois plus de risque d'avoir une gastro-entérite que ceux qui n'en avaient jamais consommé. On observait un taux d'attaque élevé (31 %) chez les non consommateurs.

TABLEAU 23 : Taux d'attaque de gastro-entérites en fonction de la consommation d'eau du robinet avant le 20 septembre, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Eau du robinet	Cas certains	Total	Taux d'attaque %	RR	IC à 95 %
Consommée	313	512	61	1,96	1,62 – 2,37
Non consommée	84	269	31		

3.5. Relation exposition à l'eau du robinet et survenue d'une gastro-entérite aiguë selon la quantité d'eau consommée

Le risque de survenue d'une gastro-entérite augmentait significativement ($p < 0,001$) avec la quantité d'eau du robinet consommée.

TABLEAU 24 : Survenue d'une gastro-entérite selon le nombre de verres d'eau du robinet consommés quotidiennement avant le 20 septembre, épidémie de GEA, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Nb de verres	Cas certains	Total	Taux d'attaque %	RR	IC 95 %
Non exposés	84	269	31,2	Réf.	–
1-3 verres/j	113	200	56,5	1,81	1.46-2.24
4-7 verres/j	129	206	62,6	2,01	1.63-2.46
>7 verres/j	71	106	67,0	2,14	1.72-2.68

Chi2 de tendance linéaire : $p < 0,001$

3.6. Association entre la consommation d'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite par classe d'âge

Le risque de survenue de GEA liée à la consommation d'eau du robinet ne différait pas selon les classes d'âge.

TABLEAU 25 : Risque de survenue d'une gastro-entérite en fonction de la consommation d'eau du robinet (avant le 20 septembre), par classe d'âge, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Classe d'âge	RR	IC 95 %
0-9 ans	1,27	0,88-1,84
10-19 ans	3,03	1,48-6,20
20-39 ans	1,51	1,01-2,24
40-59 ans	1,82	1,28-2,60
60-74 ans	2,43	1,56-3,79
75 ans et plus	4,05	1,38-11,91

RR brut : 1.96 ; RR ajusté (MH) : 1.93

Il n'y avait pas d'effet modificateur de l'âge

3.7. Association entre la consommation indirecte d'eau et la survenue d'une gastro-entérite

Chaque forme d'exposition indirecte a été étudiée parmi les seules personnes n'ayant pas consommé d'eau du robinet. Aucun de ces facteurs pris isolément n'était lié significativement à la survenue d'une gastro-entérite.

TABLEAU 26 : Risque de survenue d'une gastro-entérite en fonction de l'exposition indirecte à l'eau du robinet avant le 20 septembre, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé			N'ont pas consommé			RR	IC
	Cas certains	Total	Taux d'attaque %	Cas certains	Total	Taux d'attaque %		
Crudités	8	28	28,5	4	13	30,7	0,93	0,34-2,53
Boissons avec de l'eau du robinet	0	1	0	4	13	30,7	–	–
Glaçons	0	4	0	4	13	30,7	–	–

3.8. Association entre la consommation d'aliments avant le 20 septembre 2001 et la survenue d'une gastro-entérite

La consommation des plats étudiés n'était pas associée à la survenue d'une gastro-entérite.

TABLEAU 27 : Risque de survenue d'une gastro-entérite suite à la consommation de certains aliments, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Ont consommé			N'ont pas consommé			RR	IC
	Cas certains	Total	Taux d'attaque %	Cas certains	Total	Taux d'attaque %		
Plats cuisinés	153	312	49,0	239	457	52,3	0,94	0,81-1,08
Fruits de mer	26	70	37,0	369	708	52,1	0,71	0,52-0,97
Pâtisseries	193	373	51,7	197	398	49,5	1,05	0,91-1,21
Lait cru	4	14	28,6	393	767	51,2	0,56	0,24-1,28

3.9. Estimation du nombre de malades dans la population

Sur la base du recensement de 1999 et du taux d'attaque observé pour les cas certains (50,8 %) et sous l'hypothèse que la cohorte était représentative de la population de Dracy-le-Fort (susceptibilité, consommation d'eau du robinet), le nombre de personnes atteintes de gastro-entérite a été estimé à 563 (IC 95 % = [512 ; 615]), soit 51,2 % des habitants de la commune.

4. Résultats des coprocultures

4.1. Bactériologie

Cinquante prélèvements de selles de la population générale ont été analysés par le laboratoire du CH de Chalon-sur-Saône entre le 22/09 et le 08/10. Les agents infectieux bactériens suivants ont été identifiés :

- *Campylobacter jejuni* : 7 (14 %) prélèvements ;
- *E. coli* entéropathogènes : 6 (12 %) prélèvements (0111 B 4 dans 4 cas, 0126 B4 dans 2 et 026 B6 dans 1).

4.2. Virologie

Quarante-neuf échantillons de selles ont été analysés par le laboratoire de virologie du CHU de Dijon. Les virus suivants ont été identifiés :

- Rotavirus groupe A : 10 (20 %) cas ;
- Entérovirus : 7 (14 %) cas ;
- Adénovirus : 3 (6 %) cas.

Le typage des rotavirus et des entérovirus a été réalisé :

- Entérovirus (6 sur 7) : « parfaite similitude entre les souches détectées dans les 6 selles » ;
- Rotavirus (5) : pour 4 prélèvements = Type P[4], G2 – Rotavirus humains du groupe A.

La recherche était négative pour le virus de l'hépatite A, le calicivirus et l'astrovirus.

4.3. Parasitologie

Les analyses ont été réalisées sur 31 selles à la demande de la Ddass pour confirmer l'hypothèse d'une épidémie à *Cryptosporidium*, ce parasite n'étant jamais recherché habituellement. Dix-neuf des 31 selles analysées (61 %) par PCR au laboratoire de parasitologie du CHU de Dijon étaient positives à *Cryptosporidium parvum*. Les premiers résultats du génotypage en cours indiquaient la présence du génotype 1 (humain). Les recherches d'autres parasites (*Giardia lamblia*, amibes) réalisées sur 14 prélèvements de selles étaient négatives.

Par ailleurs, les recherches réalisées par le laboratoire du CH de Chalon ont mis en évidence la présence de cryptosporidies dans 22 (59,4 %) échantillons sur 37 analysés. La première recherche positive datait du 25 septembre.

5. Enquête environnementale

5.1. Microbiologie de l'eau

5.1.1. Analyses d'eau

Sur les 228 analyses d'eau réalisées pendant l'épidémie entre le 19 septembre et le 31 octobre 2001, 58 (25,4 %) présentaient des résultats non conformes dont 15 avec présence de *Cryptosporidium*. Les autres prélèvements étaient non conformes en regard des critères de la bactériologie fécale (présence de coliformes thermotolérants ou d'entérocoques) et de la turbidité dans un prélèvement. Entre le 19 et le 25 septembre, 64,4 % des analyses étaient non conformes ; 35,3 % du 26 septembre au 2 octobre. Du 3 au 15 octobre, les analyses non conformes se raréfiaient et 100 % des analyses étaient conformes après le 15/10. La chronique des résultats des mesures microbiologiques sur l'eau est donnée en annexe 6.

Contamination bactériologique de l'eau

Les premiers prélèvements d'eau réalisés par la Ddass et la SAUR les 20/09 et 21/09 sur la commune de Dracy-le-Fort ont révélé une contamination bactérienne du réseau d'eau potable, avec des concentrations en coliformes totaux allant de 60 UFC/100mL à un nombre incomptable (>300), et des concentrations en coliformes fécaux allant de 17 UFC/100mL à un nombre incomptable (>300).

Après le 22 octobre, soit 2 jours après le renforcement de la chloration, on observait une raréfaction très sensible des bactéries fécales dans l'eau (95 % des analyses conformes au plan bactériologique et 5 % des analyses présentaient des contaminations de 1 à 16 coliformes totaux par 100mL).

Virologie

Aucun des génomes viraux recherchés (astrovirus, rotavirus, calicivirus, entérovirus et virus de l'hépatite A) n'a été trouvé dans les échantillons. La détection, réalisée dans un volume de 100 mL, ne pouvait mettre en évidence une faible contamination. De plus, les prélèvements ont eu lieu le 28 septembre donc après le début de l'épidémie et après les mesures prises pour limiter la contamination (purge de réseau, installation de chloration relais).

Recherche de *Cryptosporidium*

Compte tenu de la nature des symptômes décrits par les praticiens, une recherche de *Cryptosporidium* dans l'eau a été faite sur des prélèvements d'eau réalisés à partir du 24 septembre. Les volumes d'eau prélevés étaient variables mais toujours de l'ordre de 200L. La recherche faite sur l'échantillon du 24 septembre était positive (0,13/L). Les 27 et 28 septembre 2001, la teneur maximale de *Cryptosporidium* dans l'eau était de 2 dans 220L d'eau filtrée (0,009/L).

Les recherches de *Cryptosporidium* dans l'eau ont eu lieu jusqu'au 18 octobre. Il y a eu 56 analyses au total dont 15 positives. Avant le 3 octobre, 52 % (14/27) des analyses en *Cryptosporidium* étaient positives avec un maximum le 1^{er} octobre de 40 cryptosporidies dans 210 L d'eau filtrée (0,19/L). Après cette date, les recherches étaient négatives.

Alors que l'élimination des bactéries fécales (du moins la fraction cultivable de ces bactéries) du réseau s'est faite en 48h à compter du renforcement de la chloration, l'évacuation des cryptosporidies par la répétition de purges partielles du réseau, qui ont débuté le 18 septembre, a pris près de deux semaines.

Il n'y a pas eu de génotypage des cryptosporidies retrouvées dans l'eau. La souche n'a pas pu être comparée à celle identifiée dans les selles des patients.

5.1.2. Cartographie des contaminations

Les analyses de l'eau ont été classées suivant les quatorze secteurs géographiques de la commune et par période de temps (ensemble de la période de suivi analytique vs les deux premières semaines). Cependant il n'a pas été possible de conserver un pas de temps hebdomadaire utilisé pour la représentation du taux d'attaque en raison d'un nombre insuffisant d'analyses.

Les résultats analytiques ont été cartographiés pour suivre l'évolution de la contamination. Les cartes suivantes illustrent le taux de non-conformité (nombre de prélèvements non conformes / nombre de prélèvements total) des analyses d'eau du 19/09/01 au 31/10/01 (figure 9), et au cours des deux premières semaines de l'épidémie (figure 10). La distribution spatio-temporelle des taux de non-conformité de ces analyses montrait une contamination généralisée sur l'ensemble de la période, avec des fluctuations difficilement interprétables mais vraisemblablement dues aux purges partielles et répétées du réseau d'adduction.

FIGURE 9 : Non-conformité des analyses d'eau du 19/09/01 au 31/10/01, épidémie de gastro-entérites de Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

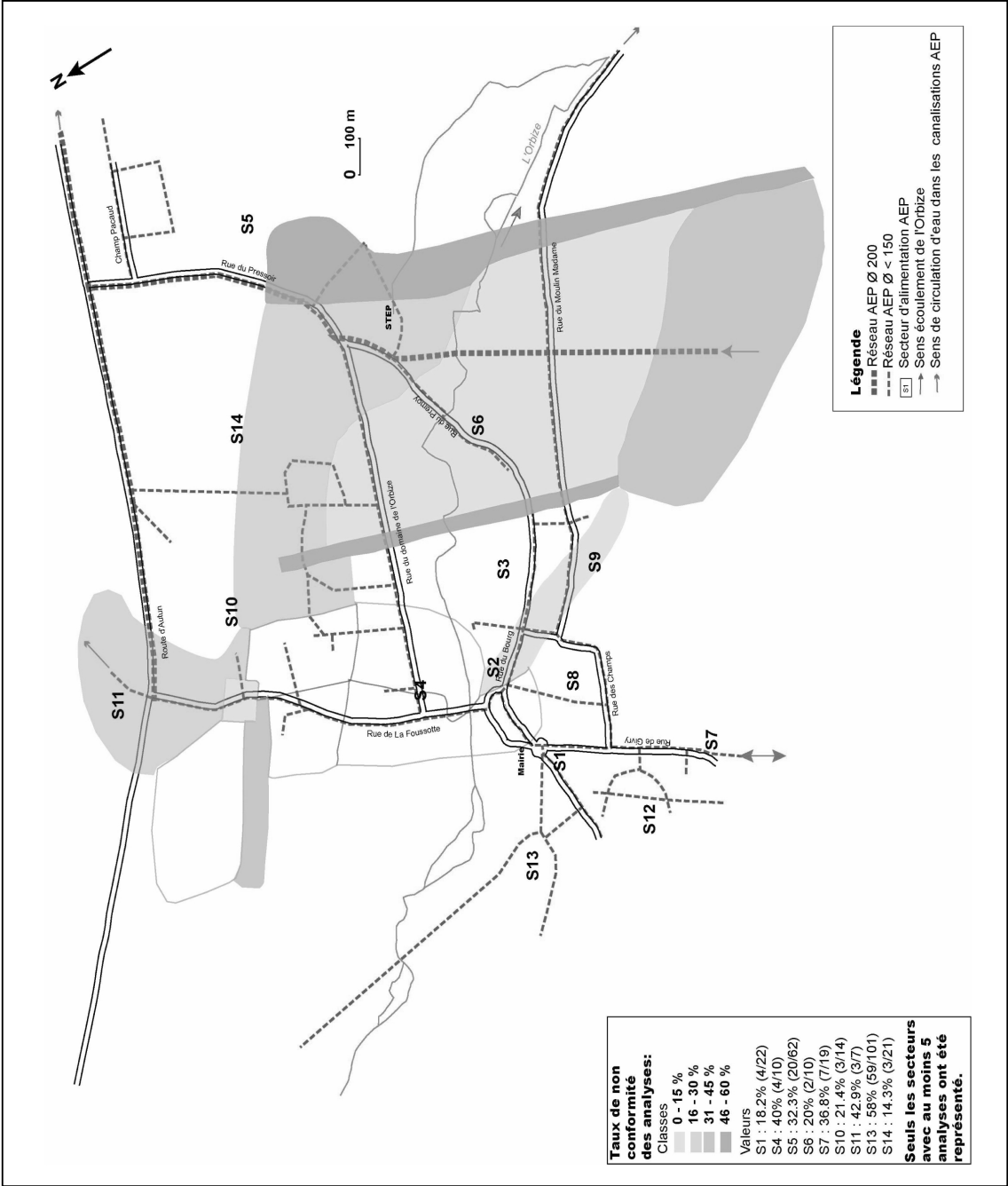
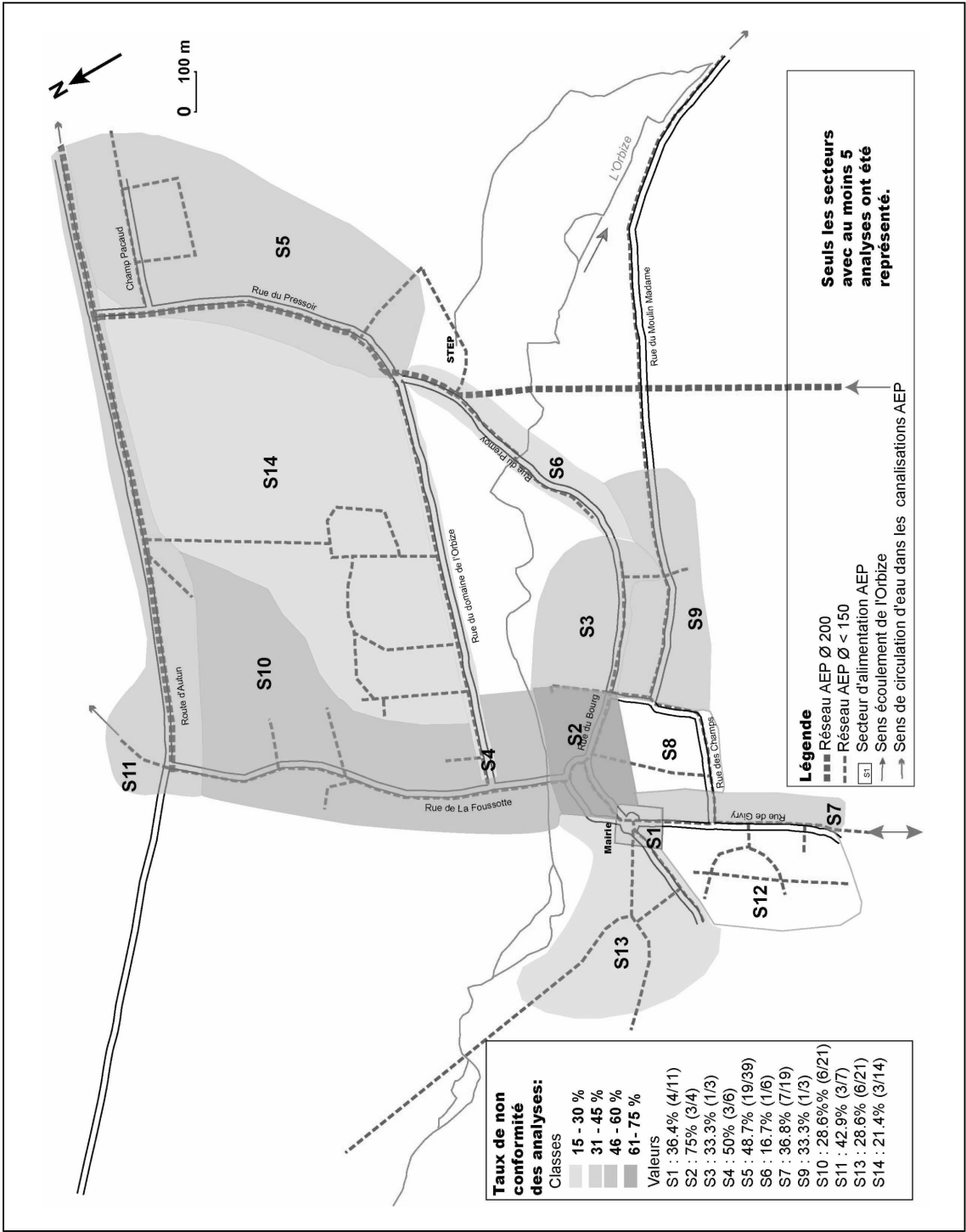


FIGURE 10 : Non-conformité des analyses d'eau du 19/09/01 au 2/10/01, épidémie de gastro-entérites de Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



5.2. Recherche de l'origine de la contamination

Etant donné l'emprise géographique de la contamination de l'eau et la répartition des cas de GEA résultant de l'enquête auprès des généralistes, le point probable d'introduction de la pollution se trouvait sur la partie distale du réseau desservant Dracy-le-Fort, mettant notamment hors de cause l'eau brute, le captage et le traitement.

Dans ces conditions, l'enquête s'est focalisée sur la recherche des possibilités de pollution du réseau de Dracy-le-Fort. Une telle contamination de l'eau a pu se produire soit par retour d'eau (connexions avec un circuit d'eau polluée, activée par une dépression momentanée du réseau d'eau potable) soit par injection en surpression.

L'enquête a pu identifier des problèmes structurels susceptibles d'engendrer un risque :

- 7 puits particuliers interconnectés avec le réseau, dont 6 non potables, à cause de la bactériologie fécale ;
- une interconnexion avec le réseau d'eau épurée produite par la station d'épuration, mais protégée par une vanne, un clapet antiretour et un disconnecteur à zone de pression réduite contrôlable ;
- une interconnexion avec le réseau d'eau de la station d'épuration non protégée. Une extension du réseau d'eau potable alimentait le robinet situé au niveau du silo à boues et servait notamment au décolmatage du filtre presse mobile. Le camion sur lequel était installé le filtre presse intervenait par campagne pour déshydrater les boues. Le filtre presse mobile était équipé de deux branchements, un sur le réseau d'eau potable, l'autre sur le rejet d'eaux usées traitées. Quand elle était disponible cette dernière ressource en eau, considérée comme eau industrielle, était utilisée pour le décolmatage préférentiellement à l'eau potable pour des raisons de coût.

Il est aussi apparu au cours de cette enquête l'existence d'une utilisation frauduleuse intensive des bornes incendie. Ces dispositifs sont démunis de protection contre les phénomènes de retour d'eau pour que les pompiers disposent du maximum de pression dans leurs interventions contre le feu. Un soutirage intense au niveau des bornes incendies est susceptible de provoquer une dépression locale sur le réservoir.

5.3. Mesures de gestion

5.3.1. Vidange du réseau

La SAUR a effectué dès le 19 septembre des opérations de purge et de désinfection du réseau pour éliminer la contamination. Ces vidanges ont eu lieu les 5 premiers jours (du 19 au 24 septembre). La chloration a été renforcée à partir du 20 septembre. Dès le 26 septembre, une chloration relais a été installée à Dracy-le-Fort. Le 28 septembre le réseau a été purgé avec une forte vitesse pour décrocher les oocystes de *Cryptosporidium* fixés sur le biofilm. D'autres vidanges ont eu lieu jusqu'au 12 octobre, date de la levée de l'interdiction de la consommation de l'eau du réseau.

5.3.2. Restriction d'usage de l'eau et suivi des recommandations faites aux consommateurs

Le 20 septembre 2001, la Ddass a diffusé un communiqué de presse aux mairies de Givry et de Dracy-le-Fort, à la SAUR, au sous préfet de Chalon-sur-Saône et au cabinet du préfet pour inviter la population à ne pas boire d'eau du robinet. L'information « Interdiction de consommer l'eau pour usage alimentaire » a été faite par voie d'affichage à la population et par téléphone aux établissements recevant du public. Cette interdiction a été maintenue le 21 septembre et confirmée par distribution d'un courrier dans les boîtes aux lettres des particuliers. L'interdiction de consommer de l'eau a été levée le vendredi 12 octobre à 20 heures.

La consigne de ne pas utiliser l'eau à des usages alimentaires diffusée à partir du 20 septembre a été suivie dans une très large mesure par la population avec toutefois des variations selon qu'il s'agissait de l'exposition directe ou indirecte à l'eau du robinet. Avant le 20 septembre, 512 personnes consommaient de l'eau du robinet (parfois ou exclusivement) soit 65,5 % des personnes interrogées ; après le 20 septembre 714 (91,4 %) ont déclaré ne plus en consommer. Parmi les personnes ayant continué à consommer l'eau du robinet, 20 % l'ont faite bouillir.

Pour ce qui a trait aux expositions indirectes, le respect des recommandations était moindre et variait avec la nature de l'exposition. Quinze pour cent des personnes interrogées ont déclaré avoir continué de consommer des crudités lavées avec l'eau du robinet après le 20 septembre et 6 % ont consommé des boissons allongées d'eau ou des glaçons.

TABLEAU 28 : Fréquence de consommation indirecte d'eau avant et après le 20 septembre, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

	Avant le 20/09		Après le 20/09	
	N	%	N	%
Crudités	740	95,4	117	15,1
Boissons	407	52,3	53	6,6
Glaçons	475	62,1	53	6,7

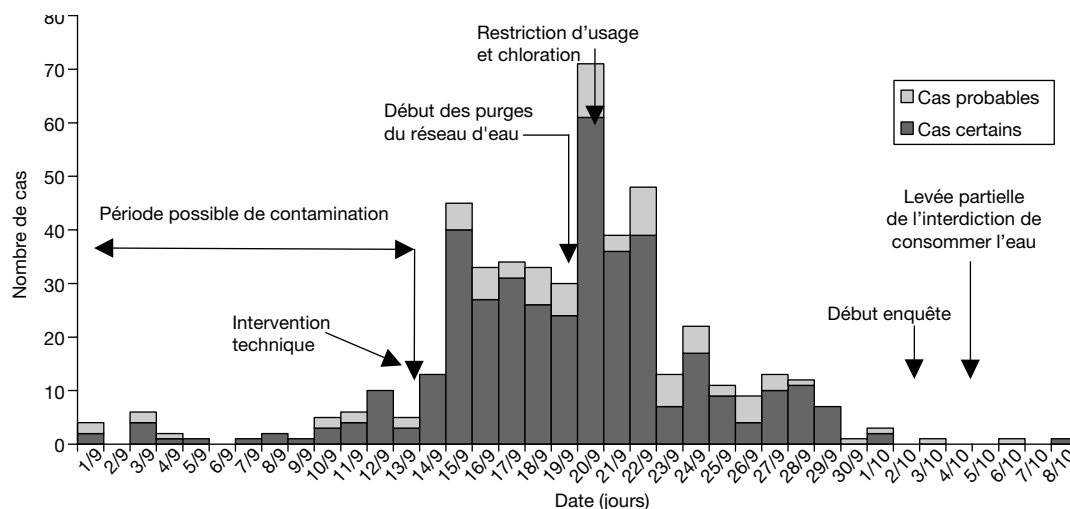
Toutes les personnes interrogées et âgées de 18 ans et plus ont déclaré avoir été informées des mesures de restriction d'usage de l'eau.

6. Estimation de la période de contamination

L'examen de la courbe épidémique fait apparaître comme date possible de début de l'épidémie le 12 ou le 14 septembre.

Compte tenu des durées d'incubation des différents types d'agents infectieux identifiés dans les selles comprises entre 1 jour et au maximum 12 jours (Chin, 2000), le réseau de distribution a pu être contaminé à partir du 28 août 2001. La contamination a pu avoir lieu le 12 ou le 13 septembre, période d'intervention technique réalisée par l'entreprise traitant les boues de station d'épuration.

FIGURE 11 : Estimation de la période de contamination du réseau de distribution de l'eau, épidémie de gastro-entérites, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001



* Levée partielle : l'interdiction de consommer de l'eau du robinet persistait pour les personnes âgées, immunodéprimées et les enfants.



Discussion

Cette étude a confirmé la survenue d'une épidémie de gastro-entérites à cryptosporidies, associées à divers pathogènes d'origine fécale, liée à la consommation de l'eau du réseau d'adduction dans la commune de Dracy-le-Fort au cours de la dernière quinzaine du mois de septembre 2001.

Les deux enquêtes de cohorte, menées d'une part auprès d'une population résidant dans un hôtel et d'autre part auprès de la population de la commune, ont mis en évidence un excès de risque de survenue de gastro-entérite lié à la consommation d'eau du robinet. Une augmentation de ce risque avec la quantité d'eau absorbée a été mise en évidence dans l'étude de cohorte en population de Dracy-le-Fort. Par ailleurs, il ne semblait pas exister de facteur de risque alimentaire qui puisse être à l'origine de l'épidémie de GEA. Ces éléments étaient en faveur d'une relation causale entre la contamination du réseau et la survenue de l'épidémie de gastro-entérite.

Les taux d'attaque (TA) étaient extrêmement élevés dans les deux enquêtes (79 % au sein de la cohorte des stagiaires et 61,8 % dans la population de Dracy-le-Fort). Dans notre étude, les taux d'attaque observés sont incompatibles avec les données de référence utilisées en évaluation du risque lors d'une contamination par *Cryptosporidium* [4]. La probabilité de passage de l'état infecté à l'état de malade $p(M|I) = 0.39$ est notamment considérée comme constante par ces auteurs, ce qui limite le TA à 39 % quand toute la population est infectée. La mise en évidence de certains pathogènes bactériens ou viraux dans les selles évoque une exposition multi-pathogène, mais la fréquence d'apparition des pathogènes dans les coprocultures indique la domination de *Cryptosporidium* : 61 % d'échantillons positifs pour *Cryptosporidium* versus 20 % d'échantillons positifs pour rotavirus groupe A, qui est le pathogène le plus représenté après *Cryptosporidium*. De plus, l'expérimentation de Ohhuysen et al. (1999) montre que 24 % à 38 % (selon la souche de *Cryptosporidium parvum* utilisée) des selles des sujets volontairement infectés par *Cryptosporidium parvum* et présentant des signes cliniques objectifs de l'infection (diarrhée), étaient négatives ; ceci s'expliquant par la discontinuité de l'excrétion. En transposant cette observation à Dracy-le Fort, près de la totalité des malades auraient été infectés par *Cryptosporidium parvum*. L'épidémie de Dracy-le-Fort, caractérisée par une contamination massive et prolongée de l'eau, nous amène donc à remettre en cause l'hypothèse d'indépendance de $p(M|I)$ par rapport à la dose ingérée.

Le taux d'attaque élevé (31 %) chez les non consommateurs d'eau du robinet pouvait être expliqué par une sous estimation de la consommation de l'eau du robinet avec l'inclusion de personnes ayant été exposées à d'autres formes de consommation d'eau non explorées par le questionnaire (comme le brossage/lavage de dents). L'étude des pratiques de consommation indirecte d'eau au sein de la population de Dracy-le-Fort, a fait apparaître que seules 13 personnes n'ont ni consommé d'eau du robinet, ni été exposées aux autres formes de consommation explorées (crudités, glaçons, boissons allongées d'eau, thé ou café). Un biais de mémorisation ne peut être exclu compte tenu du caractère prolongé de la période d'exposition explorée (consommation accidentelle d'eau du robinet) ou encore une consommation masquée et inconnue (ex : les parents répondaient pour les enfants). Enfin, une dernière hypothèse non explorée dans l'étude, est la possibilité de cas secondaires par transmission de personne à

personne de certains agents infectieux. Ce mode de transmission est particulièrement important et documenté pour le rotavirus et les cryptosporidies. Des personnes « exposées » ont donc pu être classées « non exposées ». Avec un risque relatif égal à 2, ce biais de classification n'a pas masqué l'association entre la consommation d'eau du robinet et la survenue d'une gastro-entérite, même s'il a certainement été à l'origine d'une diminution de la force de cette association.

La croissance relativement rapide sur 10 jours de la courbe épidémique, et la concentration des cas incidents entre le 16 et le 23 (soit 8 jours) était en faveur d'une source commune de contamination. La décroissance rapide en 3 jours d'un facteur 7 du nombre de cas, puis une décroissance plus lente à partir du 24 septembre jusqu'au premier octobre pouvait être attribuée à l'impact des mesures prises telles que la restriction de la consommation de l'eau à des fins alimentaires. Le délai de 3 jours observé entre la date de diffusion des mesures de restriction d'usage de l'eau et la « cassure » de la courbe était compatible avec les délais d'incubation minimum habituellement rencontrés pour les différents germes identifiés (1 jour pour le *Campylobacter jejuni*, 2 à 3 jours pour les rotavirus, 2 jours et plus pour le *Cryptosporidium*). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'apparition de cas au-delà de ces 3 jours : une infestation par le *Cryptosporidium* et le *Campylobacter* dont la durée d'incubation peut être prolongée, la survenue de cas secondaires (surtout avec le rotavirus), ou encore une non application immédiate de l'avis de restriction de l'usage de l'eau. Cent pour cent des personnes de plus de 18 ans ont été informées des mesures de restriction d'usage de l'eau. Cependant, il n'a pas été possible d'affirmer que toutes l'aient été dès le 20 septembre 2001. De plus, le libellé de la consigne de restriction (« interdiction de consommation à des fins alimentaires ») ne touchait pas certains usages qui, en l'occurrence (étant données les concentrations suspectées et le pouvoir infectant de *Cryptosporidium parvum*), ont pu être à l'origine d'un risque non négligeable : bains en baignoire (enfants), bains en piscine, brossage des dents...

Les symptômes prédominants, bien que non spécifiques, associant diarrhée, douleurs abdominales et perte d'appétit étaient compatibles avec la symptomatologie décrite d'une infection à *Cryptosporidium*^[5]. La durée prolongée des symptômes (≥ 6 jours) observée chez près de 62,5 % des cas, ainsi que l'existence de rechutes à distance pour certains, étaient des éléments cliniques caractéristiques de l'infection à *Cryptosporidium*. L'absence d'hospitalisation pouvait surprendre compte tenu des germes en cause et des taux d'attaque observés chez les enfants. Néanmoins, lors de l'enquête exploratoire réalisée au centre hospitalier de Chalon, l'hospitalisation de plusieurs enfants de Dracy-le-Fort ($n \geq 3$) avait été enregistrée. Différentes hypothèses peuvent être envisagées afin d'expliquer leur absence de comptabilisation dans l'enquête. Trente pour cent des foyers de Dracy-le-Fort n'ont pas pu être joints soit du fait d'un refus, d'une absence au moment de l'enquête ou d'une inscription sur liste rouge.

Les résultats des coprocultures ont montré une contamination par des germes multiples dominée par la présence de *Cryptosporidium* de génotype I (origine humaine) avec une fréquence élevée (61 % des prélèvements de selles examinés) associé avec une moindre fréquence à du rotavirus A, de l'entérovirus, de l'adénovirus et du *Campylobacter*. La nature des différentes souches virales, bactériennes ou parasitaires retrouvées était en faveur d'une contamination importante et directe du réseau d'eau par des matières fécales d'origine humaine. Ce mécanisme est communément décrit dans d'autres épidémies liées à la contamination fécale directe d'un réseau d'eau^[6,7,8].

Sur la base des résultats de l'étude réalisée auprès des stagiaires de l'hôtel, la durée d'incubation apparaît comme courte si l'on se réfère aux données disponibles concernant les infections à *Cryptosporidium*. Celle-ci peut être expliquée pour partie par la nature des autres germes identifiés. Cependant, la forte prévalence (60 %) des selles des patients dans lesquelles des *Cryptosporidium* ont été identifiés rend plus vraisemblable l'hypothèse d'un raccourcissement de la durée d'incubation en raison du caractère massif de la contamination de l'eau par *Cryptosporidium*.

Le retentissement sanitaire et social de cette épidémie a été particulièrement important avec un taux de recours au médecin de plus de 50 %, et des interruptions prolongées d'activité (> 3 jours) dans 45 % des cas certains. L'impact économique d'une telle épidémie n'était donc pas négligeable.

L'origine hydrique de l'épidémie a été établie ainsi que son emprise spatiale. Des arguments nombreux corroboraient qu'un accident de gestion survenu à la station d'épuration était à l'origine de la pollution, tandis qu'aucun argument – porté à notre connaissance – ne venait contredire cette hypothèse :

- il existait une interconnexion non protégée entre la presse à boue de la STEP et le réseau AEP ;
- il existait une concomitance entre la date présumée de la contamination estimée par les données épidémiologiques, et la date des opérations de maintenance pratiquées sur le silo à boue de la STEP ;
- l'utilisation « d'aval en amont » des données de référence mentionnées plus haut (probabilité de maladie => dose) permettait d'estimer l'ordre de grandeur des concentrations en oocystes dans le réseau au démarrage de l'épidémie. En fixant le paramètre de virulence à $p(M|I)=1$ (hypothèse très conservatrice), la dose moyenne ingérée par les stagiaires de l'hôtel était d'environ 500 oocystes viables. Compte tenu d'une consommation quotidienne moyenne d'eau du robinet non chauffée de 0,3L^[9], la consommation sur 36h pouvait être estimée à 0,5L et la contamination de l'eau ingérée de l'ordre de 1 000 oocystes par litre. Ces concentrations (qui doivent être vues comme des minimums) étaient peu compatibles avec l'hypothèse d'une contamination par introduction d'eau naturelle polluée dans le réseau. Parmi les eaux naturelles, les plus contaminées sont les eaux de « surface » (rivières, lacs...) avec des concentrations qui varient de 0,001 à 10 000 par litre (p90 observé en France par la Lyonnaise inférieur à 1 000/L). La gamme des concentrations en oocystes des eaux souterraines est comprise entre 0 et 100. L'hypothèse d'une contamination par une eau naturelle (notamment un puit) était donc très peu probable car il aurait fallu admettre une absence de dilution et une virulence extrême du parasite. A défaut, il ne pouvait s'agir que d'une eau usée ;
- enfin, les plaintes contre la mauvaise odeur dégagée par l'eau avant l'occurrence des premiers cas évoquaient aussi clairement l'intrusion d'une eau usée dans le réseau AEP.

La pollution responsable de l'épidémie de Dracy-le-Fort est un exemple de contamination directe du réseau de distribution. Elle n'a affecté qu'une petite partie du réseau (1 commune sur 26). Dans ce contexte précis, la surveillance de l'eau traitée au sortir de l'usine de potabilisation est bien sûr inopérante. On ne peut donc s'appuyer sur l'exemple de Dracy-le-Fort pour promouvoir la recherche en routine des cryptosporidies, celle-ci s'exerçant – pour les pays qui la pratiquent comme l'Angleterre – sur l'eau en sortie de traitement, avant distribution. Une surveillance des cryptosporidies sur le réseau de distribution est économiquement infaisable, étant donné le coût d'une analyse et la densité spatiale et temporelle de l'échantillonnage qui serait nécessaire pour garantir l'efficacité du dispositif pour la prévention ou la détection précoce d'un risque épidémique. En revanche, une recherche circonstanciée et réactive des cryptosporidies est importante pour orienter la gestion de la crise. Les plaintes de la nature de celles enregistrées à Dracy-le-Fort, ou les cas groupés de GEA survenus à l'hôtel, sont des points d'appel intéressants pour déclencher des investigations analytiques sur une liste prédéfinie de pathogènes. Dans ce type d'accident affectant l'aval d'un réseau, aucun indicateur technique de surveillance ne réagit parce que l'essentiel de la surveillance technique s'exerce sur la ressource et sur l'usine. La surveillance de la qualité sanitaire de l'eau est souvent (cas des petites unités de distribution) trop peu dense pour rendre probable la détection précoce d'une pollution sur réseau. De plus, il faut prendre en compte les délais d'analyses bactériologiques pour confirmer la nature fécale de la pollution. Le recueil des plaintes et leur investigation rapide est un point d'appel crucial permettant d'évoquer la possibilité d'une pollution avant tout effet sanitaire visible. En effet, le seul signalement par les médecins généralistes d'une augmentation du nombre de consultations pour GEA est rarement à l'origine

d'une alerte ou quand il l'est, l'épidémie est déjà très souvent à son acmé. On observe malheureusement en l'occurrence que les médecins généralistes n'évoquent pas la cryptosporidiose dans ce genre de circonstances et ne prescrivent pas de recherches de *Cryptosporidium* dans les selles (cette recherche n'est pas incluse dans la recherche conventionnelle de parasites, et n'est pas prise en charge au titre de la sécurité sociale). Dans le cas de Dracy-le-Fort, ce sont la Ddass et le traiteur d'eau qui ont évoqué la piste parasitaire, tandis que parallèlement c'est la mère d'une jeune malade, parasitologue de profession, qui a orienté la recherche microbiologique sur la piste des *Cryptosporidium*.

L'enquête environnementale a mis en évidence certaines caractéristiques du réseau AEP susceptibles de favoriser les contaminations ou d'entraver la gestion d'éventuelles crises :

- non protection des bornes incendie et soutirages illicites ;
- conjonction d'un maillage important du réseau et d'une distribution de type « refoulement-distribution ». Dans un schéma de distribution simple (écoulement gravitaire en sens unique du réservoir vers les robinets), la pollution ne se serait pas généralisée à l'ensemble du réseau communal, les purges précoces auraient été plus efficaces et un certain nombre de cas de GEA auraient été évités.



Recommandations

L'expérience tirée de l'investigation de cette épidémie de gastro-entérites liée à la contamination de l'eau du réseau de distribution permet d'élaborer des recommandations en termes d'alerte, de prévention et de collaborations pour l'investigation de telles épidémies :

- Surveillance et Alerte :
 - Rappel aux médecins libéraux de leur rôle de sentinelle pour l'alerte lorsque apparaissent des cas groupés d'une symptomatologie identique et de la déclaration obligatoire des toxi-infections alimentaires collectives, y compris les épidémies hydriques.
 - Appel aux pharmaciens d'officine pour jouer un rôle de sentinelle pour l'alerte quand les ventes d'anti-diarrhéiques dépassent un seuil prédéfini. L'intérêt spécifique de ce dispositif est de fournir un indicateur plus sensible que les consultations (il existe 1 pharmacien pour 5 médecins en moyenne) et la possibilité d'automatiser l'alerte.
 - Information et formation des praticiens sur les infections à *Cryptosporidium*, ses modalités de prise en charge et sur la nécessité de demander explicitement la recherche de cryptosporidies devant des cas groupés présentant une symptomatologie évocatrice.
 - Prise en compte des notifications des citoyens concernant des caractéristiques particulières de l'eau et vérification de la qualité de l'eau de distribution à des fins alimentaires.
- Nécessité d'un partenariat à multiples compétences pré-organisé :
 - Identification et formalisation de la liste des différents partenaires susceptibles d'intervenir lors d'une investigation : microbiologie des selles, de l'eau, investigation environnementale, investigation épidémiologique, gestion.
 - Cette épidémie a particulièrement mis en évidence la nécessité d'identifier des laboratoires de parasitologie pour identifier les parasites dans les selles et un laboratoire de référence pour comparer les souches humaines, environnementales et animales. Dans notre étude, la recherche de *Cryptosporidium* dans les selles a été réalisée suite à sa détection dans l'eau.
 - Nécessité d'améliorer la circulation des informations entre les organismes publics et privés impliqués dans la gestion de l'eau et dans sa surveillance sanitaire.
- Introduire des éléments techniques dans la gestion sanitaire de l'eau :
 - Évaluation comparée des risques liée au maintien des bornes incendies en l'état (introduction fortuite ou malveillante de polluants) vs mise en sécurité par dispositif anti-retour (entrave à l'extinction des incendies).
 - Évaluation du risque lié à des schémas de distribution particuliers ne permettant pas le suivi de l'évolution d'une contamination.
 - Mise en place d'une procédure ad hoc pour la recherche de *Cryptosporidium* dans les eaux de distribution dans des circonstances définies.



Conclusion

Cette étude a permis de confirmer la survenue d'une épidémie de gastro-entérites aiguës à *Cryptosporidium* génotype 1 et à germes polymorphes secondaires à la consommation d'eau du réseau d'adduction avec un taux d'attaque très élevé. L'hypothèse de la contamination du réseau suite à un dysfonctionnement d'une valve avec reflux des eaux usées vers le système d'adduction est la plus probable. Cette hypothèse est renforcée par la présence d'un *Cryptosporidium* humain associé à d'autres agents infectieux d'origine humaine dans les selles des patients. L'identification d'un *Cryptosporidium* dans l'eau renforce également cette hypothèse, même si le génotype n'a pas pu être caractérisé.

Une relation causale entre la défaillance des valves au niveau de l'interconnexion des réseaux de distribution et d'épuration et la survenue des cas de GEA n'a pas pu être parfaitement établie. Cependant, un faisceau d'arguments rend cette hypothèse la plus probable. Des mesures de correction de ce système ont été réalisées.



Références bibliographiques

1. TILLIER, C. Eléments sur l'épidémie de Dracy-le-Fort de septembre 2001 au 8 octobre 2001, note de synthèse. DDASS71. 1-8. 2001.
2. Institut de veille sanitaire and Ministère de l'emploi et de la solidarité. Epidémie de gastro-entérites à germes multiples liées à la consommation de l'eau de distribution, Gourdon, Lot (46). 1-48. 2000.
3. Agence française de normalisation. NF T90-455 Juillet 2001 Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement d'oocystes de *Cryptosporidium* et de kystes de *Giardia* – Méthode de concentration et de dénombrement. 2001. Paris, France, AFNOR.
4. DUPONT H.L., CHAPPELL C.L., STERLING C.R., OKHUYSEN P.C., ROSE J.B., JAKUBOWSKI W. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *N.Engl.J.Med.* 1995 ; 332(13) : 855-59.
5. OSEWE P., ADDISS D.G., BLAIR K.A., HIGHTOWER A., KAMB M.L., DAVIS J.P. Cryptosporidiosis in Wisconsin : a case-control study of post-outbreak transmission. *Epidemiol.Infect.* 1996 ; 117(2) : 297-304.
6. LAURSEN E., MYGIND O., RASMUSSEN B., RONNE T. Gastroenteritis : a waterborne outbreak affecting 1600 people in a small Danish town. *Journal of Epidemiology & Community Health* 1994 ; 48(5) : 453-58.
7. FOGARTY J., THORNTON L., HAYES C. *et al.* Illness in a community associated with an episode of water contamination with sewage. *Epidemiology & Infection* 1995 ; 114(2) : 289-95.
8. MCCARTHY N., DE JONG B., ZIESE T., SJOLUND R., HJALT C.A., GIESECKE J. Epidemiological explanation of an outbreak of gastro-enteritis in Sweden in the absence of detailed microbiological information. *Eur.J.Epidemiol.* 1998 ; 14(7) : 711-18.
9. VOLATIER J.L. Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Paris : Editions Tec & Doc, 2000.

Annexe 1

Enquête Dracy-le-Fort septembre 2001

fiche FOYER

Nom de l'enquêteur : **Béatrice BONIN**

N° de téléphone **03 85**

N° Foyer : **2**

Habitez-vous (la personne habite t'elle) la majorité de l'année à cette adresse ?

1 – OUI

2 – NON

(si **non**, critère d'exclusion, vérifier que si c'est le cas pour toutes les personnes du foyer)

Combien de personnes vivent au foyer :

Combien de personnes résidentes au foyer étaient-elles présentes au moins un jour durant le mois de septembre?

Nombre de personnes :

(Si **0**, critère d'exclusion, arrêter le questionnaire pour tout le foyer et remercier)

Nom de rue, N°, étage :

(**vérifier** si la commune est bien **Dracy-le-Fort**, **vérifier** l'adresse pré-saisie)

Suivi de l'enquête – mise à jour

date du 1^{er} appel

Résultat :

☐ Refus

☐ Dossier clos

☐ Dossier incomplet

☐ Pas de réponse

☐ Rappeler à la date du à h

☐ N° de téléphone à rappeler si différent

☐ Foyer exclu (n° non attribué, entreprise)

date du 2^{ème} appel

Résultat :

☐ Refus

☐ Dossier clos

☐ Dossier incomplet

- ☐ Pas de réponse
- ☐ Rappeler à la date du à h
- ☐ N° de téléphone à rappeler si différent
- ☐ Foyer exclu (n° non attribué, entreprise)

date du 3^{ème} appel

Résultat :

- ☐ Refus
- ☐ Dossier clos
- ☐ Dossier incomplet
- ☐ Pas de réponse
- ☐ Rappeler à la date du à h
- ☐ N° de téléphone à rappeler si différent
- ☐ Foyer exclu (n° non attribué, entreprise)

Annexe 2

Enquête Dracy-le-Fort – Septembre 2001

Fiche sujet

Date de l'entretien 1 0 2 0 0 1

Caractéristiques du foyer

N° du foyer 1

N° personne

Données démographiques

Nom Prénom

Age (ans)

Age (en mois si enfant < 1 an)

Sexe : M ☐

F ☐

1. Depuis combien de temps résidez-vous (la personne réside t-elle) à Dracy le Fort?

années mois

2. Vous êtes-vous absenté (la personne s'est-elle absentée >1 jour) pendant le mois de septembre ?

☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

Si oui, à quelle période étiez-vous absent (préciser les dates) du au

Information sur les consommations :

3. Durant le mois de septembre, avez-vous (la personne a-t-elle) consommé(e) :

Des plats cuisinés surgelés ou traiteurs ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non ☐ 3 – Ne sait pas

Des fruits de mer crus ou peu cuits ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non ☐ 3 – Ne sait pas

Des pâtisseries ou crèmes glacées ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non ☐ 3 – Ne sait pas

Du lait cru ou lait de ferme ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non ☐ 3 – Ne sait pas

4. Votre habitation est-elle alimentée par :

un puit privé ☐

le réseau de la ville ☐

les deux ☐

5. Avant le 20 septembre, avez-vous (la personne a-t-elle) consommé(e) de l'eau du robinet ?☐ 1 – Jamais☐ 2 – Parfois :Nombre de verres /jr ☐ 3 – Exclusivement :Nombre de verres /jr **indiquez le nb de verres***1/2 litre = 3 verres ; 1 litre = 5 verres ; 1.5 litre = 8 verres***6. Avant le 20 septembre, avez-vous (la personne a-t-elle) consommé(e) de l'eau en bouteille ?**☐ 1 – Jamais☐ 2 – Parfois☐ 3 – Exclusivement**7. Avant le 20 septembre, 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**8. Après le 20 septembre, avez-vous (la personne a-t-elle) consommé(e) de l'eau du robinet ?**☐ 1 – Jamais☐ 2 – Parfois☐ 3 – ExclusivementNombre de verres Nombre de verres

Si parfois ou exclusivement, l'eau a-t-elle été bouillie ?

☐ 1 – Oui☐ 2 – Non☐ 3 – Ne sait pas**9. Après le 20 septembre, avez-vous (la personne a-t-elle) consommé(e) de l'eau en bouteille**☐ 1 – Jamais☐ 2 – Parfois☐ 3 – Exclusivement**10. Après le 20 septembre, 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. Avez-vous (la personne a-t-elle) été informé(e) sur les mesures de restriction d’usage de l’eau ?

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

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 presse

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Une lettre

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

L’affichage en mairie

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Autres :

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Préciser :

Informations sur l’état de santé

12. Pendant le mois de septembre avez-vous (la personne a-t-elle) eu ?

De la diarrhée

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Si oui, nombre de selles liquides maximum par jour : jour

Si oui, y avait-il du sang dans les selles :

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Vomissements

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Douleurs abdominales

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Nausées

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Fièvre (>38°)

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Maux de tête

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Perte d’appétit

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

D’autres symptômes

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

Si oui lesquels :

.....

Si la réponse est « non » à tous ces symptômes passer à la question 22

13. Ces symptômes se sont-ils accompagnés d’une perte de poids ?

☐ 1 – Oui

☐ 2 – Non

14. A quelle date sont apparus ces symptômes ? : 2001

Combien de temps avez-vous (la personne a-t-elle) été hospitalisé(e) : jours

22. Dans le mois précédant la maladie, avez-vous pris des antibiotiques ?

☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

23. Avez-vous (la personne a-t-elle) une maladie chronique pour laquelle vous êtes (elle est) suivi(e) régulièrement ?

☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

24. Prenez vous :

des anti-acides ou des anti-ulcéreux ? ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

si oui, lequel

des corticoïdes (cortisone) en traitement prolongé (supérieur à 1 mois) ? ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

si oui, préciser la voie d'administration : par voie orale ou par inhalation

un autre traitement prolongé : ☐ 1 – Oui ☐ 2 – Non

si oui, lequel

Poser la question : vous n'avez pas de chimiothérapie ou de radiothérapie en cours.
Si traitement chimio ou radio le mentionner.

A la fin du questionnaire pensez à questionner les autres sujets du foyer

***A la fin du dernier questionnaire rempli,
remerciez la personne pour sa collaboration et indiquez que les résultats feront l'objet
d'une communication publique à la fin du mois d'octobre***



Annexe 3

Recherche des virus dans les selles

Laboratoire de virologie du centre hospitalier universitaire de Dijon (Pr P. Potier, E. Kohli)

Détection des différents virus

- **Les rotavirus du groupe A** ont été détectés par un test immuno-enzymatique utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de groupe. (1)
- **Les astrovirus et les adénovirus 40 et 41** ont été recherchés par méthode immuno-enzymatique : IDEIA Astrovirus (Dako Diagnostics, Ltd.) et Adenoclone type 40/41 EIA (Meridian Diagnostics Inc., Cincinnati, Ohio).
- **Les calicivirus** ont été recherchés par RT-PCR avec 5 sets d'amorces en réactions séparées, permettant la détection de l'ensemble des calicivirus appartenant aux genres Norwalk-like (génogroupes I et II) et Sapporo-like et s'hybridant à la région codant l'ARN polymérase virale. Les ARN ont été extraits à partir de suspensions de selles en PBS à 10 % avec le kit QIA Amp Viral RNA (Qiagen, Hilden, Allemagne). L'amorce dégénérée NVp110 décrite par Le Guyader *et al.* (2) a été utilisée pour la RT, avec NVp36 (3), SR48-50-52 (4), NI (5) pour les virus Norwalk-like et SR80 pour les virus Sapporo-like (6) pour la PCR. Les RT-PCR ont été réalisées comme précédemment décrit (7). Par ailleurs, un autre couple JV12 – JV13 (8) a été utilisé pour la détection des virus Norwalk-like ainsi qu'un couple d'amorces permettant l'amplification d'une région de la capsid pour les souches NLV du génogroupe I (9), suite à l'observation récente de souches non amplifiables dans la région de la polymérase.
- **Les entérovirus** ont été détectés par RT-PCR avec les amorces E1 et E2 et la méthode décrites par Chapman *et al.* (10).
- **Le virus de l'hépatite A** a été recherché par RT-PCR avec les amorces et la méthode décrites par Robertson *et al.* (11).

Typage des souches de rotavirus et confirmation des souches d'entérovirus

Le typage des souches de rotavirus détectées a été réalisé selon les méthodes décrites par Gouvea *et al.* pour le typage G (12) et par Gentsch *et al.* pour le typage P (13). Pour certains échantillons, la séquence a été déterminée par séquençage direct des produits de PCR en utilisant le kit ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction selon les directives du fabricant, sur le séquenceur automatique 373A DNA Sequencing System (PE Biosystem).

La détection des **entérovirus** a été confirmée par séquençage de la région 5'NC amplifiée selon les mêmes conditions. Cependant, cette région est trop conservée parmi les entérovirus pour permettre de typer les souches.



Annexe 4

Recherche de *Cryptosporidium parvum* dans les selles

Laboratoire de parasitologie du centre hospitalier universitaire de Dijon
(Pr A. Bonnin)

Microscopic investigation of fecal samples from the outbreak

All stool samples were examined for *Cryptosporidium* oocysts with the modified Ziehl Neelsen stain as follows: one drop of the fecal material diluted in physiological saline was spread thinly on a glass slide, fixed with methanol for 10 min, and stained by the modified Ziehl-Neelsen technique described by Henriksen and Pohlenz [Henriksen, 1981 #756] with a 60 min staining in fuchsin. Slides were examined under 20X and 40X objectives, and confirmation of identification was obtained by examination at 100X objective under oil immersion.

Two additional microscopic techniques were performed on the first series of samples received (table 1): a direct microscopic examination of the fecal material, and an indirect immunofluorescent assay (IFA) based on monoclonal antibody (Mab) OW-IGO, a previously described *C. parvum* oocyst-wall reactive antibody [Bonnin, 1990 #414]. For IFA, a 250 µL aliquot of fecal material was diluted in 5 ml phosphate buffered saline (PBS). After a 10 min sedimentation, 20 µL fractions of the supernatants were dropped on the wells of immunofluorescence slides, air-dried and fixed for 15 min in acetone at -20 °C. The wells were then incubated with Mab OW-IGO (undiluted hybridoma culture supernatant) or with PBS (negative control) for 30 min at 37 °C, rinsed in PBS, and treated with a 1/100 dilution of fluorescein-conjugated goat anti-mouse immunoglobulin G (IgG), IgA and IgM secondary antibodies (Sigma) in PBS containing 0.1 g/L Evans blue. The slides were then rinsed in PBS, air-dried and mounted in glycerol prior to examination by epifluorescence microscopy. For microscopic examination, direct wet mounts and pellets obtained after centrifugation of the fecal material at 1500 rpm for 10 min in an ether-sodium acetate / acetic acid pH 5 buffer (Bailenger method [Golvan, 1984 #757]) were examined for other parasitic cysts or ova.

DNA extraction and purification

Fecal samples were processed for DNA extraction using a commercially available kit (QIAamp DNA stool minikit, Qiagen), and a method adapted from the procedure described by the manufacturer. Except for proteinase K, buffers and reagents mentioned below are those provided with the kit. One-gram portions of feces were mixed with 3 mL PBS in 15 mL centrifuge tubes. The resulting slurry was mixed with 3 mL ether and shaken vigorously. After a 10 min centrifugation at 1500 x g, the supernatant was discarded, and the resulting pellet was suspended in PBS and washed by centrifugation at 3200 x g. A 200 µL fraction of the pellet was suspended in 1.4 mL of ASL buffer. The sample was homogenized by vortex agitation during 1 min, and incubated for 15 min at 100 °C. The contents of the tube was then transferred to a 2-mL tube and incubated for 2 h at 56 °C with proteinase K (Merck reference EC 3. 4. 21. 14,

final concentration 1.1 mg/mL). After a 2 min centrifugation at full speed to pellet stool particles, 1.2 mL of the supernatant was transferred to a 2-mL microcentrifuge tube. One inhibitEX tablet was added to each tube, and the sample was treated by vortex until complete dissolution of the tablet. The tube was then incubated for 1 min at room temperature to allow adsorption of PCR inhibitors to the matrix. After a 5 min centrifugation at 20 000 x g to pellet PCR inhibitors bound to the matrix, the supernatant was transferred to a 2-mL centrifuge tube, and a 200 µL fraction was mixed with 200 µL of AL buffer, homogenized by vortex for 15 sec, and incubated at 70 °C for 10 min. The lysate was then mixed by vortexing with 200 µL absolute ethanol. The resulting sample was applied to a QIAamp spin column and further processed according to the instructions of the manufacturer. The DNA was stored at -20 °C until use. Molecular characterisation was performed with two techniques of PCR amplification.



Annexe 5

Recherche des virus entériques dans l'eau de distribution

Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (Ifremer),
Nantes (P. Le Can)

La recherche des virus entériques humains suivants a été réalisée par RT-PCR dans l'eau de distribution de la commune de Dracy : astrovirus, calicivirus, entérovirus, rotavirus et virus de l'hépatite A.

Echantillons : Quatre échantillons d'eau de distribution (1.5 l) ont été prélevés le 28 septembre par les services de la SAUR (Société d'Aménagement Urbain et Rural) de Chalon, au Restaurant de la Garenne (17h15), rue de la Foussotte (17h30), à l'école (17h45) et rue du Moulin Madame (18h). 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), Con 3, Con2 et la sonde VP4 décrites par Gentsch (1992), VP6 3, VP6 4 et la sonde VP6 (communication personnelle de Jean Cohen) 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 GGIIb et GGII (Vinje et Koopmans, 2000) pour la détection des virus Norwalk-like ; les amorces H1, H2 et la sonde H3 (Robertson, 1989) 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 E1, E2 et la sonde Ep (Chapman, 1990 ; Rotbart, 1990) 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 méthylmercure 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 polymérase (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 30 s et élongation terminale 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.

Annexe 6

Résultats des analyses réalisées, Dracy-le-Fort, Saône-et-Loire, septembre 2001

Responsable	date	heure	Secteur	Type d'analyse	Conformité	Remarque
Saur	19/09/01	matin	S5	B	NC	300 CT
Saur	19/09/01	matin	S5	B	NC	« après adoucisseur > 300 CT »
Saur	20/09/01	15	S5	B	NC	250 CT
Saur	20/09/01	13	S13	B	C	
Saur	20/09/01	14-30	S1	B	NC	100 CT
Ddass	20/09/01		S5	B	NC	60 CT
Ddass	20/09/01	16h30	S7	B	C	
Ddass	20/09/01		S13	B	NC	200 CT
Ddass	20/09/01		S5	B	NC	
Ddass	20/09/01		S13	B	NC	> 300 CT
Saur	21/09/01	11h30	S13	B	C	
Saur	21/09/01	12h45	S7	B		25 CT
Saur	21/09/01	12h30	S2	B	NC	35 CT
Saur	21/09/01	12	S2	B	NC	60 CT
Saur	21/09/01	13h30	S7	B	NC	150 CT
Saur	21/09/01	12	S2	B	NC	75 CT
Saur	21/09/01	12h30	S4	B	NC	15 CT
Saur	21/09/01	13	S14	B	NC	80 CT
Saur	21/09/01	13h25	S5	B	NC	7 CT
Saur	21/09/01	10h45	S13	B	NC	200 CT
Saur	21/09/01	13h30	S13	B	C	
Saur	21/09/01	13	S7	B	NC	6 CT
Saur	21/09/01	12h15	S9	B	NC	1CT
Saur	21/09/01	10	S6	B	C	
Ddass	21/09/01		S13	B	C	
Ddass	21/09/01		S13	B	C	
Ddass	21/09/01		S13	B	C	
Ddass	21/09/01		S11	B	C	puits privé
Saur	22/09/01	12h15	S14	B	C	
Saur	22/09/01	13	S11	B	NC	1 CT
Saur	22/09/01		S7	B	NC	40 CT
Saur	22/09/01		S9	B	C	
Saur	22/09/01		S14	B	NC	2 CT
Saur	22/09/01		S13	B	C	
Saur	22/09/01	12h45	S5	B	NC	1 CT
Saur	22/09/01	12	S3	B	NC	1 CT

Responsable	date	heure	Secteur	Type d'analyse	Conformité	Remarque
Saur	22/09/01	13h20	S13	B	C	
Saur	22/09/01	14h00	S1	B	C	
Saur	22/09/01	13h45	S1	B	C	
Saur	22/09/01	12h35	S5	B	C	
Saur	22/09/01	13h05	S10	B	C	
Saur	23/09/01	11h15	S7	B	C	
Saur	23/09/01	11	S14	B	C	
Saur	23/09/01	11h30	S7	B	C	
Saur	23/09/01	15	S11	B	C	
Saur	23/09/01	14	S11	B	C	
Saur	23/09/01	11h45	S5	B	C	
Saur	24/09/01	11h25	S14	B	C	
Saur	24/09/01	12h15	S7	B	C	
Saur	24/09/01	10	S9	B	C	
Saur	24/09/01	11h15	S14	B	C	
Saur	24/09/01		S7	B	C	
Saur	24/09/01		S12	B	C	
Saur	24/09/01	12h05	S10	B	C	
Saur	24/09/01	10h40	S5	B	C	
Saur	24/09/01	11	S11	B	C	
Saur	24/09/01	11h50	S3	B	C	
Saur	24/09/01		S1	B	C	
Saur	24/09/01		S13	B	C	
Saur	24/09/01		S5	P	NC	0,13 Cr / L
Saur	24/09/01		S5	B	C	
Saur	24/09/01	10h20	S5	B	NC	2 CT
Ddass	24/09/01	16h15	S7	B	C	
Ddass	24/09/01	15h45	S5	B	C	
Ddass	24/09/01	15	S13	B	NC	(3,5 NTU)
Saur	25/09/01	10h15	S5	B	C	
Saur	25/09/01	13h10	S4	B	C	
Saur	25/09/01	13h25	S4	B	C	
Saur	25/09/01		S5	B	NC	1 CT
Saur	25/09/01	12h45	S13	B	C	
Saur	25/09/01	13h25	S3	B	C	
Saur	25/09/01	11h45	S5	B	C	après adoucisseur
Saur	25/09/01	14	S4	B	NC	« puits privé; 560 CT, 12 entérocoques »
Saur	25/09/01	12	S6	B	C	
Saur	26/09/01		S7	B	C	
Saur	26/09/01		S14	B	C	
Saur	26/09/01		S5	B	C	
Saur	26/09/01		S10	B	C	
Saur	26/09/01		S5	B	NC	16 CT
Saur	26/09/01		S4	B	C	
Saur	26/09/01		S13	B	C	
Saur	26/09/01		S5	B	C	

Responsable	date	heure	Secteur	Type d'analyse	Conformité	Remarque
Saur	26/09/01		S10	B	C	
Saur	26/09/01		S13	B	C	
Saur	26/09/01		S5	B	NC	1 CT
Saur	26/09/01		S6	B	C	
Saur	27/09/01		S14	P	NC	« 0,005 Cr / L ; 192 L »
Saur	27/09/01		S12	B	C	
Saur	27/09/01		S7	B	C	
Saur	27/09/01		S11	B	NC	1 CT
Saur	27/09/01		S2	P	C	
Saur	27/09/01		S5	B	C	
Saur	27/09/01		S14	B	C	
Saur	27/09/01		S5	B	C	
Saur	27/09/01		S5	P	NC	« 0,004 Cr / L ; 250 L »
Saur	27/09/01		S10	P	C	
Saur	27/09/01		S13	P	NC	« 0,004 Cr / L ; 250 L »
Saur	27/09/01		S11	B	NC	puits privé (entérocoques et BASR)
Saur	27/09/01		S10	B	NC	puits privé (CT, E.Coli, entérocoques, BASR)
Saur	27/09/01		S10	B	NC	puits privé (CT, E.Coli, entérocoques, BASR)
Saur	27/09/01		S1	P	NC	« 0,009 Cr / L ; 211 L »
Saur	28/09/01		S5	P	NC	« 0,009 Cr / L ; 220 L »
Saur	28/09/01		S7	P	NC	« 0,005 Cr / L ; 195 L »
Saur	28/09/01		S1	B	NC	
Saur	28/09/01		S14	P	C	
Saur	28/09/01		S5	B	NC	avant adoucisseur 3 CT
Saur	28/09/01		S5	B	NC	40 CT après adoucisseur
Saur	28/09/01		S13	B	C	
Saur	28/09/01		S13	P	C	
Saur	28/09/01		S1	P	C	
Saur	28/09/01		S4	B	NC	Rivière 40 000 CT
Saur	28/09/01		S5	B	C	avant adoucisseur
Saur	28/09/01		S5	B	NC	après adoucisseur 1 CT
Saur	28/09/01		S6	P	NC	« 0,009 Cr / L ; 215 L »
Saur	29/09/01		S8	B	C	
Saur	29/09/01		S8	P	C	
Saur	29/09/01		S14	B	C	
Saur	29/09/01		S14	P	C	
Saur	29/09/01		S5	B	C	
Saur	29/09/01		S5	P	C	
Saur	01/10/01		S14	P + B	C	
Saur	01/10/01		S14	B	C	
Saur	01/10/01		S7	P + B	NC	« 0,18 Cr / 10 L ; 169 L0,12 Giardia /10L »
Saur	01/10/01		S7	B	C	
Saur	01/10/01		S7	P + B	NC	« 0,19 Cr / 10 L ; 210 L »
Saur	01/10/01		S7	B	C	
Saur	01/10/01		S5	P	NC	« 0,1 Cr / 10 L ; 210 L »

Responsable	date	heure	Secteur	Type d'analyse	Conformité	Remarque
Saur	01/10/01		S5	B	C	
Saur	01/10/01		S5	P + B	C	
Saur	01/10/01		S5	B	C	
Saur	01/10/01		S13	P + B	NC	« 0,11/10L ; 175 L »
Saur	01/10/01		S13	B	C	
Saur	02/10/01		S5	B	C	
Saur	02/10/01		S5	P + B	NC	« 0,05/10L ; 173 L »
Saur	02/10/01		S1	B	C	
Saur	02/10/01		S1	P + B	C	
Saur	02/10/01		S6	B	C	
Saur	02/10/01		S6	P + B	C	
Ddass	02/10/01		S1	P + B	NC	0,088/10L
Ddass	02/10/01		S1	B	C	
Ddass	02/10/01		S5	P + B	C	
Ddass	02/10/01		S5	B	C	
Saur	03/10/01		S13	B	C	
Saur	03/10/01		S13	P + B	C	
Saur	03/10/01		S5	B	C	
Saur	03/10/01		S5	P + B	C	
Saur	03/10/01		S6	B	C	
Saur	03/10/01		S6	B	C	
Saur	03/10/01		S6	P + B	C	
Saur	04/10/01		S14	B	C	
Saur	04/10/01		S14	P + B	C	
Saur	04/10/01		S5	B	C	
Saur	04/10/01		S5	P + B	C	
Saur	04/10/01		S2	P	C	
Saur	05/10/01		S5	B	C	
Saur	05/10/01		S5	P + B	C	
Saur	05/10/01		S1	B	C	
Saur	05/10/01		S1	P + B	C	
Saur	05/10/01		S10	B	C	
Saur	05/10/01		S10	P + B	C	
Saur	06/10/01		S4	B	NC	5 CT
Saur	06/10/01		S13	P	C	
Saur	06/10/01		S5	B	C	
Saur	06/10/01		S5	P + B	C	
Saur	06/10/01		S8	B	C	
Saur	06/10/01		S8	P + B	C	
Saur	07/10/01		S14	B	C	
Saur	07/10/01		S14	P + B	C	
Saur	07/10/01		S5	B	C	
Saur	07/10/01		S5	P + B	C	
Saur	08/10/01		S14	B	C	
Saur	08/10/01		S13	B	C	
Saur	08/10/01		S13	P + B	C	
Saur	08/10/01		S1	B	C	

Responsable	date	heure	Secteur	Type d'analyse	Conformité	Remarque
Saur	08/10/01		S1	P	C	
Saur	08/10/01		S5	B	C	
Saur	08/10/01		S5	P + B	C	
Saur	09/10/01		S14	B	C	
Saur	09/10/01		S5	B	C	
Saur	09/10/01		S13	B	NC	
Saur	10/10/01		S4	B	C	
Saur	10/10/01		S4	P + B	C	
Saur	10/10/01		S1	B	C	
Saur	10/10/01		S1	P + B	C	
Saur	10/10/01		S5	B	C	
Saur	10/10/01		S5	P	C	
Saur	11/10/01		S5	B	C	
Saur	11/10/01		S10	B	C	
Saur	11/10/01		S12	B	C	
Saur	12/10/01		S4	B	C	
Saur	12/10/01		S14	B	C	
Saur	12/10/01		S5	P	C	
Saur	12/10/01		S10	B	NC	26 CT
Saur	12/10/01		S10	P	C	
Saur	12/10/01		S13	B	C	
Saur	12/10/01		S13	P + B	C	
Saur	12/10/01		S13	B	C	
Ddass	15/10/01		S7	B	C	
Ddass	15/10/01		S7	P + B	C	
Ddass	15/10/01		S6	P + B	NC	
Ddass	15/10/01		S5	B	NC	bactério conforme mais présence de turbidité
Ddass	15/10/01		S5	P + B	C	
Ddass	15/10/01		S1	B	C	
Ddass	15/10/01		S1	P + B	C	
Saur	18/10/01		S10	P + B	C	
Saur	18/10/01		S10	B	C	
Saur	18/10/01		S5	P + B	C	
Saur	18/10/01		S5	B	C	
Saur	23/10/01		S13	B	C	
Saur	23/10/01		S1	B	C	
Saur	23/10/01		S1	B	C	
Saur	23/10/01		S5	B	C	
Saur	31/10/01		S1	B	C	
Saur	31/10/01		S5	B	C	

NC : non conforme

C : conforme

B : bactériologique (analyse type D1)

P : parasitologie (Cryptosporidium + Giardia)

CT : coliformes totaux

Cr : Cryptosporidium

Notes

Le 20 septembre 2001, la DDASS de Saône et Loire est alertée par un appel de SOS médecin de Chalon sur Saône pour une suspicion de toxoinfection alimentaire dans un hôtel de la commune de Dracy le fort. L'investigation réalisée le jour même a révélé l'existence, depuis plusieurs jours de nombreux autres cas de gastro-entérite hors de l'établissement et de plaintes sur la mauvaise qualité de l'eau. L'hypothèse d'une contamination du réseau d'eau potable est alors privilégiée. Des prélèvements d'eau sont réalisés, des mesures de restriction d'usage de l'eau à des fins alimentaires diffusées dès le 20 après-midi auprès de la population et un renforcement de la chloration du réseau décidé. Le 22 septembre, les résultats de ces prélèvements confirmeront une contamination microbiologique importante.

Une investigation épidémiologique a été menée par la CIRE Centre Est en collaboration avec la DDASS et l'InVS. Elle a comporté :

- Une enquête sur l'activité de consultation (total et pour gastro-entérites) des médecins généralistes installés dans les communes desservies par la même unité de distribution afin de confirmer l'épidémie et d'en préciser l'étendue géographique
- Une enquête de cohorte rétrospective auprès d'un groupe de stagiaire de l'hôtel afin d'informer ou de confirmer une toxoinfection alimentaire collective
- Une enquête de cohorte rétrospective auprès de la population générale de Dracy le fort afin de déterminer le rôle de l'eau du robinet comme source de contamination.

Une enquête environnementale et des examens microbiologiques des selles et de l'eau du réseau d'adduction ont par ailleurs été réalisés.

Les résultats de cette étude ont permis de confirmer la survenue d'une épidémie de gastro-entérites aiguës à *Cryptosporidium* de génotype humain et à germes polymorphes secondaire à la consommation d'eau du réseau d'adduction avec un taux d'attaque très élevé. L'hypothèse de la contamination du réseau suite à un dysfonctionnement d'une valve avec reflux des eaux usées vers le système d'adduction est la plus probable.

"Water-borne outbreak of cryptosporidiosis in France, 2001."

Introduction: On September 2001, an increase of cases of acute gastro-enteritis (AGE) in a 1,100 inhabitants community was investigated in order to confirm an outbreak and identify the source of infection.

Methods: Total number of consultations and consultations for AGE were obtained from general practitioners. From the telephone directory, 291 households were randomly selected and a cohort study was carried out. Cases were classified as certain (≥ 3 liquid stools/day, or vomiting) and probable (1 or 2 liquid stools/day or abdominal pain). Microbiological examination of the water distribution system and of stool samples from cases was carried out.

Results: Between 14 and 26 September, AGE represented 13% of all the consultations compared to less than 1% between 1st and 13th September. The attack rate was 62% (483/781), 397 (59%) were confirmed cases and 86 (11%) were probable cases. The risk for illness was higher among people who had drunk tap water than among those who had not ($RR=2$; 95%CI = 1.6-2.4) and showed an increasing dose effect ($P < 0.001$). Main symptoms were diarrhoea, abdominal pain and anorexia. Stool examination identified *Cryptosporidium* genotype I in 61% (19/31) of samples. Rotavirus A, enterovirus, adenovirus, *Campylobacter jejuni* and *E. coli* were isolated in 20%, 14%, 6%, 14% and 12% of samples out of 49 examined. *Cryptosporidium* was isolated in water.

Conclusion/Public Health Impact: Results confirm the occurrence of a waterborne outbreak of AGE due to *cryptosporidium* genotype I with a very high attack rate. The presence of *cryptosporidium* genotype I associated with rotavirus A and enterovirus suggested a faecal contamination. This outbreak underlines the need to implement regulation for detection of *cryptosporidial* oocysts in treated drinking water.

Keywords: waterborne outbreak, gastro-enteritis, *cryptosporidium*, water supply.



ISBN : 2-11-093282-1
Tirage : 1 200 exemplaires
Prix : 7,05 €
Imprimé par Actis - Paris
Dépôt légal : Juin 2003



INSTITUT DE
VEILLE SANITAIRE

Département Maladies Infectieuses

12, rue du Val d'Osne - 94415 Saint-Maurice cedex
Tél. : 33 (0) 1 41 79 67 00 - Fax : 33 (0) 1 41 79 67 67
<http://www.invs.sante.fr>