



**Rapport sur les « Infections à protozoaires liées
aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique
des risques associés à *Cryptosporidium sp.* »**

Septembre 2002

Coordonnateurs de rédaction :

- **M. Derouin Francis**
- **Mme Eliazewicz Muriel**
- **M. Pouillot Régis**
- **Mme Roze Servane**

Cryptosporidiose intestinale (HES)

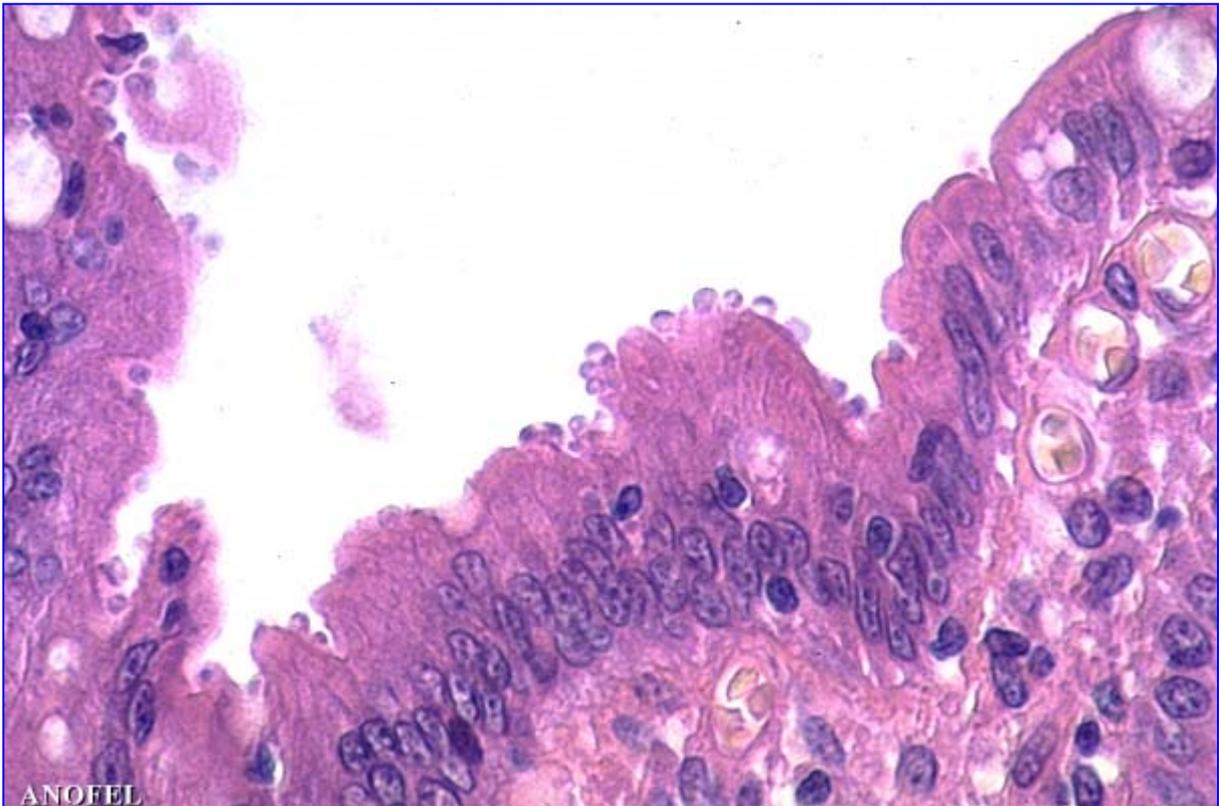


Illustration 1 : Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* (HES) (parasites faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes) - J.F. Pays. (source : ANOFEL)

Un document intitulé « Evaluation quantitative du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau distribuée » complète le présent rapport. Il est disponible sur le site internet de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (www.afssa.fr) . Il a pour objet de présenter de façon exhaustive la démarche exposée dans le chapitre VI.

Cette analyse a été menée par :

R. Pouillot – Afssa

P. Beaudeau – InVS

S. Roze – Afssa

F. Derouin – Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Paris VII

Composition du groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » de l'Afssa

Président

Monsieur Francis DEROUIN
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Université Paris VII
CES Microbiologie

Membres

Monsieur Pascal BEAUDEAU
Département Santé Environnement
Institut national de Veille Sanitaire – Saint Maurice

Monsieur Alain BONNIN
Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie
Hôpital de Dijon

Monsieur Philippe BRASSEUR
Laboratoire de Parasitologie
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen

Monsieur Christophe CHARTIER
Laboratoire d'Etudes et de Recherche Caprines
Afssa – Niort

Monsieur René CHERMETTE
Laboratoire de parasitologie-Mycologie
Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort
CES Santé Animale

Monsieur Eduardo DEI-CAS
Laboratoire de Parasitologie
Institut Pasteur Lille

Monsieur Jean Pierre DUGUET
SAGEP -Paris

Monsieur Philippe HARTEMANN
Département Environnement et Santé Publique
Faculté de Médecine Vandoeuvre Les Nancy
CES Eaux

Monsieur Jean-Michel MOLINA
Service des maladies infectieuses et tropicales
Hôpital Saint Louis -Paris

Monsieur Antoine MONTIEL
SAGEP -Paris
CES Eaux

Madame Muriel NACIRI
Station pathologie aviaire et parasitologie
INRA - Nouzilly

Madame Véronique VAILLANT
Département des maladies infectieuses
Institut de Veille Sanitaire – Saint Maurice

Monsieur Philippe VILAGINES
Centre de Recherche et de Contrôle des Eaux de la Ville de Paris
Paris

Agence française de sécurité sanitaire des aliments
Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires

Madame Joëlle CARMES
Unité d'évaluation des risques liés à l'eau
Direction de l'évaluation des risques sanitaires et nutritionnels
Afssa - Maisons Alfort

Madame Muriel ELIASZEWICZ
Unité d'évaluation des risques biologiques
Direction de l'évaluation des risques sanitaires et nutritionnels
Afssa - Maisons Alfort

Madame Servane ROZE
Unité d'évaluation des risques biologiques
Direction de l'évaluation des risques sanitaires et nutritionnels
Afssa - Maisons Alfort

Monsieur Dominique TRICARD
Unité d'évaluation des risques liés à l'eau
Direction de l'évaluation des risques sanitaires et nutritionnels
Afssa - Maisons Alfort

Personnalités auditionnées par le groupe de travail

Monsieur Eric BRODART
Technical Services Manager
Lyonnaise des Eaux - France

Monsieur Dominique GATEL
Chef des départements Protection des ressources et Traitement de l'eau
Vivendi Water - Générale des Eaux

Monsieur Jean-Claude JORET
Responsable du Département Qualité Environnement Risque
Vivendi Water - Générale des Eaux

Monsieur Gérard MICHEL
Directeur de la Direction technique
SAUR SA

Madame Sylvie METGE
Ingénieur spécialiste Eau Potable
Lyonnaise des Eaux - France

Madame Pascale RACAUD
Responsable du Laboratoire Central
SAUR SA

Monsieur Daniel VILLESSOT
Directeur technique
Lyonnaise des Eaux - France

Personnalités consultées par le groupe de travail

Monsieur Marc DI PALMA
Cellule Interrégionale d'épidémiologie d'Intervention (CIRE)
Centre Est

Madame Anne GALLAY
Département des Maladies Infectieuses
Institut de Veille Sanitaire – Saint Maurice

Madame Nathalie KAPEL
Laboratoire de Biologie Animale et Parasitaire
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques - Paris

Madame Geneviève MOUGEOT
Laboratoire de Parasitologie Mycologie
Faculté de Médecine – Clermont Ferrand

Appui technique auprès du groupe de travail

Monsieur Lionel LAFAY
Observatoire des consommations alimentaires
Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires
Afssa- Maisons Alfort

Monsieur Régis POUILLOT
Unité d'appui épidémiologique à l'analyse du risque
Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires
Afssa- Maisons Alfort

Madame Anne THEBAULT
Unité d'appui épidémiologique à l'analyse du risque
Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires
Afssa- Maisons Alfort

SOMMAIRE

SOMMAIRE DETAILLE.....	13
GLOSSAIRE.....	21
DEFINITIONS.....	23
RESUME DU RAPPORT.....	25
I. CONTEXTE ET JUSTIFICATION DU PROJET.....	31
II. LE PROJET.....	33
1. Objectifs du projet.....	33
2. Champs d'investigation.....	33
3. Méthodologie.....	34
III. CONTEXTE EPIDEMIOLOGIQUE.....	35
1. Les épidémies d'origine hydrique.....	35
2. Les épidémies liées aux aliments.....	36
IV. PRESENTATION GENERALE.....	39
1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	39
2. Les eaux destinées à la consommation humaine.....	43
3. <i>Cryptosporidium sp.</i> dans les eaux.....	57
4. Les aliments.....	60
V. ELEMENTS POUR L'EVALUATION DU RISQUE.....	63
1. Identification du danger : description de <i>Cryptosporidium parvum</i>	63
2. Appréciation de l'émission du danger.....	63
3. Appréciation de l'exposition.....	80
4. Appréciation des effets chez l'Homme.....	81
VI. ESTIMATION QUANTITATIVE DU RISQUE RELATIF A LA CONSOMMATION D'EAU DE DISTRIBUTION PUBLIQUE.....	89
1. Présentation des objectifs.....	89
2. Intérêt de la prise en compte de la variabilité et de l'incertitude.....	89
3. Mise en œuvre et schéma global de l'évaluation quantitative des risques.....	91
4. Description des processus et modules communs aux objectifs.....	93
5. Calcul du risque annuel d'infection et du nombre de maladies attendues.....	99
6. Réponse aux différents objectifs.....	99
7. Conclusion de l'évaluation quantitative du risque.....	124
VII. CONCLUSIONS GENERALES.....	127
1. Idées clefs du rapport.....	127
2. Recommandations.....	129
3. Axes de recherche.....	149
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	153
ANNEXES.....	163

SOMMAIRE DETAILLE

SOMMAIRE DETAILLE.....	13
GLOSSAIRE.....	21
DEFINITIONS.....	23
RESUME DU RAPPORT.....	25
I. CONTEXTE ET JUSTIFICATION DU PROJET.....	31
II. LE PROJET.....	33
1. Objectifs du projet.....	33
2. Champs d'investigation.....	33
2.1. Le pathogène.....	33
2.2. Les matrices alimentaires (eaux et aliments).....	33
3. Méthodologie.....	34
3.1. Groupe de travail.....	34
3.2. Méthodes de travail.....	34
III. CONTEXTE EPIDEMIOLOGIQUE.....	35
1. Les épidémies d'origine hydrique.....	35
2. Les épidémies liées aux aliments.....	36
IV. PRESENTATION GENERALE.....	39
1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	39
1.1. Description du pathogène.....	39
1.2. Méthodes de détection.....	40
1.3. Méthodes de mesure de la viabilité et de l'infectiosité.....	41
1.3.1. Viabilité des oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i>	41
1.3.2. Infectiosité des oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i>	41
1.4. Méthodes de génotypage.....	41
➤ Points à retenir 1.....	42
2. Les eaux destinées à la consommation humaine.....	43
2.1. Définition.....	43
2.2. Production et distribution des eaux de distribution publique.....	44
2.2.1. Captages d'eau.....	44
2.2.2. Traitement des eaux.....	45
2.2.2.1. Les procédés de rétention.....	45
2.2.2.2. Les procédés ayant des effets biocides.....	46
➤ Les traitements chimiques.....	46
➤ Les traitements physiques.....	46
2.2.3. Distribution des eaux.....	47
2.3. Règles d'usage et réglementation française.....	47
2.3.1. Les mesures visant à garantir la salubrité et la propreté de l'eau distribuée.....	47
2.3.1.1. Des règles techniques de protection et de prévention.....	48
2.3.1.2. Des procédures administratives.....	48
2.3.1.3. Des exigences de qualité pour les eaux douces superficielles utilisées ou destinées à être utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine.....	49
2.3.1.4. Des limites de qualité des eaux distribuées.....	49

2.3.1.5.	Des modalités de suivi des installations et de la qualité des eaux	49
2.3.1.6.	Des règles de gestion de certaines situations de non-conformité	49
2.3.1.7.	L'information sur la qualité des eaux	50
2.3.2.	Les dispositifs réglementaires spécifiques applicables à <i>Cryptosporidium</i> ...	50
➤	Points à retenir 2	51
2.4.	Réglementation étrangère	52
2.4.1	Royaume Uni	52
2.4.1.1.	Etude préalable à la mise en place de la réglementation	52
2.4.1.2.	Principales composantes de la réglementation	52
2.4.1.3.	La réglementation en 2000	53
2.4.2.	Australie	54
2.4.2.1.	Analyse préalable de la situation australienne	54
2.4.2.2.	Recommandations	54
2.4.3.	USA	55
2.4.3.1.	Analyse préalable de la situation américaine	55
2.4.3.2.	Recommandations récentes	55
➤	Points à retenir 3	57
3.	<i>Cryptosporidium sp.</i> dans les eaux	57
3.1.	Définition des zones et sites à risque	58
3.2.	Efficacité des traitements	59
4.	Les aliments	60
4.1.	Les aliments concernés	60
4.2.	Les traitements actifs sur <i>Cryptosporidium</i>	61
4.3.	La réglementation	61
V.	ELEMENTS POUR L'EVALUATION DU RISQUE	63
1.	Identification du danger : description de <i>Cryptosporidium parvum</i>	63
2.	Appréciation de l'émission du danger	63
2.1.	Implication des animaux dans l'émission de <i>Cryptosporidium parvum</i>	64
2.1.1.	Implication des différentes espèces animales dans l'émission de <i>Cryptosporidium parvum</i> en France	64
2.1.1.1.	Les animaux de rente	64
2.1.1.2.	Les animaux sauvages	68
2.1.2.	Facteurs de variabilité de l'émission parasitaire animale	69
2.1.2.1.	Facteurs liés aux parasites	69
2.1.2.2.	Facteurs liés aux animaux	69
2.1.2.3.	Facteurs liés aux modes d'élevage	69
➤	Points à retenir 4	71
2.2.	Implication de l'Homme dans l'émission de <i>Cryptosporidium parvum</i>	72
2.2.1	Rôle de l'Homme dans le cycle parasitaire	72
2.2.2	Durée et quantité d'oocystes excrétés par l'Homme	73
2.2.3	Devenir des oocystes excrétés par l'Homme	73
➤	Points à retenir 5	73
2.3.	Facteurs limitant l'émission du danger	74
2.3.1.	La survie des oocystes dans l'environnement	74
➤	Points à retenir 6	75
2.3.2.	Le traitement des effluents d'élevage	75
2.3.3.	Le traitement des effluents humains	77

2.4.	Diffusion du danger	77
2.4.1.	Diffusion passive à partir des sources de contamination fécale animale	77
2.4.2.	Diffusion passive à partir des sources de contamination fécale humaine	78
2.4.3.	Infiltration - Nature des sols	79
2.4.4.	Contamination des rivières et de la mer	79
	➤ Points à retenir 7	80
3.	Appréciation de l'exposition	80
3.1.	Appréciation de la contamination	80
3.2.	Appréciation de la consommation	80
3.2.1	Méthodologie	80
3.2.2	Données de consommation	80
4.	Appréciation des effets chez l'Homme	81
4.1.	La cryptosporidiose humaine	81
4.2.	Facteurs de risques	82
4.2.1.	Facteurs de risque liés au parasite	82
4.2.2.	Facteurs de risque liés à l'hôte	82
4.2.2.1.	Le jeune âge	83
4.2.2.2.	L'état immunitaire	83
4.2.2.3.	Autres facteurs de risque	86
	➤ La contamination nosocomiale	86
	➤ Facteur saisonnier de la cryptosporidiose	86
	➤ Influence du portage asymptomatique	87
4.3.	Courbe dose-réponse : modèles existants et modélisation	87
	➤ Points à retenir 8	88

VI. ESTIMATION QUANTITATIVE DU RISQUE RELATIF A LA CONSOMMATION D'EAU DE DISTRIBUTION PUBLIQUE.....89

1.	Présentation des objectifs	89
2.	Intérêt de la prise en compte de la variabilité et de l'incertitude	89
2.1.	La variabilité	89
2.2.	L'incertitude	90
3.	Mise en œuvre et schéma global de l'évaluation quantitative des risques	91
3.1.	Mise en œuvre	91
3.2.	Schéma global	91
4.	Description des processus et modules communs aux objectifs	93
4.1.	Module « Contamination »	93
4.2.	Module « Consommation »	94
4.2.1.	Base de données utilisée	94
4.2.2.	Consommation d'eau du robinet par jour	94
4.2.3.	Consommation annuelle d'eau du robinet	95
4.3.	Module « Exposition »	95
4.4.	Module « Effet »	96
4.4.1.	Relation dose-Réponse	96
4.4.1.1.	Population immunocompétente	96
4.4.1.2.	Population immunodéprimée	97
4.4.2.	Relation Infection Maladie	98
4.4.2.1.	Population immunocompétente	98
4.4.2.2.	Population immunodéprimée	98
5.	Calcul du risque annuel d'infection et du nombre de maladies attendues	99
5.1.	Risque annuel d'infection	99
5.2.	Nombre de maladies attendues	99

6.	Réponse aux différents objectifs.....	99
6.1.	Objectif ❶ : Interprétation d'un résultat d'analyse sur une eau de distribution.....	99
6.1.1.	Module « Emission ».....	100
6.1.2.	Modélisation.....	100
6.1.3.	Résultats concernant l'objectif ❶.....	100
➤	Risque quotidien d'infection et de maladie.....	100
6.1.4.	Application et intérêt de l'approche ❶.....	104
6.2.	Objectif ❷ : Risque annuel pour une population définie (source AA).....	105
6.2.1.	Module « Emission ».....	105
➤	Distribution de la contamination de l'eau du robinet provenant de la source de AA, à partir de données de surveillance de cette source (Tableau 15.).....	105
➤	Variabilité géographique de la contamination.....	106
6.2.2.	Modélisation de l'objectif ❷.....	106
6.2.3.	Résultats de l'objectif ❷.....	106
➤	Risque d'infection et de maladie quotidien annuel.....	106
➤	Nombre de maladies attendues dans la population.....	108
6.3.	Objectif ❸ : Risque annuel en cas de résultats d'analyses négatifs.....	108
6.3.1.	Module « Emission ».....	108
6.3.2.	Modélisation de l'objectif ❸.....	109
6.3.3.	Résultats de l'objectif ❸.....	109
6.3.4.	Application et intérêt de l'approche ❸.....	113
6.4.	Objectif ❹ : Risque annuel selon la ressource et le niveau d'abattement.....	113
6.4.1.	Module émission.....	113
6.4.1.1.	Eau de surface.....	113
6.4.1.2.	Eau souterraine.....	113
6.4.1.3.	Abattement.....	114
6.4.2.	Modélisation de l'objectif ❹.....	114
6.4.3.	Résultats objectif ❹.....	114
6.4.3.1.	Eau de surface.....	114
6.4.3.2.	Eau Souterraine.....	117
6.4.4.	Application, intérêt et limites de l'objectif ❹.....	120
6.5.	Objectif ❺ : Réalisation pratique d'une évaluation des risques liés à une ressource donnée.....	121
6.5.1.	Simplification du calcul du risque.....	121
6.5.2.	Equations.....	121
6.5.3.	Pré-requis pour l'évaluation du risque.....	122
6.5.3.1.	Eau de surface.....	123
6.5.3.2.	Eau Souterraine.....	123
6.5.4.	Conclusions de l'objectif ❺.....	124
7.	Conclusion de l'évaluation quantitative du risque.....	124

VII. CONCLUSIONS GENERALES127

1.	Idées clefs du rapport.....	127
2.	Recommandations.....	129
2.1.	Amélioration des connaissances épidémiologiques.....	129
2.1.1.	L'information sur <i>Cryptosporidium</i> et la cryptosporidiose.....	130
2.1.2.	Les laboratoires de référence.....	130
2.1.3.	Le recueil des données sur la fréquence et les facteurs de risques des cryptosporidioses chez l'Homme.....	131
2.1.3.1.	Incidence des cryptosporidioses.....	131
2.1.3.2.	Etude sur les facteurs de risque d'acquisition de la cryptosporidiose.....	132

2.1.4.	Recueil de données sur la contamination de l'eau et des aliments.....	132
2.1.4.1.	Contamination de l'eau.....	132
2.1.4.2.	Contamination des aliments.....	132
2.2.	Prévention collective du risque lié à l'eau.....	132
2.2.1.	Protection des ressources et évaluation.....	133
2.2.2.	Maîtrise de la diffusion du danger.....	134
2.2.2.1.	Volet animal.....	134
2.2.2.2.	Volet humain.....	134
2.2.3.	Procédés de traitement et suivi de leur efficacité.....	135
2.2.4.	Distribution.....	135
2.2.5.	Quelle démarche suivre pour élaborer des options de gestion ?.....	136
2.2.5.1.	Démarche « Aval-Amont ».....	136
2.2.5.2.	Démarche « Amont-aval ».....	136
2.2.6.	Mise en œuvre et application.....	137
2.2.6.1.	Mise en œuvre.....	137
2.2.6.2.	Applications.....	138
2.3.	Prévention collective du risque lié à l'alimentation.....	138
2.3.1.	Les fruits, légumes consommés crus et leurs produits dérivés.....	138
2.3.2.	Les coquillages.....	139
	➤ Le respect de la réglementation sur les zones de pêche et leur contrôle microbiologique.....	139
	➤ La réduction du risque de contamination des zones de pêche par les rejets agricoles et urbains.....	139
	➤ L'information du public.....	139
2.3.3.	Le lait cru et ses produits dérivés.....	139
2.4.	Prévention individuelle.....	140
2.5.	Recommandations en cas de contamination avérée.....	141
2.6.	Conduite de l'information, de la prévention et des investigations en cas d'épidémie ou de contamination avérée de l'eau de distribution.....	146
2.6.1.	Détection des épidémies.....	146
2.6.2.	Méthodologie d'investigations.....	147
2.6.2.1.	Investigation épidémiologique.....	147
2.6.2.2.	Investigation environnementale.....	148
2.6.3.	Mesures de contrôles et de prévention.....	149
2.6.4.	Conditions du retour à la normale.....	149
3.	Axes de recherche.....	149
3.1.	Caractérisation du danger.....	149
3.2.	Emission et diffusion du danger.....	150
3.3.	Appréciation de l'exposition.....	150
3.4.	Appréciation des effets.....	150
3.5.	Estimation quantitative du risque.....	151
3.6.	Epidémio surveillance - Gestion du risque.....	151

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES153

ANNEXES163

Annexe 1 : Décisions de création du groupe de travail : 2001-40, 2001-53 et 2002-37..... 165

Annexe 2 : Saisine 2000-SA-0023 de la DGS relative à la demande d'évaluation des risques
sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium* et Avis de
l'Afssa en date du 7 février 2002..... 169

<i>Annexe 3</i> : Cycle de développement de <i>Cryptosporidium sp.</i>	171
<i>Annexe 4</i> : Fiche de description du danger <i>Cryptosporidium parvum</i>	173
<i>Annexe 5</i> : Cartes de répartition des cheptels bovins, caprins, ovins et porcins en France	177
<i>Annexe 6</i> : « Méthodologie de l'évaluation quantitative du risque »	181

Liste des figures :

Figure 1 : Production et distribution d'eau	44
Figure 2 : Les principales règles applicables aux eaux destinées à la consommation humaine ..	48
Figure 3 : Evolution de l'incidence de la cryptosporidiose, chez les patients infectés par le VIH par années ou semestres (données CISIH-Décembre 2000).....	85
Figure 4 : Schéma général de l'évaluation du risque appliqué à <i>Cryptosporidium sp</i> dans les eaux de distribution destinées à la consommation humaine	92
Figure 5 : Histogramme de fréquences observées de consommation quotidienne d'eau de distribution (Source : base INCA).....	95

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Principales épidémies de cryptosporidioses recensées liées à l'eau.....	35
Tableau 2 : Epidémies ou cas isolés de cryptosporidioses d'origine alimentaire	37
Tableau 3 : Efficacité des traitements chimiques des eaux au regard des cryptosporidies (Source : Baudin <i>et al.</i> , 2001).....	46
Tableau 4 : Répartition des UDI en fonction de la population desservie (Source : Ministère chargé de la santé DGS-DDASS (octobre 2000))	47
Tableau 5 : Efficacité, exprimée en réduction logarithmique décimale, des différentes étapes de traitement de l'eau concernant l'élimination de <i>Cryptosporidium sp.</i> et <i>Giardia sp.</i> , en fonction de la turbidité en sortie d'étape de traitement. (Source : étude bibliographique du groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » non publiée ; Baudin <i>et al.</i> , 2001)	59
Tableau 6 : Isolement d'oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i> à partir de divers aliments (risques putatifs)	62
Tableau 7 : Répartition des cas de cryptosporidiose recensés en fonction de l'épidémiologie, du statut immunitaire des malades et du génotype des souches incriminées (Source : Guyot <i>et</i> <i>al.</i> , 2001).....	72
Tableau 8 : Réglementation des élevages relative aux effluents, en fonction des effectifs des élevages.	76
Tableau 9 : Consommation d'aliments : moyenne (écart – type) en grammes par jour (Source : INCA, 2000)	81
Tableau 10 : Données d'une infection expérimentale de volontaires sains par ingestion d'oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i> – Soucre : Dupont <i>et al.</i> (1995).....	97
Tableau 11 : Données d'infection de souris immunodéprimées par ingestion d'oocystes – Source : Yang <i>et al.</i> (2000).....	98

Tableau 12: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque quotidien d'infection par <i>Cryptosporidium</i> (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (objectif ❶). Population immunocompétente consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.....	101
Tableau 13 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque quotidien de cryptosporidiose (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (objectif ❶). Population immunocompétente consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.....	102
Tableau 14 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque quotidien d'infection par <i>Cryptosporidium</i> et de cryptosporidiose (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (objectif ❶). Population immunodéprimée consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.....	103
Tableau 15: Données de contamination observées de l'eau de distribution de la source AA...105	
Tableau 16: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque d'infection et de cryptosporidiose, quotidien et annuel par <i>Cryptosporidium</i> par consommation d'eau distribuée issue de AA (objectif ❷, pour 10 000 habitants consommateurs d'eau distribuée).....	107
Tableau 17: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque d'infection annuel par <i>Cryptosporidium</i> par consommation d'eau distribuée selon le nombre r de résultats négatifs observés (objectif ❸, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.....	110
Tableau 18 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée selon le nombre r de résultats négatifs observés (objectif ❸, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.....	111
Tableau 19 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel d'infection par <i>Cryptosporidium parvum</i> et de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée selon le nombre r de résultats négatifs (objectif ❸, pour 10 000). Population immunodéprimée consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.....	112
Tableau 20 : Probabilité d'observer une valeur supérieure à 0.1, 1, 10, 100, 1000 et 10 000 et 100 000 oocystes pour 100L.....	113
Tableau 21: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel d'infection par <i>Cryptosporidium</i> par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ❹, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau de plus de 3 ans.....	115
Tableau 22 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ❹, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.....	116
Tableau 23 : Estimation de la moyenne et des percentiles des risques annuels d'infection par <i>Cryptosporidium</i> et de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ❹, pour 10 000). Population immunodéprimée consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.....	117

Tableau 24: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel d'infection par <i>Cryptosporidium</i> par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource souterraine influencée selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.....	118
Tableau 25 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource souterraine influencée selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.	119
Tableau 26 : Estimation de la moyenne et des percentiles des risques annuels d'infection par <i>Cryptosporidium</i> et de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de souterraine selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunodéprimée consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.	120
Tableau 27 : moyenne et percentiles de consommation annuelle d'eau en litre (L par an, Source : base INCA).....	122
Tableau 28 : Précision relative du risque estimé selon le nombre de prélèvements, pour une eau de surface et un abattement de 4 log.....	123
Tableau 29 : Précision relative du risque estimé selon le nombre de prélèvement, pour une eau souterraine sans abattement.	124
Tableau 30 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies en usage domestique ou familial.....	143
Tableau 31 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies pour des usages en collectivités.....	144
Tableau 32 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies pour des usages industriels et urbains.....	145

Liste des illustrations :

Crédit photos : ANOFEL (Association Française des Enseignants et Praticiens Hospitaliers Titulaires de Parasitologie et Mycologie Médicale). Les clichés illustrant ce rapport sont issus du CD-rom ANOFEL 2 :

Illustration 1 : Cryptosporidiose intestinale à <i>Cryptosporidium parvum</i> (HES) (parasites faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes) - J.F. Pays. (source : ANOFEL).....	3
Illustration 2 : Développement apical de <i>Cryptosporidium parvum</i> dans les entérocytes (Microscopie électronique) (gauche : microvillosités de la bordure en brosse entourant les parasites ; droite : schizonte : coupe avec plusieurs mérozoïtes) A. Bonnin, J.F. Dubremetz (Source : ANOFEL).....	39

GLOSSAIRE

CIRE	: Cellule Interrégionale d'épidémiologie d'intervention
CISIH	: Centre d'informations et de soins de l'immunodéficience humaine
DDASS	: Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales
DMI2	: Dossier Médico-économique de l'Immunodéficience humaine (logiciel épidémiologique médical dédié au suivi de pathologie VIH)
EOPS	: Exempt d'organisme pathogène spécifique
GEA	: gastro-entérite aiguë
IC	: Installations Classées
IMS	: Immunoséparation
INCA (Enquête)	: Enquête Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires
InVS	: Institut de Veille Sanitaire
NTU / NFU	: NTU (Nephelometric Turbidity Unit) / NFU (Nephelometric Formazine Unit). Il s'agit des unités de mesure de la turbidité des eaux. La correspondance entre ces deux unités de mesure varie en fonction des caractéristiques des eaux
RSD	: Règlement Sanitaire Départemental
SAGEP	: Société Anonyme de Gestion des Eaux de la ville de Paris
SISE - Eaux	: Système d'Information en Santé Environnement sur les Eaux
UDI	: Unité de distribution d'eau
USEPA	: United States Environmental Protection Agency
ZNM	: Ziehl Nielsen modifié (méthode de coloration des oocystes)

DEFINITIONS

Dans la suite du rapport, il faut entendre par :

Cryptosporidiose	: correspond à la maladie consécutive à l'infection par des cryptosporidies
<i>Cryptosporidium spp.</i>	: correspond à toutes les espèces du genre <i>Cryptosporidium</i>
<i>Cryptosporidium sp.</i>	: correspond à une espèce particulière du genre mais non déterminée, équivaut à cryptosporidie.
<i>Cryptosporidium parvum</i>	: correspond à une dénomination de l'espèce
Danger¹	: agent biologique, chimique ou physique, présent dans un aliment ou état de cet aliment pouvant entraîner un effet néfaste sur la santé
Eaux influencées	: qualifie des eaux souterraines influencées par des eaux de surface et dont la turbidité dépasse périodiquement 2 NTU (définition du décret 1220-2000) (exemple : eaux karstiques, eaux de massifs cristallin fissurés, ...). A cet égard, les zones karstiques possèdent un relief particulier aux régions calcaires résultant de l'action en grande partie souterraine d'eaux qui dissolvent le carbonate de calcium. Il en résulte des grottes, aven, lapiez, dolines, etc. Dans un aquifère karstique, les écoulements de l'eau sont hétérogènes et correspondent à des écoulements par chenaux et conduits de grandes dimensions.
Eaux de surface	: eaux des cours d'eau, des canaux, des lacs et des étangs
Evaluation du risque¹	: jugement de valeur sur le caractère acceptable ou non du risque estimé au terme du processus d'appréciation du risque
Estimation du risque	: il s'agit de l'estimation qualitative et/ou quantitative de la probabilité de survenue et de la gravité des effets néfastes sur la santé [= risque], connus ou potentiels, d'une population donnée. Elle est basée sur l'identification des dangers, l'appréciation des effets et l'appréciation de l'exposition
Infection	: correspond à l'excrétion détectée d'oocystes par un individu
Maladie	: également appelée cas, correspond à des manifestations cliniques de cryptosporidiose, consécutives à l'ingestion d'oocystes
Organisme infectant	: qualifie un organisme capable de générer une infection
Portage asymptomatique	: capacité d'un organisme vivant à assurer le développement d'un agent pathogène sans exprimer de signe clinique ; il existe également un portage asymptomatique passif, se traduisant par un simple transit, sans développement de l'agent
Réceptivité des individus	: capacité des organismes vivants à assurer le développement d'un agent pathogène
Risque¹	: une fonction de la probabilité d'un effet néfaste sur la santé et de la gravité de cet effet résultant d'un ou de plusieurs dangers dans un aliment
Turbidité	: il s'agit d'un indicateur de la transparence de l'eau et de la présence de matières en suspension provenant de l'érosion des sols.
Sensibilité des individus	: capacité des organismes vivants à présenter des symptômes liés au développement de l'agent pathogène

¹ norme expérimentale AFNOR XP V 01-002-Glossaire Hygiène des aliments

RESUME DU RAPPORT

Les infections à *Cryptosporidium sp.*, et tout particulièrement de l'espèce *C. parvum*, suscitent une attention particulière en santé publique :

- pour la santé humaine : d'une part de grandes épidémies telles que celle de Milwaukee aux USA en 1993 ont révélé l'importance de ces infections dans la population générale avec plus de 400 000 malades, d'autre part ces infections parasitaires ont connu un développement parallèle à l'extension de l'infection par le VIH ;
- pour la santé animale : ces infections sont caractérisées par une grande diversité d'hôtes, une implication prépondérante dans les diarrhées néo-natales des ruminants et dans les contaminations environnementales.

Le taux de prévalence de ces infections n'est pas connu en France dans la mesure où il n'existe pas d'étude systématique de prévalence ou de réseau d'épidémiologie clinique et biologique. Seule une étude conduite dans la population générale chez des adultes et des enfants asymptomatiques montre des taux de prévalence faibles, respectivement de l'ordre de 0,36 % et 0,32 %.

L'analyse des différentes épidémies a permis d'impliquer principalement les eaux de distribution et, à un moindre degré, certains aliments. Pour ce qui concerne la France, deux épidémies récentes (Sète 1998 et Dracy le Fort 2001) ont été rapportées impliquant la contamination soit de la ressource par une rivière en crue, soit du réseau de distribution des eaux destinées à la consommation humaine.

C'est dans ce contexte que l'Agence a initié une réflexion ayant pour objet de procéder à une évaluation des risques sanitaires liés aux infections à *Cryptosporidium sp.* dans l'eau de distribution (en excluant les eaux embouteillées) et les aliments. Parallèlement l'Agence a été saisie par la Direction Générale de la Santé de plusieurs demandes d'avis relatives à cette thématique. La mise en place d'un groupe de travail en janvier 2001 a ainsi permis de dégager des éléments de réponse à ces saisines sur le fondement d'une part d'une revue des connaissances actuelles dans le domaine de ces parasitoses, d'autre part d'une démarche d'évaluation quantitative des risques, basée sur la méthodologie du *Codex Alimentarius*.

LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE

Le rapport propose tout d'abord un rappel descriptif des différentes étapes de la production et de la distribution des eaux destinées à la consommation humaine puis des différents procédés de traitements des eaux permettant de réduire les concentrations en parasites.

Par ailleurs, sont décrites les différentes réglementations nationale et internationale (USA, Royaume-Uni, Australie) au regard de *Cryptosporidium sp.*, avec notamment les termes du nouveau décret français de décembre 2001, relatif à la qualité des eaux de distribution. Celui-ci ne fixe pas de limite de qualité spécifique aux parasites mais impose un traitement obligatoire pour les eaux de surface. Il est rappelé qu'à ce jour, seul le Royaume-Uni exige un seuil d'oocystes inférieur à 1 pour 10 litres d'eau produite.

A cet égard, il convient de souligner que les protozoaires sont, de par leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques, des microorganismes dont le niveau d'exigence est très élevé au regard des mesures de protection et de traitement des eaux destinées à la consommation humaine. La prise en compte de ce danger permet donc de mener une analyse très complète, en termes d'évaluation du risque, de diffusion du danger, de gestion des ressources et des unités de traitement et de distribution des eaux et de prévention.

CRYPTOSPORIDIUM SP (Identification du danger)

Il s'agit d'un protozoaire représenté par une vingtaine d'espèces dont la plus importante en pathologie humaine et vétérinaire est *Cryptosporidium parvum*. Cette espèce comprend plusieurs génotypes dont 2 (génotype I et II) sont infectants pour l'Homme. Son cycle de multiplication se déroule dans les cellules épithéliales intestinales et aboutit à la production d'oocystes matures infectants éliminés dans les selles. Une fiche de description du danger *Cryptosporidium sp* est jointe en annexe du rapport.

Plusieurs méthodes de détection existent (microscopie optique après coloration ou marquage par anticorps monoclonal, histologie, recherche d'antigène par ELISA), dont une technique normalisée par l'AFNOR pour la recherche de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau. La mesure de la viabilité des oocystes repose sur la mise en évidence du dékystement des oocystes ou sur la coloration des acides nucléiques. Quant à la recherche d'infectiosité, elle peut être mise en évidence par inoculation orale d'oocystes à des souriceaux nouveau-nés ou, in vitro, par culture cellulaire.

LES DONNEES DE CONTAMINATION (Appréciation de l'émission et de la diffusion du danger)

S'agissant de l'excrétion animale d'oocystes, ce sont généralement les animaux les plus jeunes qui sont les plus réceptifs et les plus sensibles à l'infection ; les diarrhées néo-natales induites peuvent être source de contamination environnementale. Le taux de prévalence moyen de ces infections varie selon les espèces : (i) chez les veaux de 18 à 60 % avec un taux supérieur chez les veaux issus de troupeaux allaitants ; (ii) chez les caprins 55 %; (iii) chez les chevaux, le taux de prévalence est identique chez le jeune et chez l'adulte avec une contamination souvent corrélée du couple jument-poulain ; (iv) les porcs sont les moins réceptifs et sensibles au pathogène ; (v) le taux d'atteinte des carnivores domestiques est mal évalué, de l'ordre de 10 % pour les chiens ; (vi) quant aux animaux sauvages, ils sont de plus en plus impliqués dans ces infections avec des espèces non *parvum*. Des facteurs liés aux parasites, aux animaux et aux modes d'élevage (zones à forte densité animale, regroupement de mises-bas sur une saison, zones urbanisées...) influencent l'émission des oocystes.

S'agissant de l'excrétion par l'Homme, son rôle dans le cycle parasitaire est démontré par l'existence d'une transmission inter-humaine. Le portage asymptomatique est de l'ordre de 0,4 à 3 % selon l'âge. L'excrétion d'oocystes peut se poursuivre jusqu'à 3 mois après l'arrêt des symptômes. Expérimentalement, il n'existe pas de corrélation nette entre la taille de l'inoculum ingéré, la gravité des signes cliniques et la quantité d'oocystes excrétés.

Certains paramètres jouent un rôle majeur dans la diffusion des oocystes et leur persistance dans l'environnement: (i) les oocystes sont viables plusieurs mois dans l'environnement mais ne s'y multiplient pas ; (ii) la contamination des eaux de surface est favorisée par le ruissellement d'eaux souillées ou la pratique de l'épandage, mais le compostage diminue la survie des oocystes ; (iii) la végétation a un effet protecteur sur la viabilité des oocystes en favorisant leur micro-enfouissement dans le sol ; (iv) les fortes températures et la concentration tellurique en ammoniacale diminuent la survie des oocystes.

LES DONNEES DE CONSOMMATION (Appréciation de l'exposition)

L'enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires (INCA) datant de 1999 a fourni les données de consommation pour ce qui concerne l'eau du robinet et les principaux aliments considérés comme à risque (coquillages et légumes consommés crus, fruits, lait).

LA CRYPTOSPORIDIOSE HUMAINE (Appréciation des effets)

Une description des symptômes et signes cliniques, essentiellement digestifs, est présentée dans le rapport.

S'agissant des facteurs de risque liés au parasite, et sur le fondement de données expérimentales permettant d'établir des courbes dose-effet, il a pu être défini des DI 50 variables selon les souches de *Cryptosporidium parvum*, ce qui est en faveur de la présence de facteurs de virulence liés au parasite, non encore identifiés à ce jour.

S'agissant de facteurs de risque liés à l'hôte, les facteurs suivants sont identifiés : (i) l'état immunitaire, avec d'une part l'immunité humorale dont il semblerait qu'à défaut d'un rôle protecteur démontré, elle puisse entraîner une augmentation de la DI₅₀, et d'autre part une implication de l'immunité cellulaire clairement établie comme en témoignent les cryptosporidioses décrites au cours de l'infection par le VIH ; (ii) le jeune âge (entre 1 et 3 ans), avec des cofacteurs tels que la vie en collectivités ou une hygiène imparfaite ; (iii) parmi les autres facteurs suspectés, figurent la possibilité de contaminations nosocomiales, et le rôle de facteurs saisonniers favorisant (printemps et automne).

L'estimation du risque s'appuie sur la relation dose-effet. Pour ce qui concerne *Cryptosporidium parvum*, deux modèles sont décrits : (i) celui de Hurst, fondé sur le postulat qu'un seul oocyste peut entraîner une infection, le risque calculé étant alors proportionnel à la dose ingérée ; (ii) le modèle de Haas, qui consiste à estimer la quantité réelle d'oocystes contenue dans un inoculum à partir de la dose moyenne puis, à partir de la dose ingérée, à évaluer la probabilité d'infection. C'est ce dernier modèle, plus robuste, qui a été retenu pour l'estimation quantitative du risque car il prend en compte la réalité biologique de ce type d'infections et notamment la distribution des particules infectieuses dans l'eau de boisson.

ESTIMATION QUANTITATIVE DU RISQUE SANITAIRE LIE AUX INFECTIONS A *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* DANS LES EAUX DE DISTRIBUTION PUBLIQUE

Cette démarche n'a volontairement concerné que les eaux de distribution publique en excluant les autres aliments "à risque" (coquillages, végétaux) pour les raisons suivantes : (i) les épidémies décrites jusqu'alors sont majoritairement d'origine hydrique ; (ii) il existe un manque de données relatives au dénombrement de *Cryptosporidium sp.* dans les aliments ; (iii) on ne dispose pas de données relatives aux eaux d'irrigation et/ou d'arrosage des cultures maraîchères ; (iv) les techniques de détection du pathogène dans les aliments ne sont ni validées ni standardisées.

Pour mener cette estimation quantitative des risques, les notions de *variabilité du risque* correspondant à la diversité du risque observé d'un individu à l'autre et *d'incertitude du risque* lié au manque de données disponibles ont été prises en compte, en intégrant également l'état immunitaire des populations concernées.

Cinq types de questions ont été retenus, incluant les questions posées dans les saisines adressées à l'Agence : (i) à partir d'une analyse mettant en évidence « n » oocystes dans 100 litres d'eau distribuée, quel est le risque d'infections et de maladies pour la population concernée ? ; (ii) quel est le risque annuel de cryptosporidiose dans la population desservie par une source sujette à des contaminations occasionnelles mais parfois importantes par des oocystes de *Cryptosporidium parvum* ? ; (iii) quel est le risque annuel estimé d'infections et de maladies suite à la répétition de « n » analyses négatives ? ; (iv) quels sont les risques liés à ce pathogène en fonction de la nature des ressources en eau et des modalités de traitement ? (v) suivant quelles modalités pratiques peut être conduite une analyse de risque ?

Sont ainsi présentées, sous forme de « tableaux-guide » assortis de leurs modalités d'application et, leurs limites d'interprétation, des estimations quantitatives du risque quotidien et annuel d'infections et de maladies liées à *Cryptosporidium parvum* dans la population générale et dans la population immunodéprimée.

RECOMMANDATIONS

Les données présentées dans ce rapport ont permis aux experts de proposer un certain nombre de recommandations, portant sur trois principaux axes :

(i) L'amélioration des connaissances épidémiologiques : elle repose sur une meilleure information des praticiens (médecins, vétérinaires, biologistes) sur le parasite, sa pathologie et son diagnostic, afin de d'améliorer le recueil d'information sur la prévalence de l'infection chez l'animal et chez l'Homme et mieux connaître le niveau de contamination de l'eau et des aliments. Cette première étape permettra d'estimer la pertinence de la mise en place d'un réseau d'épidémiosurveillance de la cryptosporidiose humaine et animale en France.

(ii) La prévention collective et individuelle qui associe une meilleure maîtrise de la diffusion du danger à partir des sources de contamination humaine et/ou animale et la mise en place d'un outil d'évaluation et de gestion du risque au niveau des unités de production et de distribution d'eau. Dans ce cadre, les moyens d'analyse offerts par la modélisation permettent de privilégier une démarche pragmatique, basée sur l'évaluation de la contamination brute de la ressource et intégrant l'efficacité des moyens de traitement puis son retentissement en nombre de cas, plutôt que d'imposer une démarche préventive globale uniquement basée sur un "seuil de risque acceptable", notion mal définie et impossible à évaluer dans le cas de la cryptosporidiose.

De façon plus spécifique, la prévention individuelle reste basée sur une information adaptée en fonction de la situation (endémie, épidémie) et surtout de la population considérée (immunodéprimée ou non)

(iii) La définition des conduites à tenir en cas de contamination avérée par des cryptosporidies ou de suspicion d'épidémie de cryptosporidiose.

AXES DE RECHERCHE

Le constat d'une grande insuffisance de connaissance dans plusieurs des composantes nécessaires à l'analyse de risque a conduit les experts à proposer plusieurs axes de recherche, parmi lesquels : (i) s'agissant de la caractérisation du danger, optimiser les techniques de détection et de quantification notamment dans les aliments et développer des méthodes d'étude de la viabilité des oocystes en s'appuyant sur les apports de la biologie moléculaire ; (ii) s'agissant de l'émission et de la diffusion du danger, préciser la nature et l'importance de la contamination des eaux et des aliments (notamment légumes et coquillages) en France, préciser le rôle des réservoirs animaux domestiques et sauvages ; (iii) s'agissant de l'appréciation des effets, estimer la prévalence de la cryptosporidiose en France, tout particulièrement dans les populations à risque et chez l'enfant.

I. CONTEXTE ET JUSTIFICATION DU PROJET

Les infections à protozoaires, transmis par l'eau et les aliments, sont causées par un certain nombre de pathogènes tels que *Cryptosporidium sp.*, *Giardia sp.*, *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Enterocytozoon bienersi* et *Encephalitozoon intestinalis* (Microsporidies), *Isospora belli*, *Cyclospora cayetanensis*.

L'étude des infections à *Cryptosporidium sp.* présentent un double intérêt en termes de santé publique :

1) Pour ce qui concerne la santé humaine :

Ces infections, qui ont occasionné, sur un fond endémique, des épisodes épidémiques au sein de populations immunocompétentes, se sont développées parallèlement à l'extension de l'infection par le VIH. C'est ainsi que depuis le début des années 1980, une vingtaine d'épidémies à *Cryptosporidium parvum* ont été rapportées dans le monde, tout statut immunitaire confondu. Elles auraient touché environ 430 000 personnes (Smith et Rose, 1998). A cet égard, c'est essentiellement l'épidémie de Milwaukee (USA), qui a révélé l'importance de ce protozoaire avec plus de 400 000 malades, dont 4 400 hospitalisés et 69 décès.

2) Pour ce qui concerne la santé animale :

Les infections à *Cryptosporidium parvum* sont caractérisées par une grande diversité d'hôtes (animaux domestiques et sauvages), une implication prépondérante dans les diarrhées néonatales des ruminants et dans les contaminations environnementales. Par ailleurs, elles tendent à majorer la réceptivité des animaux atteints aux agents entéropathogènes autres que les protozoaires. Enfin, elles induisent des conséquences économiques et zootechniques non-négligeables.

La prévalence de ces infections n'est pas connue avec précision en France, dans la mesure où il n'existe pas de réseau d'épidémiologie clinique et biologique des cryptosporidioses. En revanche, certains pays tels que les Etats Unis ont mis en place, depuis 1995, un réseau de surveillance² des toxi-infections alimentaires liées à certains pathogènes dont *Cryptosporidium*. Toutefois, par le biais de ce réseau, seule 6% de la population américaine est surveillée, avec une sous-déclaration probable du nombre de cas en raison des difficultés de diagnostic de la cryptosporidiose.

L'analyse des différentes épidémies a permis d'impliquer principalement les eaux de distribution et certains aliments tout en mettant en évidence différentes causes :

- Pour ce qui concerne les eaux de distribution, il peut s'agir d'une modification du procédé de traitement de l'eau utilisée, comme ce fut le cas à Milwaukee, ou d'un dysfonctionnement du réseau de distribution d'eau, comme cela a pu être constaté dans une épidémie récente en France,
- Quant aux principaux aliments incriminés dans les cryptosporidioses, il s'agit du lait, des pommes et des crudités. Dans toutes les situations rapportées, il est apparu un dysfonctionnement dans la chaîne de traitement des aliments tel qu'une absence de pasteurisation, de lavage ou un problème d'hygiène du personnel.

C'est dans ce contexte que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a initié, dès décembre 1999, une réflexion portant sur le thème des « Risques présentés par les cryptosporidies présents dans les aliments et l'eau ». En août 2000, la Direction Générale de la

² Réseau « Food Net », consultable sur le site <http://www.cdc.gov/foodnet/>

Santé a saisi l'Agence d'une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium sp.* (Annexe 2).

Les principales conclusions de l'avis sont les suivantes :

- les moules, contaminées par *Cryptosporidium parvum* dans les conditions décrites dans le dossier, présentent un danger pour le consommateur ;
- toutefois, les experts soulignent que les données disponibles sont insuffisantes pour répondre à la question plus générale de l'évaluation des risques sanitaires liés à la consommation de coquillages contaminés par *Cryptosporidium sp.* ;
- qu'en conséquence, il paraîtrait pertinent de mettre en place un groupe de travail ayant pour mission de procéder à une évaluation des risques sanitaires liés à la présence de protozoaires, dont les cryptosporidies, dans les aliments et l'eau.

Ce groupe de travail a ainsi été constitué en janvier 2001. La Direction générale de la Santé a alors sollicité l'Agence sur deux demandes d'avis concernant l'évaluation des risques liés à :

- la présence de parasites (oocystes de *Cryptosporidium* et kystes de *Giardia*) dans les eaux destinées à la consommation humaine, en s'appuyant sur le cas de collectivités du département du Doubs alimentées par des sources karstiques (résultats des prélèvements réalisés à la source AA³) (janvier 2001),
- la présence de parasites dans l'eau destinée à la consommation humaine du captage de BB⁴ (février 2001), issue d'eaux souterraines.

Ce présent rapport, issu de la réflexion du groupe de travail, permet :

- de faire le point sur l'état des connaissances relatives à *Cryptosporidium sp.* ;
- de réaliser une estimation quantitative du risque relative à la consommation d'eau de distribution publique en répondant aux 5 objectifs suivants (détaillés dans le chapitre VI) :
 - **Objectif ①** : un résultat d'analyse met en évidence un certain nombre d'oocystes pour 100 litres d'eau distribuée. Quels sont alors les risques estimés dans la population desservie ? Quel est notamment le nombre de maladies attendues ?
 - **Objectif ②** : quels sont les risques annuels liés à *Cryptosporidium parvum* dans la population desservie par la source AA (saisine 2001-SA-0117) ?
 - **Objectif ③** : quels sont les risques liés à *Cryptosporidium parvum* estimés suite à la répétition d'un certain nombre d'analyses négatives sur une eau de distribution ?
 - **Objectif ④** : quels sont les risques liés à *Cryptosporidium parvum* en fonction de la nature des ressources en eau et des modalités de traitement ?
 - **Objectif ⑤** : quels sont les modalités pour estimer les risques liés à *Cryptosporidium parvum* d'une ressource en eau particulière ?
- d'apporter des éléments de réponse aux différentes saisines soumises à l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
- de proposer des recommandations en matière de sécurité sanitaire liée aux infections par cryptosporidies.

³ Nom de la source volontairement anonymé

⁴ Nom de la source volontairement anonymé

II. LE PROJET

1. OBJECTIFS DU PROJET

La décision de nomination du groupe de travail⁵ indique les principales orientations des travaux du groupe en matière d'infections à protozoaires : « Identifier et explorer différents axes de travail : outils de diagnostic, faisabilité d'une analyse de risques, pathogénicité en fonction de l'hôte et de l'environnement, épidémiologie, implication en santé publique,... ».

Sur le fondement de cette décision, le groupe a donc axé ses travaux sur les objectifs suivants :

- Rassembler les données et mener une évaluation du risque sanitaire lié à la présence de protozoaires dans l'eau et les aliments en France ;
- Evaluer la pertinence de proposer la mise en place d'un programme d'épidémiosurveillance de ces infections parasitaires chez l'Homme et l'animal dans le but d'estimer la prévalence clinique et biologique de cette infection et d'en améliorer la prise en charge ;
- Proposer des recommandations en termes de dépistage clinique et biologique de ces infections ;
- Proposer des recommandations pour améliorer la prévention de ces infections dans des situations épidémiques et endémiques.

2. CHAMPS D'INVESTIGATION

2.1. Le pathogène

Le groupe a circonscrit son champ d'analyse aux protozoaires pouvant présenter un risque sanitaire pour l'Homme et l'animal et reconnus comme contaminant l'eau et/ou les aliments. Il s'agit des parasites suivants : *Cryptosporidium sp.*, *Giardia sp.*, *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Enterocytozoon bienewisi* et *Encephalitozoon intestinalis* (Microsporidies), *Isospora belli*, *Cyclospora cayentanensis*.

Dans le cadre des infections à *Cryptosporidium sp.*, le groupe a donné la priorité à *Cryptosporidium parvum* dans les eaux et les aliments identifiés comme potentiellement dangereux. A l'issue du travail relatif à *Cryptosporidium sp.* et donnant lieu au présent rapport, la réflexion du groupe portera sur *Giardia sp.* et *Toxoplasma gondii*. Pour ce qui concerne les autres protozoaires, ils ne feront pas l'objet d'une évaluation spécifique dans le cadre de ce groupe.

2.2. Les matrices alimentaires (eaux et aliments)

Le groupe a mené son expertise sur les matrices alimentaires et hydriques :

- s'agissant des eaux destinées à la consommation humaine, la réflexion du groupe s'est portée sur les eaux de distribution, en excluant les eaux embouteillées. En effet, l'origine géologique de l'eau et les procédés d'embouteillage des eaux embouteillées sont susceptibles de fournir un niveau de sécurité satisfaisant au regard du risque parasitologique. Par ailleurs, ces eaux n'ont pas été identifiées à ce jour comme responsables d'une épidémie ;

⁵ N°2001-40 présentée en Annexe 1

- s'agissant des aliments, le groupe a pris en compte les aliments impliqués dans les principales épidémies répertoriées ou susceptibles d'être contaminés par les cryptosporidies.

Remarque : les infections parasitaires liées aux eaux de loisir n'ont pas été abordées dans ce rapport.

3. METHODOLOGIE

3.1. Groupe de travail

Le groupe de travail, nommé le 22 janvier 2001 et présidé par le professeur F. Derouin, comprend des experts du comité d'experts spécialisé (CES) « Microbiologie », du comité d'experts spécialisé « Eaux », du comité spécialisé « Santé Animale », ainsi que des experts extérieurs à l'Agence. Il est composé de 16 scientifiques (liste en page 5 de ce rapport).

Les avancées des travaux du groupe ont fait l'objet de plusieurs discussions au sein des comités « Microbiologie » et « Eaux ». Le rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une validation lors des séances du 9 juillet 2002 en CES Microbiologie⁶ et du 2 juillet 2002 en CES Eaux et ont été transmises au CES Santé Animale.

3.2. Méthodes de travail

Le groupe de travail a procédé à la rédaction d'une fiche de description de *Cryptosporidium sp.* (*Annexe 4*) et à l'analyse des données actualisées de la littérature sur cette thématique. Par ailleurs, des industriels de la distribution de l'eau ont été auditionnés par le groupe de travail et des experts extérieurs ont été sollicités.

La démarche générale suivie a été celle de l'évaluation quantitative des risques microbiologiques recommandée par le *Codex Alimentarius*⁷.

L'ensemble des personnes qui a contribué à l'élaboration et/ou la validation de ce rapport et les personnalités scientifiques qui ont été consultées figurent en début de ce document.

⁶ Le CES Microbiologie n'a pas souhaité validé le chapitre VII – 2. Recommandations, considérant que cette démarche n'est pas inscrite dans ses missions scientifiques.

⁷ Principles and Guidelines for the conduct of a Microbiological Risk Assessment (Alinorm 99/13A, Appendix II)

III. CONTEXTE EPIDEMIOLOGIQUE

Différentes épidémies ont été rapportées suite à des contaminations des eaux de distribution destinées à la consommation humaine et/ou des aliments. Cependant, les enseignements qui peuvent en être tirés sont limités dans la mesure où, d'une part des investigations prospectives sont rarement effectuées, et d'autre part la qualité du recueil rétrospectif des informations ne permet pas d'imputer l'origine de la contamination, de façon indiscutable à une cause précise.

1. LES EPIDEMIES D'ORIGINE HYDRIQUE

Les principales épidémies de cryptosporidioses liées à l'eau sont présentées dans le [Tableau 1](#). Ce type d'épidémie est particulièrement bien illustré par l'accident de Milwaukee (USA), survenu en 1993, consécutif à une modification du procédé de traitement de l'eau utilisée. Comme souligné précédemment, ce rapport ne prend pas en compte les épidémies liées aux eaux de loisir (piscine, lacs,...) pour lesquelles un nombre important d'épidémies a été rapporté.

Plusieurs pays européens ont, de la même façon, été touchés par ces épidémies dont la France en 1998 et 2001.

Tableau 1 : Principales épidémies de cryptosporidioses recensées liées à l'eau

Année	Pays	Nombre de cas	Commentaires - Références
1984	Texas - USA		1 ^{er} cas documenté d'épidémie liée à <i>Cryptosporidium sp.</i> (D'Antonio <i>et al.</i> , 1985)
1993	Milwaukee - USA	840 000 consommateurs exposés, 403 000 malades 4 400 hospitalisations 69 décès	Modification du procédé de traitement Cette épidémie a conduit à une prise de conscience de l'importance des épidémies à cryptosporidies, de l'inadaptation des moyens de surveillance et de la nécessité de développer une recherche spécifique sur ce parasite et les moyens de l'éliminer (Mac Kenzie <i>et al.</i> , 1994)
1993-94	Clark county, Nevada	101 cas confirmés (la plupart VIH+), 32 décès	Aucun incident signalé, pas d'élévation de la turbidité et pas d'oocyste de <i>Cryptosporidium sp.</i> retrouvé dans les eaux brutes ou traitées. (Goldstein <i>et al.</i> , 1996; Kramer <i>et al.</i> , 1996)
1995	Pays Bas	15 cas	1 ^{ère} épidémie détectée aux Pays Bas, aucun malade ne présentait de déficit immunitaire (Van Asperen <i>et al.</i> , 1996)
1992	Grande Bretagne	47 cas	<i>Cryptosporidium sp.</i> a été identifié comme possible agent pathogène Source d'eau souterraine (Bridgman <i>et al.</i> , 1995)
1992-95	Grande Bretagne/ Pays Galles	14 épidémies détectées	<i>Cryptosporidium sp.</i> a été identifié comme possible agent pathogène (Furtado <i>et al.</i> , 1998)
1998	France (Sète)	150 enfants au minimum	<i>Cryptosporidium sp.</i> identifié dans 17% des selles de patients Point de captage contaminé par une rivière en crue (Guyonnet et Claudet, 2002)
Septembre 2001	France (Dracy le Fort)	480 cas	Contamination du réseau de distribution (rapport d'enquête en cours)

2. LES EPIDEMIES LIEES AUX ALIMENTS

S'agissant des épidémies pour lesquelles un aliment a pu être incriminé, les données épidémiologiques sont encore plus parcellaires que pour les épidémies d'origine hydrique. Les principaux aliments mis en cause dans des cryptosporidioses sont principalement : le lait, les pommes et les crudités (Tableau 2).

Dans toutes les situations rapportées, il est apparu un dysfonctionnement d'origine humaine dans la chaîne de traitement des aliments tel qu'une absence ou un défaut de pasteurisation des aliments (lait, jus de fruits), une absence de lavage des légumes, un manque d'hygiène du personnel de cuisine.

S'agissant de la consommation spécifique de coquillages crus, un risque potentiel existe, bien qu'aucun cas humain de cryptosporidiose n'ait pu être rattaché de façon certaine à la consommation de tels produits. En effet, des études réalisées dans des zones géographiques diverses (France, Espagne, Italie, Irlande, USA) indiquent la présence de coquillages contaminés par des oocystes infectieux. Il en est de même pour le risque de contamination de végétaux arrosés par une eau contaminée (G. Mougeot, Communication personnelle ; Thurston-Enriquez *et al.*, 2002).

Tableau 2 : Epidémies ou cas isolés de cryptosporidioses d'origine alimentaire

Aliment incriminé		Nombre de cas	Lieu	Commentaires	Auteur / Référence publication
Jus de pommes frais	160	Maine, USA	<ul style="list-style-type: none"> • Pommes ramassées au sol et probablement contaminées par bovin. • Génotype II pour tous les isolats • Absence de pasteurisation 	(Millard <i>et al.</i> , 1994)	
Lait	50	Angleterre	<ul style="list-style-type: none"> • Dysfonctionnement du dispositif de pasteurisation 	(Gelletlie <i>et al.</i> , 1997)	
Oignons crus	54	Washington, USA	<ul style="list-style-type: none"> • Oignons verts non lavés avant la préparation du repas 	(CDC, 1998)	
Salade de poulet	50	Minnesota, USA	<ul style="list-style-type: none"> • Manipulation de couches par le traiteur immédiatement avant la préparation de la salade 	(CDC, 1996)	
Lait cru et/ou saucisse	19	Angleterre	<ul style="list-style-type: none"> • Association à la consommation de lait non pasteurisé suspectée mais non prouvée • Autre hypothèse : consommation de saucisses • Epidémie d'infection à <i>Campylobacter</i> associée 	(Casemore <i>et al.</i> , 1986)	
Restauration collective	92 + 60	Washington DC, USA	<ul style="list-style-type: none"> • Contamination des repas par un cuisinier atteint de cryptosporidiose. • Génotype I pour tous les isolats. 	(Quiroz <i>et al.</i> , 2000)	
Jus de pommes frais	20 + 11	New York, USA	<ul style="list-style-type: none"> • Pommes ramassées au sol • Lavage des pommes avec de l'eau contaminée ? • Absence de pasteurisation 	(CDC, 1997)	
Lait	1	Manitoba, Canada	<ul style="list-style-type: none"> • Cryptosporidiose 3 jours après consommation de lait cru 	(Mann <i>et al.</i> , 1986)	
Lait de chèvre frais	2	Australie	<ul style="list-style-type: none"> • Présence de cryptosporidies dans les selles 	(WHO, 1984)	
Viande de bœuf crue ou lait cru	1	Pologne	<ul style="list-style-type: none"> • Infection asymptomatique chez l'épouse du patient 	(Kacprzak <i>et al.</i> , 1990)	
Salade ou eau	1	Mexique		(Sterling <i>et al.</i> , 1986)	
Kéfir (lait fermenté)	6	Russie	<ul style="list-style-type: none"> • Contamination probable du lait, car détection d'oocystes sur des filtres de lait 	(Romanova <i>et al.</i> , 1992)	
Tripe	1	Angleterre	<ul style="list-style-type: none"> • Préparation d'estomac de bovin, acheté, stocké et congelé jusqu'à consommation 	(Nichols et Thom, 1985)	

IV. PRESENTATION GENERALE

Le chapitre suivant s'attache à une description d'une part du pathogène étudié, *Cryptosporidium parvum*, d'autre part des matrices d'intérêt dans le cadre du travail présenté : les eaux de distribution destinées à la consommation humaine et les aliments à risque.

1. CRYPTOSPORIDIUM PARVUM

1.1. Description du pathogène

Il s'agit d'un parasite unicellulaire (protozoaire) appartenant à l'ordre des Coccidies, phylum *Apicomplexa*.

Le cycle de multiplication ([Annexe 3](#)) comprend des stades asexués et sexués et se déroule dans la cellule parasitée en localisation extra-cytoplasmique. De plus, ce cycle est caractérisé par des phénomènes d'auto-infection (schizogonies multiples) et par des rétro-infections (reproduction sexuée avec production d'oocystes se recyclant directement dans l'intestin sans passer par le milieu extérieur) induisant une prolificité importante du parasite. Les différents stades intracellulaires se développent dans la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales, au sein de vacuoles parasitophores et peuvent parfois atteindre les épithéliums des voies biliaires ou respiratoires. La multiplication asexuée conduit à la contamination de proche en proche de l'épithélium digestif et à son altération. La multiplication sexuée conduit, pour sa part, à la formation d'oocystes matures mesurant de 4,8 µm à 5 µm qui sont éliminés dans les selles et sont directement infectants.

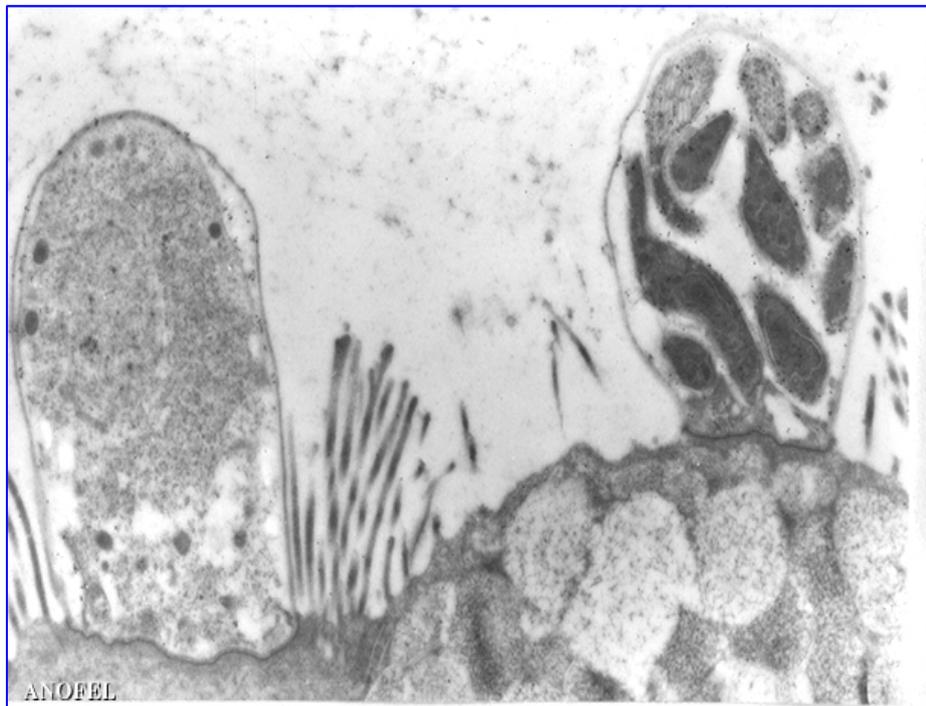


Illustration 2 : Développement apical de *Cryptosporidium parvum* dans les entérocytes (Microscopie électronique) (gauche : microvillosités de la bordure en brosse entourant les parasites ; droite : schizonte : coupe avec plusieurs mérozoïtes) A. Bonnin, J.F. Dubremetz (Source : ANOFEL)

Environ 20 espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites chez plus de 117 espèces de mammifères dans le monde (Dumoulin *et al.*, 2000). La principale d'entre elle est *Cryptosporidium parvum*, avec, à ce jour, 10 génotypes identifiés chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages (Perz et Le Blancq, 2001) dont au moins 4 sont infectants pour l'Homme (génotypes I et II principalement, et génotypes du porc et du chien). Des cas de contamination humaine (Perz et Le Blancq, 2001), ont, par ailleurs, été rapportés par *Cryptosporidium felis* (cryptosporidie du chat), *Cryptosporidium meleagridis* (cryptosporidie des oiseaux) et *Cryptosporidium muris* (cryptosporidie des rongeurs et des bovins adultes) (Guyot *et al.*, 2001). La fréquence des contaminations humaines par des espèces de cryptosporidies animales ou des génotypes de *Cryptosporidium parvum* autres que les génotypes I et II est mal connue en raison de la difficulté d'identification de ces espèces. A ce jour, un projet de séquençage du génome, composé de 5 bandes chromosomiques de *Cryptosporidium sp.* est en cours, portant sur les génotypes I et II.

1.2.Méthodes de détection

Chez l'hôte infecté, les oocystes de *Cryptosporidium sp.* peuvent être identifiés par l'examen microscopique dans des frottis fécaux, liquide biliaire ou duodénal après coloration par le Ziehl Nielsen modifié (ZNM), par la carbofuschine (méthode de Hein) ou par un marquage avec un anticorps monoclonal fluorescent. Une recherche histologique des formes de multiplication peut être réalisée sur biopsie duodénale ou des voies biliaires. Une recherche de copro-antigène peut être proposée par Elisa. Les techniques de biologie moléculaire sont en plein développement mais n'ont pas encore fait l'objet d'une validation consensuelle ni d'une standardisation.

Appliquées à l'eau ou aux aliments, les techniques microscopiques sont peu performantes et une concentration préalable des oocystes est nécessaire.

Pour les eaux, la méthode comporte quatre étapes :

- Concentration sur site par filtration sur une cartouche placée dans un dispositif de prélèvement qui enregistre la quantité d'eau filtrée (plusieurs dizaines à centaines de litres d'eau) ;
- Au stade de l'analyse au laboratoire, il est procédé à une élution du matériel retenu par la cartouche puis à une centrifugation de l'éluat. La recherche d'oocyste est effectuée sur le culot ;
- Pour concentrer les oocystes dans le culot, la technique par flottation sur couche de saccharose est d'un faible rendement. Elle est maintenant remplacée par une immunocapture sur des billes magnétiques recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-*Cryptosporidium sp.* ;
- la révélation de la capture des oocystes s'effectue par immunofluorescence directe utilisant un anticorps monoclonal anti-*Cryptosporidium sp.* marqué à la fluorescéine. La lecture s'effectue avec un microscope à fluorescence.

Le couplage de l'immunocapture sur bille et la révélation par immunofluorescence est à la base de la technique normalisée par l'AFNOR (norme NF T 90-455, juillet 2001) pour la recherche de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau. Cette technique est facilement applicable sur des échantillons d'eau mais s'avère moins performante sur des aliments, en raison de la moindre efficacité de l'immunocapture sur la matrice alimentaire.

Les techniques de PCR peuvent également être appliquées à des échantillons d'eau ou d'aliment mais avec le risque de résultats faussement négatifs en raison de la présence d'inhibiteurs dans l'eau ou l'aliment.

1.3. Méthodes de mesure de la viabilité et de l'infectiosité

La mise en évidence d'oocystes de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau ou l'alimentation ne permet pas de préjuger de leur viabilité ou infectiosité. Certains de ces oocystes peuvent être non viables, c'est-à-dire incapables de libérer les 4 sporozoïtes qu'ils contiennent ou bien les sporozoïtes libérés peuvent aussi être incapables de pénétrer dans les entérocytes intestinaux et avoir perdu leur caractère infectant.

1.3.1. Viabilité des oocystes de *Cryptosporidium parvum*

On peut l'évaluer à partir des méthodes permettant la mise en évidence du dékystement des oocystes. La plus classique consiste à traiter les oocystes séparés par un double gradient de saccharose dans du milieu DMEM pendant 1h à 37°C et placés ensuite dans un bain d'eau à 4°C. Le pourcentage d'oocystes dékystés est déterminé par la différence du nombre d'oocystes intacts comptés avant et après dékystement, divisé par le nombre d'oocystes comptés avant dékystement, multiplié par 100 (Brasseur *et al.*, 1998). Ce contrôle est possible après marquage par un anticorps monoclonal fluorescent et examen au microscope à épifluorescence. Il est également possible à partir de la cytométrie en flux (Delaunay *et al.*, 2000). Une autre méthode de dékystement in vitro a été mise au point par Rennecker *et al.* (1999) et modifiée par Ruffell *et al.* (2000) associant comptage des oocystes intacts, des oocystes dékystés et des sporozoïtes. On peut également obtenir une estimation de la viabilité parasitaire en combinant une coloration par le DAPI (4',6-diamino-2phénylindole) et l'iodure de propidium qui a pour propriété de ne pas pénétrer les cellules viables, bien corrélée avec les résultats du test de dékystement (Campbell *et al.*, 1992).

1.3.2. Infectiosité des oocystes de *Cryptosporidium parvum*

L'infectiosité des oocystes peut être déterminée avec le modèle souriceau BALB/c-NMRI nouveau-né (Li et Brasseur, 2000). Les souriceaux de 4 jours EOPS sont inoculés par voie orale (sonde) par des doses comprises entre 100 et 1000 oocystes. Sept jours plus tard, les souriceaux sont sacrifiés et leur tube digestif prélevé en totalité, du pylore à l'anus, est homogénéisé par broyage au Potter dans 3 ml d'eau distillée. Pour chaque échantillon, 3 étalements de la suspension sont colorés par la carbofuschine et examinés en microscopie à contraste de phase. Un souriceau est considéré comme positif lorsque au moins un oocyste est mis en évidence dans l'une des 3 lames examinées. Pour chaque groupe, l'infectiosité des oocystes est exprimée en pourcentage d'animaux trouvés infectés : (nombre d'animaux infectés)/(nombre d'animaux inoculés) x 100. Les pourcentages d'animaux excréteurs 7 jours après l'ingestion des oocystes montrent qu'à partir d'une dose de 1000-1500 oocystes, 100% des animaux sont infectés. Pour des doses inférieures, on observe que le nombre d'animaux infectés est proportionnel à la dose ingérée.

L'utilisation de cultures cellulaires a également été proposée pour évaluer l'infectiosité. Plusieurs types de cellules présentant une différenciation intestinale peuvent être utilisées (Caco-2, HT29, HCT8). La quantification de l'infection et de la croissance parasitaire peut être effectuée par immunofluorescence, hybridation in situ ou RT-PCR (Rochelle et De Leon, 2001a ; Rochelle *et al.*, 2001b ; Rochelle *et al.*, 1997).

1.4. Méthodes de génotypage

La complexité des schémas de circulation de *Cryptosporidium sp.* entre l'environnement et les hôtes du parasite, et l'absence de caractères morphologiques distinctifs justifient le développement de méthodes de typage moléculaire. Ces techniques présentent un intérêt à deux niveaux :

- identification des espèces,
- distinction de génotypes ou de souches au niveau infraspécifique.

Une première série de travaux réalisés dès la fin des années 1980 a montré une variabilité de *Cryptosporidium spp.* au niveau phénotypique (électrophorèse bidimensionnelle, marquage à l'iode 131 des protéines de paroi, Western blot avec réactifs mono et polyclonaux, profils isoenzymatiques) et au niveau génotypique (profils de restriction de l'ADN génomique, Southern blot). Ces techniques de « première génération » nécessitent un matériel parasitaire important pour caractériser un isolat, et sont donc inadaptées à une enquête épidémiologique de terrain.

L'amplification par PCR de régions d'ADN polymorphes a permis de contourner cette difficulté. De nombreuses régions variables, codantes ou non codantes, uniques ou répétées dans le génome, ont été caractérisées. Après amplification par PCR ou par PCR nichée, la variabilité interne de ces régions est révélée par RFLP, ou par séquençage de l'ADN, directement ou après clonage. Les comparaisons entre isolats obtenus de divers hôtes animaux ont permis de proposer une taxinomie moléculaire de *Cryptosporidium sp.* qui affine les classifications basées sur des critères morphologiques et biologiques. Les principales séquences cibles utilisées pour l'identification des espèces et le génotypage sont les suivantes : ARN ribosomal 18 S, protéine de choc thermique HSP 70, COWP (gène codant pour une protéine de la paroi de l'oocyste), bêta-tubuline, TRAP C1, TRAP C2, dihydrofolate réductase, séquence poly(T) d'un gène non caractérisé, acétyl-CoA synthétase, et séquences microsatellites. Ces séquences sont de plus en plus utilisées en association pour les études de génétique des populations de cryptosporidies (Glaberman *et al.*, 2001 ; Sulaiman *et al.*, 2001).

➤ POINTS A RETENIR 1

Cryptosporidium parvum est un protozoaire représenté par une vingtaine d'espèces dont la principale est *Cryptosporidium parvum* pour lequel deux génotypes (I et II) sont pathogènes pour l'Homme. Son cycle de multiplication se déroule dans les cellules épithéliales intestinales et aboutit à la production d'oocystes matures infectants éliminés dans les selles.

- Plusieurs méthodes de détection existent (microscopie optique après coloration ou marquage par anticorps monoclonal, histologie, recherche d'antigène par ELISA...), dont une technique normalisée par l'AFNOR pour la recherche de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau.
- La mesure de la viabilité des oocystes repose sur la mise en évidence du dékystement des oocystes ou sur la coloration des acides nucléiques. Quant à la recherche d'infectiosité, elle est mise en évidence *in vivo* par inoculation orale d'oocystes à des souriceaux nouveau-nés ou, *in vitro* par culture cellulaire.
- Les méthodes de typage moléculaire des souches de *Cryptosporidium sp.*, fondées sur la technique d'amplification par PCR, permettent d'une part d'identifier les différentes espèces, d'autre part de distinguer les génotypes ou les souches au niveau infra-spécifique. Ceci présente l'intérêt d'affiner les classifications basées sur des caractéristiques morphologiques et biochimiques, et de procéder à des investigations épidémiologiques plus précises.

2. LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE

2.1. Définition

Le domaine des eaux destinées à être consommées peut être divisé en 2 catégories principales d'eaux appelées dans le langage courant : les eaux de distribution publique et les eaux embouteillées (eaux minérales naturelles, eaux de source et eaux rendues potables par traitement) ; s'ajoutent localement des distributions privées, en général de faible importance relative, desservant des installations de production industrielles ou des lotissements ou des maisons.

Sur un plan réglementaire, le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001⁸ donne une définition précise des eaux destinées à la consommation humaine :

« - Toutes les eaux qui, soit en l'état, soit après traitement sont destinées à la boisson, à la cuisson, à la préparation d'aliments ou à d'autres usages domestiques, qu'elles soient fournies par un réseau de distribution, à partir d'un camion-citerne ou d'un bateau-citerne, en bouteilles ou en conteneurs, y compris les eaux de source,
- Toutes les eaux utilisées dans les entreprises alimentaires pour la fabrication, la transformation, la conservation ou la commercialisation de produits ou de substances, destinés à la consommation humaine, qui peuvent affecter la salubrité de la denrée alimentaire finale, y compris la glace alimentaire d'origine hydrique. »

Ce texte régleme les eaux de distribution publique y compris les eaux utilisées dans les entreprises alimentaires ainsi que les eaux embouteillées (uniquement, les eaux de source et les eaux rendues potables par traitement). Les eaux minérales naturelles relèvent d'une réglementation spécifique.

L'évaluation des risques liés à la présence de parasites conduite dans le présent rapport concerne les eaux de distribution publique et exclut les eaux embouteillées.

S'agissant des eaux de distribution publique, il convient de distinguer les eaux d'origine superficielle des eaux d'origine souterraine. Les eaux douces superficielles utilisées ou destinées à être utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine sont celles des cours d'eau, des canaux, des lacs et des étangs appartenant ou non au domaine public. Certaines eaux souterraines sont d'origine profonde et en général bien protégées. D'autres peuvent être influencées par des eaux de surface car situées dans des zones mal protégées, ou fissurées voire karstiques⁹ et peuvent être contaminées par des apports d'origine superficielle.

⁸ Le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles, a transposé en droit interne la directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative aux eaux destinées à la consommation humaine.

⁹ les zones karstiques possèdent un relief particulier aux régions calcaires résultant de l'action en grande partie souterraine d'eaux qui dissolvent le carbonate de calcium. Il en résulte des grottes, aven, lapiez, dolines, etc. Dans un aquifère karstique, les écoulements de l'eau sont hétérogènes et correspondent à des écoulements par chenaux et conduits de grandes dimensions.

2.2. Production et distribution des eaux de distribution publique

L'alimentation en eau par réseaux de distribution procède de plusieurs étapes (Figure 1) :

- la production qui comprend :
 - o le captage de l'eau « brute » dans les milieux naturels que constituent les nappes souterraines ou les ressources superficielles telles que les rivières, les fleuves, les lacs ou les barrages ;
 - o éventuellement un traitement visant à rendre l'eau « potable ». Le traitement doit être adapté aux caractéristiques de l'eau « brute » et notamment à ses évolutions possibles dans le temps. Il est obligatoire pour les eaux d'origine superficielle ;
- la distribution par des réseaux publics puis par des canalisations intérieures aux bâtiments pour arriver au robinet du consommateur.

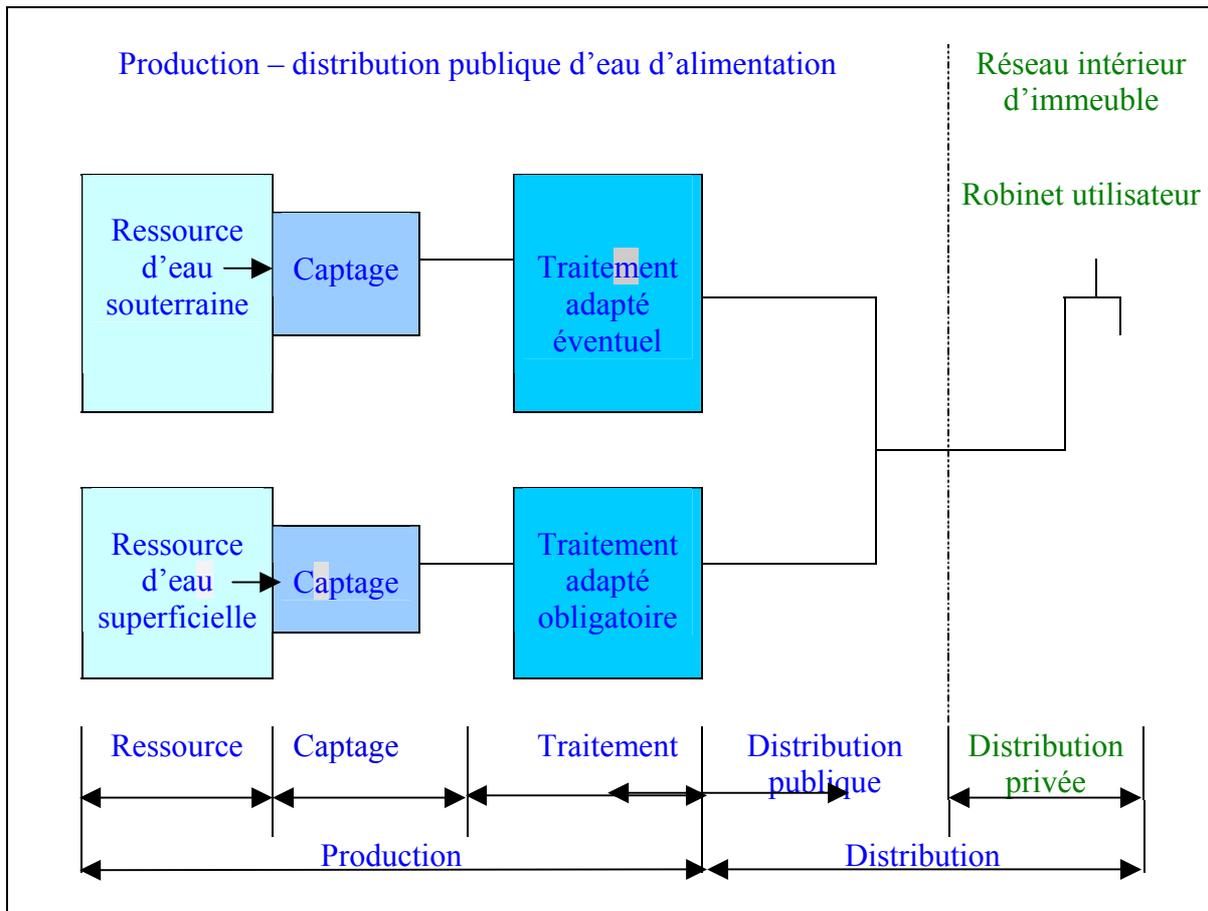


Figure 1 : Production et distribution d'eau

2.2.1. Captages d'eau

En France, l'alimentation en eau est assurée à partir de 32 400 captages dont 31 100 (environ 97 %) en eau souterraine et 1300 (environ 3 %) en eau superficielle. En termes de quantité d'eau produite, les eaux souterraines alimentent environ 63 % de la population et les eaux superficielles 37 %. Ceci s'explique en partie par le fait que la production d'eaux à partir de ressources superficielles nécessite la construction d'usines de traitement d'eau qui représentent un coût élevé à partager entre de nombreux abonnés.

Le nombre de captages exploités varie largement suivant les départements (de 3 à plus de 1400). Cette répartition géographique est très liée aux caractéristiques hydrogéologiques de la France. Le niveau de contamination possible des eaux notamment en parasites va ainsi

dépendre du type de ressource utilisée et de son niveau de protection. La qualité des eaux de surface est largement influencée par les activités menées dans le bassin versant et notamment par les rejets urbains ou agricoles.

2.2.2. Traitement des eaux

Le choix des traitements est conditionné par les caractéristiques des eaux de la ressource utilisée. Différents types de traitement peuvent ainsi être employés.

Concernant les cryptosporidies, deux types de traitement peuvent être utilisés : ceux faisant appel à des techniques de rétention et ceux ayant des effets biocides. Le [Tableau 5](#) indique l'efficacité des principaux traitements vis-à-vis de l'élimination des cryptosporidies. Il existe des modèles qui permettent d'évaluer l'efficacité théorique de certains traitements sur les cryptosporidies.

C'est ainsi que sont décrits :

2.2.1.1. Les procédés de rétention

les traitements membranaires :

La taille de ce parasite (de 4,8 à 5 μm) permet d'utiliser des procédés de filtration. La microfiltration (rétention des particules à 95 % avec un point de coupure à 0,5 μm), l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse. La mise en œuvre de ces techniques de filtration peut poser des problèmes dus à la survenue de fuites notamment au niveau de joints et à l'altération des membranes.

les procédés de clarification

Ils permettent de neutraliser les particules négatives, de les transformer en agrégats ou d'éléments floculants (ou "flocs") puis de les éliminer. Plusieurs types de traitements existent :

- les procédés physico-chimiques : la clarification est obtenue en 4 étapes : la coagulation, la floculation, la séparation et la filtration rapide. Il est impératif de floculer à potentiel Zéta¹⁰ nul. La floculation doit conduire à une séparation optimale sans microfloc pouvant passer à travers les filtres. La vitesse de filtration est importante. Les paramètres suivants ont une influence sur l'efficacité du traitement : le type de média filtrant, la vitesse de filtration absolue, la vitesse de changement de régime de filtration, la dose de coagulant, l'énergie de dissipation, le temps de floculation, la dose d'adjuvant, la préozonation éventuelle et le lavage à contre-courant.

Il convient d'être particulièrement vigilant :

- à la remise en fonctionnement des filtres après leur lavage à contre-courant car la filtration se fait en profondeur ;
- aux variations dans le fonctionnement des filtres (notamment, durée des modifications de débit passé sur les filtres) ;
- au recyclage en tête de traitement d'une partie des eaux ayant servi au lavage des filtres et ayant pu être contaminées fortement à cette occasion.

- les procédés biologiques ou mixtes : ils sont caractérisés par une filtration en surface et une biocoagulation à vitesse faible (5 à 10 m/jour), réalisées en profondeur. Il n'y a pas de lavage à contre-courant.

¹⁰ Les particules en suspension dans l'eau présentent une accumulation plus ou moins importante de charges à leur surface. Ce potentiel de surface est appelé potentiel Zéta. Cette charge électrique a une influence sur la capacité à floculer ou à sédimenter des particules.

Des études sont actuellement en cours, portant sur une technique de filtration lente tangentielle essentiellement adaptée aux eaux souterraines. Cette filtration reproduit ce qui se passe dans les nappes alluviales. Des résultats préliminaires d'un travail en cours à la SAGEP, montrent que le système est tout à fait adapté à la rétention des parasites.

2.2.1.2. Les procédés ayant des effets biocides

Ils sont de 2 types :

➤ Les traitements chimiques

L'efficacité d'un traitement chimique vis-à-vis de l'élimination des microorganismes dépend principalement de la concentration [C] du désinfectant, de la ou des substances utilisées et du temps [T] de contact. Pour un microorganisme donné, le produit de ces deux valeurs est voisin d'une constante, exprimée en $\text{mg.L}^{-1}.\text{min}$:

$$[C] \times [T] = \text{constante CT}$$

Le **Tableau 3** présente d'une part, pour un traitement effectué aux doses et temps de contact habituellement pratiqués dans les installations, l'importance de l'abattement possible en cryptosporidies et, d'autre part, les valeurs des « CT » correspondant à 1 et 2 logarithmes d'abattement. Ce tableau montre que pour l'élimination des cryptosporidies, dans les conditions réelles de fonctionnement des installations, les traitements de chloration ne sont pas efficaces.

Tableau 3 : Efficacité des traitements chimiques des eaux au regard des cryptosporidies (Source : Baudin *et al.*, 2001)

Procédés de traitement	Valeurs des « CT » et de l'abattement correspondant en traitement habituel		Valeur des « CT » pour un abattement de :	
	CT ($\text{mg.L}^{-1}.\text{min}$)	Log	1 log CT($\text{mg.L}^{-1}.\text{min}$)	2 log CT($\text{mg.L}^{-1}.\text{min}$)
Ozone	1,6	0,5	2,9	5,3
ClO ₂	12	0	52 à 200	140 à 520
Cl ₂	15	0	7000	
NH ₂ Cl, KMnO ₄ , H ₂ O ₂	Aucun effet			

➤ Les traitements physiques

Il s'agit principalement des ultraviolets qui ont un potentiel d'inactivation important vis-à-vis des *Cryptosporidium*. Ils font appel à des techniques utilisant des lampes à ultraviolets à basse pression, des lampes à ultraviolets à moyenne pression, des lampes à ultraviolets à basse pression couplée avec du dioxyde de titane.

L'efficacité d'inactivation dépend principalement de la dose d'ultraviolets, exprimée en mJ/cm^2 , réellement reçue par l'ensemble de l'eau qui transite dans le réacteur. Le contrôle d'efficacité se fait, aujourd'hui, principalement en mesurant au moyen d'un capteur, l'énergie UV efficace émise en intégrant son absorption par l'eau elle-même. Le problème qui se pose toutefois est celui de l'extrapolation de cette mesure à l'ensemble des lampes contenues dans le réacteur. D'autres systèmes biologiques, la biodosimétrie en particulier, consistent à vérifier que la dose émise a inactivé une suspension bactérienne dont la sensibilité aux UV, en fonction de la dose émise, est bien connue. Se pose également le problème de l'extrapolation pour l'ensemble du réacteur.

Dans la pratique, une dose de 25 à 40 mJ.cm^{-2} permettrait d'obtenir un abattement de 2 à 3 log pour une turbidité très faible.

2.2.3. Distribution des eaux

La quasi-totalité de la population française est desservie par un réseau de distribution publique. On dénombre près de 30 000 unités de distribution publique (UDI). Une unité de distribution correspond à un réseau géré et exploité par une même structure et délivrant une eau de même qualité. Le [Tableau 4](#) présente la répartition des UDI en fonction de leur taille. Le nombre d'UDI desservant moins de 5000 habitants est très important mais la quantité d'eau produite par UDI est faible ; en revanche, un peu plus de 2000 UDI seulement desservent chacune plus de 5000 habitants ce qui représente au total près de 70 % de la population.

La gestion des UDI relève de divers modes d'exploitation : 74 % sont exploitées sous le régime de l'affermage ou de la concession et 24 % le sont en régie directe ou assistée.

Le nombre d'unités est variable d'un département à l'autre, de quelques UDI à 1 millier.

Tableau 4 : Répartition des UDI en fonction de la population desservie (Source : Ministère chargé de la santé DGS-DDASS (octobre 2000))

CLASSES DE POPULATION (nombre de personnes)	NOMBRE D'UNITES DE DISTRIBUTION	TOTAL REGROUPE	POURCENTAGE DU NOMBRE D'UDI
0-50	6550	9204	34 %
51-100	2654		
101-250	4168	7376	28 %
251-500	3208		
501-1000	2995	8059	30 %
1001-2000	2547		
2001-5000	2517		
5001-10000	1101	1771	7 %
10001-30000	670		
30001-50000	132	253	1 %
50001-200000	121		
>200000	17		<0,01 %
TOTAL	26680		100

2.3. Règles d'usage et réglementation française

2.3.1. Les mesures visant à garantir la salubrité et la propreté de l'eau distribuée

Ces mesures portent sur l'ensemble de la production – distribution. Elles vont de la préservation de la ressource naturelle aux techniques de traitement et de distribution en passant par le suivi de la qualité. Pour l'essentiel, ces mesures sont fixées par le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 pris en application du code de la santé publique et relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles.

Ainsi, le dispositif de sécurité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine comporte plusieurs niveaux complémentaires (Figure 2):

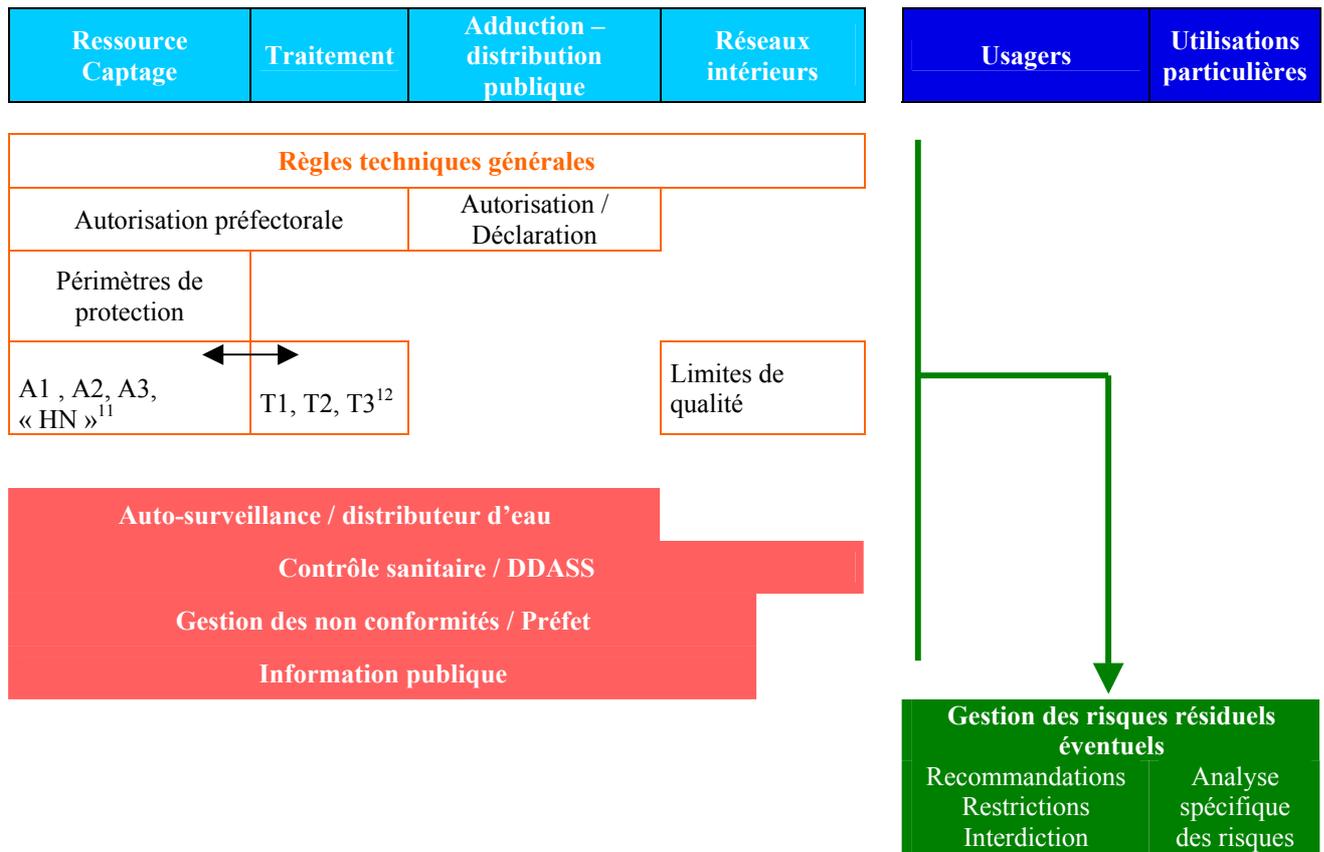


Figure 2 : Les principales règles applicables aux eaux destinées à la consommation humaine

2.3.1.1. Des règles techniques de protection et de prévention

Elles concernent plus particulièrement les procédés et les produits de traitement des eaux, la conception et l’entretien des réseaux de distribution d’eau publics et privés, les matériaux au contact des eaux d’alimentation.

2.3.1.2. Des procédures administratives

Elles portent sur :

- l’autorisation des captages d’eaux et des installations éventuelles de traitement des eaux afin de les adapter au contexte local. Une coordination réglementaire et administrative est prévue lorsque les travaux de prélèvement sont soumis à autorisation en application de la loi sur l’eau du 3 janvier 1992. L’autorisation doit déterminer les périmètres de protection du captage. L’autorisation relève du préfet après avis du conseil départemental d’hygiène ; dans certains cas (importance de la population desservie, eaux brutes de faible qualité,...), l’avis du Conseil Supérieur d’Hygiène Publique de France est prévu,
- la déclaration ou l’autorisation des éléments principaux des réseaux de distribution d’eau afin de permettre notamment les contrôles et les interventions en cas de survenue ou de menace d’épidémie.

¹¹ voir 2.3.1.3

¹² voir 2.3.1.3

2.3.1.3. Des exigences de qualité pour les eaux douces superficielles utilisées ou destinées à être utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine

Elles permettent, en application de la directive 75/440/CEE du 16 juin 1975, de caractériser globalement une ressource en eau suivant sa qualité (décroissante de A1, A2, A3 à Hors Normes), et d'apprécier les possibilités et le niveau de traitement (T1 : traitement physique simple et désinfection, T2 : traitement normal physique, chimique et désinfection, T3 : traitements physique et chimique poussé, opérations d'affinage et désinfection) à réaliser ainsi que les éventuels plans ou programmes de gestion ou d'amélioration à mettre en œuvre pour cette ressource.

2.3.1.4. Des limites de qualité des eaux distribuées

Les annexes I-1 et I-2 du décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 distinguent deux types de limites de qualité d'eau :

L'annexe I-1 fixe des limites de qualité auxquelles doivent satisfaire les eaux distribuées. Elles portent sur des paramètres microbiologiques (*Escherichia coli* et entérocoques pour les eaux distribuées par réseaux) et sur 28 paramètres ou familles de paramètres chimiques.

L'annexe I-2 indique des références de qualité pour 23 indicateurs de qualité témoins du fonctionnement des installations de production et de distribution d'eau. Lorsque les caractéristiques des eaux s'écartent de ces valeurs, des enquêtes et des vérifications particulières peuvent être conduites pour comprendre la situation et apprécier les risques éventuels.

Jusqu'en décembre 2003, les limites et références de qualité figurant dans le décret 89-3 du 3 janvier 1989 modifié continuent à s'appliquer.

2.3.1.5. Des modalités de suivi des installations et de la qualité des eaux

Le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 distingue la surveillance qui relève de la responsabilité et de l'organisation du producteur – distributeur d'eau et le contrôle sanitaire que doit organiser l'Etat. Le programme de contrôle sanitaire doit respecter un cadre fixé par ce décret. Il porte sur la nature et la fréquence des paramètres à rechercher, des adaptations pouvant être faites dans chaque situation réelle en fonction de ses caractéristiques. La réalisation du contrôle sanitaire fait appel à des laboratoires spécialement agréés par le ministère chargé de la santé. Le contrôle sanitaire conduit à la production de très nombreuses informations, dont les résultats des analyses, qui sont gérées à l'aide d'un outil informatique spécialisé : SISE – EAUX (Système d'Information en Santé Environnement sur les Eaux).

2.3.1.6. Des règles de gestion de certaines situations de non-conformité

Le suivi de la situation, notamment de la qualité des eaux, peut faire apparaître des difficultés particulières telles que des troubles de la santé de la population pouvant être attribués à l'eau distribuée, des dépassements des limites de qualité fixées par l'annexe I-1, des dérives de la qualité hors des références de qualité fixées par l'annexe I-2. Pour gérer certaines de ces situations, le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 prévoit la possibilité de faire appel à des procédures particulières de dérogation en leur associant des contraintes fortes de suivi de la situation, de mise en place de programme d'amélioration et d'information. Les éventuelles dérogations sont accordées par le préfet. Il ne peut pas être accordé de dérogation pour les paramètres microbiologiques.

2.3.1.7. L'information sur la qualité des eaux

En application notamment de la loi sur l'eau du 3 janvier 1992, du décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001, du décret n° 94-841 du 26 septembre 1994, du décret n° 95-635 du 6 mai 1995 et de l'arrêté du 10 juillet 1996, un dispositif d'information des consommateurs a été instauré. Il prévoit notamment :

- Le caractère public et communicable aux tiers des analyses de contrôle des eaux,
- L'affichage en mairie des résultats des analyses,
- La transmission annuelle à l'abonné, avec une facture d'eau, des éléments essentiels sur la qualité de l'eau distribuée l'année précédente,
- La présentation par le maire au conseil municipal d'un rapport annuel sur le prix de l'eau et la qualité du service public de l'eau potable.

Par ailleurs, en application des directives 91/692/CEE et 98/83/CE, l'Etat français doit transmettre tous les 3 ans, à la Commission de l'Union Européenne, un bilan de la qualité des eaux distribuées dans les unités desservant au moins 5000 habitants ainsi que des informations sur les conditions de mise en œuvre de la directive 75/440/CEE relative à la qualité des eaux superficielles utilisées pour la production d'eau alimentaire.

L'information donnée à l'utilisateur doit lui permettre si nécessaire, notamment en cas de non conformité de l'eau, de prendre les mesures adaptées de gestion du risque résiduel pouvant subsister au point d'utilisation.

2.3.2. Les dispositifs réglementaires spécifiques applicables à *Cryptosporidium*

Le décret 89-3 du 3 janvier 1989 modifié dont l'annexe relative à la qualité des eaux s'applique jusqu'au 24 décembre 2003, ne fixe pas de limite de qualité relative spécifiquement aux parasites. Dans son annexe I-1, il est indiqué que l'eau ne doit pas contenir d'organismes pathogènes mais les parasites ne sont pas cités dans la liste des germes indiqués. Par ailleurs, l'annexe I-2 relative aux autres références de qualité permet au préfet d'augmenter les fréquences de contrôle lorsque l'eau contient notamment des parasites sans toutefois en préciser le seuil ni la nature. Ce texte prévoit que l'eau distribuée ne doit pas contenir plus d'une spore de bactérie anaérobie sulfite-réductrice par 20 millilitres d'eau.

Le nouveau décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 prévoit, dans son article 2 – I, que les eaux destinées à la consommation humaine ne doivent pas contenir un nombre ou une concentration de micro-organismes, de parasites ou de toutes autres substances constituant un danger potentiel pour la santé des personnes, qu'elles doivent être conformes aux limites de qualité fixées en annexe I-1 du texte et qu'elles doivent satisfaire aux références de qualité fixées en annexe I-2 du texte.

L'annexe I-1 ne comporte pas de valeur chiffrée de limite de qualité pour les parasites mais une limite de 1 NFU pour la turbidité. Il est indiqué que cette limite est applicable au point de mise en distribution, c'est à dire en sortie de production (après captage et traitement éventuel) pour les eaux d'origine superficielle et pour les eaux d'origine souterraine provenant de milieux fissurés présentant une turbidité périodique importante et supérieure à 2 NFU. Pour les installations d'un débit inférieur à 1 000 m³ / j ou qui desservent des unités de distribution de moins de 5 000 habitants, ces limites s'appliquent à compter du 25 décembre 2008. Entre le 25 décembre 2003 et le 25 décembre 2008, la limite de qualité est de 2 NFU au lieu de 1 NFU, les mesures appropriées devant être prises pour réduire le plus possible la turbidité au cours de cette période.

L'annexe I-2 fixe une référence de qualité de 0 bactérie sulfito-réductrice y compris les spores pour 100 millilitres en indiquant en commentaire que « *ce paramètre doit être mesuré lorsque l'eau est d'origine superficielle ou influencée par une eau d'origine superficielle. En cas de non-respect de cette valeur, une enquête doit être menée sur la distribution d'eau pour s'assurer qu'il n'y a aucun danger potentiel pour la santé humaine résultant de la présence de micro-organismes pathogènes par exemple des *Cryptosporidium*.* »

Par ailleurs, ce décret comporte des dispositions qui, indirectement, peuvent jouer un rôle important vis-à-vis des parasites. Il s'agit notamment du fait que les eaux d'origine superficielle doivent faire systématiquement l'objet d'un traitement comportant au minimum un traitement physique simple, c'est-à-dire une filtration, et une désinfection. Ce traitement doit être renforcé lorsque la qualité des eaux brutes est de plus mauvaise qualité, celle-ci étant évaluée en application de l'annexe I-3 du décret par différents paramètres portant notamment sur la contamination microbiologique (coliformes totaux, coliformes thermo-tolérants, streptocoques fécaux, salmonelles). Ces règles reprennent des dispositions imposant en France depuis plusieurs décennies le traitement systématique des eaux de surface avant distribution. Toutefois, une règle équivalente systématique n'existait pas jusqu'alors pour les eaux souterraines lorsqu'elles apparaissent *a priori* susceptibles d'être contaminées. La décision résultait d'une appréciation locale. La nouvelle disposition fixée pour la turbidité va constituer une référence importante pour caractériser les eaux à risques devant faire l'objet d'un traitement adapté.

➤ **POINTS A RETENIR 2**

France Réglementation spécifique aux parasites	
Décret 1989-3	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de limite de qualité spécifique relative aux parasites - Eaux superficielles : le traitement est obligatoire (au minimum filtration et désinfection) - Le préfet peut augmenter la fréquence des contrôles en cas de présence de parasites dans l'eau (pas de seuil défini) - Un indicateur indirect de la présence de parasites est retenu : plus de 1 spore de bactéries sulfito-réductrices pour 20 ml d'eau distribuée
Décret 2001-1220	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de limite de qualité spécifique relative aux parasites - Eaux superficielles : le traitement est obligatoire (au minimum filtration et désinfection) - En cas de qualité altérée des eaux brutes (en particulier contamination microbiologique) : renforcement du traitement - Eaux souterraines : pas de traitement systématique, - Le préfet peut augmenter la fréquence des contrôles en cas de présence de parasites dans l'eau (pas de seuil)

2.4. Réglementation étrangère

Suite aux différentes épidémies décrites précédemment, certains pays ont mis en place un cadre réglementaire relatif aux contaminations des eaux de distribution par les parasites : Royaume Uni, Australie et Etats Unis.

2.4.1 Royaume Uni

2.4.1.1. Etude préalable à la mise en place de la réglementation

Les conditions dans lesquelles sont survenues les épidémies de cryptosporidioses en Angleterre ont été analysées par un groupe d'experts en 1998 conduisant à l'établissement d'un rapport très complet dont la conclusion est que, dans tous les cas d'épidémies, des anomalies dans les opérations de traitement de l'eau¹³ avaient été relevées.

Le gouvernement anglais a donc estimé que, compte tenu des incertitudes sur l'efficacité des moyens chimiques pour éliminer les cryptosporidies, les producteurs d'eau devaient mettre en place un système de surveillance en continu permettant d'atteindre ou de garantir (par les conditions de traitement de l'eau par filtration <1 micron), l'absence de risque de contamination.

2.4.1.2. Principales composantes de la réglementation

Les différents textes officiels sont consultables sur le site du Drinking Water Inspectorate¹⁴ (DWI). Le document de base est la réglementation de 1999 (N° 1524), accompagné des obligations techniques (Standard operating protocols - Amendment regulation 1999 SI No. 1524). La réglementation de 2000 (2000 No. 3184) actualise la réglementation de 1999¹⁵.

Ces réglementations s'appliquent particulièrement aux sites considérés comme à risque significatif de contamination par cryptosporidies.

Dans un premier temps, il est demandé à toutes les compagnies :

- d'évaluer si leurs sites sont, ou non, à risque significatif de contamination par des cryptosporidies ;
- de décrire les méthodes sur lesquelles est fondée cette évaluation.

Ces informations font l'objet d'un rapport transmis au Secrétariat d'Etat qui met en œuvre les mesures requises par la réglementation.

Pour les sites considérés comme "à risque", deux situations sont clairement séparées :

- La situation dans laquelle les traitements de l'eau comportent un système de filtration en continu capable d'éliminer toutes particules ≤ 1 micron : dans ce cas, la surveillance demandée est de s'assurer que les systèmes de filtration sont fonctionnels par une vérification régulière de l'intégrité des membranes de filtration.
- Pour les autres sites dans lesquels les traitements conventionnels sont appliqués (coagulation, sédimentation, filtration "classique") il est demandé à ce que les industriels mettent en place une surveillance en continu de la contamination par *Cryptosporidium*.

¹³ Rapport disponible sur le site : <http://www.dwi.detr.gov.uk/pubs/bouchier/boua0.htm>

¹⁴ Documents disponibles sur le site : <http://www.dwi.dtlr.gov.uk/index.htm>

¹⁵ Documents disponibles sur le site : <http://www.dwi.dtlr.gov.uk/regs/index.htm#regs>

Les conditions de surveillance :

- Le seuil exigé est de moins de 1 oocyste pour 10 litres d'eau pour des prélèvements réalisés sur au moins 40 litres prélevés chaque heure tout au long de la journée (soit en pratique, un prélèvement d'environ 1000 litres par jour passé en continu sur une cartouche de prélèvement).
- Le document technique fourni par le DWI est extrêmement détaillé sur toutes les étapes de l'analyse, depuis le lieu de prélèvement jusqu'à son traitement en laboratoire. Pour ces prélèvements en continu, un type de cartouche a été validé et ses modalités de traitement ont été définies.
- Le délai de rendu des résultats est très court: 3 jours dans les conditions normales, 24 heures en cas d'augmentation de turbidité ou d'un premier résultat >1 oocyste/10 litres. Tout résultat anormal est signalé immédiatement au DWI.
- Cette réglementation (1999 n°.1524) est rentrée en application le 30 juin 1999.

Mise en place et application de la réglementation et première évaluation

Après l'analyse de 1500 évaluations le DWI a retenu 335 sites comme étant à risque significatif de cryptosporidioses. Les compagnies ont fourni des protocoles de surveillance et les premiers prélèvements en continu ont débuté en avril 2000. Un tiers des installations environ a été inspecté avant la fin mars 2000, et à cette même date, 14 laboratoires ont été agréés pour les analyses. Enfin, 68 installations se sont avérées opérationnelles pour la surveillance en continu le 1^{er} avril 2000.

2.4.1.3. La réglementation en 2000

Cette réglementation¹⁶ (2000 n°3184) est l'actualisation de la réglementation sur l'eau de 1999. En ce qui concerne la cryptosporidiose, elle est applicable au 1^{er} janvier 2001. La plupart des éléments présentés dans la réglementation de 1999 sont conservés :

- toutes les unités habilitées à produire de l'eau doivent effectuer une première évaluation avant le 28 février 2001 et toutes les unités souhaitant se constituer doivent fournir des résultats en conformité avant leur ouverture ;
- tout producteur d'eau étant informé d'un risque potentiel de cryptosporidioses doit notifier auprès du Secrétariat d'Etat la situation en précisant les facteurs de risques. Le Secrétariat peut à tout moment notifier par écrit une requête d'analyses de risque ;
- tout producteur ne pourra continuer à distribuer de l'eau au-delà du 1^{er} octobre 2001 s'il ne satisfait pas à la réglementation ;
- les conditions techniques de prélèvement d'eau ne sont pas significativement modifiées par rapport à celles de 1999. Le seuil est toujours fixé à 1 oocyste pour 10 litres d'eau produite. Les prélèvements doivent être effectués en continu avec 40 litres par heure en sortie de production ;
- en cas d'augmentation de turbidité ou d'indication de l'augmentation du nombre d'oocystes de cryptosporidies, la cartouche doit être changée immédiatement et analysée aussi rapidement que possible et en tout cas moins de 24 h après avoir été prélevée ;
- toutes les analyses doivent être faites dans des laboratoires approuvés et les résultats doivent être certifiés ;
- tous les résultats d'analyses font l'objet d'un enregistrement, identifiant chaque secteur de traitement d'eau, la population dans la zone correspondante et les résultats d'analyses.

¹⁶ Texte figurant sur le site : <http://www.dwi.dtlr.gov.uk/regs/si3184/3184.htm>

2.4.2. Australie

2.4.2.1. Analyse préalable de la situation australienne

L'incident le plus important observé en Australie et concernant la contamination de l'eau de distribution par *Cryptosporidium* est survenu de juillet à septembre 1998 dans la ville de Sydney¹⁷. Des concentrations élevées de *Cryptosporidium* et de *Giardia* ont été relevées mais il n'a pas été observé d'augmentation du nombre de cas, et ceci malgré une surveillance épidémiologique suivie. Cet incident a mis en évidence l'absence de méthode permettant de déterminer si la détection de *Cryptosporidium* a une signification pathologique pour l'Homme. La seule contamination hydrique associée à l'eau de boisson est survenue à Victoria suivant la contamination d'une source privée d'eau par débordement d'une fosse septique.

2.4.2.2. Recommandations

Dans la mesure où l'Australie estime que le dispositif britannique est prohibitif en termes de rapport coût/bénéfice escompté au regard du risque en santé publique¹⁸, elle propose un ensemble de recommandations figurant dans l'Australian Drinking Water Guidelines de août 2000, qui comporte les points suivants :

Concernant la prévention:

- Protection des ressources d'une contamination d'origine humaine ou animale (considérée comme prioritaire). Pour les ressources ne pouvant bénéficier d'une protection satisfaisante, le traitement de l'eau doit comprendre une filtration efficace.
- Enquête sanitaire portant sur les sites de captage pour identifier des sources à risque de contamination.
- Les zones de forage provenant d'aquifères fermés ou de sources profondes devraient être indemnes de contamination par *Cryptosporidium*. Cependant les forages doivent être maintenus bien protégés d'une contamination de surface éventuelle.
- Utilisation de méthodes efficaces d'élimination des oocystes. L'ozone pourrait être plus efficace mais on manque de données scientifiques permettant de l'établir. La filtration sur membranes représente la technique la plus appropriée ; l'efficacité des méthodes de filtration doit être régulièrement évaluée et tout dysfonctionnement dans la procédure de filtration, notamment une augmentation de la turbidité, doit être considéré comme un indicateur de risques supplémentaires de contamination par les oocystes.
- Les systèmes de distribution doivent être parfaitement entretenus. Toute réserve d'eau doit être couverte pour éviter la contamination par les oiseaux ou les petits animaux.

Concernant l'évaluation de la contamination

- Méthode de détection des *Cryptosporidium* : "il n'y a pas d'informations suffisantes pour recommander une technique standard pour rechercher les *Cryptosporidium* dans l'eau".
- Il n'y a pas de valeur seuil proposée pour estimer une contamination par *Cryptosporidium*. Le suivi régulier des systèmes de distribution y compris en sortie d'usine, n'est pas recommandé en raison de l'absence de méthodes efficaces d'identification. De plus, les modèles d'évaluation de risque suggèrent que si une évaluation de la contamination de l'eau devait être faite, elle devrait concerner des volumes extrêmement importants, inapplicables en routine.

¹⁷ L'incident de Sydney fait l'objet de plusieurs analyses et de recommandations, dans 3 numéros de "Health Stream" consultable sur: <http://www.med.monash.edu.au/epidemiology/crc/publictn/sydney1.htm>

¹⁸ A travers la revue "Health Stream", l'Australie a constamment suivi et commenté les recommandations et la législation britannique : <http://www.med.monash.edu.au/epidemiology/crc/index.html>

- La recherche de *Cryptosporidium* dans l'eau peut éventuellement être recommandée en cas de suspicion de contamination notamment à la suite de pluies importantes, de dysfonctionnement des opérations de traitement de l'eau, d'erreur dans le circuit de distribution. Le suivi peut également être recommandé en cas de suspicion ou d'épidémie de cryptosporidiose.

Concernant la conduite à tenir en cas de contamination de l'eau

- Tout incident qui conduirait à effectuer une analyse à la recherche d'oocystes de *Cryptosporidium* doit être notifié aux autorités sanitaires correspondantes.
- Si les cryptosporidies sont détectées dans l'eau, l'autorité sanitaire doit être informée immédiatement. Des documents explicatifs doivent être élaborés par les autorités sanitaires de façon à permettre l'interprétation et de tirer les enseignements pratiques de la mise en évidence d'oocystes dans l'eau de boisson.
- Une information doit être fournie au public sur la conduite à tenir (consommation d'eau bouillie) et associer un renforcement de la surveillance pour identifier une augmentation éventuelle du nombre de cas de cryptosporidiose.

2.4.3. USA

2.4.3.1. Analyse préalable de la situation américaine

C'est aux Etats-Unis que les premiers cas bien documentés de cryptosporidiose chez des sujets immunodéprimés ont été notifiés et cette question de la contamination environnementale, en particulier par l'eau, a été très bien étudiée par les CDC (Center for Disease Control). Ce problème n'avait pas été considéré comme prioritaire en matière de santé publique et c'est l'épidémie de Milwaukee de 1993 qui a enclenché une réflexion officielle sur le risque pour les populations via la distribution de l'eau.

En septembre 1994, une réunion de représentants de 40 états organisée par les CDC avec des spécialistes des agences fédérales, des compagnies distributrices d'eau et de juristes a eu pour objet de faire le point technique afin d'éviter de continuer à devoir diffuser des consignes de faire bouillir l'eau (« boil-water advisory »), en prévenant la cryptosporidiose par le contrôle des cryptosporidies.

Suite à cette réunion ont été émises quatre recommandations¹⁹ concernant :

- Les méthodes à utiliser pour la surveillance et la réalisation d'études épidémiologiques
- Les réponses de santé publique en cas de détection d'oocystes dans l'eau de boisson
- La prise en charge des cryptosporidies chez les personnes immunodéprimées
- Les méthodes d'échantillonnage des eaux et l'interprétation des résultats

Le groupe de travail suggérait par ailleurs les méthodes permettant d'obtenir des informations complémentaires pour permettre la mise au point de recommandations ultérieures plus précises

2.4.3.2. Recommandations récentes

Dans l'édition du 14 janvier 2002 du « Federal Register » (Journal officiel des Etats Unis d'Amérique) a été publiée par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA) dans le cadre de la réglementation sur l'eau de boisson (National Primary Drinking Water Regulations) un additif relatif à *Cryptosporidium* dans les eaux produites à partir d'eau de surface (Long Term 1 Enhanced Surface Water Treatment Rule, LT1ESWTR).

¹⁹ Rapport disponible sur le site : <http://www.cdc.gov/cpo/mmw5/preview/mmwrhtml/00037331.htm>

Ce document affiche pour les distributions d'eau desservant une population de 10 000 habitants ou plus d'une part un objectif de contamination de l'eau en *Cryptosporidium* de 0 (Maximum Contaminant Level Goal) et d'autre part une obligation de traitement par filtration assurant un abattement minimum de 2 log en *Cryptosporidium*, s'appliquant à tous les systèmes utilisant une eau de surface ou une eau souterraine influencée. Dans un délai de six mois après la promulgation de ce texte, doit être mis en place un échantillonnage mensuel de l'eau brute pendant deux ans, de façon à caractériser la qualité de la ressource vis-à-vis de *Cryptosporidium parvum*. Pour les petits systèmes, la recherche de *E. coli* peut se substituer à celle de *Cryptosporidium*. En fonction des résultats obtenus, un traitement additionnel devra éventuellement être installé pour assurer le niveau d'abattement nécessaire permettant de garantir l'absence de *Cryptosporidium* à l'aide d'un procédé adéquat, y compris la désinfection par ultra-violet, et ceci avant juin 2006.

Il est par ailleurs rappelé qu'une garantie de bonne filtration est obtenue par le respect d'une turbidité inférieure ou égale à 0,3 NTU dans au moins 95 % des mesures effectuées chaque mois, ne pouvant en aucun cas excéder 1 NTU, et qu'en cas de désinfection les sous-produits ne doivent pas excéder 0,064 mg/L (TTHM²⁰) et 0,048 mg/L (HAA²¹).

La base du raisonnement américain est donc d'afficher simultanément des objectifs de résultats et une obligation de moyens (pour les distributions intéressant plus de 10 000 consommateurs) permettant un abattement minimum de 99 % des kystes de *Cryptosporidium* :

- Objectifs de résultats : pour tous les microorganismes (bactéries, virus, parasites) un objectif (M.C.L.G.) de zéro (en français, notion de valeur cible = absence) et parfois une concentration maximale admissible (Maximum contaminant Level, MCL) qui elle s'impose sur le plan de la responsabilité.

MCL :

- Coliformes totaux : pas plus de 5 % d'échantillons positifs sur un mois (ou pas plus d'une analyse positive par mois),
- Coliformes thermotolérants – Absence
- Numération flore hétérotrophe cultivable : 500 UFC/ml

- Obligations de moyens : pour tous les microorganismes
 - Virus : traitement assurant une élimination de 99,99 %
 - *Giardia lamblia* : traitement assurant une élimination de 99,9 %
 - Turbidité : 0,5 NTU si traitement (sinon 1 NTU) dans 95 % des cas
Valeur abaissée à 0,3 NTU au 14 janvier 2002 pour les eaux de surface
 - *Cryptosporidium* : traitement assurant une élimination de 99 % depuis le 14 janvier 2002
- Tout une série de recommandations sur les mesures à mettre en œuvre pour maîtriser le risque de cryptosporidiose. *Cryptosporidium* n'est pas considéré comme un danger majeur pour la santé publique, mais justifie la mise en place d'une stratégie adaptée :
 - Surveillance des niveaux rencontrés dans l'eau et surveillance épidémiologique des populations.
 - Information, en général, des personnes immunodéprimées sur le risque de cryptosporidiose et les moyens de réduire celui-ci.

²⁰ Total des TriHalométhanes - les THM sont des composés organiques chlorés regroupés sous l'appellation générique «sous-produits de désinfection par le chlore» (SPC).

²¹ Acides Halo Acétiques - font également partie des SPC

– La découverte d'oocystes en faible concentration dans de l'eau distribuée n'est pas un motif suffisant pour émettre l'avertissement de faire bouillir l'eau. Il faut à ce moment mettre en place un comité local qui décidera si la qualité de l'eau n'est pas acceptable, en fonction de différents paramètres techniques, et s'il convient d'informer les différentes populations (population générale, population à risque, etc...) et les médecins.

➤ **POINTS A RETENIR 3**

PAYS	Points clefs
<i>Royaume Uni</i>	<p>-Réglementation (1999 n°1524) : entrée en application le 30 juin 1999 pour une application obligatoire au 1^{er} octobre 2001</p> <p>-Seuil exigé ≤ à 1 oocyste/10 litres d'eau produite</p> <p>-2 situations séparées en fonction du type de traitement :</p> <ul style="list-style-type: none"> -système de filtration en continu : vérification obligatoire de l'intégrité des membranes de filtration, -traitement de type conventionnel : surveillance en continu de la contamination par le parasite <p>-Suivi de la turbidité, complémentaire du suivi de la contamination par <i>Cryptosporidium sp.</i></p>
<i>Australie</i>	<p>-Pas de réglementation mais des recommandations</p> <p>-Pas de seuil d'alerte de contamination</p> <p>-Protection des ressources considérée comme prioritaire</p> <p>-Mise en place d'un système de traitement (filtration) efficace sur <i>Cryptosporidium</i></p> <p>-Pas de suivi régulier de la contamination en sortie d'usine</p> <p>-Détection de <i>Cryptosporidium sp.</i> dans certaines situations à risque (forte pluie, erreur dans le circuit de distribution,...)</p>
<i>Etats Unis</i>	<p>-Objectifs de résultats (critères sur les microorganismes) :</p> <ul style="list-style-type: none"> -valeur cible nulle pour <i>Cryptosporidium</i> (MCLG), -concentration maximale admise en coliformes et flore totale (MCL) <p>-Obligations de moyens : sur <i>Cryptosporidium</i>, une exigence d'élimination de 99% des <i>Cryptosporidium</i> depuis le 14 janvier 2002</p> <p>-Recommandation : rôle des comités locaux qui décideront du caractère acceptable ou non de l'eau et de l'information des personnes immunodéprimées</p>

3. CRYPTOSPORIDIUM SP. DANS LES EAUX

Les techniques de recherche des cryptosporidies dans les eaux ne sont, bien souvent, pas suffisamment sensibles pour détecter des faibles niveaux de contamination. De plus, leur temps de réponse n'est pas compatible avec le court délai de réaction nécessaire dans de la gestion des installations de traitement ou de prélèvement d'eau brute, et les analyses sont assez onéreuses. Des méthodes alternatives, sensibles, faciles à mettre en œuvre, à réponse rapide, voire basées sur une détection en continu et de faible coût pourraient être utiles.

Il est toutefois nécessaire de préciser l'usage souhaité afin de définir la pertinence du choix de l'indicateur. Les principales applications peuvent être :

- sur l'eau brute provenant d'un site donné, pour déterminer les périodes, les événements « à risque » au regard de *Cryptosporidium* ;
- pour vérifier l'efficacité de rétention par un filtre ou d'inactivation par des désinfectants.

3.1. Définition des zones et sites à risque

Afin de mettre en œuvre une politique sanitaire nationale, il est nécessaire de connaître les zones et sites « à risque ».

➤ Les eaux de surface

Les études effectuées n'ont pas permis de montrer l'existence d'un indicateur fiable, représentatif de la présence de cryptosporidies dans les eaux brutes, ceci parmi les paramètres tels que bactéries, spores, turbidité...

A titre d'exemple, Nieminski *et al.* (2000), dans les eaux brutes de 24 sites, ont essayé de trouver des corrélations entre bactéries, spores de bactéries, bactériophages, *Giardia* et *Cryptosporidium*. Ces derniers ont été trouvés dans la majorité des échantillons mais aucune corrélation avec les indicateurs potentiels testés n'a pu être établie.

➤ Les eaux souterraines

Ces eaux sont souvent considérées *a priori* comme protégées, en particulier vis-à-vis des parasites. En réalité, un nombre non négligeable de nappes est directement sous l'influence des eaux de surface (rivières, eaux de ruissellement). Il s'agit bien souvent de zones fissurées de type karstique, de massifs cristallins ou volcaniques.

La présence d'algues (diatomées en particulier), de spores de bactéries aérobies ou anaérobies et autres débris végétaux sont des indicateurs de l'influence des eaux de surface. Ceci a pour conséquence que, si les eaux en surface contiennent des parasites, ces eaux souterraines, insuffisamment filtrées naturellement par le sol, peuvent être contaminées et doivent donc être traitées.

Compte tenu des coûts élevés des analyses de *Cryptosporidium*, le Comité Consultatif de l'USEPA a exploré l'utilisation d'un critère basé sur l'indicateur le plus statistiquement pertinent. Les données issues du programme national de suivi analytique sur l'ensemble du territoire US (Information Collection Rule- ICR et ICRSS) ont permis de montrer que *E. coli* était le paramètre qui indique statistiquement le mieux la présence de *Cryptosporidium*. Ainsi, si la concentration en *E. coli* dépasse 50/100 ml dans les rivières ou 10/100 ml dans les réservoirs et lacs, un suivi des *Cryptosporidium* sur un an sur les eaux brutes (24 échantillons) devrait être réalisé, suivi à l'issue duquel les moyens de traitement à mettre en œuvre devraient être déterminés le cas échéant.

➤ Autres situations à risque

La contamination du réseau de distribution (Figure 1) par *Cryptosporidium parvum* peut avoir plusieurs origines :

- introductions d'eaux contaminées dans les installations par des retours d'eaux, lors de travaux d'entretien ou de réparation, lors de casse, lors de vidange de réseau ou lors de dépressions dans les canalisations ;
- relargage possible des parasites à partir des biofilms (Rogers et Keevil, 1995). Ce qui en l'état actuel des connaissances reste une hypothèse.

Les contaminations de réseau pouvant survenir *a priori* en n'importe quel point du système de distribution. Il n'apparaît pas possible de procéder à un suivi analytique régulier de la qualité des eaux distribuées pour vérifier qu'il n'y a pas de contamination par des parasites, que ce soit par recherche directe de cryptosporidies ou par suivi d'un indicateur spécifique. En particulier, il est difficile d'identifier la source de la contamination sur un réseau fonctionnant suivant le principe « distribution-refoulement ».

Le mécanisme des contaminations résultant d'un dysfonctionnement du réseau de distribution, n'est pas abordé dans ce rapport. En effet, le caractère accidentel de ces dysfonctionnement nécessite un recueil de données en temps réel, non disponible actuellement.

3.2. Efficacité des traitements

L'efficacité des différents traitements au regard des parasites *Cryptosporidium sp.* et *Giardia sp.* est présentée dans le [Tableau 5](#).

Tableau 5 : Efficacité, exprimée en réduction logarithmique décimale, des différentes étapes de traitement de l'eau concernant l'élimination de *Cryptosporidium sp.* et *Giardia sp.*, en fonction de la turbidité en sortie d'étape de traitement. (Source : étude bibliographique du groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » non publiée ; Baudin *et al.*, 2001)

Etape de traitement	Niveau de turbidité NTU	Elimination (réduction logarithmique décimale) de <i>Cryptosporidium</i> et <i>Giardia</i>
Sédimentation simple	< 1	< 0,5
Filtration simple	< 0,5	0,5 à 1
Coagulation/floculation /décantation	< 2	0,5
Décantation lamellaire	< 1,5	0,5 à 1
Coagulation sur filtre	< 0,5	2
Décantation/lit de boue pulsée	< 1	1,5 à 2
Décantation/floc lesté	< 1	1,5 à 2
Flottation	< 0,5	2 à 3
Coagulation/floculation/ séparation/filtration	< 0,1	3 à 4
Filtration lente biologique	< 0,1	4
Filtration terre de diatomée	< 0,1	4 à 5
Floculation/décantation/ filtration lente	< 0,1	4 à 5
Microfiltration 0,5µm	< 0,1	> 5
Ultrafiltration	< 0,1	> 5

Un bon indicateur est le paramètre qui, présent très fréquemment dans l'eau, a un comportement similaire à celui de *Cryptosporidium sp.* vis-à-vis des traitements et qui est facilement et rapidement analysable avec une sensibilité suffisante.

S'agissant de la filtration, les indicateurs d'efficacité de rétention peuvent être soit des microorganismes, soit des paramètres physico-chimiques telles que la concentration en particules ou la turbidité.

Ainsi les spores de bactéries aérobies (*Bacillus subtilis*,...) qui sont fréquemment présentes dans les eaux brutes et qui ont un comportement similaire à celui des *Cryptosporidium sp.* vis-à-vis de la filtration, sont un bon indicateur. Leur détection dans une eau filtrée indique l'inefficacité de la filtration et, par-là même, la présence potentielle de *Cryptosporidium sp.*

Par ailleurs, il existe une bonne corrélation entre les efficacités d'élimination des particules et de *Cryptosporidium sp.* L'analyse des particules est relativement facile à mettre en œuvre. Même si les valeurs absolues des concentrations en particules ne sont pas atteints, leurs variations relatives constituent de bons indicateurs des phénomènes et périodes à risque à corriger et permettent une bonne évaluation de l'efficacité d'élimination. Toutefois à l'heure actuelle, le

comptage de particules est une technique nouvelle qui nécessite l'acquisition d'une expérience élargie afin qu'elle puisse être utilisée comme moyen de contrôle du respect des obligations de moyen (Baudin *et al.*, 2001).

En ce qui concerne la turbidité, les nombreuses études réalisées et l'expérience de Milwaukee en particulier, ont permis de montrer que le respect, en continu, d'une faible turbidité de l'eau filtrée, au maximum égale à 0,2 NTU (environ 0,3 NFU) permet, de manière générale, de minimiser de façon significative le risque parasitaire lié à la filtration.

En dépit de ces différentes pistes, il n'existe pas, à ce jour, d'indicateur totalement fiable de présence ou d'absence de *Cryptosporidium sp.*

4. LES ALIMENTS

Comme indiqué précédemment, les données de la littérature relatives à la contamination des aliments par *Cryptosporidium* sont peu nombreuses et ne permettent pas d'estimer de façon fiable et représentative le niveau de risque associé à cette matrice. En effet, l'imputabilité des aliments dans la survenue de cryptosporidiose est difficile à établir pour les raisons suivantes :

- difficulté de la détection de *Cryptosporidium sp.* dans les aliments (cf IV 1.2) ;
- difficulté d'identifier l'aliment vecteur du parasite ;
- délais entre le diagnostic clinique ou parasitologique et l'enquête épidémiologique, l'aliment suspect n'étant souvent plus disponible pour l'analyse ;
- cas sporadiques ou épidémies concernant un nombre limité de sujets non décelés et donc non recensés ;
- rares enquêtes systématiques sur les aliments à risque reconnu.

Cependant, quelques analyses, réalisées en dehors de tout contexte épidémique, sont répertoriées dans le [Tableau 6](#) ; elles ne permettent cependant pas de conclusion pertinente compte tenu de leur caractère très qualitatif.

4.1. Les aliments concernés

De nombreux aliments sont potentiellement à risque d'être contaminés par des oocystes de *Cryptosporidium*, à différentes étapes de leur production ou de leur préparation. Il faut cependant préciser que les aliments ne peuvent être le support d'une multiplication parasitaire. Le [Tableau 6](#) présente un récapitulatif sur ce point :

- Contamination tellurique des végétaux consommés crus par des excréments humains ou animaux, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire d'eaux de ruissellement ;
- Irrigation ou arrosage de fruits et légumes par de l'eau contaminée : réutilisation d'eaux usées insuffisamment épurées ;
- Procédures de préparation des aliments utilisant de l'eau souillée par des oocystes d'origine humaine ou animale ;
- Contamination par les mains sales : individu infecté intervenant dans la procédure de préparation alimentaire ;
- Mauvaise hygiène des abattoirs, et contamination de surface de la viande par des oocystes ;
- Contamination du lait dans un élevage bovin infecté ;
- Contamination de fruits et légumes à partir de surfaces contaminées à l'occasion du stockage ou de la vente ;
- Contamination de coquillages du fait de leur capacité de filtration.

4.2. Les traitements actifs sur *Cryptosporidium*

Les traitements autorisés dans le cadre des process de l'industrie agroalimentaire concerne essentiellement la température : les oocystes sont, en effet, détruits ou perdent leur infectiosité à la suite d'un traitement par la chaleur: 1 minute à 72°C, ou 5 minutes à 64°C ou par pasteurisation (Fayer, 1994 ; Harp *et al.*, 1996). La congélation à -70°C, inactive les oocystes (Fayer et Nerad, 1996) ; à -20°C, cette inactivation est incomplète (Fayer et Nerad, 1996 ; Kim et Healey, 2001). La dessiccation entraîne une perte complète de viabilité (Robertson *et al.*, 1992).

En revanche, pour ce qui concerne l'emploi d'agents chimiques efficaces sur *Cryptosporidium sp.*, ceux-ci doivent faire l'objet d'une homologation au cas par cas, pour être autorisés en agroalimentaire.

4.3. La réglementation

D'après les informations transmises à l'Agence par la Direction générale de l'alimentation, il n'existe pas de cadre réglementaire spécifique, tant au niveau national, que communautaire. Cependant, une réflexion est en cours au niveau européen²², sur la pertinence d'intégrer les infections parasitaires comme indicateur d'hygiène des denrées alimentaires.

²² Décisions 90/424/CEE, 92/117/CEE, 64/432/CEE, 72/462/CEE et 90/539/CEE

Tableau 6 : Isolement d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* à partir de divers aliments (risques putatifs)

Aliment incriminé	Lieu	Commentaires	Référence
Végétaux crus	Pérou	<ul style="list-style-type: none"> • Isolement du parasite sur des végétaux • 14.5% des légumes testés positifs 	(Ortega <i>et al.</i> , 1997)
Végétaux crus	Costa Rica	<ul style="list-style-type: none"> • Isolement d'oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i> dans 1,2 % à 8,7 % des échantillons testés (selon leur nature) 	(Monge et Arias, 1996)
Fruits et légumes	Norvège	<ul style="list-style-type: none"> • 475 échantillons du commerce. 4 % positif pour <i>Giardia</i> ou <i>Cryptosporidium</i> (laitue, haricot) 	(Robertson et Gjerde, 2001)
Huîtres	Baie de Chesapeake, NE des USA	<ul style="list-style-type: none"> • Prélèvements sur des côtes bordant des zones d'élevage et des zones de déversement d'eaux usées • Certains prélèvements infectieux 	(Fayer <i>et al.</i> , 1998b)
Huîtres	Baie de Chesapeake, NE des USA	<ul style="list-style-type: none"> • Isolement d'huîtres contaminées dans des zones de production destinées à la consommation humaine • Génotypes I et/ou II • Certains prélèvements infectieux 	(Fayer <i>et al.</i> , 1999)
Moules	Baie de Chesapeake, NE des USA		(Graczyk <i>et al.</i> , 1999)
Divers mollusques marins	Espagne, Italie, Angleterre	<ul style="list-style-type: none"> • Les tests ont porté sur des palourdes, moules et huîtres. 	(Freire-Santos <i>et al.</i> , 2000)
Moules	Irlande		(Chalmers <i>et al.</i> , 1997)
Moules, coques	Espagne (côte atlantique)	<ul style="list-style-type: none"> • Zone de production destinée à la consommation humaine • Mollusques infectés près de l'embouchure de rivières traversant des zones d'élevage • Oocystes infectieux • Génotype II 	(Gomez-Bautista <i>et al.</i> , 2000)
Yaourts	USA	<ul style="list-style-type: none"> • Travail expérimental : après contamination du lait par des oocystes, on retrouve des oocystes viables dans le yaourt 	(Deng et Cliver, 1999)

V. ELEMENTS POUR L'EVALUATION DU RISQUE

La démarche suivie pour l'évaluation du risque s'appuie sur les étapes suivantes :

- l'identification du danger correspondant à la description du pathogène, *Cryptosporidium parvum* ;
- l'appréciation de l'émission et de la diffusion du danger comprenant les aspects vétérinaire et humain ;
- l'appréciation de l'exposition s'appuyant sur le niveau et la fréquence de la contamination et sur les données de consommation ;
- l'appréciation des effets qui repose sur les modèles existants en termes de courbe dose-réponse.

1. IDENTIFICATION DU DANGER : DESCRIPTION DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*

Les principales caractéristiques des cryptosporidies ont été présentées dans le paragraphe IV.1.1 (page 39) et sont résumées dans la fiche de synthèse en *Annexe 4 Cryptosporidium* est un parasite ubiquiste et peu spécifique, capable d'infecter de nombreuses espèces de mammifères, dont l'espèce humaine. Le potentiel zoonotique est cependant variable et dépend des diverses espèces et génotypes aujourd'hui décrits. De plus, la preuve qu'un isolat d'origine animale présente, ou ne présente pas, de risque pour les humains nécessiterait d'effectuer des infections expérimentales chez l'Homme (ce qui a été fait pour *Cryptosporidium parvum*) mais aussi de prendre en compte le statut immunitaire des individus à risque d'être infectés puisque l'on sait que la barrière d'espèce peut être franchie dans un contexte d'immunodéficience. Ceci est rapporté pour les cas de cryptosporidioses humaines observés au cours du SIDA, dus à *Cryptosporidium muris* et *Cryptosporidium felis*.

Par ailleurs, des cryptosporidies issues d'espèces non mammifères et présentant des similitudes morphologiques avec *Cryptosporidium parvum*, telles que *Cryptosporidium meleagridis* d'origine aviaire, peuvent se retrouver dans l'environnement (Champlaud *et al.*, 1999). De la même façon, des observations rares de transmission à l'Homme d'espèces non-*parvum* ont été rapportées avec, par exemple, *Cryptosporidium meleagridis* (Guyot *et al.*, 2001).

En conséquence, tout oocyste de cryptosporidie devrait être considéré comme potentiellement dangereux pour les humains.

Dans ce contexte, toutes les sources de contamination d'origine animale (domestique et sauvage) et humaine doivent être prises en considération, ainsi que leur diffusion et persistance dans l'environnement.

2. APPRECIATION DE L'EMISSION DU DANGER

Cette étape, comporte l'appréciation des concentrations de parasites présentes dans les eaux de distribution. Elle comprend deux volets liés aux caractéristiques du cycle de développement de *Cryptosporidium parvum* : le volet vétérinaire et le volet humain (Annexe 3). Il convient de préciser d'emblée que les données concernant cette phase de l'analyse sont disponibles principalement pour le volet vétérinaire car peu d'études ont été réalisées chez l'Homme.

2.1. Implication des animaux dans l'émission de *Cryptosporidium parvum*

La présence de *Cryptosporidium parvum* est décrite chez les mammifères domestiques (bovins, caprins, ovins, cheval, porcs, chiens et chat) et chez certains mammifères sauvages (sangliers, cervidés, rongeurs).

2.1.1. Implication des différentes espèces animales dans l'émission de *Cryptosporidium parvum* en France

2.1.1.1. Les animaux de rente

➤ Bovins

L'effectif bovin en France était évalué en 1999 à environ 20 239 000 têtes²³. La répartition géographique des élevages, en fonction du type de production (laitiers ou allaitants), n'est pas uniforme (Annexe 5).

Dans l'espèce bovine, les cryptosporidies sont impliquées comme agents entéropathogènes prépondérants dans les diarrhées néonatales des veaux. L'infection à *Cryptosporidium parvum* demeure en général asymptomatique chez les bovins adultes. Ils peuvent représenter des sources parasitaires pour les autres espèces de mammifères réceptives. Des cas de contamination humaine à partir de l'espèce bovine ont été rapportés.

- En ce qui concerne les veaux :

La première description, en France, d'infections à *Cryptosporidium sp.* chez les veaux remonte à 1981 chez deux veaux de race laitière dans les Ardennes (Antoine *et al.*, 1981). D'une façon générale, la réceptivité est la plus grande chez les animaux âgés de moins d'un mois. Le taux de prévalence est plus élevé chez les veaux nouveau-nés, en particulier chez les veaux diarrhéiques, avec un maximum d'excrétion entre 1 et 3 semaines d'âge. La contamination est possible dès la naissance (au contact de la mère et de l'environnement), avec une excrétion oocystale dès 4 jours et un pic d'excrétion à 10 jours, suivie d'un déclin progressif de 3 semaines à 20 semaines. Cependant, cette excrétion est surtout intense pendant 6 à 9 jours. Il existe une corrélation positive entre la présence de diarrhée et une excrétion massive d'oocystes.

La quantité d'oocystes excrétée par un veau est élevée : de 1,6 à 7.10⁶ oocystes/gramme de fèces, ou parfois plus, en condition expérimentale. Chez le veau atteint de cryptosporidiose, certains auteurs (Fayer *et al.*, 1998a) estiment l'excrétion fécale moyenne hebdomadaire à 5.10¹⁰ oocystes par gramme.

Bien que *Cryptosporidium parvum* est souvent retrouvé en combinaison avec d'autres entéropathogènes du veau (rotavirus, coronavirus, *Escherichia coli* K99, salmonelles, voire *Giardia*), de nombreuses données expérimentales et de terrain montrent qu'il peut agir comme un pathogène primaire chez les bovins, comme l'a démontré Naciri *et al.* (1999) dans une étude française.

Par ailleurs, dans cette même étude, la prévalence de la cryptosporidiose est supérieure chez les veaux issus de troupeaux allaitants par rapport aux veaux laitiers.

²³ Répartition : vaches laitières (4 424 000), vaches nourrices (4 072 000), veaux (nés : environ 7 475 000 ; abattus à 8 jours : 125 000 ; importés à moins de 80 Kg : 225 000, importés à plus de 80 kg : 17 000), autres types de bovins (environ 4 300 000 : génisses, mâles, animaux de plus d'1 an).

D'autres enquêtes ont été menées en France concernant la prévalence de cette infection chez les veaux (Lefay *et al.*, 2000). Selon les études et les régions, la prévalence varie de 18 % à 60%. L'expression clinique sous forme de diarrhée est rapportée entre 5 % à 90 % des cas, avec une prévalence moyenne de 43,5 %.

Par ailleurs, l'impact de la race bovine concernée ou du type d'élevage s'est avéré négligeable. Toutefois, une prévalence plus faible chez les veaux d'élevage laitier regroupés dans les centres d'engraissement a été observée. En revanche, quelques variations régionales et saisonnières (pics des mises-bas, diminution de la prévalence de l'excrétion oocystale en été ont pu être constatées.

Ces travaux qui concernent des effectifs assez importants et de multiples zones géographiques, confirment la large répartition de la cryptosporidiose bovine en France.

Les chiffres de prévalence disponibles pour l'Europe sont les suivants : Danemark (17 %), Hongrie (27 %), Grande-Bretagne (23-33 %), Italie (40 %), Allemagne (40-44 %), République d'Irlande (44,4 %), Espagne (52,3 %), Pays-Bas (55 %) et Finlande (76 %).

- En ce qui concerne les bovins adultes :

L'infection avec *Cryptosporidium parvum* est possible, mais elle demeure en général asymptomatique (Chermette *et al.*, 1984). Le rôle de cette catégorie d'animaux dans le maintien de l'enzootie est avéré. Les différentes enquêtes de prévalence donnent des taux moyens très variables de 10 à 100% des bovins adultes. L'excrétion oocystale, moins massive que chez les veaux diarrhéiques, est évaluée de 9.10^2 à $1,8.10^4$ oocystes par gramme de fèces, soit $3,6.10^6$ à $7,2.10^8$ oocystes par animal et par jour²⁴. Cette excrétion par les bovins adultes peut exister qu'il y ait ou non présence de cryptosporidiose chez les veaux dans ces mêmes élevages. Par ailleurs, il n'a pas été constaté de relation entre excrétion oocystale et parturition chez la vache, contrairement à ce qui est connu chez la brebis.

➤ Caprins

L'effectif caprin, en France, en 1999, était évalué à 1 075 000 animaux²⁵. L'activité caprine est très concentrée géographiquement : si le tiers du cheptel est situé en région Poitou-Charentes, le sud du Massif Central et la région Rhône-Alpes sont aussi concernés (Annexe 5)

Tous les travaux menés chez les caprins confirment la grande sensibilité des chevreaux à *Cryptosporidium sp.*, ces animaux s'avérant parmi les plus sensibles des espèces domestiques. Tout comme dans l'espèce bovine, les infections à cryptosporidies constituent une cause majeure de diarrhée néonatale.

Les résultats publiés par Polack *et al.* (1983) dans les Deux-Sèvres démontrent pour la première fois en Europe la présence de *Cryptosporidium sp.* chez un grand nombre de chevreaux atteints de diarrhée néonatale : 9/14 exploitations positives soit 64% avec un taux d'atteinte de 58% des animaux âgés de moins de 3 semaines.

Depuis, les enquêtes menées dans cette région confirment cette prévalence élevée de la cryptosporidiose chez les chevreaux et cela de manière assez stable sur plus de 10 années : 40 à 60% (moyenne de 55,6% sur 1109 chevreaux entre 1987 et 2001) (C. Chartier, communication personnelle). Ces auteurs observent une recrudescence des cas certaines années sans qu'il soit possible de corréliser cette fluctuation à un contexte épidémiologique précis, en dehors peut-être de variations climatiques.

²⁴ Un bovin adulte rejette quotidiennement en moyenne 4 kg de matières sèches d'excréments

²⁵ dont 751 000 chèvres.

Parmi les facteurs favorisant l'émergence de la cryptosporidiose dans cette espèce, il convient de noter le regroupement des mises-bas sur une seule saison de 2 à 3 mois, voire moins (entre novembre et janvier). Cela induit des densités de jeunes animaux très importantes et une diminution de la qualité des soins prodigués (colostrum, premières têtées, bouchonnage...), ce qui expose d'une part à une forte contamination environnementale, d'autre part à une réceptivité particulière aux divers entéropathogènes dont les cryptosporidies. La cryptosporidiose peut alors se manifester brutalement au sein des jeunes troupeaux de chevreaux, avec parfois 100% de morbidité et un taux de mortalité de plus de 50 %. Toutefois, l'infection demeure parfois inapparente. Auparavant, les mises-bas étaient plus étalées, de novembre à avril, en deux grandes vagues. Les problèmes étaient alors davantage rencontrés au cours de la seconde partie de la saison de mise-bas (février-mars), n'affectant donc qu'une partie des chevreaux, les plus jeunes.

L'intensité moyenne d'excrétion oocystale est évaluée à $1,5 \cdot 10^7$ oocystes/gramme de fèces (examen de 153 analyses quantitatives, avec des variations de $1 \cdot 10^5$ à $2 \cdot 10^8$ oocystes par grammes) (Chartier *et al.*, 2002).

➤ Ovins

L'effectif ovin en France, en 1999, était évalué à 9 509 000 animaux²⁶. La répartition est très inégale sur le territoire, avec un effectif principalement réparti en Midi-Pyrénées.

La cryptosporidiose peut se traduire par des diarrhées néonatales chez l'agneau (Ramisse *et al.*, 1984), associées ou non à d'autres entéropathogènes. L'infection peut demeurer asymptomatique chez les agneaux et des brebis adultes, trouvés porteurs et excréteurs du parasite au sein d'une même bergerie. Une augmentation de l'excrétion oocystale est mise en évidence chez la brebis en période de mise-bas (comme cela est d'ailleurs constaté avec les strongles digestifs). Toutefois, peu d'éléments sont disponibles sur la situation en France.

La cryptosporidiose ovine a fait l'objet de peu de signalements dans la littérature depuis sa première description en Australie, en 1974. En Hongrie, des cas cliniques de cryptosporidiose ont été décrits avec une prévalence pouvant atteindre 100 % des agneaux diarrhéiques (Angus, 1990). Dans une enquête en Pologne, les prévalences d'excrétion chez la brebis et chez l'agneau étaient respectivement de 28,5 et 47 %. En Espagne, sur un total de 97 fermes ovines prises au hasard, la prévalence de l'excrétion était de 47 % au plan du troupeau et 15 % au plan individuel (jeunes de moins de cinq semaines) (De Graaf *et al.*, 1999).

➤ Chevaux

Le cheptel équin en France en 1997, était évalué à 343 000 animaux²⁷.

Chez les Equidés, les cryptosporidies sont retrouvées chez les animaux de tout âge, avec une prédilection pour les jeunes avant le sevrage. Le pouvoir pathogène des cryptosporidies ne se manifeste pas systématiquement, et de nombreux animaux sont porteurs asymptomatiques. Cependant, les cryptosporidies apparaissent comme l'un des agents responsables de diarrhée et de mortalité néonatales, ainsi que le révèlent des suivis sur plusieurs années de poulains porteurs symptomatiques de *Cryptosporidium parvum* en Grande-Bretagne (Netherwood *et al.*, 1996).

²⁶ dont 6 545 000 brebis (5 157 000 brebis nourrices et 1 297 000 laitières).

²⁷ dont 127 000 juments poulinières, 168 000 chevaux de selle, 28 000 chevaux lourds

Par ailleurs, la cryptosporidiose est particulièrement grave chez les poulains des chevaux pur-sang ou trois-quarts sang arabe, atteints de déficit immunitaire combiné sévère chez lesquels on observe une durée prolongée de la diarrhée, une excrétion massive d'oocystes, des atteintes intestinales étendues à l'estomac, au côlon, aux canaux pancréatiques et biliaires.

Des cryptosporidioses peuvent également se développer chez les chevaux adultes, bien que les données de la littérature ne soient pas consensuelles. Le suivi chronologique de l'excrétion parasitaire d'animaux (Xiao et Herd, 1994) montre que les poulains commencent l'excrétion entre 4 et 19 semaines d'âge. Dans cette étude, le taux d'infection cumulé est de 71% chez les poulains. La durée maximale d'excrétion observée est de 14 semaines. En général, l'excrétion oocystale s'arrête avant le sevrage et les poulains sont considérés comme la source de cryptosporidies pour les autres poulains.

Au contraire, des enquêtes françaises comme celles menées en Normandie dans des effectifs de trotteurs français (Chermette *et al.*, 1989b) montrent que le parasite est retrouvé aussi bien chez les juments que chez les poulains qui se contaminent très tôt après la naissance. Une excrétion parasitaire est retrouvée chez 39/50 juments examinées dans une exploitation, soit 78%, ainsi que chez 30 / 44, soit 68% des poulains présents sur cette même exploitation.

Différentes situations au regard de l'excrétion parasitaire peuvent être observées chez les couples jument-poulain : couples excréteurs, couples non excréteurs, couples dissociés. On constate une dissémination de l'excrétion oocystale telle que les juments sont considérées comme source potentielle pour leur poulain.

Par ailleurs, certaines pratique d'élevage (utilisation de la même pâture pour les bovins et les équins, réutilisation de la paille des box des chevaux comme litière pour les bovins, ou en épandage) favorisent les échanges parasites entre animaux domestiques. De plus, la présence de petits rongeurs, tels que des souris notamment, pourrait participer à la pérennisation de l'infection (Klesius *et al.*, 1986).

Sur le terrain, diverses enquêtes américaines mettent en évidence un taux de prévalence négligeable chez les chevaux adultes utilisés pour les loisirs, si bien que leur rôle dans la dispersion des parasites dans l'environnement est considéré comme négligeable (Forde *et al.*, 1998). A l'inverse, des cas de contamination humaine à partir de poulains sont connus, et des mesures d'hygiène stricte sont recommandées dans les cliniques qui s'occupent de soins aux jeunes animaux.

➤ Porcins

L'effectif porcin en France, était évalué en 1997 à 15 327 000 animaux²⁸. Il existe une forte concentration des élevages dans l'Ouest de la France, en Bretagne (56 % de l'effectif) et en Pays de la Loire (11 %)(Annexe 5).

Les cryptosporidies peuvent infecter les porcelets (diarrhée néonatale possible) ou des porcs adultes. L'incidence de la cryptosporidiose semble beaucoup moins élevée que chez les ruminants. Par ailleurs, des cryptosporidies sont signalées chez les sangliers, dans les Ardennes par exemple (Chermette, communication personnelle).

²⁸ dont 1 510 000 truies.

Le porc domestique est un hôte de *Cryptosporidium sp.* à la fois en conditions naturelles et expérimentales. Toutefois cette infection ne semble pas produire d'entérite sévère chez le porcelet nouveau-né ou en post-sevrage. La distribution de l'infection est mondiale (Etats-Unis, Canada, Europe, Australie, Vietnam, Japon...). Les taux d'infection sont variables selon les enquêtes (de 1 à 30 %) et sont en général plus élevés chez les jeunes animaux jusqu'à 3 mois (Izumiyama *et al.*, 2001 ; Kim, 1990 ; Wieler *et al.*, 2001). Les niveaux d'excrétion semblent relativement faibles au regard des ruminants et cette excrétion est le plus souvent asymptomatique (Quilez *et al.*, 1996 ; Wieler *et al.*, 2001). De nombreuses incertitudes demeurent quant à l'importance médicale de *Cryptosporidium sp.* chez le porc : importance des infections cliniques et subcliniques, rôle dans la genèse des autres affections digestives. Le génotypage des souches de *Cryptosporidium parvum* isolées du porc montre deux populations (Morgan *et al.*, 1999) : un génotype propre au porc qui, passé chez le souriceau nouveau-né, ne produit aucune infection et le génotype bovin, qui lui, est capable d'infecter le souriceau nouveau-né. Comme le génotype bovin est capable d'infecter l'Homme, le rôle de réservoir du porc dans la cryptosporidiose humaine est probable. Les données issues des infections expérimentales montrent une grande similitude dans le cycle, les lésions et les signes cliniques (diarrhée) avec la cryptosporidiose bovine (Kim, 1990).

➤ Carnivores domestiques

L'effectif des carnivores domestiques en France est évalué à environ 9 millions de chiens et 6 millions de chats.

Le taux de prévalence de la cryptosporidiose est mal connu chez les carnivores domestiques et des espèces particulières telles que *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium muris*-like ou des génotypes variés dont le potentiel zoonotique n'est pas précisé ont été rapportés. En France, des résultats d'analyses de selles chez le chien font état de 13/129 prélèvements positifs, soit 10%. Chez des chiens adultes diarrhéiques, d'autres affections ont été retrouvées en association (insuffisance pancréatique, coinfection à *Candida albicans*, *Toxocara canis*, *Giardia duodenalis*) (Chermette et Blondel, 1989a). Le chat peut également être excréteur.

2.1.1.2. Les animaux sauvages

La présence de *Cryptosporidium sp.* a été retrouvée chez la plupart des mammifères dans le monde, dont certaines espèces sauvages telles que les Chiroptères et les Marsupiaux (A. Follet, communication personnelle). Par ailleurs, dans des environnements sans bétail, la fréquence des contaminations et les concentrations d'oocystes sont très significatives.

Lors d'une étude (Dumoulin *et al.*, 2000), il a été rapporté la présence de *Cryptosporidium parvum* dans les fèces de plus de 60% de rongeurs sauvages capturés, ce qui souligne le rôle important que ces animaux pourraient jouer en tant que réservoir (portage et transmission du parasite à l'Homme). Et ce d'autant que quelques cas humains sporadiques contaminés par *Cryptosporidium parvum* ont été rapportés à une souche d'origine bovine, de sous-génotype B, initialement isolée chez le cerf (Guyot *et al.*, 2001 ; Ong *et al.*, 2002).

C'est la raison pour laquelle, l'intérêt pour les cryptosporidies dans la faune sauvage est actuellement croissant.

Par ailleurs, des génotypes nouveaux de *Cryptosporidium parvum* (génotypes 3 et 4, identifiés respectivement chez des cerfs et chez l'écureuil, *Peromyscus leucopus* et le rat musqué) ont été décrits récemment aux USA (Perz et Le Blancq, 2001).

2.1.2. Facteurs de variabilité de l'émission parasitaire animale

Divers facteurs modulent les risques de contamination environnementale par les cryptosporidies. Il s'agit de facteurs liés aux parasites, aux hôtes, aux modes d'élevage et à l'environnement.

2.1.2.1. Facteurs liés aux parasites

L'espèce *Cryptosporidium parvum* est ubiquiste et peu spécifique, capable d'infecter de nombreuses espèces de mammifères. Le potentiel zoonotique est cependant variable et dépend des divers génotypes aujourd'hui décrits.

Parmi les éléments facilitant les modalités d'infection et/ou modifiant l'excrétion, on retient en particulier :

- la prolificité importante des cryptosporidies, due aux particularités du cycle infectieux (Annexe 3),
- l'infectiosité immédiate des oocystes rejetés dans les excréments responsables d'une contagion facile par ingestion ;
- la grande résistance de ces oocystes dans l'environnement.

2.1.2.2. Facteurs liés aux animaux

Ces facteurs prennent en compte :

- l'espèce animale hôte (grande réceptivité des ruminants domestiques et sauvages);
- la classe d'âge des animaux (les jeunes sont beaucoup plus réceptifs et sensibles que les adultes);
- l'état de santé des animaux (excrétion oocystale plus importante en cas de diarrhée que lors d'une infection asymptomatique) ;
- le statut d'animal domestique ou sauvage (promiscuité avec l'Homme plus grande avec des espèces domestiques, mais rôle plus insidieux et moins maîtrisable de la contamination environnementale par les espèces sauvages).

2.1.2.3. Facteurs liés aux modes d'élevage

Le mode d'élevage des animaux peut intervenir à différents niveaux :

- selon le type d'élevage : chez les bovins, comme on l'a vu, la prévalence de la cryptosporidiose est plus élevée chez les veaux des élevages allaitants par rapport à des veaux d'élevage laitier en engraissement. En effet, dans le premier cas, les veaux demeurent avec leurs mères ; dans le second cas, les veaux essentiellement mâles, un peu plus âgés donc moins réceptifs et *a priori* en bonne santé, sont acheminés vers les ateliers d'engraissement ;
- selon la méthode d'élevage : sont à prendre en compte des paramètres tels que le caractère traditionnel ou industriel de l'élevage, le type de maternité (collective ou non), l'élevage des veaux (box individuel ou non), les facteurs hygiéniques (paillage, nettoyage, ventilation, alimentation), la stabulation entravée ou libre, l'emploi permanent tout au long de l'année ou non de pâturages utilisés pour des animaux d'espèces ou de catégories d'âge différentes ou non, la réutilisation de litière éventuellement contaminée pour d'autres espèces (ex. chevaux/bovins), et/ou comme fumure en épandage sur les pâtures ;
- selon le type d'exploitation : au regard du nombre d'animaux présents (de quelques dizaines à plusieurs centaines chez les bovins par exemple), de la taille des parcs disponibles, du devenir et de la maîtrise des effluents (lisiers, fumiers) ;

- selon les liens éventuels des élevages avec la faune sauvage réceptive présente sur les pâturages ou dans les bâtiments d'élevage (ruminants sauvages, sangliers, carnivores sauvages, rongeurs, etc.). Par ailleurs, un transport passif d'oocystes peut être envisagé par divers animaux non réceptifs tels que des invertébrés annélides ou des arthropodes ;
- selon la localisation des élevages au regard de la densité géographique (zones à forte densité d'élevages ou non), du caractère plus ou moins urbanisé des zones concernées, de la présence de ressources alimentaires et hydriques éventuellement polluées destinées aux animaux (recyclage, entretien des cryptosporidioses animales) ou à l'Homme (eau de boisson, maraîchage, zones récréatives et de loisirs avec baignades...).

➤ **POINTS A RETENIR 4**

1.S'agissant de l'excrétion oocystale par les animaux :

- Les infections à *Cryptosporidium parvum* touchent de nombreuses espèces de rente, notamment les ruminants, ainsi que certaines espèces d'animaux domestiques et sauvages ;
- Les animaux les plus jeunes sont à la fois les plus réceptifs et les plus sensibles à l'infection par *Cryptosporidium*, et les diarrhées néo-natales peuvent être parfois graves et sources de contamination environnementale
- En ce qui concerne les ruminants :
 - le taux de prévalence moyen chez les veaux varie de 18% à 60%
 - ce taux paraît supérieur chez les veaux issus de troupeaux allaitants par rapport aux veaux laitiers. L'excrétion fécale est très élevée de l'ordre de 7.10^6 oocystes/g de fèces et jusqu'à 20.10^9 oocystes/g au pic d'excrétion chez le veau malade.
 - chez les caprins, le taux de prévalence moyen est de l'ordre de 55 %. L'excrétion est plus élevée que chez les veaux. La contamination des animaux semble favorisée par le regroupement des mises-bas sur une seule saison.
 - peu de données sont disponibles chez les ovins ;
- S'agissant de l'espèce équine, les adultes paraissent aussi touchés que les poulains. Il semble exister une corrélation, inconstante, entre la contamination de la jument et celle de son poulain. Il a été observé des contaminations croisées sur des exploitations mixtes (bovins-chevaux) par le biais de partage de pâtures ou de paille.
- Les porcs sont moins réceptifs et sensibles à l'infection à *Cryptosporidium* que les ruminants;
- Pour ce qui concerne les carnivores domestiques, peu de données sont disponibles. Un portage de l'ordre de 10 % chez les chiens est rapporté et des espèces autres que *Cryptosporidium parvum* semblent fréquentes ;
- Quant aux animaux sauvages, leur rôle comme réservoir et dans la diffusion de *Cryptosporidium parvum* est croissant avec, de plus, l'apparition de géotypes nouveaux et des espèces non *parvum*.

2.S'agissant des facteurs de variation de cette émission :

- Des facteurs liés aux parasites, aux animaux et aux modes d'élevage peuvent influencer l'émission ;
- En ce qui concerne les modes d'élevage, les zones à forte densité animale, les zones urbanisées, la proximité de ressources alimentaires et hydriques constituent des facteurs de risque supplémentaires.

2.2. Implication de l'Homme dans l'émission de *Cryptosporidium parvum*

Au contraire de la plupart des autres coccidies qui parasitent l'Homme, les oocystes de *Cryptosporidium sp.* sont sporulés et infectants dès leur élimination fécale. Par conséquent, la transmission inter-humaine, soit par contact direct (entourage, partenaires sexuels, enfants, personnel hospitalier), soit par contact indirect via l'alimentation ou certains supports (couches contaminées) est une caractéristique de la cryptosporidiose humaine. L'auto-infestation est biologiquement possible.

2.2.1 Rôle de l'Homme dans le cycle parasitaire

Le rôle de l'Homme dans la contamination de l'environnement par des oocystes de *Cryptosporidium sp.* est capital pour 3 raisons :

- la transmission inter-humaine est une des caractéristiques du cycle parasitaire;
- *Cryptosporidium parvum* de génotype I (humain) semble être une variété anthroponotique (on ne la retrouverait que chez l'Homme bien qu'elle ait été rapportée une fois chez un singe et une fois chez un dugong) ;
- *Cryptosporidium parvum* de génotype I est responsable de près de la moitié des épidémies humaines rapportées jusqu'à maintenant dans le monde, y compris dans des pays où la variété dominante est *Cryptosporidium parvum* de génotype II (bovin) (Guyot *et al.*, 2001) (Tableau 7).

Tableau 7 : Répartition des cas de cryptosporidiose recensés en fonction de l'épidémiologie, du statut immunitaire des malades et du génotype des souches incriminées (Source : Guyot *et al.*, 2001)

Pays	Cas sporadiques		Epidémies	
	Génotype I (humain)	Génotype II (bovin)	Génotype I (humain)	Génotype II (bovin)
USA	4	5	46	10
Pérou	67	8	?	?
Australie	77	14	?	?
GB	531	919	351	298
Pays Bas	9	23	42	1
France	18	29	?	?
Patients VIH Positif				
USA	38	9		
Guatemala	4	0		
Kenya	4	1		
France	18	22		
Suisse	2	7		
Italie	0	12		
GB	0	6		
Pays Bas	4	0		

L'Homme est un hôte apparemment bien adapté à *Cryptosporidium parvum* d'origine animale, notamment pour la variété touchant le veau. En effet, l'infection expérimentale humaine avec la variété bovine de *Cryptosporidium parvum* permet d'amplifier jusqu'à presque 2 millions de fois la population des parasites inoculés (Chappell *et al.*, 1996). L'infection humaine à partir d'un inoculum assez faible de 100 oocystes d'une souche de *Cryptosporidium parvum* de génotype I induit, quant à elle, une amplification du nombre d'oocystes éliminés dans l'environnement du même ordre (Chappell et Okhuysen, 2000).

2.2.2 Durée et quantité d'oocystes excrétés par l'Homme

- **S'agissant des conditions naturelles d'excrétion**

Dans 70% des cas, l'excrétion d'oocystes, après arrêt de la diarrhée, est détectable dans les selles pendant 7±4 jours (1-15 jours) (Jokipii et Jokipii, 1986) et peut se prolonger pendant 18 à 90 jours.

- **S'agissant des infections expérimentales humaines**

Les principales conclusions tirées des expérimentations humaines fondées sur l'ingestion d'inoculum parasitaires d'origine animale et humaine (travaux du groupe de Chappell), sont les suivantes :

- il existe un délai de l'ordre d'une semaine entre l'ingestion et l'apparition des signes cliniques ;
- l'excrétion sporadique d'oocystes se poursuit pendant une durée pouvant aller jusqu'à un mois après l'ingestion ;
- il n'existe pas de corrélation claire entre la taille de l'inoculum, la gravité des symptômes et/ou les quantités d'oocystes excrétés ;
- le nombre cumulé d'oocystes excrétés peut dépasser 10⁸.

- **S'agissant des porteurs asymptomatiques**

Ils constituent un danger potentiel de dissémination parasitaire mais représentent une faible proportion de la population générale. Elle est de l'ordre de 0,4 à 3 % selon l'âge des individus. (Holten-Andersen *et al.*, 1984 ; Isaacs *et al.*, 1985 ; Jokipii *et al.*, 1985 ; Mata *et al.*, 1984 ; Tzipori *et al.*, 1983).

2.2.3 Devenir des oocystes excrétés par l'Homme

Tout comme pour les oocystes excrétés par les animaux, les temps de survie des oocystes dans l'environnement sont longs, de l'ordre de plusieurs mois. Cette résistance favorise la dissémination des parasites, le contact avec de nouveaux hôtes et la possibilité de produire de nouvelles générations d'oocystes. L'ensemencement régulier des courants et des lacs assure ainsi le maintien de la présence des *Cryptosporidium spp.*

➤ POINTS A RETENIR 5

- *Le rôle de l'Homme dans le cycle parasitaire est établi notamment par l'existence d'une transmission inter-humaine ;*
- *Le portage asymptomatique est de l'ordre de 0,4 à 3 % selon l'âge des individus ;*
- *L'excrétion humaine d'oocystes se poursuit 1 semaine en moyenne après l'arrêt de la diarrhée mais peut se pérenniser jusqu'à 90 jours après l'arrêt ;*
- *Expérimentalement, il n'existe pas de corrélation claire entre la taille de l'inoculum ingéré, la gravité des symptômes et la quantité d'oocystes excrétés.*

2.3. Facteurs limitant l'émission du danger

2.3.1. La survie des oocystes dans l'environnement

Aucune donnée n'étant disponible pour la France, les informations présentées sont essentiellement de source nord-américaine.

Les oocystes de *Cryptosporidium* peuvent rester viables et infectieux dans l'eau et dans les fèces animales pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0 et 30°C, ils ne peuvent pas se multiplier dans l'environnement. La plupart des études de survie a été pratiquée en laboratoires, et très peu en conditions naturelles.

- **Survie des oocystes dans les matières fécales**

Des essais de viabilité ont été réalisés sur des pools de matières fécales de veaux à 4°C (Jenkins *et al.*, 1997) montrant la persistance de 10 % d'oocystes viables à 410 jours (diminution de 88 % de l'infectiosité initiale) et 14 % de viabilité au bout de 259 jours (diminution de 77 % de l'infectiosité initiale).

Dans la revue de Walker *et al.* (1998), trois paramètres physico-chimiques paraissent influencer la survie des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans les matières fécales bovines :

- la température : les températures élevées (60°C au cœur d'un tas de fumier), ainsi que les alternances des phases gel-dégel tendent à minorer la survie des oocystes ;
- le temps : l'étude à l'obscurité et à température ambiante, pendant 176 jours, montre une réduction de la viabilité de 47 % ;
- la concentration en ammoniacque : dans un modèle de simulation, à la concentration de 2000 mg/l et pendant 5-6 jours, ce composé peut entraîner une inactivation des oocystes de près de 100 %.

Dans la revue de Rose *et Slifko* (1999), la survie des oocystes est suivie dans les matières fécales, pendant 6 mois : pour l'Homme, une inactivation de 41 à 99 %, est observée à 4°C et pour les bovins, l'inactivation atteint 60 à 72 %, entre 5 et 10°C.

- **Présence d'oocystes dans les fumiers et les lisiers**

Lors d'une étude en Pennsylvanie (Graczyk *et al.*, 2000), 64 % des fermes ont montré un prélèvement de fumier positif pour *Cryptosporidium sp.* La charge parasitaire des fumiers bovins (veaux et adultes) des exploitations était en moyenne de 69 oocystes par gramme (technique d'immunofluorescence avec anticorps monoclonaux de groupe). La moyenne passe à 118 oocystes par gramme lorsque l'on considère uniquement les fumiers positifs (variation de 90 à 371 oocystes par gramme). Il convient de souligner des contaminations plus élevées pour les fumiers de veaux.

Selon Hooda *et al.* (2000), moins de 8% des oocystes retrouvés sur la litière s'infiltrant et leur viabilité diminue rapidement lors du compostage (Hooda *et al.*, 2000) : l'épandage de fumier bien composté représenterait un faible risque de lessivage. Toutefois, d'autres études montrent une survie dans le lisier de plus de 21 jours avec la possibilité de migrer dans le sol et de contaminer les eaux de surface.

- **Survie des oocystes dans l'eau**

Les oocystes de *Cryptosporidium* peuvent rester viables et infectieux dans l'eau pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0 et 30°C et jusqu'à un an dans de l'eau de mer (Fayer *et al.*, 1998b ; Robertson *et al.*, 1992 ; Tamburrini et Pozio, 1999).

La viabilité et l'infectiosité des oocystes survivants ont été étudiées dans l'eau de distribution maintenue pendant 8 semaines à 2 températures différentes (4°C et 10°C). Les comptages effectués par recueil des oocystes par IMS et marquage spécifique ont montré qu'après 4 semaines de séjour à 10°C le pourcentage d'oocystes survivants était de 67%, 48% après 6 semaines et 27% après 8 semaines. A 4°C on obtenait dans les mêmes temps des survies de 95%, 90% et 88% respectivement.

Le dékystement des oocystes survivants à 4°C décroissait rapidement en 2 semaines et se stabilisait à 30% jusqu'à 8 semaines alors qu'il décroissait régulièrement à 10°C. L'infectiosité des oocystes survivants décroissait de 40% à 10°C, en 6 semaines et seulement de 15% par conservation à +4°C et ceci quelle que soit la quantité d'oocystes survivants.

➤ **POINTS A RETENIR 6**

- *Les oocystes ne se multiplient pas dans l'environnement ;*
- *Les oocystes sont viables entre 0 et 30°C durant plusieurs mois dans l'environnement (eau, matières fécales, eau de mer) ;*
- *La contamination des eaux de surface est favorisée par la pratique de l'épandage et le ruissellement d'eaux souillées en cas de fortes pluies ;*
- *La survie des oocystes de *Cryptosporidium parvum* est diminuée par des paramètres physico-chimiques tels que de fortes températures, l'obscurité, la concentration tellurique en ammoniacale. Par ailleurs, la pratique du compostage contribue également à cette diminution ;*
- *Dans l'eau de distribution, le taux de survie et d'infectiosité des oocystes est supérieur pour une température de 4°C par rapport à 10°C ;*
- *La végétation a un effet protecteur sur la viabilité des oocystes en favorisant le micro-enfouissement des oocystes dans le sol.*

2.3.2. Le traitement des effluents d'élevage

Toute activité d'élevage présentant un risque de nuisance pour l'environnement est encadrée par des règles relevant soit du régime des Installations Classées (IC), soit du Règlement Sanitaire Départemental (RSD) selon l'importance et le type d'élevage (tableau 8).

➤ **Les Installations Classées**

La réglementation des Installations Classées²⁹ se décline en 2 régimes selon l'effectif de l'élevage: le régime d'autorisation et le régime de déclaration. Sont exclus du champ de la réglementation des installations classées les regroupements exceptionnels, les élevages de génisses reproductrices ou de taureaux reproducteurs.

S'agissant des prescriptions techniques applicables aux installations soumises à déclaration, différents critères sont requis :

- des règles d'implantation par rapport à des habitations ou des locaux occupés par des tiers, aux cours d'eau ou toute autre structure environnementale ;
- des règles d'aménagement relatives aux ouvrages ;
- des règles d'exploitation concernant l'élimination des déchets et l'épandage des déjections pour lequel existent certaines règles dont le respect de distances minimales par rapport aux points d'eau pour l'Homme, aux lieux de baignades, aux sites de pisciculture, aux cours d'eau et l'interdiction pendant les périodes de fortes pluviosités. La gestion de ces effluents s'appuie sur le principe général de l'épuration naturelle par le sol et son couvert végétal.

²⁹ loi 76-663 du 19/07/76 référencée désormais par les articles L511-1 à L511-2 du code de l'environnement, décret d'application 77-1133 du 21/09/77

S'agissant des prescriptions techniques applicables aux installations soumises à autorisation, elles sont similaires à celles décrites pour les installations soumises à déclaration. Il s'y ajoute, cependant, des prescriptions spécifiques qui sont définies pour chaque élevage dans l'arrêté d'autorisation pris par le préfet. Des arrêtés ministériels précisent ces règles selon les espèces. Pour ce qui concerne les fumiers et les effluents liquides, ils peuvent être traités par épandage, par une station d'épuration ou par un site spécialisé. Des justificatifs de l'épandage de déjections sont à fournir à l'administration par les exploitations relevant du régime des Installations Classées (plan d'épandage, cahier d'épandage).

Des délais sont prévus pour la mise en conformité des installations classées d'élevage. Les dates limites souvent dépassées sont le 31/12/99 pour les bovins et porcins et le 31/12/2001 pour les volailles.

Tableau 8 : Réglementation des élevages relative aux effluents, en fonction des effectifs des élevages.

	Règlement Sanitaire Départemental (n)*	Installations Classées (n)	
		Régime de déclaration	Régime d'autorisation
Vaches laitières ou mixtes	<40	40-80	>80
Vaches allaitantes	<40	≥40	
Veaux de boucherie- bovins à l'engraissement	<50	50-200	>200
Porcs de plus de 30 kg en bâtiment ou en plein air*	<50	50-450	>450
Volailles animaux- équivalent de plus d'un jour	<5000	5000-20000	>20000
Ovins, caprins, équins	Toujours		
Chiens		10-50	>50

*n = effectif de l'élevage, prenant en compte des règles d'équivalence en fonction de l'espèce et du poids des animaux. La notion d'équivalence ne s'applique que pour les installations classées.

➤ **Le règlement sanitaire départemental**

Il s'agit d'un texte de référence qui permet d'imposer des prescriptions en matière d'hygiène et de protection de l'environnement pour les élevages dont les activités ne relèvent pas de la réglementation sur les installations classées. Il s'agit d'une procédure de déclaration avec dossier à remettre au maire de la commune qui en transmet un exemplaire à la DDASS pour avis. Les prescriptions sont comparables à celles fixées pour les installations classées avec quelques différences qui peuvent porter sur les capacités de stockage ou les modalités d'épandage.

L'arsenal réglementaire existe mais son application est partielle en raison des retards dans les échéances de mise aux normes (fin 1999 pour les Installations Classées concernant les bovins et les porcs).

2.3.3. Le traitement des effluents humains

Les effluents d'origine humaine font l'objet soit :

- d'une collecte par des réseaux d'eaux usées raccordés à des stations d'épuration avant rejet dans le milieu naturel, dans la majorité des cas une rivière, un fleuve ou la mer ;
- d'un passage dans une fosse septique desservant une ou quelques habitations, avant d'être épandus dans le sol ou dans certains cas d'être filtrés avant rejet dans le milieu naturel ;
- d'un stockage, dans certaines situations particulières, dans une fosse étanche suivi d'un pompage périodique par un camion de vidange et dépotage dans une station d'épuration équipée pour recevoir ces matières ou épandage sur des terrains.

Les espèces de microorganismes rencontrés et les concentrations observées dans les eaux usées dépendent de divers facteurs. Elles peuvent varier au cours du temps. Les niveaux de contamination en oocystes de *Cryptosporidium* peuvent être importants : 3 000 à 5 000/L. en moyenne et jusqu'à 10^7 /L (Lesne, 2001). Les procédés de traitement primaire des stations d'épuration concentrent les microorganismes avec les boues. Si les traitements usuels appliqués aux eaux et aux boues de station d'épuration permettent un abattement important, une partie des matières organiques et des microorganismes contenus dans les effluents se retrouve dans les rejets de la station. Des teneurs moyennes de l'ordre de 10 *Cryptosporidium* par litre ont été retrouvées dans les effluents secondaires de stations d'épuration biologique (Haas et Trussel, 1998 ; Madore *et al.*, 1987 ; Rose *et al.*, 1991 ; Sykora *et al.*, 1991).

2.4. Diffusion du danger

La diversité des hôtes potentiels de *Cryptosporidium spp.* et la résistance des oocystes dans l'environnement conduit à considérer plusieurs facteurs intervenant dans la diffusion du danger, en premier lieu à partir des sources de matières fécales, animales et humaines et, secondairement par diffusion passive (ruissellement) et infiltration des sols. Certains de ces facteurs sont assez bien caractérisés, notamment ceux qui sont liés à une activité humaine. D'autres restent difficiles à évaluer, en particulier le réseau hydrographique, la pédologie, le type de végétation, la climatologie. Ils peuvent favoriser ou non la résistance des oocystes, leur accumulation, leur accessibilité aux espèces réceptives (ruissellement, infiltration, etc.).

2.4.1. Diffusion passive à partir des sources de contamination fécale animale

Elle a été mise en évidence dans plusieurs études. La recherche d'oocystes dans les ruisseaux autour de 11 fermes bovines laitières au nord-est des Etats-Unis (Sischo *et al.*, 2000) montre que 36% de ces ruisseaux sont contaminés. L'épandage sur les champs apparaît comme le facteur de risque principal.

Lors d'un suivi de 18 mois dans une exploitation en Grande Bretagne (Hooda *et al.*, 2000), il a été montré que 70 % des eaux de surface autour de l'exploitation sont contaminées par *Cryptosporidium*. Une corrélation avec les fortes pluies, et non avec l'épandage, a été mise en évidence. C'est ainsi que des fuites accidentelles d'eaux de ruissellement souillées vers les fossés de drainage plutôt que vers des fosses à lisier, peuvent représenter une source importante d'oocystes viables.

2.4.2. Diffusion passive à partir des sources de contamination fécale humaine

La diffusion à partir de sources de contamination fécale humaine peut se faire principalement par les rejets d'eaux issues des stations d'épuration et par l'épandage des boues produites par ces installations. Par ailleurs en cas de surcharge des installations en période de fortes pluies ou de dysfonctionnement des installations, l'eau des réseaux d'égout est rejetée directement dans le milieu naturel par les déversoirs d'orage ou par by-pass d'une partie des ouvrages. De plus en plus, les installations d'assainissement sont équipées pour traiter la partie la plus importante des eaux pluviales.

Pour réduire le niveau de contamination microbienne des rejets d'eaux usées, des dispositifs de décontamination peuvent être envisagés. Dans ses recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines d'octobre 1995³⁰, la section Eaux du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) attire l'attention sur le fait que, la désinfection des effluents urbains déversés en amont des prises d'eau destinées à la consommation, dans le but d'atteindre l'objectif de qualité fixé pour les eaux brutes, ne constitue pas une solution adaptée. Une réflexion est en cours au sein du CSHPF Eaux pour actualiser cette position. Le rapport du CSHPF sur les risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines diffusé par la circulaire DGS n° 97/655 du 30 septembre 1997, fixe différentes règles qui conduisent à limiter la diffusion des germes pathogènes.

- Il indique que l'épandage des boues ou des produits qui en sont dérivés, purs ou en mélange, sur les champs de culture de produits maraîchers et des produits consommés crus et en contact avec le sol, ainsi que sur les terrains de sport ou de loisir et en forêt ouverte au public, nécessite l'emploi de produits traités et hygiénisés³¹.
- La culture de produits maraîchers ou de produits consommés crus et en contact avec le sol, la pratique de sports ou les activités de loisirs, sont interdites sur les terrains ayant reçu un épandage de boues non hygiénisées ou de produits dérivés depuis moins de douze mois.
- Pour les terrains ayant reçu des boues et consacrés à d'autres usages, la gestion du risque sanitaire biologique peut être faite par la limitation de l'exposition des populations sensibles, humaines ou animales, grâce à des contraintes d'usage, convenablement appliquées à des produits traités.
- Les boues et les produits dérivés non traités sont très fortement déconseillés pour l'épandage. Si toutefois celui-ci s'avérait la seule solution possible, notamment pour les boues issues d'installation d'épuration de très faible capacité, l'enfouissement dans les sols dans les 24 heures suivant l'épandage, est à imposer en complément des contraintes d'usage générales applicables.

³⁰ Ce rapport a été diffusé par la circulaire n° 98/426 du 10 juillet 1998 du ministre de l'emploi et de la solidarité, de la ministre de l'aménagement du territoire et de l'environnement et du ministre de l'agriculture et de la pêche.

³¹ Au titre de ce rapport, les boues sont considérées comme hygiénisées quand à la suite de traitement spécifiques les 3 types d'agents pathogènes (*Salmonella*, Entérovirus et œufs d'helminthe viables) sont non détectables. Les performances des filières de traitement sont évaluées pour les œufs d'helminthe parce qu'ils sont doués d'une très grande résistance et parce qu'on dispose de méthodes de mesure permettant d'obtenir une information utile pour la gestion des situations

Le rapport définit également des recommandations sur les contraintes d'utilisation des boues autorisées pour l'épandage : plan d'épandage, stockage, transport... L'épandage est notamment interdit à certaines distances des ressources en eau, lorsque le sol est saturé d'eau, si la pente des terrains est supérieure à 7%. D'une manière générale, la capacité d'absorption des sols ne doit pas être dépassée afin d'éviter la stagnation prolongée sur le sol, le ruissellement en dehors des champs d'épandage ou une percolation rapide vers les eaux souterraines.

Par ailleurs, pour éviter la diffusion des germes de contamination fécale vers des réseaux d'eaux destinées à la consommation humaine lorsque cette eau est utilisée sur des installations d'eaux usées ou pour nettoyer des matériels souillés, des règles prévoient que des dispositifs de sécurité doivent être mis en place pour éviter des retours d'eau ou des contaminations directes. De même, des précautions doivent être prises lors de l'installation des réseaux d'eaux usées et des réseaux d'eaux d'alimentation et des travaux sur ces ouvrages pour éviter l'introduction d'eaux usées dans les réseaux d'eau potable.

2.4.3. Infiltration - Nature des sols

Des analyses montrent la présence de cryptosporidies dans des eaux souterraines. Le devenir de ces parasites dépend largement des caractéristiques des sols. Certains sols, par exemple des alluvions constitués de sables et graviers, peuvent jouer un rôle de filtration lente et arrêter les oocystes. D'autres types de sol vont permettre une large circulation des parasites : c'est le cas des zones karstiques et d'une manière plus générale des terrains dans lesquels existent des microfissurations. La présence dans les sols de certains ouvrages tels des galeries de mines, des réseaux de drainage peuvent faciliter la circulation. L'étude hydrogéologique d'une zone permet ainsi d'évaluer les conditions de circulation des eaux dans les sols et les possibilités de contamination à partir des eaux superficielles.

2.4.4. Contamination des rivières et de la mer

➤ En ce qui concerne les rivières, le niveau de contamination dépend de l'ensemble des apports reçus dans le bassin versant, notamment des écoulements de pollutions diffuses et des rejets des stations d'épuration des eaux usées. Le mélange de l'eau de ces rejets avec les eaux d'une rivière dépend des débits respectifs et de la configuration des lieux. La zone de mélange peut être très étendue, ce qui influe sur les teneurs en germes qui peuvent différer dans une même section d'un cours d'eau, et donc dans les captages d'eau qui en dépendent selon leurs positions sur une berge ou l'autre.

Le niveau général de contamination d'un cours d'eau varie dans le temps en fonction de son régime hydraulique notamment selon les périodes de pluie ou lors des étiages. Dans les eaux de surface, compte tenu des méthodes d'analyse actuelles, la majorité des échantillons montre la présence de cryptosporidies, dont les teneurs varient de 0,001 à 100 oocystes par litre.

➤ En ce qui concerne la contamination de l'eau de mer, il n'existe pas de données publiées. Cependant, la contamination avérée des coquillages marins par *Cryptosporidium parvum* démontre la présence de ce parasite dans l'eau de mer. Dans une étude, le niveau de contamination des coquillages était d'autant plus élevé que la distance séparant le lieu d'échantillonnage et l'estuaire d'une rivière bordée d'élevages était faible, suggérant fortement une diffusion passive à partir d'un réservoir animal (Gomez-Bautista *et al.*, 2000).

➤ **POINTS A RETENIR 7**

- la diffusion des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans l'environnement est favorisée par l'épandage, les débordements d'eau de ruissellement souillées et la nature des sols (par exemple, les zones karstiques favorisent la circulation et la diffusion des oocystes) ;
- une diffusion passive des oocystes à partir de réservoirs animaux est probable.

3. APPRECIATION DE L'EXPOSITION

3.1. Appréciation de la contamination

Aucune donnée officielle ne permet d'appréhender le niveau de contamination des aliments ou des eaux de distribution en France dans la mesure où ce parasite ne fait pas l'objet d'une réglementation imposant son contrôle systématique. De plus, il n'existe pas, à ce jour, de réseau constitué d'épidémiologie-surveillance de ce pathogène.

Seules des enquêtes ponctuelles permettent d'obtenir des informations très parcellaires sur des cas de contamination et permettent d'estimer le risque spécifique consécutif à cette contamination. C'est, par exemple, le cas des données transmises, en janvier 2001, à l'Agence dans le cadre de la saisine concernant la source AA (Tableau 15) qui servent de base à l'évaluation réalisée dans le chapitre VI.

3.2. Appréciation de la consommation

3.2.1 Méthodologie

En France, une source de données disponible est l'enquête Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires (INCA) réalisée en 1999 (INCA, 2000). Cette enquête renseigne sur les consommations quotidiennes individuelles des différentes catégories de produits. Elle consiste à recueillir toutes les prises alimentaires des individus pendant une semaine entière. Les données de consommation alimentaire ont été obtenues à partir de carnets de consommation, renseignés sur une période de 7 jours consécutifs par les enquêtés. Ces données sont exprimées en gramme consommé par jour.

Les résultats de l'enquête sont disponibles pour 2492 individus enfants et adultes représentatifs de la population française (après exclusion des « sous-estimateurs »). La représentativité nationale de l'échantillon a été assurée par stratification (région d'habitation et taille d'agglomération) et par la méthode des quotas (âge, sexe, PCS individuelle et taille du ménage).

3.2.2 Données de consommation

D'après les enseignements tirés des différentes épidémies (Tableau 2 et Tableau 6), les aliments jugés d'intérêt dans cette enquête INCA sont les suivants :

- les coquillages consommés crus : clams, palourdes, praires, coquilles Saint Jacques et huîtres ;
- les moules consommées cuites ;
- les légumes consommés crus : carotte, céleri branche, céleri-rave, champignon, chou rouge, chou-fleur, concombre, germe de soja, haricot vert, poivron rouge, vert, jaune, radis, radis noir, tomate, crudités sans précision, crudités dans les sandwiches ;

- les salades : chicorée frisée, cresson, endive, épinard, laitue, mâche, oseille, pissenlit, pourpier, salade verte, persil, cerfeuil, ciboulette, salade sans précision, salade verte dans les sandwichs ;
- les fruits : abricot, cassis, cerise, figue, fraise, framboise, groseille à maquereau, groseille, mirabelle, mûre ronce, mûre noire, myrtille, pêche non pelée, poire non pelée, pomme non pelée, nectarine non pelée, prune reine-claude, raisin blanc et noir ;
- le lait : le lait demi écrémé pasteurisé, le lait demi écrémé UHT, le lait écrémé UHT, le lait entier cru, le lait entier pasteurisé et le lait entier UHT ;
- l'eau du robinet.

Les données de consommation pour ces différents aliments sont exprimées en termes de moyenne et d'écart-type dans le [Tableau 9](#).

Tableau 9 : Consommation d'aliments : moyenne (écart – type) en grammes par jour (Source : INCA, 2000)

Aliments	Age	[2-8]ans]8-14]ans	[2-14]ans]14-60]ans	>60 ans	>15 ans
coquillages crus*		0,175 (1,944)	0,068 (0,797)	0,122 (1,489)	0,38 (3,61)	0,74 (3,54)	0,46 (3,60)
moules cuites		0,39 (1,77)	0,55 (2,91)	0,467 (2,406)	0,86 (2,86)	0,88 (3,07)	0,86 (2,90)
légumes crus		19,41 (22,86)	23,88 (27,92)	21,63 (25,59)	33,13 (35,02)	29,10 (34,27)	32,29 (34,89)
salade		4,10 (7,37)	7,12 (9,74)	5,60 (8,76)	15,63 (16,20)	17,80 (16,20)	16,08 (16,22)
fruits frais		37,95 (49,78)	41,74 (60,91)	39,84 (55,60)	64,33 (86,55)	131,62 (127,03)	78,34 (100,14)
Lait (sauf lait maternel)		234,79 (128,89)	197,31 (149,36)	216,16 (140,63)	120,71 (127,57)	111,1 (128,8)	118,71 (127,85)
Eau de distribution (robinet)		238,42 (254,56)	283,93 (289,46)	261,04 (273,28)	288,94 (347,05)	201,09 (303,72)	270,64 (340,26)

*l'appellation « coquillages » est celle utilisée dans l'enquête « INCA »

4. APPRECIATION DES EFFETS CHEZ L'HOMME

4.1. La cryptosporidiose humaine

Chez l'Homme, la cryptosporidiose est de gravité variable suivant le terrain (Chapitre V.4.2. Facteurs de risque). Chez le sujet immunocompétent, la cryptosporidiose survient après une incubation de 7 ± 2 jours et de 12-13 jours chez les patients infectés par le VIH (Jokipii et Jokipii, 1986).

Les symptômes durent 12 ± 6 jours, pouvant se prolonger jusqu'à 40 jours, même chez les patients immunocompétents (Stehr-Green *et al.*, 1987). Les signes cliniques associant diarrhée aqueuse (en moyenne 6 à 12 selles par jour suivant les études), douleurs abdominales, asthénie, nausées, vomissements sont présents dans plus de 80% des cas. Une fièvre modérée (38° - $38^{\circ}5C$) est observée dans 40 à 60% des cas. On observe une perte de poids (en moyenne 4,5 kg) dans 50 à 75% des cas. Une hospitalisation est nécessaire dans un faible pourcentage de cas, principalement pour réhydratation. Les symptômes cliniques régressent spontanément mais des récurrences (définies par une réapparition de la diarrhée après un intervalle de 2 à 14 jours sans diarrhée) sont fréquentes (18-60% des cas) et durent en moyenne 2 jours. La durée d'émission des oocystes est de 3 à 8 jours (maximum rapporté: 90 jours). Celle-ci peut persister alors que les symptômes digestifs ont disparu. Le rôle épidémiologique des ces porteurs asymptomatiques est probablement important mais mal évalué.

A ce jour, il n'existe aucun traitement de la cryptosporidiose. Seules la paramomycine et la nitazoxanide ont une efficacité partielle sur les symptômes mais ne permettent pas d'éliminer le parasite.

Dans la population générale, la prévalence de la cryptosporidiose est faible. En France, la seule étude disponible portant sur 831 adultes non immunodéprimés montre une prévalence de 0,36% (Datry *et al.*, 2000).

Des études de cohorte prospectives en population générale avec recherche des principaux agents sur les selles d'un échantillon de personnes lors de la survenue de GEA³² ont été réalisées aux Pays-Bas (De Wit *et al.*, 2001) et en Angleterre (Wheeler *et al.*, 1999). Ainsi, dans l'étude des Pays-Bas, réalisée de décembre 1998 à décembre 1999 sur un échantillon de 4860 personnes, *Cryptosporidium sp.* a été retrouvé dans 14 (2%) des 706 selles analysées parmi les 1050 épisodes de GEA rapportés. Dans l'étude anglaise réalisée de 1993 à 1996 sur un échantillon de 9976 personnes, *Cryptosporidium sp.* a été retrouvé dans 3 (0,4%) des 781 selles analysées lors d'épisodes de GEA.

4.2. Facteurs de risques

Dans la cryptosporidiose humaine ou animale, l'âge et le statut immunitaire de l'hôte apparaissent comme des facteurs de risque essentiels. En revanche, le rôle des facteurs de virulence propres au parasite reste actuellement difficile à évaluer.

4.2.1. Facteurs de risque liés au parasite

Plusieurs espèces de cryptosporidies sont infectantes pour l'Homme (cf paragraphe 1.1), mais les études expérimentales de virulence n'ont été abordées que pour *C. parvum*.

Les facteurs de risque liés au parasite ont pu être estimés à partir des études réalisées chez des volontaires sains, non immuns vis-à-vis de *Cryptosporidium* (séronégatifs). Une première étude réalisée à partir d'une souche d'origine bovine (IOWA) a consisté à faire ingérer à des groupes de volontaires, des concentrations d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* comprises entre 30 et 10⁶ oocystes puis à évaluer l'infectivité sur le nombre de sujets présentant soit une infection (émission d'oocystes), soit des signes cliniques (associés ou non à l'émission d'oocystes) soit une cryptosporidiose. Cette étude a permis de déterminer une dose médiane infectante de 132oocystes (Dupont *et al.*, 1995). Suivant un protocole expérimental comparable (volontaires sains non-immuns), cette étude a été complétée avec 2 isolats de *Cryptosporidium parvum*, également d'origine animale (UCP et TAMU) dont l'un avait été responsable d'une contamination humaine (TAMU). Les doses infectantes 50 ont été respectivement de 87 pour la souche IOWA, 1042 pour la souche UCP et 9 pour la souche TAMU. Ces observations sont donc en faveur de la présence de facteurs de virulence liés au parasite (Okhuysen *et al.*, 1999). A ce jour aucun "marqueur" génétique ou biochimique pouvant être relié à un mécanisme physiopathologique de virulence n'a été identifié. La virulence chez l'Homme des autres génotypes de *Cryptosporidium parvum* et des autres espèces de cryptosporidies n'est pas connue. Cependant, des arguments expérimentaux obtenus chez l'animal indiquent une susceptibilité hôte-dépendante vis-à-vis de certains génotypes. En particulier, le génotype I apparaît très peu infectieux chez l'animal (Awad-El-Kariem *et al.*, 1998; Peng *et al.*, 1997; Widmer *et al.*, 1998).

4.2.2. Facteurs de risque liés à l'hôte

Sur la base d'observations épidémiologiques et expérimentales, le jeune âge et le déficit immunitaire de l'hôte sont les deux principaux facteurs de risque identifiés, aussi bien chez l'animal que chez l'Homme.

³² GEA : gastro-entérite aigüe

4.2.2.1. *Le jeune âge*

Chez l'animal, la plus forte prévalence et la susceptibilité chez les jeunes animaux ont été soulignées dans le paragraphe (2.1.1). En particulier, cette susceptibilité est exploitée pour réaliser le modèle expérimental d'infection sur "souriceau nouveau-né", utilisé pour l'évaluation de l'infectivité des oocystes. Chez l'Homme, la susceptibilité particulière de l'enfant n'est suspectée que sur des données épidémiologiques avec, en particulier, la survenue d'épidémies en crèche, associées à de forts taux de transmission inter-humaine (Cordell *et al.*, 1997). Cette seule observation ne permet pas de conclure à une susceptibilité particulière de l'enfant car d'autres facteurs interviennent dans la contamination du jeune enfant comme le fait d'être dans une collectivité confinée, avec une hygiène imparfaite (couches ; fuites ; manuportage par le personnel soignant). La cryptosporidiose est observée avec une fréquence plus élevée chez l'enfant de 1 à 3 ans, mais elle est moins fréquente chez l'enfant de moins d'un an (Cicirello *et al.*, 1997 ; Iqbal *et al.*, 2001). En France, peu de données épidémiologiques sont disponibles. Une étude multicentrique réalisée en 1995 chez 932 enfants de crèches hospitalières (non immunodéprimés et sans contexte pathologique digestif) rapporte une prévalence de 0,32%. Une étude réalisée en 1987 chez 260 enfants de crèche présentant une diarrhée a montré une prévalence de cryptosporidiose de 4,2% (Brasseur *et al.*, 1987). En 1990, lors d'une épidémie de gastro-entérite survenue dans une crèche hospitalière, la prévalence atteint 21% (11/53 enfants) alors qu'elle était de 5% (sur 103 épisodes diarrhéiques) en dehors de l'épisode épidémique et de 1,4% chez les enfants hospitalisés âgés de 2 mois à 10 ans (Bretagne *et al.*, 1990).

Enfin il faut préciser qu'en zone tropicale et dans des conditions socio-économiques défavorables, la cryptosporidiose de l'enfant s'associe à un risque de diarrhée prolongée, de malnutrition et éventuellement de retard de développement psychomoteur (Agnew *et al.*, 1998 ; Guerrant *et al.*, 1999).

4.2.2.2. *L'état immunitaire*

Le rôle de l'immunité dans la susceptibilité à l'infection par *Cryptosporidium* peut être évalué chez l'animal et chez l'Homme sur des données expérimentales et cliniques.

➤ **Chez l'Homme**, le rôle de l'immunité humorale (évaluée par la présence d'anticorps sériques dirigés contre des antigènes de *Cryptosporidium*) n'est pas bien connu. Il n'existe aucune étude de séroprévalence en France. A l'étranger, des valeurs de séroprévalence comprises entre 15 et 80% ont été rapportées aux Etats Unis, en Amérique du Sud, en Chine et en Europe (Italie, Allemagne) (Agnew *et al.*, 1998 ; Frost *et al.*, 2000 ; Kuhls *et al.*, 1994 ; Petry *et al.*, 1998 ; Zu *et al.*, 1994). La séroprévalence augmente avec l'âge (Frost *et al.*, 1998 ; Zu *et al.*, 1994) et apparaît dépendante des conditions d'alimentation en eau de distribution (Isaac-Renton *et al.*, 1999 ; McDonald *et al.*, 2001). Au décours de plusieurs épidémies, dont celle de Milwaukee, une forte augmentation de la séroprévalence a été observée chez les sujets exposés (McDonald *et al.*, 2001 ; Pozio *et al.*, 1997). Le rôle de ces anticorps sériques est mal défini sachant que l'immunité locale est prédominante sur une infection digestive (Flanigan, 1994). Deux études sur volontaires sains indiquent cependant une moindre réceptivité à l'infection des sujets préalablement infectés par *Cryptosporidium parvum* ou présentant des anticorps sériques spécifiques. Dans une étude, les volontaires ont été ré-infectés par la souche IOWA utilisée pour la primo-infection (Okhuysen *et al.*, 1998) ; dans l'autre, les infections expérimentales ont été réalisées chez des sujets ayant une sérologie positive, mais sans documentation sur la date et la nature de la primo-infection (Chappell *et al.*, 1999) :

- La première étude conclut à un rôle protecteur partiel de l'immunité induite par la primo-infection, du fait d'une réduction de l'excrétion d'oocystes et de l'intensité de la diarrhée chez les sujets préalablement infectés. Cependant, l'absence de corrélation entre le titre des anticorps et l'effet sur l'excrétion parasitaire n'élimine pas la possibilité que la protection soit due à l'immunité cellulaire ;
- La deuxième étude montre que chez les sujets immuns, la DI_{50} de la souche IOWA (évaluée sur les sujets présentant une infection présumée) est augmentée d'un facteur 23. Ces résultats doivent cependant être considérés avec réserve, compte tenu des faibles effectifs étudiés et des différences méthodologiques d'évaluation de l'infection.

Enfin, chez les patients atteints de SIDA, il a été démontré la persistance d'une réponse immunitaire digestive humorale non protectrice vis-à-vis de la cryptosporidiose (Benhamou *et al.*, 1995). Compte tenu de ces réserves, le facteur "immunité humorale" ne sera pas pris en compte dans l'analyse quantitative du risque.

Par contre, le rôle de l'immunité cellulaire dans la pathogénie de la cryptosporidiose a été clairement établi chez l'Homme, essentiellement par les observations cliniques et épidémiologiques effectuées chez des malades immunodéprimés, en particulier au cours du SIDA :

- *La cryptosporidiose au cours du SIDA* a plusieurs particularités. La susceptibilité à l'infection est croissante avec la diminution du taux de lymphocytes CD4 sanguins. Le risque est multiplié par 2 pour un taux de 500 à 1000 lymphocytes CD4/mm³, par 3,6 pour un taux de 100 à 200 et de 6 pour un taux <100 (Pozio *et al.*, 1997). L'infection par *Cryptosporidium* s'associe à un risque 3 fois plus élevé de présenter des manifestations cliniques à la suite d'une contamination, avec une symptomatologie dont la sévérité croît avec la diminution du taux de CD4 : diarrhée prolongée et fréquence plus élevée de douleurs abdominales. Au cours d'une épidémie dans une communauté de toxicomanes, un taux d'attaque de cryptosporidiose de 16,6% a été observé chez les malades VIH-, versus 30,7% chez les sujets VIH+ (Pozio *et al.*, 1997). La maladie est fréquemment chronique (plusieurs mois à plusieurs années) avec persistance de l'émission d'oocystes et des symptômes cliniques sans guérison parasitologique. Cette chronicité entraîne plusieurs type de complications : déshydratation, malabsorption, atteinte des voies biliaires, justifiant des hospitalisations, voire des interventions chirurgicales pour cholécystectomie (McGowan *et al.*, 1993 ; Vakil *et al.*, 1996). La cryptosporidiose s'associe à une mortalité directement liée à ces complications. Une surmortalité a été notée dans l'année suivant l'épidémie de Milwaukee chez les patients infectés par le VIH atteints de cryptosporidiose (Hoxie *et al.*, 1997). Au cours de l'épidémie de Clark County en 1992, une surmortalité précoce est notée (Goldstein *et al.*, 1996). Rappelons l'inefficacité des traitements, en particulier dans les formes sévères.

Les études de prévalence et d'incidence de la cryptosporidiose au cours de l'infection par le VIH sont un peu plus nombreuses que chez les sujets non immunodéprimés mais elles sont hétérogènes (population étudiée différente, stade de la maladie...). En France, les quelques études réalisées avant 1996 rapportent des prévalences très variables (9 à 37%) sur des effectifs modestes (80 à 200 patients). Après 1996, la seule étude disponible chez 618 patients infectés par le VIH, sans distinction de stade, montre une prévalence de 3,1%. Ce pourcentage se rapproche de ceux relevés parmi les cas de SIDA déclarés, dans le cadre de la déclaration obligatoire du SIDA (données de l'INVS) : 1997 : 2%, 1998 : 3,0%, 1999 : 1,7%, 2000 : 2,1%, pour 22048 cas de SIDA cette même année (3,2% en moyenne pour 1994-2000).

Il est à noter une forte diminution (Figure 3) de la prévalence des cryptosporidioses depuis l'introduction des multithérapies anti-rétrovirales, en 1996. L'incidence annuelle calculée chez les patients infectés par le VIH (avec ou sans SIDA) est de 12,0/10 000 personnes années en 2000 alors qu'elle était de 125/10 000 en 1993 (donnée des CISIH).

- Chez les autres malades immunodéprimés ou fragilisés par une pathologie sous-jacente, très peu de données sont disponibles, et sont issues en grande partie de l'étude de l'épidémie de Milwaukee. Comparé à une population de sujets non immunodéprimé, le risque relatif d'infection par cryptosporidies est de 2,56 chez les enfants atteints d'hémopathie maligne. Il est non significatif pour les greffés de moelle et autres patients présentant des déficits de l'immunité. Ces données sont à prendre avec précaution en raison des effectifs faibles des études concernées.

La cryptosporidiose entraîne une décompensation brutale des maladies inflammatoires du côlon (Crohn, colite ulcéreuse) (Manthey *et al.*, 1997).

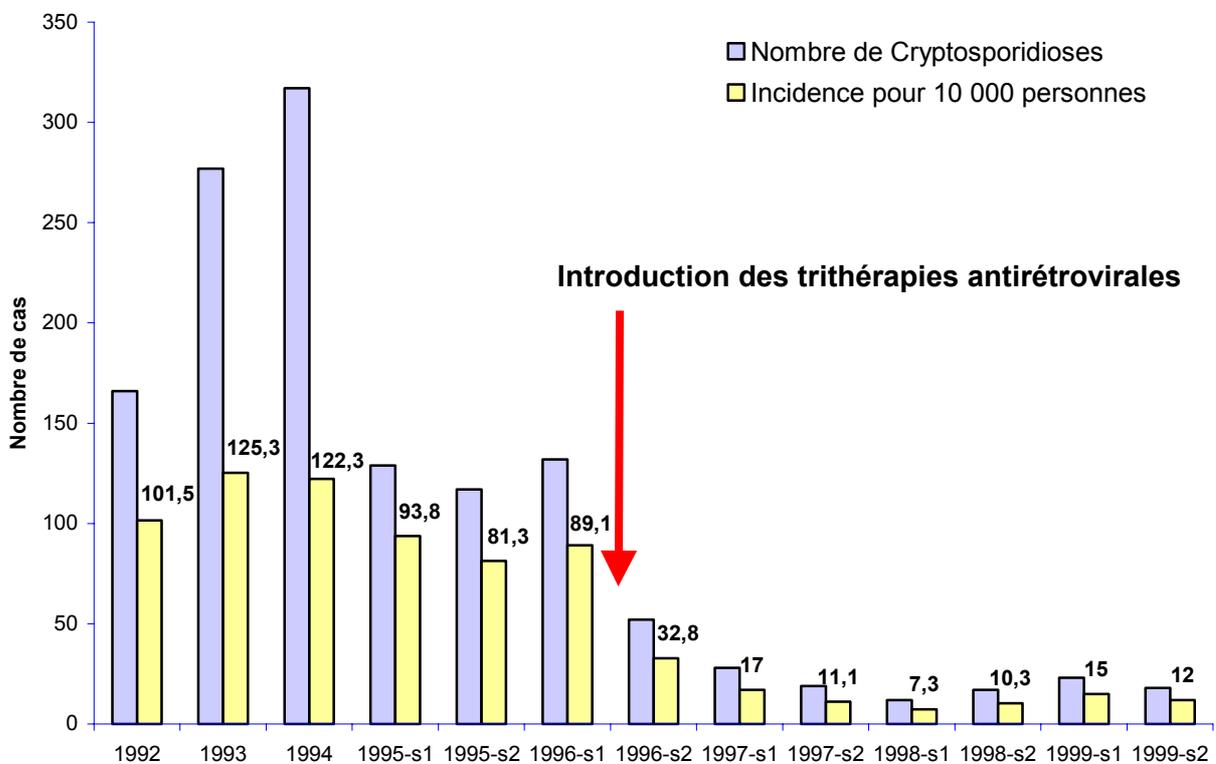


Figure 3 : Evolution de l'incidence de la cryptosporidiose, chez les patients infectés par le VIH par années ou semestres (données CISIH-Décembre 2000)

➤ **Chez l'animal**, l'immunité joue un rôle dans l'élimination ou le maintien d'une infection. D'après des données expérimentales chez des souris présentant un déficit sélectif en lymphocytes B, le rôle de l'immunité humorale semble limité dans la mesure où chez les souris déficientes la fréquence et la durée de l'infection ne diffèrent pas par rapport aux animaux témoins (Taghi-Kilani *et al.*, 1990). Par contre, le rôle des IgA sécrétoires a été démontré dans différents modèles animaux (souriceaux nouveau-nés, veaux.) (Enriquez et Riggs, 1998 ; Peeters *et al.*, 1992) ce qui a conduit à proposer un traitement par du colostrum issu d'animaux hyper-immuns. Si les réponses immunitaires de type humoral ont leur place dans le contrôle de la cryptosporidiose, le rôle central apparaît tenu par la réponse immunitaire de type cellulaire.

Ainsi, une infection digestive chronique avec une dissémination vers les voies biliaires, peut être obtenue chez des animaux immunodéprimés par l'administration prolongée de corticoïdes ou d'immunosuppresseurs alors que l'infection est rapidement éliminée chez des animaux non immunodéprimés. Par ailleurs, la cryptosporidiose est particulièrement grave chez les poulains atteints de déficit immunitaire combiné sévère (syndrome DICS ou SCID des chevaux pur-sang ou trois-quarts sang arabe) chez lesquels on observe une durée prolongée de la diarrhée, une excrétion massive d'oocystes, une infection qui n'est pas limitée au jéjuno-iléon, mais qui s'étend à l'estomac, au côlon, aux canaux pancréatiques et biliaires. L'utilisation de tels animaux comme modèle clinique de la cryptosporidiose humaine des immunodéprimés a été suggérée (Perryman et Bjorneby, 1991). De plus, il est possible d'implanter le parasite chez des animaux adultes spontanément résistant, par déplétion immunitaire (ex : souris SCID), traitement à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-IFN γ ou en utilisant des animaux transgéniques déplétés pour le gène de l'IFN γ , les animaux éliminant le parasite après reconstitution immunitaire (McDonald *et al.*, 1996 ; Theodos *et al.*, 1997 ; Ungar *et al.*, 1991).

Chez les bovins, les connaissances en matière d'immunité sont fragmentaires et concernent les populations cellulaires mesurées lors d'une primo-infection puis d'une ré-infection sur les mêmes animaux avec la même souche de *C. parvum*. A 3 jours post-infection, il y a une augmentation des populations de CD4⁺ (+ 150 %) et de CD8⁺ (+ 60 %) dans les villosités intestinales, la lamina propria et les plaques de Peyer de l'iléum. Cette augmentation est rapide mais transitoire puisque à J13-J19 les populations sont comparables à celles des témoins non infectés. A 3 jours post-infection, il y a également une augmentation des lymphocytes T γ/δ (+ 70 %) dans les villosités intestinales et la lamina propria mais pas dans les plaques de Peyer. Deux semaines après avoir éliminé leur infection les veaux sont à nouveau infectés expérimentalement par *C. parvum*. Une grande quantité de CD4⁺ et de CD8⁺ est à nouveau retrouvée mais la localisation des deux types cellulaires est différente de celle retrouvée lors de l'infection primaire. Les lymphocytes CD4⁺ sont surtout présents dans les plaques de Peyer tandis que les CD8⁺ sont dans les villosités intestinales au contact étroit des cellules épithéliales. Cette proximité suggère un rôle important de ce type cellulaire lors de réinfections. Les cellules T γ/δ n'augmentant pas lors de réinfections, leur rôle pourrait être donc limité à l'infection primaire de l'animal naïf.

4.2.2.3. *Autres facteurs de risque*

➤ *La contamination nosocomiale*

Elle est théoriquement possible en raison de l'infectiosité des oocystes dès leur émission, mais sa fréquence est très mal évaluée. Une étude rapporte la survenue de 18 cas chez des patients infectés par le VIH et de 2 cas parmi le personnel lors d'une épidémie survenue dans un département de maladies infectieuses au Danemark (Ravn *et al.*, 1991). La source très probable de la contamination était une "machine à glace", contaminée par un malade atteint de cryptosporidiose. Huit des patients infectés sont morts des suites d'une diarrhée prolongée. Par contre, une étude "cas-témoins" ne retrouve pas de risque accru d'acquisition de cryptosporidiose chez des malades infectés par le VIH partageant la chambre de malades atteints de cryptosporidiose (Bruce *et al.*, 2000).

➤ *Facteur saisonnier de la cryptosporidiose*

Plusieurs études rapportent un facteur saisonnier dans la survenue des cryptosporidioses, chez l'enfant et chez l'adulte (Clavel *et al.*, 1996 ; Inungu *et al.*, 2000 ; Skeels *et al.*, 1990). La distribution des cas semble être bi-modale au cours de l'année avec des incidences plus élevées entre mars et mai puis en septembre et octobre. Une étude basée sur les déclarations obligatoires des cas aux Etats Unis (1995-1998) montre, sur chacune des 4 années de suivi, une augmentation du nombre de cas à la fin de l'été et au début de l'automne (Dietz et Roberts, 2000).

➤ ***Influence du portage asymptomatique***

Une enquête récente effectuée parmi le personnel et les enfants des crèches de 25 hôpitaux français a révélé la présence d'oocystes de *Cryptosporidium sp.* chez 0,36% des adultes et 0,32% des enfants ne présentant pas de symptomatologie digestive (Datry *et al.*, 2000).

4.3. Courbe dose-réponse : modèles existants et modélisation

La démarche d'estimation du risque fait intervenir la relation dose/réponse ou dose/effet : le principe est d'observer un effet (infection ou maladie) suite à l'ingestion d'une dose donnée de l'agent pathogène. La dose correspond au nombre de pathogènes présents dans une portion alimentaire contaminée. La réponse étudiée peut être l'infection ou la maladie. La relation dose-réponse est la relation mathématique entre la consommation de portions alimentaires contenant un nombre donné de pathogène (dose) et le nombre de cas cliniques qui en résulte (réponse).

Ce type de démarche est difficile à mettre en place en raison notamment du cadre législatif contraignant concernant les expérimentations chez les volontaires sains, ce qui explique le peu de données disponibles. Toutefois, la courbe dose-réponse peut être obtenue soit par une extrapolation de celle issue d'un modèle expérimental, en la positionnant sur le diagramme obtenu pour l'Homme en fonction de données existantes, soit par l'utilisation de modèles obtenus avec des organismes, très proches mais moins dangereux que celui étudié.

Dans le domaine infectieux, la modélisation de la relation dose-réponse a fait l'objet de 2 approches différentes. Dans le cas de la cryptosporidiose, leur comparaison est facilitée par le fait que l'ajustement de ces modèles s'est appuyé sur le même jeu de données, présentées dans le Tableau 10 (Dupont *et al.*, 1995) :

- l'approche de Hurst (2001) est fondée sur le postulat qu'une seule particule peut entraîner l'infection. Il produit donc des probabilités d'infection par ingestion d'une seule particule et considère ensuite que le risque est proportionnel à la dose.
- l'approche de Haas *et al.*³³ (1996) décompose en deux étapes le processus d'infection. Une première étape consiste à estimer la dose réelle contenue dans un inoculat, à partir de la dose moyenne. Puis, l'auteur estime, à partir de la dose ingérée, la probabilité d'infection.

Pour ce qui concerne *Cryptosporidium parvum*, cette relation dose-réponse diffère selon le statut immunitaire de la population étudiée. Cependant en raison des grandes incertitudes sur le rôle exact de l'immunité dans la susceptibilité à l'infection, les sources de données sont principalement constituées d'une expérimentation sur volontaires sains Tableau 10 (Dupont *et al.*, 1995) et d'une expérimentation sur souris immunodéprimées (Yang *et al.*, 2000).

Bien que le faible nombre de données disponibles ne permette pas de privilégier réellement un modèle par rapport à l'autre, la démarche suivie dans ce rapport pour l'évaluation quantitative du risque, s'appuie sur le modèle exponentiel de Haas pour les raisons suivantes :

- le modèle exponentiel de Haas est reconnu dans le domaine de l'évaluation quantitative des risques impliquant des agents infectieux et s'avère tout aussi pertinent que des modèles plus complexes (de type bêta-Poisson). En effet, ce modèle prend en compte des paramètres respectant la plausibilité biologique du sujet, tels que la distribution des particules dans l'eau de boisson ;
- le modèle de Hurst s'avère moins robuste que le précédent dans la mesure où la totalité des données fournies par l'expérimentation n'est pas prise en compte.

³³ Modèle exponentiel et modèle bêta-Poisson

Il est important de noter que ces expériences conduites sur un nombre finalement faible d'individus, de souches et de doses, limitent l'extrapolation des résultats telle qu'utilisée dans l'évaluation des risques.

➤ **POINTS A RETENIR 8**

S'agissant de la cryptosporidiose et des facteurs de risque chez l'Homme et chez l'animal :

Une description des symptômes et signes cliniques est présentée dans le rapport.

- *Les facteurs de risque liés au parasite : sur le fondement de données expérimentales permettant d'établir des courbes dose-effet, il a pu être défini des DI_{50} variables selon les souches de *Cryptosporidium parvum*, ce qui est en faveur de la présence de facteurs de virulence liés au parasite, non encore identifiés à ce jour.*
- *Les facteurs de risque liés à l'hôte identifiés sont les suivants : (i) le jeune âge (entre 1 et 3 ans), avec des cofacteurs tels que les collectivités confinées ou une hygiène imparfaite; (ii) l'état immunitaire, avec d'une part l'immunité humorale où il semblerait qu'à défaut d'un rôle protecteur démontré, les anticorps puissent entraîner une augmentation de la DI_{50} , et d'autre part une implication de l'immunité cellulaire clairement établie comme en témoignent les cryptosporidioses décrites au cours de l'infection par le VIH (iii) parmi les autres facteurs de risque sont cités les contaminations nosocomiales, les facteurs saisonniers (printemps et automne) et l'influence du portage asymptomatique.*
- *L'estimation du risque fait intervenir la relation dose-effet. Pour ce qui concerne *Cryptosporidium parvum*, deux modèles sont décrits : (i) celui de Hurst fondé sur le postulat qu'un seul oocyste peut entraîner une infection, le risque calculé est alors proportionnel à la dose ingérée ; (ii) le modèle de Haas qui consiste à estimer la quantité réelle d'oocystes contenue dans un inoculum à partir de la dose moyenne puis, à partir de la dose ingérée, à évaluer la probabilité d'infection. C'est ce dernier modèle, plus robuste, qui a été retenu dans l'étude car il prend en compte la réalité biologique de ce type d'infections et notamment la distribution des particules infectieuses dans l'eau de boisson.*

VI. ESTIMATION QUANTITATIVE DU RISQUE RELATIF A LA CONSOMMATION D'EAU DE DISTRIBUTION PUBLIQUE

L'intégralité de cette démarche figure dans un document intitulé « Evaluation quantitative du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau distribuée », disponible sur le site internet de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (www.afssa.fr). Il a pour objet de présenter de façon exhaustive la démarche exposée dans ce chapitre.

1. PRESENTATION DES OBJECTIFS

Ce chapitre a pour objet d'évaluer les risques endémiques liés à *Cryptosporidium parvum* par consommation d'eau distribuée. Selon les questions que se pose le gestionnaire de risque, en partie formalisées dans les saisines transmises à l'Agence, plusieurs analyses peuvent être fournies. Cinq types de questions ont été retenues et traitées :

- **Objectif ❶** : un résultat d'analyse met en évidence un certain nombre d'ocystes pour 100 litres d'eau distribuée. Quels sont alors les risques estimés dans la population desservie ? Quel est notamment le nombre de maladies attendues ?
- **Objectif ❷** : quels sont les risques annuels liés à *Cryptosporidium parvum* dans la population desservie par la source de la AA (saisine 2001-SA-0117) ?
- **Objectif ❸** : quels sont les risques liés à *Cryptosporidium parvum* estimés suite à la répétition d'un certain nombre d'analyses négatives sur eau de distribution ?
- **Objectif ❹** : quels sont les risques liés à *Cryptosporidium parvum* en fonction de la nature des ressources en eau et des modalités de traitement ?
- **Objectif ❺** : quels sont les modalités pour estimer les risques liés à *Cryptosporidium parvum* d'une ressource en eau particulière ?

Ces évaluations devront s'attacher à prendre en compte et à mesurer la **variabilité** du risque d'un individu à l'autre et d'un jour à l'autre, ainsi que l'**incertitude** inhérente aux estimations proposées.

2. INTERET DE LA PRISE EN COMPTE DE LA VARIABILITE ET DE L'INCERTITUDE

L'intérêt de prendre en compte les notions de variabilité et d'incertitude dans le cadre d'une évaluation des risques est largement documenté et recommandé par l'ensemble des instances internationales (FAO-WHO, 1997).

2.1. La variabilité

Elle correspond à la diversité et à l'hétérogénéité du risque observé d'un individu à l'autre, ou d'un jour à l'autre, en raison de la variabilité de la consommation d'eau ou de la variabilité de la contamination de l'eau. Il est possible d'illustrer l'intérêt d'un tel paramètre dans l'évaluation par un exemple simple : un risque moyen est estimé à 10^{-5} et est jugé « acceptable ». Cette valeur de 10^{-5} peut ne pas refléter la présence, dans la même population, d'individus très faiblement (voire pas du tout) exposés et d'individus très fortement exposés.

Par exemple, 99% de la population peut être exposée à un risque très faible de 10^{-7} (1 cas sur 10 000 000 individus) et 1% des individus (ce qui n'est pas négligeable) à un risque d'environ 10^{-3} (1 cas sur 1000 individus). Le même risque, exprimé ainsi, peut devenir « inacceptable » si on sait caractériser à l'avance le 1% des individus qui présentent un risque élevé.

2.2.L'incertitude

L'incertitude du niveau de risque est lié à l'ignorance partielle ou au manque de connaissances sur certains paramètres nécessaires à l'estimation. Il est également important de fournir au gestionnaire une mesure du degré d'incertitude lié à l'estimation fournie. C'est ainsi que l'estimation d'un risque de 10^{-4} (1 cas pour 10 000 individus), par exemple, pourra être jugée « inacceptable » si l'estimateur précise que cette valeur est son estimation la plus probable, mais que la valeur réelle peut être située entre 10^{-5} et 10^{-1} (1 cas pour 10 individus).

Dans ce rapport, la méthodologie sur laquelle s'appuie l'incertitude d'une estimation repose sur le raisonnement suivant :

- un modèle est proposé. Il nécessite l'adoption d'hypothèses ;
- on estime certains paramètres de ce modèle à l'aide de données de la littérature. Le nombre d'observations n'étant pas infini dans les articles sélectionnés, ces estimations sont entachées d'un certain niveau d'incertitude, qu'il est possible d'appréhender à l'aide de méthodes statistiques ;
- l'influence de cette incertitude est ensuite mesurée dans l'évaluation des risques. Elle reflète donc une incertitude prenant en compte et acceptant le modèle retenu.

Il faut donc entendre par incertitude, l'imprécision liée à un nombre de données limité, et non pas l'incertitude liée à l'utilisation d'un modèle particulier.

Exemple : On considère que la relation Dose-Réponse peut être modélisée par un modèle dit « exponentiel ». Ce modèle nécessite l'adoption de plusieurs hypothèses (absence de seuil, pas de synergie entre les oocystes, etc). Il revient aux experts de considérer, ou non, ces hypothèses comme acceptables. Une fois ce modèle accepté, il est possible alors d'évaluer le paramètre de ce modèle Dose-Réponse à partir d'observations issues de la littérature. Si ces observations sont en faible nombre, il va en résulter une certaine incertitude dans l'estimation du paramètre. La prise en compte de l'incertitude dans l'évaluation des risques ne mesure pas l'aptitude ou non du modèle exponentiel à refléter la réalité, mais l'incertitude liée à l'estimation du paramètre une fois le modèle admis, à partir des données disponibles.

Cet avertissement préliminaire est essentiel, car la prise en compte de l'incertitude dans ce document ne doit pas faire croire en une connaissance et une mesure de l'incertitude absolues.

3. MISE EN ŒUVRE ET SCHEMA GLOBAL DE L'EVALUATION QUANTITATIVE DES RISQUES

3.1. Mise en œuvre

La démarche globale de l'analyse quantitative des risques peut être synthétisée³⁴ comme suit :

- on construit un modèle mathématique, permettant, à partir de divers paramètres d'entrée du modèle, d'obtenir un paramètre d'intérêt. Dans notre étude, les paramètres d'entrée sont aussi variés que les paramètres de la loi dose-réponse, la quantité quotidienne d'eau ingérée, la sensibilité de la méthode d'analyse, la proportion d'oocystes viables... Les paramètres d'intérêt sont le risque d'infection, le risque de maladie, ou le nombre de cas attendus ;
- à chaque paramètre d'entrée, on associe non pas une valeur, mais une distribution de valeurs. Cette distribution correspond :
 - o soit à une variabilité naturelle du paramètre (ex : la consommation individuelle d'eau distribuée, variable d'un individu à l'autre) ;
 - o soit à une incertitude (ex : le paramètre de la loi dose-réponse, estimé à partir d'un faible nombre de donnée).
- à l'aide de simulations informatiques (par une procédure dite de « Monte-Carlo », principe présenté dans l'*Annexe 6*), il est possible, à partir du modèle et des distributions des paramètres d'entrée de déterminer la variabilité du risque dans la population. De plus, en prenant en compte l'incertitude des paramètres, il est possible de déterminer des intervalles d'incertitude de ces estimations du risque.

3.2. Schéma global

Le modèle de cette évaluation quantitative des risques s'articule autour de 4 modules :

- un module d'« **Emission** » (ou **contamination**), aboutissant à la caractérisation de la contamination de l'eau du robinet d'un individu donné un jour donné ; c'est principalement ce module qui différera d'un objectif à l'autre ;
- un module de « **Consommation** », aboutissant à la caractérisation de l'ingestion d'eau de consommation par un individu donné un jour donné ;
- la combinaison de ces deux modules fournit la quantité d'oocystes ingérés par un individu un jour donné : il s'agit du module d'« **Exposition** ». Il est alors nécessaire de prendre spécifiquement en compte la proportion d'oocystes viables, seuls susceptibles d'entraîner une infection ;
- un module d'« **Effet** », aboutissant, à l'aide d'une relation dose-réponse, à la caractérisation du risque d'infection et, à l'aide d'une relation infection-maladie, à celle du risque de maladie.

La **Figure 4** représente le schéma de l'évaluation des risques proposé dans cette étude. Le module « **Emission** » présenté est celui applicable à l'objectif ②.

³⁴ Le lecteur intéressé pourra se référer à des ouvrages sur ces techniques, tel celui de Vose (2000) ou celui de Haas *et al.* (1999)

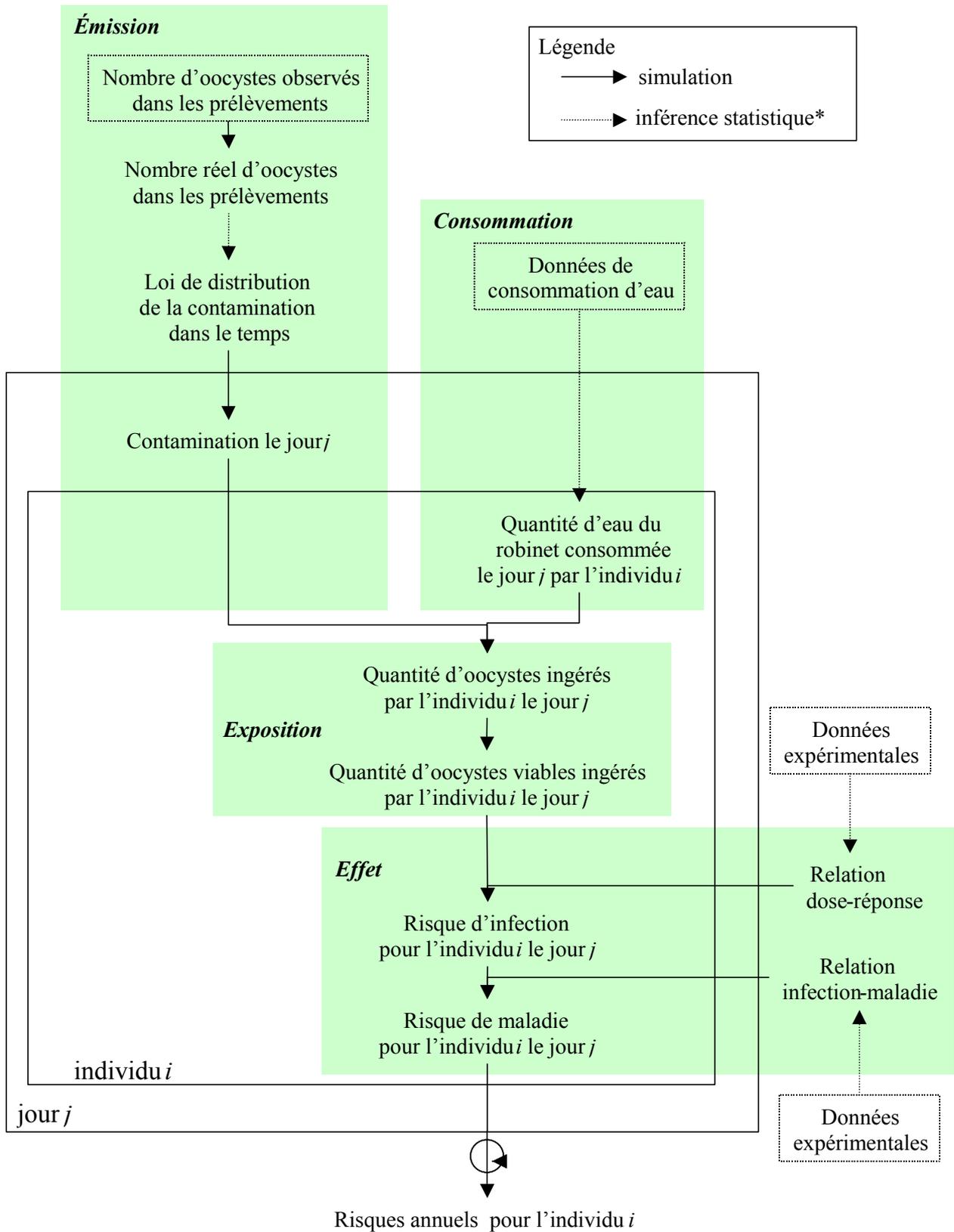


Figure 4 : Schéma général de l'évaluation du risque appliqué à *Cryptosporidium sp* dans les eaux de distribution destinées à la consommation humaine

* Inférence : estimation des paramètres de simulation à partir des données disponibles

4. DESCRIPTION DES PROCESSUS ET MODULES COMMUNS AUX OBJECTIFS

Pour chacun de ces modules, sont présentés, sous forme condensée, les paramètres suivants :

- les données sur lesquelles s'appuient la distribution des différents paramètres ;
- les modèles mathématiques ;
- les hypothèses retenues fondées sur les données de la littérature ou les dires d'experts. Dans la mesure du possible, les hypothèses ont été qualifiées : d'une part, une hypothèse est dite forte si les auteurs considèrent que cette hypothèse n'est pas très réaliste, elle est dite faible sinon ; d'autre part, une hypothèse est dite sécuritaire si son adoption a tendance à surestimer le risque.

Sont ensuite présentés les résultats et les limites d'interprétation de l'estimation quantitative du risque qu'il peut en être fait.

Rappel : L'intégralité de la démarche quantitative d'évaluation du risque sanitaire lié à *Cryptosporidium sp.* est présentée dans le document « Evaluation du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau distribuée », disponible sur demande auprès de l'Afssa, ou sur le site Internet de l'Afssa (www.afssa.fr). Y figure notamment la description détaillée des différentes relations déterministes et probabilistes sur lesquelles est fondée cette démarche.

Nous allons considérer que trois modules étaient communs aux différents objectifs présentés précédemment : les modules « Consommation », « Exposition » et « Effet ». En revanche, le module « Contamination » diffère selon les objectifs analysés.

4.1. Module « Contamination »

Le développement de ce module est présenté spécifiquement pour chacun des objectifs présentés en introduction. Toutefois, quel que soit l'objectif, ce module « Contamination » exige de prendre en compte et de modéliser la performance de la méthode d'analyse.

Le nombre d'oocystes observé lors de l'analyse ne correspond en effet pas au nombre d'oocystes réel, en raison d'un rendement (d'une sensibilité) de la méthode inférieur à 100%. Dans les conditions d'application de la norme AFNOR (NF T 90-455), c'est à dire pour un volume filtré allant jusque 200 litres, les résultats d'intercalibration des laboratoires permettent d'estimer ce rendement à 40%.

On émet les 2 hypothèses suivantes :

Hypothèse 1

Chaque oocyste présent réellement dans un échantillon a une probabilité constante égale à 40% d'être observé³⁵, quel que soit l'échantillon, indépendamment des autres oocystes (hypothèse faible).

Hypothèse 2

Les prélèvements pour lesquels on observe 0 oocyste / 100 L ne proviennent pas de périodes particulières durant lesquelles il n'y aurait pas de contamination, mais simplement d'un manque de sensibilité de la méthode (hypothèse forte, sécuritaire).

³⁵ Ce paramètre est considéré comme fixe et connu avec certitude : une prise en compte de l'incertitude de cette estimation à partir des dires d'experts aurait été possible (par exemple, à l'aide d'une loi triangulaire). Cette possibilité n'a pas été retenue par le groupe d'experts.

4.2. Module « Consommation »

Hypothèse 3

On considère que les individus immuno-déprimés consomment autant d'eau du robinet que la population générale (hypothèse forte, sécuritaire).

4.2.1. Base de données utilisée

Les données utilisées pour ce module sont issues de la base INCA décrite dans le chapitre 3.2.2. Seules les données issues d'individus âgés de 4 ans et plus sont utilisées dans cette étude (cf paragraphe 4.4).

Hypothèse 4

On considère les individus de notre échantillon issu de la base INCA comme représentatifs de la population française âgée de plus de 3 ans (hypothèse faible).

Parmi les 1809 individus retenus, 546 (soit 30%) n'ont pas bu d'eau du robinet pendant la semaine d'enquête. On considère (ce qui est une hypothèse assez faible pour ce qui concerne l'eau du robinet), que 30% des individus ne consomment jamais d'eau du robinet en tant qu'eau de boisson³⁶. Ainsi, l'évaluation de la consommation d'eau dans la population française sera conduite à partir des données de cet échantillon de 1423 individus de la base INCA.

4.2.2. Consommation d'eau du robinet par jour

L'option retenue pour le calcul de la consommation quotidienne a été l'utilisation directe des données brutes de la base INCA (cf paragraphe suivant), et non à partir d'une loi paramétrique (par exemple log-normale) ajustée selon les données.

La [Figure 5](#) présente les données de consommations issues de la base INCA.

³⁶ à noter : le risque pour ces individus est de 0.

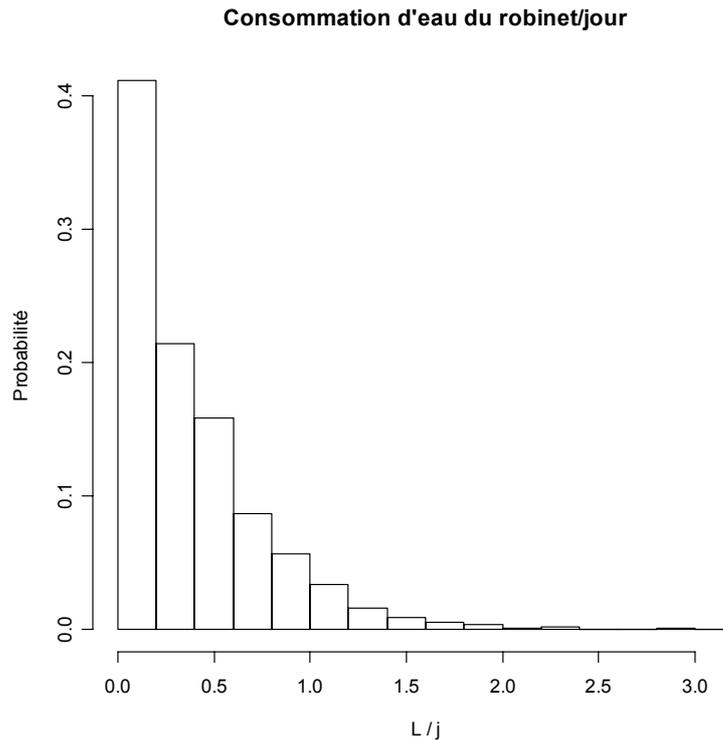


Figure 5 : Histogramme de fréquences observées de consommation quotidienne d'eau de distribution (Source : base INCA).

4.2.3. Consommation annuelle d'eau du robinet

Afin d'évaluer le risque annuel, il est nécessaire d'évaluer les consommations quotidiennes des individus tout au long de l'année. Dans la mesure où il convient de prendre en compte la corrélation intra-individuelle de la consommation d'eau (certains individus sont de gros buveurs d'eau du robinet, d'autres de petits buveurs d'eau), l'option choisie a été de répéter 52 fois, pour chaque individu, la consommation quotidienne observée pendant une semaine. Ce qui implique d'accepter l'hypothèse suivante :

Hypothèse 5

On considère que les consommations durant la semaine d'enquête sont un reflet fidèle de la consommation habituelle des individus tout au long de l'année (hypothèse forte).

4.3. Module « Exposition »

L'évaluation de l'exposition résulte d'une combinaison de la quantité d'eau consommée par un individu (module « Consommation ») et de la contamination de l'eau de cet individu (module « Emission »). Le développement de ce module est présenté spécifiquement pour chacun des objectifs présentés en introduction.

Toutefois, on émet toujours l'hypothèse suivante :

Hypothèse 6

Les paramètres contamination et consommation sont indépendants (hypothèse faible, sauf en cas de forte turbidité).

De plus, quel que soit l'objectif, ce module « Exposition » exige de prendre en compte la proportion d'oocystes viables.

Selon les données disponibles, les experts considèrent que la proportion d'oocystes viables est de 40%.

Hypothèse 7

On considère que la probabilité pour un oocyste d'être viable est constante, unique et indépendante des autres oocystes (hypothèse forte).

Cette hypothèse exclue *a priori* l'existence d'agrégat d'oocystes non viables ou d'agrégat d'oocystes viables.

Hypothèse 8

On considère que les oocystes viables sont tous potentiellement infectants (hypothèse faible sécuritaire).

4.4. Module « Effet »

4.4.1. Relation dose-Réponse

L'étude prend en compte deux populations : une population immunocompétente, et une population immunodéprimée. La relation dose-réponse pour ces deux populations est différente.

Par ailleurs, les données disponibles montrent que les individus âgés de moins de 4 ans sont plus sensibles à l'infection que les individus immunocompétents, et probablement moins sensibles que les individus immunodéprimés. En l'absence de donnée spécifique, il n'est pas possible de fournir plus d'information sur le risque concernant cette classe d'âge, que l'on exclue donc de l'analyse.

Deux séries de données sont utilisées pour traiter ce module :

- pour ce qui concerne la population immunocompétente, les données obtenues par Dupont *et al.* (1995) ;
- pour ce qui concerne, la population immunodéprimée, les données obtenues par Yang *et al.* (2000).

Hypothèse 9

On ne prend pas en compte l'effet de l'immunité acquise sur la relation dose-réponse (hypothèse forte, sécuritaire)

4.4.1.1. Population immunocompétente

On retient un modèle de relation Dose-Réponse (principe proposé dans l'Annexe 6) dit « exponentiel » (Haas *et al.*, 1999). Il est à noter cependant que le faible nombre de données ne permet pas de réellement valider tel ou tel modèle. Pour appliquer ce modèle exponentiel, on considère notamment les hypothèses suivantes :

Hypothèse 10

- Une entité infectieuse est suffisante pour entraîner l'infection ;
- Les actions des particules infectieuses ingérées sont indépendantes.

On applique ce modèle aux données de Dupont *et al.* (1995) présentées dans le Tableau 10, issues d'une infection expérimentale sur volontaires sains par la souche IOWA. Il existe d'autres données d'infection (Okhuysen *et al.*, 1999) expérimentales sur volontaires sains, utilisant d'autres souches. Toutefois, les doses utilisées ne semblent pas permettre d'ajuster correctement un modèle de type dose-réponse. A l'avenir, un modèle plus complet, intégrant la variabilité inter-souche, pourrait être incorporé sur la base de données plus nombreuses. Pour l'exploitation de ces données, on pose l'hypothèse suivante :

Hypothèse 11

- On retient l'hypothèse d'une transposition possible des données obtenues dans cette étude à l'ensemble des souches de *Cryptosporidium parvum* ;
- On retient l'hypothèse d'une représentativité des individus inclus dans l'étude.

Tableau 10 : Données d'une infection expérimentale de volontaires sains par ingestion d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* – Soucre : Dupont *et al.*(1995)

Oocystes ingérés	Nombre total de Sujets infectés	Sujets malades (cryptosporidiose)
30	5	0
100	8	3
300	3	0
500	6	2
1000	2	0
10000	3	1
100000	1	0
1000000	1	1

Par ajustement du modèle exponentiel sur ces données, on estime que la **dose infectieuse 50 (DI₅₀) est égale à 165 oocystes**, ce qui signifie en d'autres termes, qu'une dose de 165 oocystes par individu permettrait d'infecter la moitié d'une population immunocompétente. L'incertitude autour de cette estimation est prise en compte dans l'étude par une méthode statistique de re-échantillonnage dite de « Bootstrap » (Efron et Tibshirani, 1993).

4.4.1.2. Population immunodéprimée

Dans ce contexte particulier, le raisonnement repose sur les données observées par Yang *et al.* (2000), reprises dans le Tableau 11, et obtenues sur souris immunodéprimées avec les hypothèses suivantes :

Hypothèse 12

- On retient l'hypothèse d'une transposition possible des données obtenues sur souris immunodéprimées à des individus immunodéprimés (hypothèse forte, mais très sécuritaire au regard des paramètres issus de l'étude de Yang) ;
- On retient l'hypothèse d'une transposition possible des données obtenues dans cette étude à l'ensemble des souches de *Cryptosporidium parvum*.

Par ajustement du modèle exponentiel sur ces données, on estime que **la dose infectieuse 50 (DI₅₀) est égale à 1,96 oocystes**, ce qui signifie en d'autres termes, que moins de 2 oocystes par individu sont nécessaires pour infecter la moitié d'une population immunodéprimée.

Tableau 11 : Données d'infection de souris immunodéprimées par ingestion d'oocystes – Source : Yang *et al.* (2000)

Oocystes ingérés	Nombre total de souris	Souris infectées
0	8	0
1	24	4
5	8	8
10	8	8

L'incertitude autour de cette estimation est prise en compte dans l'étude par une méthode statistique dite de « Bootstrap » (Efron et Tibshirani, 1993).

4.4.2. Relation Infection Maladie

4.4.2.1. Population immunocompétente

Seules les données issues de l'expérimentation de Dupont *et al.* (1995) sont disponibles : parmi les 18 volontaires infectés, 7 ont été atteints de cryptosporidiose, soit 39%. Si l'on considère que ces données permettent d'appréhender la probabilité de maladie pour des individus infectés, il faut émettre l'hypothèse que :

Hypothèse 13

La probabilité de maladie d'un individu infecté est indépendante de la dose ingérée (hypothèse faible)

Hypothèse 14

La probabilité de maladie d'un individu infecté est la même pour tous les individus (hypothèse forte)

L'incertitude autour de cette estimation de 39% est prise en compte dans le modèle (par une loi de probabilité dite « loi bêta »).

4.4.2.2. Population immunodéprimée

Pour ce qui concerne cette population spécifique, les experts retiennent l'hypothèse suivante :

Hypothèse 15

La probabilité de maladie d'un individu immunodéprimé infecté est de 1 (hypothèse forte, sécuritaire).

En conséquence, le risque d'infection est égal au risque de maladie dans cette sous-population et le nombre de cryptosporidioses est égal au nombre d'infections.

5. CALCUL DU RISQUE ANNUEL D'INFECTION ET DU NOMBRE DE MALADIES ATTENDUES

5.1. Risque annuel d'infection

Il s'agit du risque pour un individu d'être infecté au moins une fois durant une année.

Pour estimer ce paramètre, il faut évaluer pour chaque individu de la cohorte d'intérêt (de 1 à 1423 individus) le risque d'infection durant 365 jours. Ce risque annuel est fonction :

- de la quantité d'eau bue par l'individu chaque jour tout au long de l'année ;
- de la contamination de l'eau de distribution chaque jour tout au long de l'année.

Par conséquent, il est nécessaire d'évaluer la distribution pour un individu des risques quotidiens sur un an. Cette définition et ce calcul ne peuvent être appliqués que lorsqu'on évalue le risque sur une grande période de temps, en prenant en compte la variabilité temporelle de la contamination.

Nota : L'objectif ❶ correspond à l'évaluation du risque suite à l'observation d'une donnée de laboratoire. Le calcul d'un risque annuel n'est pas réaliste, puisque cette observation correspond à un jour donné, où, pour le moins, à une période de temps limitée.

5.2. Nombre de maladies attendues

Par la procédure de simulation, on obtient un certain nombre de valeurs du risque quotidien d'infection. On considère ces valeurs comme représentatives de la variabilité des probabilités d'infection de la population totale et des jours de l'année. Le nombre de maladies attendues pendant J jours pour I individus pourra être évalué selon :

$$\text{Relation (1)} \quad K = JI \bar{r}.$$

où \bar{r} est l'estimation de la moyenne du risque évaluée sur un grand nombre d'itérations.

6. REPONSE AUX DIFFERENTS OBJECTIFS

On rappelle que, si les modules « Consommation », « Exposition », et « Effet » sont communs aux objectifs étudiés, le module « Emission », aboutissant à la caractérisation de la contamination de l'eau du robinet d'un individu donné un jour donné diffère d'un objectif à l'autre.

6.1. Objectif ❶ : Interprétation d'un résultat d'analyse sur une eau de distribution

Rappel de la situation : un résultat d'analyse met en évidence un certain nombre (noté n) d'oocystes/100 litres d'eau distribuée. Quels sont alors les risques dans la population concernée ? Quel est le nombre de maladies attendues dans la population desservie par cette eau ?

6.1.1. Module « Emission »

Le nombre observé d'oocystes lors de l'analyse ne correspond pas au nombre réel d'oocystes, en raison d'une sensibilité de la méthode différente de 1. Ceci est pris en compte dans ce module par une modélisation de la distribution du nombre possible d'oocystes dans l'eau selon n et la sensibilité de la méthode.

6.1.2. Modélisation

La simulation de type « Monte-Carlo » (principe de la méthode développé dans l'*Annexe 6*) permet de prendre en compte séparément d'une part l'incertitude du risque, liée au manque de données, et d'autre part la variabilité individuelle (naturelle) du risque.

6.1.3. Résultats concernant l'objectif ❶

Les résultats présentés ici ne concernent que les individus consommateurs d'eau du robinet³⁷.

➤ *Risque quotidien d'infection et de maladie*

Les résultats de l'objectifs ❶ sont présentés dans le Tableau 12 (risque d'infection, population immunocompétente), le Tableau 13 (risque de maladie, population immunocompétente) et le Tableau 14 (risque d'infection et de maladie, population immunodéprimée). La population concernée est la population consommant de l'eau de distribution de façon régulière ou non (les données proviennent des individus de la base INCA ayant consommé au moins une fois de l'eau de distribution durant la semaine d'étude).

³⁷ Rappel : le risque est considéré comme nul pour 30.18% des individus ne consommant pas d'eau du robinet

Tableau 12: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque quotidien d'infection par *Cryptosporidium* (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (objectif ①). Population immunocompétente consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.

n		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	0.06	0.00	0.05	0.09	0.15	0.19	0.28
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	0.48	0.00	0.37	0.75	1.18	1.50	2.22
1	Est	0.21	0.00	0.16	0.32	0.51	0.64	0.95
	<i>Clinf</i>	0.05	0.00	0.04	0.08	0.12	0.15	0.22
	<i>Clsup</i>	0.76	0.00	0.59	1.18	1.87	2.36	3.51
2	Est	0.37	0.00	0.29	0.58	0.92	1.16	1.73
	<i>Clinf</i>	0.10	0.00	0.08	0.16	0.25	0.32	0.47
	<i>Clsup</i>	1.15	0.00	0.89	1.78	2.82	3.57	5.30
10	Est	1.70	0.00	1.32	2.64	4.18	5.28	7.85
	<i>Clinf</i>	0.72	0.00	0.56	1.12	1.78	2.24	3.34
	<i>Clsup</i>	3.88	0.00	3.01	6.01	9.52	12.02	17.87
20	Est	3.31	0.00	2.56	5.13	8.12	10.25	15.24
	<i>Clinf</i>	1.56	0.00	1.21	2.41	3.82	4.82	7.17
	<i>Clsup</i>	7.08	0.00	5.49	10.98	17.38	21.94	32.61
50	Est	8.18	0.00	6.34	12.69	20.08	25.36	37.67
	<i>Clinf</i>	3.92	0.00	3.04	6.08	9.63	12.16	18.07
	<i>Clsup</i>	17.42	0.00	13.52	27.02	42.74	53.96	80.11
100	Est	16.27	0.00	12.62	25.23	39.92	50.40	74.84
	<i>Clinf</i>	8.12	0.00	6.30	12.60	19.94	25.18	37.41
	<i>Clsup</i>	33.62	0.00	26.12	52.16	82.47	104.05	154.30
1000	Est	159.73	0.00	125.14	248.72	390.94	491.26	721.53
	<i>Clinf</i>	82.59	0.00	64.36	128.32	202.40	254.98	376.71
	<i>Clsup</i>	323.16	0.00	256.08	505.59	788.63	985.62	1429.52

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Lecture (cases encadrées en pointillés): dans la population immunocompétente de consommateurs d'eau de distribution, âgée de plus de 3 ans, dans laquelle on a observé 100 oocystes, 50% des individus ont un risque quotidien d'infection supérieur ou égal à 12.62/10 000 (intervalle d'incertitude à 95% : $[6.30 \cdot 10^{-4}; 26.12 \cdot 10^{-4}]$). Cinq pour cent de la population a un risque quotidien au moins égal à 50.40 / 10 000 (intervalle d'incertitude à 95% : $[25.18 \cdot 10^{-4}; 104.05 \cdot 10^{-4}]$). La moyenne du risque est de $16.27 \cdot 10^{-4}$ [$8.12 \cdot 10^{-4}; 33.62 \cdot 10^{-4}$]

Tableau 13 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque quotidien de cryptosporidiose (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (objectif ①). Population immunocompétente consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.

n		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	0.02	0.00	0.02	0.04	0.06	0.07	0.11
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CSup</i>	0.21	0.00	0.17	0.33	0.52	0.66	0.98
1	Est	0.08	0.00	0.06	0.12	0.20	0.25	0.37
	<i>Clinf</i>	0.01	0.00	0.01	0.02	0.04	0.04	0.07
	<i>CSup</i>	0.36	0.00	0.28	0.56	0.88	1.11	1.65
2	Est	0.15	0.00	0.11	0.23	0.36	0.46	0.68
	<i>Clinf</i>	0.03	0.00	0.03	0.05	0.08	0.10	0.15
	<i>CSup</i>	0.56	0.00	0.44	0.87	1.38	1.74	2.59
10	Est	0.63	0.00	0.49	0.98	1.55	1.96	2.91
	<i>Clinf</i>	0.20	0.00	0.16	0.32	0.50	0.63	0.94
	<i>CSup</i>	1.77	0.00	1.38	2.75	4.35	5.50	8.17
20	Est	1.26	0.00	0.98	1.95	3.09	3.90	5.80
	<i>Clinf</i>	0.41	0.00	0.31	0.63	1.00	1.26	1.87
	<i>CSup</i>	3.28	0.00	2.55	5.09	8.06	10.17	15.11
50	Est	3.08	0.00	2.38	4.77	7.55	9.53	14.16
	<i>Clinf</i>	1.09	0.00	0.84	1.69	2.67	3.37	5.01
	<i>CSup</i>	7.63	0.00	5.92	11.83	18.72	23.64	35.10
100	Est	6.16	0.00	4.78	9.56	15.12	19.09	28.34
	<i>Clinf</i>	2.19	0.00	1.70	3.39	5.36	6.77	10.06
	<i>CSup</i>	14.59	0.00	11.34	22.64	35.78	45.14	66.91
1000	Est	60.71	0.00	47.61	94.59	148.55	186.55	273.58
	<i>Clinf</i>	22.32	0.00	17.39	34.67	54.70	68.92	101.17
	<i>CSup</i>	141.82	0.00	113.11	222.37	346.38	433.52	630.85

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CSup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Tableau 14 : Estimation de la moyenne et des percentiles du **risque quotidien d'infection par *Cryptosporidium* et de **cryptosporidiose** (pour 10 000) par consommation d'eau suite à l'observation de n oocystes / 100 L d'eau (**objectif ①**). Population **immunodéprimée** consommatrice d'eau de distribution âgée de plus de 3 ans.**

n		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	4.62	0.00	3.58	7.16	11.33	14.31	21.26
	<i>CIinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CI sup</i>	31.63	0.00	24.56	49.07	77.58	97.90	145.19
1	Est	14.90	0.00	11.56	23.10	36.55	46.14	68.52
	<i>CIinf</i>	3.96	0.00	3.07	6.14	9.72	12.28	18.25
	<i>CI sup</i>	53.19	0.00	41.37	82.57	130.42	164.46	243.51
2	Est	26.67	0.00	20.71	41.37	65.42	82.57	122.51
	<i>CIinf</i>	8.56	0.00	6.64	13.27	21.00	26.52	39.39
	<i>CI sup</i>	69.03	0.00	53.75	107.21	169.22	213.27	315.41
10	Est	116.22	0.00	90.79	180.76	284.68	358.24	527.92
	<i>CIinf</i>	68.02	0.00	52.96	105.64	166.75	210.17	310.85
	<i>CI sup</i>	194.34	0.00	152.63	302.92	475.37	596.67	874.03
20	Est	228.21	0.00	179.65	356.07	557.89	699.45	1021.93
	<i>CIinf</i>	148.27	0.00	116.08	230.81	362.98	456.29	670.75
	<i>CI sup</i>	340.37	0.00	270.03	532.77	830.34	1037.15	1502.25
50	Est	543.67	0.00	437.52	855.90	1320.94	1638.55	2335.91
	<i>CIinf</i>	406.41	0.00	323.91	637.34	990.19	1234.05	1778.30
	<i>CI sup</i>	755.50	0.00	617.28	1196.46	1827.14	2249.77	3153.77
100	Est	1026.99	0.00	855.90	1638.55	2467.39	3008.62	4126.13
	<i>CIinf</i>	790.91	0.00	647.87	1253.77	1911.22	2350.35	3285.43
	<i>CI sup</i>	1346.15	0.00	1149.05	2166.07	3205.86	3862.95	5160.72
1000	Est	4948.09	0.00	5904.19	8322.43	9407.88	9718.58	9950.40
	<i>CIinf</i>	4461.33	0.00	5041.32	7541.15	8915.26	9395.41	9845.51
	<i>CI sup</i>	5446.52	0.00	6897.65	9037.55	9754.33	9907.37	9990.48

*Est : estimation médiane ; *CIinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CI sup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Remarques :

- 1) On constate que le risque pour la population immunodéprimée est bien plus élevé, ce qui est attendu puisque nous avons utilisé une DI_{50} environ 100 fois inférieure. Cette remarque est généralisable à l'ensemble des résultats à suivre.
- 2) On notera le caractère linéaire par rapport à n des estimations. Cette observation est vérifiée, exceptée pour la population immunodéprimée lorsque le nombre d'oocystes est élevé : une statistique estimée pour $n = 100$ est 10 fois plus élevée qu'une statistique établie pour $n = 10$. Cette remarque permettra de faire des extrapolations dans la population immunocompétente pour des valeurs non-proposées comprises **entre $n = 0$ et $n = 1000$** .

Par exemple :

- si le nombre d'oocystes observé est égal à 100, le risque moyen d'infection dans la population immunocompétente est estimé à $16.27 \cdot 10^{-4}$;
- si le nombre d'oocystes observé est égal à 77, le risque moyen d'infection dans la population immunocompétente peut être estimé à $16.27 \cdot 10^{-4} \times 77 / 100 = 12 \cdot 10^{-4}$ environ.

6.1.4. Application et intérêt de l'approche ❶

- Proposition d'établissement de limites de qualités des eaux de distribution

Les tableaux précédents permettent d'évaluer la distribution du risque d'infection et de maladie liés à l'observation d'une donnée d'analyse. Ils pourraient permettre, si l'on adopte toutes les hypothèses nécessaires à la construction du modèle, d'aider à l'établissement de normes de salubrité d'une eau suite à analyse.

Par exemple :

- si le gestionnaire estime que le risque est inacceptable dès lors que la moyenne du risque **quotidien de maladie** dans la population immunocompétente est supérieure à³⁸ $1.00 \cdot 10^{-4}$, la norme pourrait alors être située entre 10 (risque = $0.63 \cdot 10^{-4}$) et 20 (risque = $1.26 \cdot 10^{-4}$) oocystes (Tableau 13). Plus précisément en utilisant une extrapolation, on pourrait proposer 16 oocystes / 100 L.
- si le gestionnaire estime que le risque est inacceptable dès lors que plus de 5% de la population immunocompétente a un risque **quotidien de maladie** supérieur à³⁹ $1.00 \cdot 10^{-4}$, la norme pourrait alors être située entre 2 et 10 oocystes (cf. Tableau 13). Plus précisément en utilisant une extrapolation, on pourrait proposer 5 oocystes / 100 L.

- Estimation du nombre de cas supplémentaires suite à un accident de contamination

On émet l'hypothèse qu'un individu peut subir plusieurs infections successives.

- si l'on observe, par exemple, 20 oocystes/ 100 L et si l'on pense que la contamination semble avoir duré 5 jours : on émet l'hypothèse que la contamination est restée constante durant cette période. Le nombre de maladies attendues supplémentaires dans la population **immunocompétente** âgée de plus de 3 ans peut être estimée, selon la Relation (1), à 5 fois la moyenne du risque quotidien simulé pour $n = 20$ présenté dans le Tableau 13 ($1.26 \cdot 10^{-4}$). On a donc⁴⁰ :

$$5 \times p(\text{maladie}|n=20, \text{ population immunocompétente}) = 5 \times 1.26 = \mathbf{6.30 \text{ maladies supplémentaires pour 10 000 habitants consommateurs d'eau distribuée.}}$$

Le nombre de maladies attendues dans la population immunodéprimée peut être estimé à (cf. données dans le Tableau 14)

$$5 \times 228 = \mathbf{1140 \text{ maladies pour 10 000 habitants immunodéprimés consommateurs d'eau distribuée.}}$$

³⁸ il ne s'agit que d'un exemple, pour illustration.

³⁹ il ne s'agit que d'un exemple, pour illustration.

⁴⁰ Nous ne prenons pas en compte l'incertitude par volonté de concision, mais le calcul serait direct par l'utilisation des estimations du Tableau 13.

- si l'on observe, par exemple, 50 oocystes/100 L. et si l'on pense que la contamination semble avoir duré 10 jours : le nombre de maladies supplémentaires dans la population générale peut donc être estimé à :

$$10 \times 3.08 = \mathbf{30.8 \text{ maladies supplémentaires pour 10 000 habitants consommateurs d'eau distribuée.}}$$

Le nombre de maladies supplémentaires dans la population immunodéprimée peut être estimé à :

$$10 \times 544 = \mathbf{5 440 \text{ maladies supplémentaires pour dix mille habitants immunodéprimés consommateurs d'eau distribuée.}}$$

Toutefois, dans ce cas précis d'une pollution ponctuelle et d'un risque élevé, l'hypothèse de plusieurs infections possibles pour un même individu est (trop) forte. C'est l'une des limites de la méthode.

Remarques : il serait tentant d'extrapoler les données des Tableau 12, Tableau 13 et Tableau 14 pour obtenir un risque **annuel**, en les multipliant par 365. Ce calcul supposerait une **constance de la contamination tous les jours de l'année**, ce qui ne semble pas recevable. Toutefois, le gestionnaire pourra extrapoler ces risques quotidiens de la sorte, afin d'obtenir des valeurs plus « parlantes » dans la limite d'interprétation présentée ci-dessus.

6.2.Objectif ② : Risque annuel pour une population définie (source AA)

Rappel de la situation : cet objectif doit répondre à la question : quels sont les risques annuels dans la population desservie par la source de la AA ?

6.2.1. Module « Emission »

Ce module implique d'établir d'une part, la distribution de la contamination quotidienne de l'eau du robinet provenant de la source de AA.

➤ *Distribution de la contamination de l'eau du robinet provenant de la source de AA, à partir de données de surveillance de cette source (Tableau 15.)*

Tableau 15: Données de contamination observées de l'eau de distribution de la source AA.

Date	Résultat (Oocystes / 100 l)
23/07/99	1
06/08/99	<1
21/08/99	<1
03/09/99	<1
14/10/99	<1
29/10/99	4
15/11/99	2
26/11/99	<1
13/12/99	1
27/12/99	<1
13/11/00	77
21/11/00	1

On émet des réserves quant à la représentativité de l'échantillonnage (données portant essentiellement sur le second semestre 1999 et caractère non aléatoire de l'échantillonnage avec augmentation de la fréquence des analyses en cas de résultat positif). On observe que 6 / 12 données sont en dessous du seuil de détection de 1 oocyste/100 L avec une valeur extrême de 77 oocystes.

Afin de proposer une loi de distribution permettant de modéliser la variabilité de la contamination réelle en fonction des prélèvements réalisés, deux hypothèses sont envisageables :

- a. les données proviennent toutes de la même distribution : c'est à dire que la valeur « 77 » n'est pas à considérer comme une valeur accidentelle, mais comme une valeur élevée, plausible, d'une distribution donnée ;
- b. les données proviennent de deux distributions : toutes les données sauf le « 77 » sont des données usuelles, le « 77 » étant une donnée provenant d'une contamination particulière observée suite à un événement exceptionnel.

La réponse à l'objectif ② a été faite en utilisant l'hypothèse a. La variabilité temporelle de la contamination est modélisée selon une loi de distribution de type binomiale-négative.

Nota : L'objectif ① permet d'appréhender le risque lié à « un problème de contamination ponctuel, particulier » et, par conséquent, permet de répondre partiellement à l'objectif ② si l'on considère l'hypothèse b ci dessus..

➤ *Variabilité géographique de la contamination*

On propose l'hypothèse suivante :

Hypothèse 16

- *pour un circuit de distribution d'eau et un temps donnés, le nombre d'oocystes suit une loi de Poisson (hypothèse faible).*

On considère donc implicitement l'absence d'agrégat d'oocystes.

6.2.2. Modélisation de l'objectif ②

La simulation de type « Monte-Carlo » permet de prendre en compte séparément d'une part l'incertitude du risque, liée au manque de données, et d'autre part la variabilité individuelle (naturelle) du risque.

6.2.3. Résultats de l'objectif ②

➤ *Risque d'infection et de maladie quotidien annuel*

Les résultats de l'objectif ② sont présentés dans le Tableau 16. Les populations concernées sont les populations consommatrices d'eau de distribution.

Tableau 16: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque d'infection et de cryptosporidiose, quotidien et annuel par *Cryptosporidium* par consommation d'eau distribuée issue de AA (objectif 2, pour 10 000 habitants consommateurs d'eau distribuée).

Population		Moyenne	Percentiles					
Immuno-compétente			25	50	75	90	95	99
Risque quotidien d'infection	Est*	1.26	0.00	0.03	0.76	3.39	6.53	17.61
	<i>Clinf</i>	0.63	0.00	0.00	0.26	1.64	3.20	8.33
	<i>CIsup</i>	2.70	0.00	0.15	1.92	7.39	14.02	37.08
Risque annuel d'au moins une infection	Est	440.74	139.89	368.76	629.09	936.55	1151.79	1555.97
	<i>Clinf</i>	222.44	69.14	184.91	314.24	474.45	577.48	799.92
	<i>CIsup</i>	907.22	293.51	772.41	1306.15	1895.20	2297.86	3025.72
Risque quotidien de maladie	Est	0.47	0.00	0.01	0.29	1.29	2.45	6.52
	<i>Clinf</i>	0.17	0.00	0.00	0.08	0.45	0.86	2.27
	<i>CIsup</i>	1.19	0.00	0.06	0.78	3.26	6.21	17.24
Risque annuel d'au moins une maladie	Est	169.79	52.57	139.85	241.20	364.11	448.73	614.20
	<i>Clinf</i>	60.40	18.72	49.44	85.62	128.59	160.33	223.44
	<i>CIsup</i>	419.50	131.36	349.50	593.66	888.64	1091.87	1472.31
Population		Moyenne	Percentiles					
Immuno-déprimée			25	50	75	90	95	99
Risque quotidien d'infection et de maladie	Est	85.04	0.00	2.31	55.21	238.80	453.73	1155.17
	<i>Clinf</i>	60.51	0.00	0.21	25.26	161.91	310.09	780.95
	<i>CIsup</i>	120.05	0.00	9.17	95.90	345.34	644.72	1699.02
Risque annuel d'au moins une infection et maladie	Est	7879.72	6283.97	9294.77	9896.16	9990.61	9998.19	9999.93
	<i>Clinf</i>	7194.88	4955.77	8441.59	9598.55	9922.47	9975.48	9997.70
	<i>CIsup</i>	8414.93	7572.58	9767.61	9985.35	9999.51	9999.95	10000.00

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CIsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Lecture : 50% des individus issu de la population immunocompétente, âgés de plus de 3 ans, et consommatrice d'eau de distribution issue de AA, ont un risque quotidien d'infection inférieur ou égal à 0.03/10 000 (intervalle d'incertitude à 95% : [0.00 10⁻⁴ ; 0.15 10⁻⁴]). Cinq pour cent de la population a un risque quotidien au moins égal à 6.53 / 10 000 habitants (intervalle d'incertitude à 95% : [3.20.10⁻⁴ ; 14.02 10⁻⁴]). La moyenne du risque est de 1.26 10⁻⁴ [0.63 10⁻⁴ ; 2.70 10⁻⁴]

Dans la population immunodéprimée de consommateurs d'eau de AA de plus de 3 ans, 50% des individus ont un risque quotidien d'infection inférieur ou égal à 2.31/10 000 habitants (intervalle d'incertitude à 95% : [0.21 10⁻⁴ ; 9.17 10⁻⁴]). Cinq pour cent des individus ont un risque quotidien au moins égal à 454 / 10 000 (intervalle d'incertitude à 95% : [310.10⁻⁴ ; 645 10⁻⁴]). Le risque annuel pour cette population d'au moins une infection par an est de 78.79% [71.94 ; 84.14%]. Plus de 50% de la population a un risque supérieur à 92.94.

➤ **Nombre de maladies attendues dans la population**

- Estimation des effectifs des populations :

On rappelle que le risque est nul toute l'année pour 30% des individus ne consommant pas d'eau du robinet.

- parmi les 50 000 résidents (de plus de 3 ans) desservis par la source de AA, on a donc environ 34 910 consommateurs potentiels d'eau du robinet, et donc personnes à risque, considérées immunocompétentes ;
- l'effectif de la population immunodéprimée a été calculée par rapport aux données du DMI2⁴¹, en 2001. Pour le département desservi par la source AA, les cas de SIDA prévalents sont de 80, les cas prévalents estimés de malades infectés par le VIH sont de 300 (soit une estimation de 30 sur la zone desservie par la source de AA. Selon l'hypothèse n°3, on considère que cette population consomme l'eau de la même façon que la population générale, soit 30% ne consomment pas d'eau. La population immunodéprimée de la zone desservie par la source est estimée à 20 personnes.

- Calculs

On obtient les estimations suivantes :

- dans la population générale, 1536 individus seront infectés au moins une fois par an (Intervalle d'incertitude : [775, 3166])
- dans la population générale, 593 individus présenteront un épisode de cryptosporidiose au moins par an (Intervalle d'incertitude : [209, 1466])
- dans la population immunodéprimée, 16 individus présenteront au moins un épisode de cryptosporidiose par an (Intervalle d'incertitude : [14, 17])

6.3.Objectif ③ : Risque annuel en cas de résultats d'analyses négatifs

Rappel de la situation : il s'agit d'estimer le risque annuel d'infection par *Cryptosporidium parvum* et de cryptosporidiose, chez les individus immunocompétents et immunodéprimés, par consommation d'eau du robinet, après observation d'une série de résultats d'analyse négatifs.

Nota : Ce risque est estimé, mais sans conclure sur son acceptabilité, cette tâche étant du ressort du gestionnaire.

6.3.1. Module « Emission »

En l'absence de modèle de contamination de l'eau, il n'est possible d'évaluer plus finement le risque que sous les deux hypothèses suivantes :

- la contamination est variable tout au long de l'année. Selon cette hypothèse, les données antérieures n'apportent aucune information supplémentaire sur la contamination d'un jour donné. Seule une modélisation de la variabilité quotidienne de la contamination à partir d'un certain nombre de prélèvements (comme réalisé dans l'objectif ②, ④ et ⑤) permet d'estimer un risque annuel ;
- la contamination est constante tout au long de l'année. C'est l'hypothèse retenue dans la suite de cette section.

Hypothèse 17

- *la contamination est constante tout au long de l'année (hypothèse non sécuritaire).*

L'Hypothèse 16 est maintenue.

⁴¹ Il s'agit d'un suivi de cohorte de la population infectée par le VIH, française

6.3.2. Modélisation de l'objectif ③

La simulation de type « Monte-Carlo » permet de prendre en compte séparément d'une part l'incertitude du risque, liée au manque de données, et d'autre part la variabilité individuelle (naturelle) du risque.

6.3.3. Résultats de l'objectif ③

Les résultats sont présentés dans le Tableau 17 (risque d'infection, population immunocompétente), le Tableau 18 (risque de maladie, population immunocompétente) et le Tableau 19 (risque d'infection et de maladie, population immunodéprimée).

Tableau 17: Estimation de la moyenne et des percentiles du **risque d'infection annuel** par *Cryptosporidium* par consommation d'eau distribuée selon le nombre *r* de résultats négatifs observés (**objectif 3**, pour 10 000). Population **immunocompétente** consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.

<i>r</i>		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
1	Est*	22.74	7.04	18.49	32.10	48.81	60.74	82.86
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	168.87	52.84	138.28	239.01	361.40	448.01	606.75
2	Est	11.38	3.52	9.25	16.07	24.43	30.42	41.52
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	85.06	26.46	69.38	120.23	182.36	226.57	308.12
3	Est	7.59	2.35	6.17	10.71	16.30	20.29	27.70
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	56.85	17.65	46.31	80.31	121.95	151.62	206.48
4	Est	5.69	1.76	4.63	8.04	12.22	15.22	20.78
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	42.69	13.24	34.75	60.29	91.60	113.93	155.27
5	Est	4.55	1.41	3.70	6.43	9.78	12.18	16.63
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	34.18	10.59	27.81	48.26	73.35	91.25	124.41
6	Est	3.80	1.17	3.08	5.36	8.15	10.15	13.86
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	28.49	8.83	23.18	40.24	61.16	76.10	103.78
7	Est	3.25	1.01	2.64	4.59	6.99	8.70	11.88
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	24.43	7.57	19.87	34.50	52.45	65.26	89.02
8	Est	2.85	0.88	2.31	4.02	6.11	7.61	10.40
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	21.38	6.62	17.39	30.19	45.91	57.13	77.94
9	Est	2.53	0.78	2.06	3.57	5.44	6.77	9.24
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	19.01	5.89	15.46	26.84	40.82	50.80	69.31
10	Est	2.28	0.70	1.85	3.22	4.89	6.09	8.32
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	17.11	5.30	13.92	24.16	36.74	45.73	62.40
11	Est	2.07	0.64	1.68	2.92	4.45	5.54	7.56
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	15.56	4.82	12.65	21.97	33.41	41.58	56.74
12	Est	1.90	0.59	1.54	2.68	4.08	5.08	6.93
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	14.26	4.41	11.60	20.14	30.63	38.12	52.03
24	Est	0.95	0.29	0.77	1.34	2.04	2.54	3.47
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	7.14	2.21	5.80	10.07	15.33	19.08	26.05
36	Est	0.63	0.20	0.51	0.89	1.36	1.69	2.31
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	4.76	1.47	3.87	6.72	10.22	12.72	17.37
48	Est	0.47	0.15	0.39	0.67	1.02	1.27	1.73
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	3.57	1.10	2.90	5.04	7.67	9.54	13.03
52	Est	0.44	0.14	0.36	0.62	0.94	1.17	1.60
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	3.29	1.02	2.68	4.65	7.08	8.81	12.03
104	Est	0.22	0.07	0.18	0.31	0.47	0.59	0.80
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1.65	0.51	1.34	2.33	3.54	4.41	6.02
365	Est	0.06	0.02	0.05	0.09	0.13	0.17	0.23
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	0.47	0.15	0.38	0.66	1.01	1.26	1.71

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Lecture : si on observe 0 oocystes durant $r = 5$ analyses, le risque annuel moyen de subir au moins une infection est estimé à 4.55 pour dix mille dans la population immunocompétente [$0.00 \cdot 10^{-4}$; $34.18 \cdot 10^{-4}$].

Tableau 18 : Estimation de la moyenne et des percentiles du **risque annuel de cryptosporidiose** par consommation d'eau distribuée selon le nombre r de résultats négatifs observés (**objectif ⑤**, pour 10 000). Population **immunocompétente** consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.

r		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
1	Est*	7.96	2.47	6.48	11.24	17.09	21.26	29.00
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	69.56	21.71	56.87	98.40	148.98	184.84	250.74
2	Est	3.98	1.23	3.24	5.63	8.56	10.65	14.53
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	34.99	10.87	28.52	49.44	75.04	93.27	126.94
3	Est	2.66	0.82	2.16	3.75	5.71	7.10	9.70
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	23.37	7.25	19.03	33.01	50.15	62.37	84.98
4	Est	1.99	0.62	1.62	2.81	4.28	5.33	7.28
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	17.55	5.44	14.28	24.78	37.66	46.85	63.87
5	Est	1.60	0.49	1.30	2.25	3.43	4.26	5.82
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	14.04	4.35	11.43	19.83	30.15	37.51	51.16
6	Est	1.33	0.41	1.08	1.88	2.85	3.55	4.85
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	11.71	3.63	9.52	16.53	25.13	31.28	42.67
7	Est	1.14	0.35	0.93	1.61	2.45	3.05	4.16
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	10.04	3.11	8.16	14.17	21.55	26.82	36.59
8	Est	1.00	0.31	0.81	1.41	2.14	2.67	3.64
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	8.79	2.72	7.14	12.40	18.86	23.48	32.03
9	Est	0.89	0.27	0.72	1.25	1.90	2.37	3.24
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	7.81	2.42	6.35	11.03	16.77	20.87	28.48
10	Est	0.80	0.25	0.65	1.13	1.71	2.13	2.91
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	7.03	2.18	5.72	9.93	15.10	18.79	25.64
11	Est	0.73	0.22	0.59	1.02	1.56	1.94	2.65
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	6.39	1.98	5.20	9.02	13.72	17.08	23.32
12	Est	0.66	0.21	0.54	0.94	1.43	1.78	2.43
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	5.86	1.81	4.76	8.27	12.58	15.66	21.38
24	Est	0.33	0.10	0.27	0.47	0.71	0.89	1.21
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	2.93	0.91	2.38	4.14	6.30	7.84	10.70
36	Est	0.22	0.07	0.18	0.31	0.48	0.59	0.81
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1.95	0.60	1.59	2.76	4.20	5.23	7.14
48	Est	0.17	0.05	0.14	0.23	0.36	0.44	0.61
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1.47	0.45	1.19	2.07	3.15	3.92	5.35
52	Est	0.15	0.05	0.12	0.22	0.33	0.41	0.56
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1.35	0.42	1.10	1.91	2.91	3.62	4.94
104	Est	0.08	0.02	0.06	0.11	0.16	0.21	0.28
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	0.68	0.21	0.55	0.96	1.45	1.81	2.47
365	Est	0.02	0.01	0.02	0.03	0.05	0.06	0.08
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	0.19	0.06	0.16	0.27	0.41	0.52	0.70

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Tableau 19 : Estimation de la moyenne et des percentiles du **risque annuel d'infection** par *Cryptosporidium parvum* et de **cryptosporidiose** par consommation d'eau distribuée selon le nombre *r* de résultats négatifs (**objectif 3**, pour 10 000). Population **immunodéprimée** consommatrice d'eau distribuée âgée de plus de 3 ans.

		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
1	Est*	1468.21	507.77	1279.94	2117.43	3037.45	3628.90	4597.07
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	5605.83	3009.98	6098.27	8050.52	9169.14	9548.56	9854.56
2	Est	785.03	257.19	661.87	1121.61	1655.81	2018.09	2649.54
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	3808.57	1639.37	3753.62	5584.72	7117.54	7875.31	8794.02
3	Est	535.65	172.20	446.27	762.47	1136.82	1395.25	1855.28
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	2873.59	1125.18	2692.78	4201.64	5636.44	6439.35	7559.06
4	Est	406.50	129.43	336.60	577.48	865.35	1065.84	1426.52
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	2305.03	856.35	2096.60	3355.24	4631.16	5390.58	6527.30
5	Est	327.52	103.68	270.20	464.72	698.49	862.18	1158.50
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1923.62	691.16	1715.79	2789.21	3919.99	4618.33	5709.25
6	Est	274.24	86.48	225.68	388.79	585.56	723.82	975.19
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1650.25	579.38	1451.77	2385.30	3394.28	4032.89	5059.43
7	Est	235.87	74.17	193.75	334.19	504.05	623.72	841.93
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1444.79	498.71	1258.05	2083.02	2991.16	3576.12	4535.84
8	Est	206.92	64.93	169.74	293.03	442.46	547.93	740.69
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1284.77	437.76	1109.89	1848.46	2672.76	3210.73	4107.05
9	Est	184.30	57.73	151.02	260.90	394.28	488.57	661.18
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1156.62	390.08	992.92	1661.24	2415.15	2912.24	3750.41
10	Est	166.13	51.98	136.03	235.12	355.56	440.80	597.08
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	1051.70	351.77	898.23	1508.36	2202.56	2664.02	3449.63
11	Est	151.23	47.26	123.74	213.98	323.77	401.55	544.30
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	964.22	320.31	820.02	1381.20	2024.19	2454.48	3192.79
12	Est	138.78	43.33	113.48	196.32	297.19	368.71	500.10
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	890.17	294.01	754.34	1273.78	1872.44	2275.29	2971.08
24	Est	69.81	21.69	56.90	98.65	149.72	186.09	253.26
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	463.18	148.10	384.56	658.58	984.70	1210.97	1616.14
36	Est	46.64	14.46	37.97	65.87	100.06	124.45	169.56
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	313.01	98.98	258.05	444.02	667.74	824.55	1108.75
48	Est	35.01	10.85	28.49	49.45	75.14	93.48	127.44
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	236.37	74.33	194.17	334.90	505.11	625.02	843.66
52	Est	32.33	10.02	26.30	45.65	69.38	86.32	117.70
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	218.53	68.63	179.37	309.54	467.18	578.36	781.37
104	Est	16.19	5.01	13.16	22.85	34.75	43.25	59.02
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	110.32	34.37	90.09	155.99	236.38	293.49	398.63
365	Est	4.62	1.43	3.75	6.52	9.91	12.34	16.85
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clsup</i>	31.65	9.81	25.75	44.70	67.93	84.52	115.24

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

6.3.4. Application et intérêt de l'approche ③

Si le gestionnaire dispose d'une valeur de risque acceptable, cet objectif permet de proposer le nombre d'analyses négatives consécutives permettant de qualifier l'eau. On rappelle cependant que ces estimations sont sensibles aux hypothèses admises, notamment celle concernant la sensibilité de la méthode et, surtout, l'hypothèse de constance de contamination d'une analyse à l'autre (n°17). Cette dernière hypothèse n'est tenable que pour des eaux non influencées.

6.4. Objectif ④ : Risque annuel selon la ressource et le niveau d'abattement

Rappel de la situation : cet objectif doit répondre à la question : Quelle sont les risques annuels liés à *Cryptosporidium parvum* en fonction de la nature des ressources en eau et des modalités de traitement ?

6.4.1. Module émission

Il est nécessaire de spécifier une distribution de la contamination de la ressource, en fonction de sa nature. On considèrera deux types de ressources :

- les ressources en eau de surface ;
- les ressources en eaux souterraines influencées.

On ne considèrera pas le cas des eaux souterraines non-influencées.

6.4.1.1. Eau de surface

On dispose d'une courbe de probabilité cumulée du nombre d'oocystes pour 100 L observés dans des échantillons provenant de 16 sources d'eau de surface.

Hypothèse 18

- les données disponibles, obtenues sur plusieurs captages, peuvent servir à modéliser la variation de la contamination d'une ressource de surface tout au long de l'année (hypothèse forte).

Nous avons ajusté une courbe de distribution à ces données observées. Les probabilités d'observer des valeurs supérieures à 0.1, 1, 10, 100, 1 000 et 10 000 d'oocystes pour 100 L. proposées par la relation modélisée sont présentées Tableau 20. On note que la probabilité d'obtenir 100 000 oocystes par 100 L. est nulle.

Tableau 20 : Probabilité d'observer une valeur supérieure à 0.1, 1, 10, 100, 1000 et 10 000 et 100 000 oocystes pour 100L.

Nombre d'oocystes / 100 L.	0.1	1	10	100	1 000	10 000	100 000
Eau de surface							
Oocystes observés	73%	68%	55%	34%	8%	0.006%	0%
Eau souterraine							
Oocystes observés	41%	31%	20%	7%	0.24%	0%	0%

6.4.1.2. Eau souterraine

Nous avons appliqué la même procédure à partir du cumul de données provenant de 21 ressources en eaux souterraines influencées. Les probabilités d'observer des valeurs supérieures à 0.1, 1, 10, 100, 1 000 et 10 000 d'oocystes pour 100 L. proposés par la loi estimée sont présentées Tableau 20. On notera que la probabilité d'obtenir 1 000 oocystes ou plus par 100 L. est quasi-nulle.

6.4.1.3. Abattement

Lors de la procédure de traitement, un certain niveau d'abattement de 10^x est obtenu.

Hypothèse 19

- *on considère que chaque oocyste à une probabilité $1/10^x$ de passer la procédure de traitement présentant un taux d'abattement de x log, indépendamment des autres oocystes.*

6.4.2. Modélisation de l'objectif ④

La simulation de type « Monte-Carlo » permet de prendre en compte séparément d'une part l'incertitude du risque, liée au manque de données, et d'autre part la variabilité individuelle (naturelle) du risque.

6.4.3. Résultats objectif ④

6.4.3.1. Eau de surface

Le Tableau 21 présente les estimations du risque d'infection par *Cryptosporidium parvum* dans la population immunocompétente alimentée par une ressource en eau de surface, selon le taux d'abattement du traitement. Le Tableau 22 présente les estimations du risque de maladie dans la même population et le Tableau 23 présente les estimations du risque d'infection par *Cryptosporidium parvum* et de maladie dans la population immunodéprimée.

Tableau 21: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel d'infection par *Cryptosporidium* par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif 4, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	6405.00	3889.52	7316.81	8969.30	9679.03	9860.51	9973.53
	<i>CIinf</i>	4623.48	2169.63	4813.86	6775.31	8218.69	8829.53	9493.74
	<i>CIsup</i>	8015.52	6581.63	9455.88	9933.31	9994.77	9999.14	9999.97
1	Est	1398.68	478.68	1228.19	2030.01	2909.41	3464.85	4463.21
	<i>CIinf</i>	746.25	241.01	633.15	1063.02	1581.01	1937.16	2571.79
	<i>CIsup</i>	2688.28	1008.44	2502.26	3927.90	5284.35	6066.47	7233.06
2	Est	158.22	49.04	130.74	224.99	338.60	417.56	577.58
	<i>CIinf</i>	79.23	24.39	64.83	112.99	170.11	211.02	291.51
	<i>CIsup</i>	341.78	106.42	286.63	486.55	731.60	894.85	1206.65
3	Est	15.99	4.92	13.13	22.63	34.35	42.64	59.41
	<i>CIinf</i>	8.01	2.44	6.60	11.34	17.28	21.13	29.87
	<i>CIsup</i>	35.81	10.97	29.27	50.91	77.60	94.72	132.40
4	Est	1.32	0.39	1.08	1.87	2.85	3.57	5.04
	<i>CIinf</i>	0.97	0.27	0.79	1.38	2.19	2.69	3.78
	<i>CIsup</i>	2.59	0.79	2.09	3.68	5.53	6.90	9.70
5	Est	0.15	0.03	0.12	0.22	0.34	0.42	0.61
	<i>CIinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CIsup</i>	0.51	0.14	0.41	0.73	1.11	1.38	1.97
6	Est	0.02	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06
	<i>CIinf</i>	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03
	<i>CIsup</i>	0.03	0.01	0.03	0.05	0.07	0.09	0.12
7	Est	0.00						
	<i>CIinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CIsup</i>	0.03	0.00	0.02	0.05	0.07	0.09	0.13
8	Est	0.00						
	<i>CIinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CIsup</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*Est : estimation médiane ; *CIinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CIsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Lecture : (cases encadrées en pointillés) dans la population immunocompétente âgée de plus de 3 ans, de consommateurs d'eau de distribution issue d'une ressource de surface, 50% des individus ont un risque quotidien d'infection supérieur ou égal à 7 316/10 000 (intervalle d'incertitude à 95% : [4813 10⁻⁴ ; 9455 10⁻⁴]). Un abattement de 10⁷ permet d'assurer une estimation du risque d'infection inférieure à 0.00.

On notera le caractère non-linéaire du risque selon le niveau d'abattement lorsque celui-ci est faible.

Tableau 22 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	2447.26	1459.80	2764.00	3390.30	3688.51	3804.35	3874.83
	<i>Clinf</i>	1096.74	566.76	1175.44	1574.32	1772.51	1809.25	1836.37
	<i>Clisup</i>	4202.38	3106.57	4912.61	5542.74	5945.53	6031.34	6129.86
1	Est	528.81	180.03	463.50	766.67	1103.26	1305.84	1676.82
	<i>Clinf</i>	200.76	65.24	171.85	290.11	417.68	510.84	672.89
	<i>Clisup</i>	1225.90	466.90	1149.21	1803.32	2495.78	2872.42	3471.54
2	Est	59.76	18.44	49.17	84.91	128.09	157.75	217.24
	<i>Clinf</i>	21.67	6.56	17.83	30.86	46.55	57.40	81.00
	<i>Clisup</i>	156.98	48.99	130.52	221.99	336.22	407.71	553.92
3	Est	6.00	1.83	4.92	8.50	12.92	15.94	22.18
	<i>Clinf</i>	2.15	0.66	1.78	3.09	4.62	5.74	8.12
	<i>Clisup</i>	15.45	4.78	12.75	22.04	33.42	40.76	56.82
4	Est	0.51	0.15	0.40	0.71	1.10	1.37	1.93
	<i>Clinf</i>	0.36	0.11	0.29	0.50	0.78	0.96	1.32
	<i>Clisup</i>	1.36	0.41	1.09	1.94	2.90	3.67	5.20
5	Est	0.05	0.01	0.04	0.08	0.12	0.15	0.22
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clisup</i>	0.22	0.06	0.18	0.32	0.50	0.62	0.90
6	Est	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
	<i>Clisup</i>	0.02	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06
7	Est	0.00						
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clisup</i>	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.04
8	Est	0.00						
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clisup</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clisup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Tableau 23 : Estimation de la moyenne et des percentiles des risques annuels d'infection par *Cryptosporidium* et de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de surface selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunodéprimée consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	9994.89	10000	10000	10000	10000	10000	10000
	Clinf	9978.38	10000	10000	10000	10000	10000	10000
	CIsup	9999.15	10000	10000	10000	10000	10000	10000
1	Est	9345.96	9685.26	9999.03	10000.00	10000.0	10000.0	10000.0
	Clinf	9037.02	9120.95	9985.08	9999.86	10000.0	10000.0	10000.0
	CIsup	9579.45	9920.61	9999.97	10000.00	10000.0	10000.0	10000.0
2	Est	5534.51	2922.43	6048.13	7983.47	9121.47	9508.27	9848.20
	Clinf	4601.30	2144.52	4778.57	6726.66	8175.52	8794.52	9481.48
	CIsup	6374.43	3813.24	7264.92	8922.10	9664.25	9849.14	9972.43
3	Est	1030.51	340.69	888.22	1485.78	2165.48	2615.41	3449.44
	Clinf	719.94	233.76	613.82	1039.20	1536.64	1856.64	2494.50
	CIsup	1406.87	478.63	1236.87	2031.67	2918.34	3490.22	4479.16
4	Est	120.58	36.81	97.92	172.35	258.88	323.11	453.71
	Clinf	91.64	27.74	75.50	127.90	199.98	246.40	339.32
	CIsup	164.11	49.69	134.09	233.52	354.80	435.92	611.97
5	Est	11.14	3.41	9.12	15.78	24.02	29.74	41.42
	Clinf	7.98	2.43	6.51	11.34	17.20	21.14	29.37
	CIsup	16.11	5.00	13.25	22.97	34.65	43.18	59.58
6	Est	1.12	0.34	0.91	1.58	2.40	2.98	4.15
	Clinf	0.80	0.24	0.65	1.13	1.72	2.12	2.94
	CIsup	1.61	0.50	1.33	2.30	3.47	4.33	5.97
7	Est	0.11	0.03	0.09	0.16	0.24	0.30	0.42
	Clinf	0.08	0.02	0.07	0.11	0.17	0.21	0.29
	CIsup	0.16	0.05	0.13	0.23	0.35	0.43	0.60
8	50%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2.5%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	97.5%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*Est : estimation médiane ; Clinf : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, CIsup : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

6.4.3.2. Eau Souterraine

Le Tableau 24 présente les estimations du risque d'infection par *Cryptosporidium parvum* dans la population immunocompétente alimentée par une ressource en eau souterraine, selon le taux d'abattement du traitement. Le Tableau 25 présente les estimations du risque de maladie dans la même population et le Tableau 26 présente les estimations du risque d'infection par *Cryptosporidium parvum* et de maladie dans la population immunodéprimée.

Tableau 24: Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel d'infection par *Cryptosporidium* par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource souterraine influencée selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	1493.01	507.24	1311.38	2160.36	3102.2	3681.4	4746.27
	<i>Ciinf</i>	773.72	246.69	662.51	1112.62	1632.14	1974.7	2671.76
	<i>Cisup</i>	2931.48	1126.86	2782.58	4319.96	5774.71	6573.68	7750.41
1	Est	169.43	51.92	139.59	240.45	364.57	448.71	623.37
	<i>Ciinf</i>	82.39	24.95	68.31	117.26	176.61	217.58	306.07
	<i>CIsup</i>	385.02	118.84	320.83	549.93	825.43	1015.73	1385.95
2	Est	17.17	5.2	14.05	24.31	37.07	45.8	64.16
	<i>CIinf</i>	8.29	2.5	6.85	11.79	17.8	21.97	31.04
	<i>CIsup</i>	39.72	11.95	32.56	56.4	85.78	106.54	148.08
3	Est	1.72	0.52	1.41	2.43	3.71	4.59	6.43
	<i>CIinf</i>	0.83	0.25	0.69	1.18	1.78	2.2	3.11
	<i>CIsup</i>	3.98	1.2	3.26	5.65	8.61	10.71	14.91
4	Est	0.17	0.05	0.14	0.24	0.37	0.46	0.64
	<i>CIinf</i>	0.08	0.02	0.07	0.12	0.18	0.22	0.31
	<i>CIsup</i>	0.4	0.12	0.33	0.57	0.86	1.07	1.49
5	Est	0.02	0.01	0.01	0.02	0.04	0.05	0.06
	<i>CIinf</i>	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03
	<i>CIsup</i>	0.04	0.01	0.03	0.06	0.09	0.11	0.15
6	Est	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	<i>CIinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CIsup</i>	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01

*Est : estimation médiane ; *CIinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CIsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Tableau 25 : Estimation de la moyenne et des percentiles du risque annuel de cryptosporidiose par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource souterraine influencée selon le niveau d'abattement du traitement (objectif ④, pour 10 000). Population immunocompétente consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	569.02	193.53	502.96	822.87	1184.13	1397.14	1807.72
	<i>Clinf</i>	211.83	68.87	184.67	305.33	443.95	530.89	731.89
	<i>Clisup</i>	1315.41	500.2	1242.63	1939.03	2584.12	3025.12	3664.16
1	Est	65.2	19.89	53.78	92.28	139.8	172.91	240.68
	<i>Clinf</i>	23.08	6.96	19.07	33	49.63	60.32	85.48
	<i>Clisup</i>	170.81	52.19	141.33	243.03	366.55	446.86	613.93
2	Est	6.61	1.99	5.41	9.32	14.22	17.62	24.72
	<i>Clinf</i>	2.33	0.7	1.91	3.32	5.02	6.12	8.68
	<i>Clisup</i>	17.62	5.25	14.32	24.93	38.09	46.9	64.92
3	Est	0.66	0.2	0.54	0.93	1.43	1.76	2.48
	<i>Clinf</i>	0.23	0.07	0.19	0.33	0.5	0.61	0.87
	<i>Clisup</i>	1.77	0.52	1.43	2.5	3.82	4.71	6.54
4	Est	0.07	0.02	0.05	0.09	0.14	0.18	0.25
	<i>Clinf</i>	0.02	0.01	0.02	0.03	0.05	0.06	0.09
	<i>Clisup</i>	0.18	0.05	0.14	0.25	0.38	0.47	0.65
5	Est	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0	0	0.01	0.01	0.01
	<i>Clisup</i>	0.02	0.01	0.01	0.03	0.04	0.05	0.07
6	Est	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Clisup</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *Clisup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%,

Tableau 26 : Estimation de la moyenne et des percentiles des **risques annuels d'infection** par *Cryptosporidium* et de **cryptosporidiose** par consommation d'eau distribuée issue d'une ressource de souterraine selon le niveau d'abattement du traitement (**objectif 4**, pour 10 000). Population **immunodéprimée** consommatrice d'eau, âgée de plus de 3 ans.

Abattement		Moyenne	Percentiles					
			25	50	75	90	95	99
0	Est*	9362.52	9765.09	9999.6	10000	10000	10000	10000
	<i>Clinf</i>	8951.31	8987.91	9979.33	9999.75	10000	10000	10000
	<i>CIsup</i>	9653.01	9971.64	10000	10000	10000	10000	10000
1	Est	5737.88	3127.89	6369.07	8255.7	9296.54	9627.77	9903.86
	<i>Clinf</i>	4461.73	2047.19	4610.68	6538.32	8008.85	8653.82	9398.8
	<i>CIsup</i>	6834.1	4437.48	7954.68	9358.99	9849.65	9943.43	9993.45
2	Est	1112.45	368.17	963.47	1602.27	2331.26	2804.16	3717.33
	<i>Clinf</i>	703.52	226.46	599.45	1006.5	1490.38	1817.04	2450.91
	<i>CIsup</i>	1653.71	569.66	1467.5	2402.23	3427.8	4039.8	5196.73
3	Est	121.99	37.44	100.8	173.11	261.94	323.73	454.19
	<i>Clinf</i>	74.48	22.88	61.63	105.52	160.09	198.53	277.24
	<i>CIsup</i>	190.88	58.48	157.45	270.99	411.05	504.32	707.06
4	Est	12.32	3.75	10.13	17.45	26.51	32.85	46.37
	<i>Clinf</i>	7.49	2.29	6.18	10.6	16.13	20.03	28.08
	<i>CIsup</i>	19.38	5.86	15.86	27.44	41.89	51.61	73.06
5	Est	1.23	0.38	1.01	1.75	2.65	3.29	4.65
	<i>Clinf</i>	0.75	0.23	0.62	1.06	1.61	2.01	2.81
	<i>CIsup</i>	1.94	0.59	1.59	2.75	4.2	5.17	7.33
6	Est	0.12	0.04	0.1	0.17	0.27	0.33	0.46
	<i>Clinf</i>	0.07	0.02	0.06	0.11	0.16	0.2	0.28
	<i>CIsup</i>	0.19	0.06	0.16	0.27	0.42	0.52	0.73
7	Est	0.01	0.00	0.01	0.02	0.03	0.03	0.05
	<i>Clinf</i>	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03
	<i>CIsup</i>	0.02	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.07
8	Est	0.00						
	<i>Clinf</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>CIsup</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01

*Est : estimation médiane ; *Clinf* : borne inférieure de l'intervalle d'incertitude à 95%, *CIsup* : borne supérieure de l'intervalle d'incertitude à 95%.

6.4.4. Application, intérêt et limites de l'objectif 4

Les tableaux de résultats présentés permettent de spécifier un niveau d'abattement minimal permettant d'assurer un risque inférieur au seuil acceptable défini par un gestionnaire, selon le type de ressource (eau de surface ou eau souterraine influencée).

Cependant, il convient de rappeler l'ensemble des limites préalablement proposées (notamment concernant la loi dose-réponse), ainsi que celles liées au peu de données disponibles pour l'ajustement de la loi du nombre d'oocystes observé selon les ressources. Une seconde analyse sera nécessaire avec un jeu de données plus conséquent. Les distributions utilisées sont des distributions « moyennes » et il conviendrait de vérifier que la ressource étudiée spécifiquement par le gestionnaire correspond à cette moyenne.

6.5.Objectif 5 : Réalisation pratique d'une évaluation des risques liés à une ressource donnée.

L'objectif précédent permettait d'établir le risque lié à la consommation d'eau distribuée à partir d'un cumul de données provenant de plusieurs sites de captage ; l'objectif 5 doit répondre à la question : Comment, **en pratique**, évaluer les risques vis-à-vis de *Cryptosporidium parvum* liés à la consommation d'eau de distribution issue d'une ressource donnée et, en corollaire, quels sont les pré-requis pour obtenir une bonne estimation du risque.

Les algorithmes proposés précédemment ne sont pas directement utilisables par les gestionnaires de la distribution de l'eau. Le transfert de la méthode complète auprès des gestionnaires des différentes ressources, ou, de manière plus directe, la mise à disposition d'un logiciel dédié pourraient, à l'avenir, être réalisés. Dans un premier temps, il est cependant possible de proposer une formule permettant de calculer une approximation de l'estimation du risque annuel d'infection et de maladie. Nous allons dans ce chapitre :

- proposer des formules simplifiées pour le calcul du risque ;
- établir les données de laboratoires nécessaires pour pouvoir estimer le risque lié à la consommation d'eau de distribution issue d'une ressource donnée.

6.5.1. Simplification du calcul du risque

Il est possible de simplifier considérablement l'analyse, dans une certaine gamme de risque. Ce résultat est lié à la conjonction de plusieurs propriétés du modèle :

- la relation dose-réponse admet l'hypothèse d'une absence de synergie entre les oocystes : en pratique, cela signifie, par exemple, que le risque lié à la consommation de 1 oocyste tous les 365 jours de l'année est strictement égal, par l'utilisation de la loi dose réponse exponentielle, au risque lié à la consommation 1 jour donné de 365 oocystes : pour évaluer le risque annuel d'infection, il suffit donc d'estimer le nombre d'oocystes ingérés par un individu au cours d'une année puis d'appliquer la loi dose-réponse en un calcul ;
- la principale source de variabilité du risque est liée à la variabilité de la consommation individuelle d'eau du robinet. La variabilité de la contamination de l'eau d'un jour à l'autre est en fait très fortement réduite lors du calcul du risque annuel, car les jours de forte contamination sont compensés par des jours de faible contamination : il est alors possible sans trop de perte d'information de prendre comme valeur de contamination la moyenne de la contamination ;
- la principale source d'incertitude du risque est liée à l'incertitude autour du paramètre de la relation dose réponse.

6.5.2. Equations

La relation permettant d'exprimer le **risque annuel d'infection** (population immunocompétente) r_{an} ou le risque annuel d'infection et de cryptosporidiose (population immunodéprimée) peut s'écrire :

$$\text{Relation (2)} \quad r_{an} = 1 - \exp \left(- r \text{ conso}_{an} p_{viab} 10^{-abat} \left(\frac{\text{conta}_{moy} + 0.01}{sens} - 0.01 \right) \right)$$

avec

- r : le paramètre de la loi dose réponse (population immunocompétente : 0.00419 ; population immunodéprimée : 0.354) ;
- conso_{an} : la consommation annuelle d'eau de distribution des individus (moyenne : 141.3 litres/an) ;
- p_{viab} : le pourcentage d'oocystes viables : 0.4 ;
- $abat$: le taux d'abattement (0, 1,...) ;

- $conta_{moy}$: la contamination moyenne **observée** de la ressource avant abattement (**oocystes / litres**) ;
- $sens$: la sensibilité de la méthode : 0.4.

De même, la relation permettant d'exprimer le risque annuel de **cryptosporidiose** dans la population immunocompétente peut s'écrire :

$$\text{Relation (3)} \quad r_{an} = p_{mal} \left(1 - \exp \left(-r_{conso_{an}} p_{viab} 10^{-abat} \left(\frac{conta_{moy} + 0.01}{sens} - 0.01 \right) \right) \right)$$

Avec p_{mal} la probabilité pour un individu infecté de développer la maladie : 0.39.

En pratique, il est possible non seulement d'estimer la moyenne du risque, mais également la variabilité du risque dans la population : l'essentiel de la variabilité étant liée à la variabilité de consommation, il suffit d'utiliser les différents percentiles de consommation d'eau proposés Tableau 27 pour obtenir une approximation des percentiles de risque correspondants.

Tableau 27 : moyenne et percentiles de consommation annuelle d'eau en litre (L par an, Source : base INCA)

Moyenne	Percentiles					
	25%	50%	75%	90%	95%	99%
141.30	43.68	114.80	199.44	303.46	377.88	516.04

Exemple : Calcul du risque annuel pour une ressource, suite à l'observation d'une moyenne de 500 oocystes/100 l (soit 5 oocystes / l) si l'abattement est de 3 log.

risque moyen :

$$r_{an} = 1 - \exp(-0.00419 \times \mathbf{141.3} \times 0.4 \times 10^{-3} \times ((5 + 0.01)/ 0.4 - 0.01)) = 29.59 \text{ pour } 10\ 000 ;$$

25^{ième} percentile du risque :

$$r_{an} = 1 - \exp(-0.00419 \times \mathbf{43.68} \times 0.4 \times 10^{-3} \times ((5 + 0.01)/ 0.4 - 0.01)) = 9.16 \text{ pour } 10\ 000 ;$$

50^{ième} percentile du risque :

$$r_{an} = 1 - \exp(-0.00419 \times \mathbf{114.80} \times 0.4 \times 10^{-3} \times ((5 + 0.01)/ 0.4 - 0.01)) = 24.05 \text{ pour } 10\ 000 ;$$

75^{ième} percentile du risque :

$$r_{an} = 1 - \exp(-0.00419 \times \mathbf{199.44} \times 0.4 \times 10^{-3} \times ((5 + 0.01)/ 0.4 - 0.01)) = 41.75 \text{ pour } 10\ 000 ;$$

...

L'approximation de l'évaluation du risque par l'utilisation des équations précédentes a été validée par rapport à l'utilisation de la méthode par simulation de « Monte-Carlo » : cette approximation semble pertinente dans la fenêtre de risque s'étalant de 10^{-4} à 10^{-2} . Des essais complémentaires ont permis de constater une moins bonne approximation pour les risques estimés dans la population immunodéprimée : on ne retiendra, par l'utilisation de ces équations dans la population immunodéprimée, qu'une échelle de grandeur du risque.

6.5.3. Pré-requis pour l'évaluation du risque

Si l'on adopte l'ensemble des hypothèses nécessaires à la construction du modèle, le seul paramètre nécessaire pour évaluer le risque lié à la consommation d'eau distribuée issue d'une

ressource par les formules précédentes est **la moyenne annuelle du nombre d'oocystes par litre d'eau de la ressource**.

Il est donc nécessaire d'évaluer avec précision la moyenne annuelle du nombre d'oocystes par litre. La précision de cette moyenne est liée à deux paramètres :

- le nombre d'observations : plus le nombre de mesures est grand, plus la précision de l'estimation de la moyenne est grande ;
- de la variance (ou sa racine carrée : l'écart-type) du nombre d'oocystes d'un prélèvement à l'autre : plus la variabilité est élevée, plus la précision de l'estimation est faible. Cependant, il n'est pas possible d'agir sur ce paramètre, puisqu'il est intrinsèque à la ressource.

En conclusion, il n'est pas possible *a priori* de proposer un nombre minimum de prélèvements nécessaires sans connaître la variabilité de la contamination. Nous proposons cependant une estimation, en utilisant les modélisations de la variation du nombre d'oocystes dans l'eau de ressource proposée dans l'objectif ④.

6.5.3.1. Eau de surface

Dans le Tableau 28, nous proposons une estimation de la précision relative⁴² obtenue selon le nombre de prélèvements (méthode : bootstrap paramétrique de Efron et Tibsharani, 1993).

Tableau 28 : Précision relative du risque estimé selon le nombre de prélèvements, pour une eau de surface et un abattement de 4 log

Nb de prélèvements	Moyenne Percentiles			
	2.5%	50%	97.5%	
5	2%	-98%	-33%	294%
12	-1%	-87%	-16%	175%
24	0%	-71%	-9%	114%
36	1%	-61%	-5%	90%
48	1%	-55%	-3%	80%
60	0%	-51%	-4%	69%
365	0%	-23%	0%	25%

Lecture : Prenons l'exemple de $n = 12$ prélèvements. La **moyenne** du risque estimé est environ égale au « vrai » risque (à 1% près). Le risque est **sous-estimé** d'au moins 16% dans 50% des situations. Enfin, il est possible d'obtenir des sous estimations d'au moins 87% dans 2.5% des cas, et des sur-estimations d'au moins 175% dans 2.5% des cas.

L'erreur d'estimation décroît avec le nombre de prélèvements : cependant, il faut au moins 36 prélèvements pour que le risque soit sous estimé de moins de 5% dans 50% des cas, et, même avec ce nombre de prélèvements, il est possible d'obtenir des sous estimations de 61%...

6.5.3.2. Eau Souterraine

Nous avons appliqué le même algorithme en simulant la variabilité quotidienne du nombre d'oocystes dans l'eau souterraine selon la loi utilisée dans l'objectif ④. Les résultats sont proposés Tableau 29. On constate que, pour un même nombre d'échantillons, la précision est légèrement plus importante que celle obtenue pour l'eau de surface.

⁴² la précision d'une valeur observée relative à une valeur réelle est définie par $\frac{\text{valeur observée} - \text{valeur réelle}}{\text{valeur réelle}}$.

Tableau 29 : Précision relative du risque estimé selon le nombre de prélèvement, pour une eau souterraine sans abattement.

Nb de prélèvements	Moyenne	Percentiles		
		2.5%	50%	97.5%
5	-2%	-56%	-42%	260%
12	-1%	-56%	-20%	161%
24	0%	-53%	-11%	110%
36	1%	-48%	-6%	85%
48	0%	-44%	-5%	75%
60	0%	-40%	-4%	63%
365	0%	-20%	-1%	23%

6.5.4. Conclusions de l'objectif 5

Le transfert de la méthode complète auprès des gestionnaires des différentes ressources, ou, de manière plus directe, la mise à disposition d'un logiciel dédié pourrait, à l'avenir, être réalisé. Les équations proposées page 121 permettent un calcul approximatif relativement convaincant du risque moyen et des différents percentiles du risque d'infection et de maladie liées à la présence de *Cryptosporidium* sp. dans l'eau de distribution. La seule variable nécessaire pour l'évaluation demeure **la moyenne de la contamination de la ressource**.

L'estimation d'une moyenne et sa précision selon le nombre d'observations est un problème bien connu en statistique. La distribution fortement dissymétrique et très dispersée de la contamination d'une ressource implique un grand nombre d'observations nécessaires pour une bonne estimation de la moyenne. Nous avons proposé, sur la base de simulations de type « bootstrap paramétrique », les performances de l'estimation du risque selon le nombre d'observations : un strict minimum de 36 observations semble nécessaire pour une obtenir une précision relativement raisonnable. Cependant, des références bibliographiques (Bowman et Shenton, 1998) suggèrent un minimum de ... 500 observations pour de telles distributions.

Il est rappelé que les différentes mesures effectuées devront être représentatives de la contamination annuelle de la ressource. Cette représentativité peut être obtenue par tirage au sort des jours de collecte au cours de l'année. Toutefois, l'influence connue de la saison (*via* la variabilité saisonnière de la pluviométrie et de la contamination des ressources par les animaux) pourrait faire préférer un échantillonnage stratifié sur le mois : par exemple, on pourrait choisir, pour 36 prélèvements, 3 analyses par mois, avec tirage au sort du jour dans le mois.

Une fois encore, l'estimation du nombre de données nécessaires ne pourra être fournie plus précisément qu'après stipulation du risque acceptable. En effet, la précision relative utilisée précédemment n'a que peu d'intérêt si l'on se situe très nettement en dessous de ce seuil (si le seuil est à 10^{-4} et que le risque estimé est de $10^{-5} \pm 100\%$, le seuil n'est de toute façon pas dépassé, malgré une faible précision).

7. CONCLUSION DE L'EVALUATION QUANTITATIVE DU RISQUE

Cette démarche permet de proposer des estimations du risque suite à une contamination accidentelle et donne des éléments d'évaluation pour les autres types de situation.

Toutefois, il est nécessaire de rappeler que ce raisonnement repose sur l'acceptation d'un certain nombre d'hypothèses dont certaines sont particulièrement fortes, notamment celles concernant la validité de la relation dose-réponse, estimée sur un nombre limité d'individus et pour une seule souche. On notera également que l'utilisation d'une méthode de dénombrement des oocystes de sensibilité différente nécessitera la réalisation d'une nouvelle modélisation.

Cette étude a permis cependant de fournir des réponses à certaines situations :

- face à une contamination ponctuelle, le gestionnaire est appelé à se référer aux Tableau 12 page 101, Tableau 13 page 102 et Tableau 14 page 103. Selon le résultat de dénombrement d'oocystes obtenu par une méthode validée et selon la taille de la population concernée, une estimation du nombre de cas supplémentaires de cryptosporidiose dans la population pourra directement être évaluée ;
- au regard d'une série d'analyses négatives établies sur une eau de distribution (notamment issue d'eau souterraine non-influencée), les Tableau 17 page 110, Tableau 18 page 111 et Tableau 19 page 112 permettent d'estimer l'incertitude sur le risque possible dans la population desservie par cette source ;
- Les résultats de l'objectif ④ permettent de fournir un ordre de grandeur du risque estimé selon le type de ressource et le taux d'abattement⁴³ ;

Une application informatique dédiée devra être développée pour une estimation plus fine du risque, ressource par ressource. En première approche, une approximation est proposée par les équations de la page 121. Il est cependant nécessaire pour cette approximation de disposer d'une bonne estimation de la moyenne de la contamination de la ressource, ce qui nécessite un grand nombre de données en raison de la forte variabilité de la contamination d'un jour à l'autre.

⁴³ Rappelons que les distributions utilisées provenaient d'un cumul de données provenant de plusieurs sources, ce qui implique que ces estimations ne peuvent être que des ordres de grandeurs.

VII. CONCLUSIONS GENERALES

1. IDEES CLEFS DU RAPPORT

➤ ***Cryptosporidium sp.* : un modèle d'étude**

Les travaux accomplis dans le cadre de ce rapport relatif aux infections liées à *Cryptosporidium sp.* dans l'eau et les aliments permettent de tirer un certain nombre d'enseignements liés au pathogène lui-même et/ou à la méthodologie adoptée par le groupe de travail. En effet, il s'avère qu'à l'issue de la réflexion menée par ce groupe, le choix de *Cryptosporidium sp.* constitue un exemple de modèle « expérimental » ayant permis de mener à terme une estimation quantitative des risques, pour les raisons suivantes :

- la survenue d'un certain nombre d'épidémies impliquant des dysfonctionnements sur le réseau de distribution d'eau potable d'alimentation et justifiant particulièrement cette évaluation ;
- la possibilité de disposer de données expérimentales sur la dose infectante autorisant une estimation quantitative du risque ;
- la possibilité de proposer une modélisation qui puisse prendre en compte la variabilité ou l'incertitude des estimations fournies, éléments d'appréciation indispensables pour le gestionnaire du risque. Dans ce cadre, le fait que les cryptosporidies ne se multiplient pas dans l'environnement a grandement facilité l'approche de modélisation.

Enfin, l'ensemble de ces éléments a permis de proposer une démarche fondée sur une estimation du risque d'infections et de maladies intégrant, dans toute la mesure du possible, les différentes caractéristiques de *Cryptosporidium sp.* Il a donc été possible :

- de répondre en partie aux saisines dont avait été destinataire l'Agence, tout en identifiant les données qui ont pu manquer pour compléter ces réponses ; les données manquantes à ce jour font l'objet de recommandations de recherche spécifiques (VII-3.-Axes de recherche).
- de proposer une démarche pragmatique davantage fondée sur la prévention des infections à *Cryptosporidium sp.* que sur une démarche de précaution ;
- de proposer des recommandations sur l'évaluation, la maîtrise et la gestion des risques (VII-2.-Recommandations).

➤ **La notion de risque acceptable**

Une publication de Regli *et al.* (1988) présente des lignes directrices ayant pour objet de déterminer un niveau de risque acceptable au regard des infections hydriques liées aux entérovirus et aux *Giardia*. Ces recommandations, reprises par l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA), visent à déterminer le niveau de traitement nécessaire qu'il conviendrait d'appliquer pour que le risque d'infection liée à ces deux pathogènes reste inférieure à 1 infection pour 10 000 consommateurs par an.

L'option de travailler sur la base d'un niveau de risque "acceptable" n'a pas été retenue par le groupe pour deux raisons : (i) ce niveau de risque n'est pas défini en France et relève de la responsabilité des gestionnaires du risque et non de celle des experts de l'Agence ; (ii) l'examen de la situation française montre qu'en raison des difficultés du diagnostic de la cryptosporidiose humaine et de l'absence de structure d'épidémiologie-surveillance spécifique, il n'est actuellement pas possible de recueillir des données suffisamment fiables sur l'incidence de cette maladie. Ce constat rend difficile la mise en œuvre d'une démarche de gestion fondée sur un objectif de santé publique qui n'est pas, à ce jour, défini.

Le groupe de travail a donc décidé de privilégier une démarche de modélisation intégrant toutes les étapes de l'analyse du risque, pour conduire à une évaluation de l'incidence tenant compte de la contamination brute des ressources, des contraintes posées par la recherche des cryptosporidies dans l'eau ou les aliments (nombre d'analyses, sensibilité et rendement de l'analyse), des traitements appliqués à la production et de la sensibilité individuelle des personnes exposées, en particulier les malades immunodéprimés. Cette démarche a permis de proposer un outil de gestion, pouvant être utilisé à un niveau local et applicable aux principales situations rencontrées : analyse préalable d'une ressource, choix des traitements appropriés, orientation des mesures de correction en cas de contamination.

➤ **Rôle prépondérant du milieu hydrique**

Cryptosporidium sp. et tout particulièrement l'espèce parvum sur laquelle est centré le travail d'expertise du groupe, est un agent pathogène impliqué principalement dans des contaminations hydriques à l'origine d'épidémies parfois de grande envergure, consécutives soit à des modifications des procédés de traitement des eaux, soit à des dysfonctionnements dans le réseau de distribution de l'eau potable d'alimentation. Il n'est pas rare qu'aucune cause ne soit identifiée. S'agissant de la France, au moins deux épidémies récentes ont été rapportées et justifient qu'une réflexion générale soit initiée sur ce pathogène, ce d'autant que la réglementation nationale concernant la qualité des eaux distribuées est actuellement en plein remaniement, avec la publication du décret 2001-1220.

➤ ***Cryptosporidium sp.* : le baromètre microbiologique le plus exigeant en termes de protection des eaux de distribution**

Les protozoaires représentent, de par leurs caractéristiques morphologiques et physiopathologiques, des agents pathogènes pour lesquels le niveau d'exigence est très élevé au regard des mesures de protection et de traitement des eaux destinées à la consommation humaine. En l'absence d'indicateurs totalement représentatifs, la prise en compte du danger parasitaire, en termes de stratégies de traitement des eaux de distribution, permet donc de mener une analyse complète en termes d'évaluation du risque, de diffusion du danger et de gestion des ressources et des unités de traitement et de distribution des eaux.

➤ **Les aliments : le parent apparemment pauvre de la problématique « cryptosporidiose »**

Le degré d'implication des aliments dans les infections et les épidémies à *Cryptosporidium sp.* reste très difficile à évaluer car la recherche des oocystes dans les aliments est techniquement peu performante et non standardisée : le rendement des techniques est très faible, variable suivant la matrice alimentaire de sorte que peu de données fiables sont actuellement disponibles. Pour cette raison, le groupe n'a pas entrepris d'analyse de risque sur les aliments. Cependant, plusieurs arguments indiquent une forte probabilité de contamination de certains aliments par les cryptosporidies : la grande résistance des oocystes dans l'environnement, la contamination potentielle des végétaux par le sol et/ou par l'arrosage avec une eau issue d'une ressource contaminée (eau de surface) et la capacité de rétention des oocystes par certains organismes, coquillages en particulier. Ces remarques ont conduit le groupe à énoncer plusieurs recommandations de prévention individuelle et collective vis à vis de la production et de la consommation d'aliments "à risque" ainsi qu'à l'identification d'axes de recherche spécifiques.

➤ **La sensibilité particulière des personnes infectées par le VIH**

L'impact en santé publique de ces infections parasitaires prend une dimension particulièrement importante pour les populations immunodéprimées dans la mesure où *Cryptosporidium parvum* est un agent pathogène susceptible de déclencher des pathologies graves, parfois mortelles, chez les personnes infectées par le VIH chez qui, dès lors qu'elles se déclarent, signent le passage au SIDA. Depuis l'introduction des multithérapies antirétrovirales en 1996, l'incidence de ces cas a fortement diminuée mais la sensibilité de ces populations reste particulièrement élevée lors d'épidémies d'origine hydrique et des mesures de prévention spécifiques restent donc recommandées pour de telles populations fragilisées (VII-2.-Recommandations). Par ailleurs, la cryptosporidiose est également une infection opportuniste dans d'autres contextes d'immunodépression.

➤ **Un lien peut-être sous-estimé entre la cryptosporidiose animale et humaine**

La cryptosporidiose comporte deux modalités épidémiologiques, l'un anthroponotique et l'autre zoonotique. La diffusion du danger s'effectue par les matières fécales animales et humaines, favorisée par la pratique de l'épandage et les débordements ou ruissellement d'eaux souillées. Le lien entre cryptosporidiose animale et humaine peut être identifié pour toutes les activités d'élevage et doit être pris en compte de façon prioritaire dans la maîtrise de la diffusion du danger et la protection des ressources d'eau. Par contre, ce lien reste encore difficile à caractériser pour la contamination parasitaire émanant des animaux sauvages, dont le rôle dans la cryptosporidiose humaine et des animaux domestiques reste à préciser.

Les impératifs de la prévention collective, mais aussi les interrogations épidémiologiques qui persistent, indiquent clairement que la problématique de la cryptosporidiose ne peut être abordée que par une approche collaborative entre vétérinaires, médecins et épidémiologistes.

2. RECOMMANDATIONS

Plusieurs niveaux de recommandations ont été individualisés, le principal d'entre eux concernant les mesures de prévention individuelle et collective et la conduite à tenir en cas de contamination avérée. Toutes reposent sur une meilleure connaissance du danger et de son épidémiologie.

2.1. Amélioration des connaissances épidémiologiques

La qualité de l'évaluation du risque, sa gestion et la définition de mesures préventives adaptées et efficaces repose sur une bonne identification du danger, une connaissance de sa diffusion, une appréciation de l'exposition et des effets. Or, le rapport met clairement en évidence un manque de données sur ces différents points, en France.

Quatre démarches complémentaires nous semblent prioritaires pour améliorer et renforcer leur recueil :

- la diffusion d'une large information sur *Cryptosporidium sp.* et sur la cryptosporidiose ;
- la mise en place d'un réseau de laboratoires de référence ;
- la conduite d'enquêtes épidémiologiques, chez l'Homme et chez l'animal ;
- le recueil de données sur la contamination de l'eau et des aliments par les cryptosporidies.

2.1.1. L'information sur *Cryptosporidium* et la cryptosporidiose

En dehors de toute situation épidémique et compte tenu de la méconnaissance actuelle de la cryptosporidiose, une information des différentes structures ayant en charge la sécurité sanitaire des populations paraît indispensable et doit être menée en coordination avec les vétérinaires (Direction des Services Vétérinaires, Ecoles Vétérinaires) en raison de l'importance du réservoir animal dans l'épidémiologie de la cryptosporidiose. Ce peut être le rôle d'une structure telle que l'Afssa que de produire une information circonstanciée, au travers de livrets d'information, de fiches d'identification des dangers (telle que la fiche de description de *Cryptosporidium sp.* – Annexe 4 rendue publique sur le site internet de l'Afssa, de publications dans des revues professionnelles concernant à la fois les aspects Santé animale et Santé publique de la cryptosporidiose. De la même façon, la publication de « retours sur expérience » suite à une épidémie permet de tirer des enseignements positifs et négatifs sur les procédures suivies, sur les obstacles rencontrés, sur les manques en matière d'informations disponibles ou d'investigations.

Cette information doit également être diffusée auprès des médecins praticiens et plus particulièrement les médecins généralistes, les pédiatres (et notamment les responsables de la surveillance médicale des crèches), les gastro-entérologues et les infectiologues. Elle doit s'articuler avec une information des biologistes sur les circonstances et les modalités de diagnostic des cryptosporidioses. Enfin, elle doit s'accompagner des recommandations visant à améliorer la détection et la notification des épidémies. Dans ce cadre, le rôle de la formation médicale continue et du contrôle de qualité dans les laboratoires est déterminant.

Enfin, une information destinée aux populations exposées est nécessaire: c'est le cas par exemple des personnes infectées par le VIH.

2.1.2. Les laboratoires de référence

A l'heure actuelle, la recherche de cryptosporidies n'est pratiquée en routine que dans des laboratoires spécialisés en Parasitologie maîtrisant les techniques d'identification voire de typage moléculaire. Il est cependant essentiel que tout laboratoire d'analyse non spécialisé puisse faire appel à un ou plusieurs laboratoires de référence pour confirmer un diagnostic, voire caractériser l'espèce, le génotype ou la viabilité des parasites.

Dans ce but, nous recommandons la constitution d'un réseau de laboratoires spécialisés, avec différents niveaux de compétence (et de pré-requis).

- laboratoire pouvant assurer la recherche de cryptosporidies dans les selles (ou échantillons biologiques). Ce niveau de compétence requiert la maîtrise des techniques de diagnostic de base et une expérience pratique validée par un contrôle de qualité. En pratique, tous les laboratoires hospitalo-universitaires de Parasitologie (médecine, vétérinaire, pharmacie) disposent de ces compétences et représentent un premier "maillage" du territoire national. La question reste ouverte pour ce qui concerne les laboratoires des Centres Hospitaliers Généraux et les laboratoires privés.
- laboratoire pouvant effectuer la recherche de cryptosporidies dans l'environnement, et notamment l'eau. Ce niveau de compétence requiert la maîtrise de la technique de filtration-concentration-immunodétection suivant la norme AFNOR NF T 90-455, validée par un contrôle de qualité.
- laboratoire pouvant effectuer une identification spécifique des cryptosporidies par PCR et pouvant réaliser un génotypage des espèces. Ce haut niveau de compétence nécessite une expérience préalable dans ce domaine et des possibilités de traiter des échantillons de provenances diverses, dans des situations endémiques ou épidémiques. L'existence d'un laboratoire de ce type par région serait souhaitable. L'homogénéité des techniques et des résultats entre ces laboratoires pourrait être assurée par un contrôle de qualité interne.

- laboratoire de référence pour la mesure de l'infectiosité et de la viabilité par culture cellulaire et/ou infection expérimentale par transmission à l'animal. Ce niveau de compétence requiert une expérience de recherche dans ce domaine.

2.1.3. Le recueil des données sur la fréquence et les facteurs de risques des cryptosporidioses chez l'Homme

2.1.3.1. Incidence des cryptosporidioses

En France, la recherche des cryptosporidies dans le bilan étiologique des gastroentérites n'est pas systématiquement réalisée. En conséquence, la surveillance épidémiologique des infections à *Cryptosporidium sp.*, qui permet de déterminer la fréquence, les tendances temporelles, les caractéristiques des cas et de détecter des épidémies, est difficile à réaliser en France en l'absence de réseau de laboratoires notifiant les recherches positives.

Il serait donc nécessaire de mettre en place des études *ad-hoc*, intégrant systématiquement la recherche des cryptosporidies. Trois principaux types d'études sont envisageables :

➤ Etudes menées en population générale

Les études de cohorte prospective sont les mieux adaptées pour estimer l'incidence des gastroentérites à *Cryptosporidium sp.* et leur poids relatif par rapport aux autres agents pathogènes bactériens, viraux et parasitaires. Cela suppose, lors de la survenue d'un épisode de gastroentérite aiguë (GEA) dans une population, de rechercher les principaux agents pathogènes responsables de GEA sur les selles d'un échantillon représentatif de cette population. En pratique, de telles études sont très lourdes et coûteuses à réaliser, car elles nécessitent des échantillons de taille importante du fait de la fréquence relativement faible des événements étudiés.

➤ Etudes menées en médecine générale

Ces enquêtes parmi les patients consultant en médecine générale pour GEA seraient plus faciles à réaliser que les études en population générale mais elles sous-estiment la fréquence de ces infections car elles ne prennent pas en compte les non consultants. Une étude anglaise (Wheeler, 1999) a estimé à 1,9 le ratio entre les GEA survenant en population générale et celles donnant lieu à une consultation (c'est à dire qu'environ 1 personne sur 2 présentant une GEA consulte un médecin généraliste).

Ce type d'étude pourrait être réalisé en France à partir d'un réseau de médecins généralistes volontaires répartis sur l'ensemble du territoire (comme le réseau Sentinelles) en s'appuyant sur le réseau des laboratoires de parasitologie. Ce réseau se limiterait à la recherche de *Cryptosporidium sp.* et autres parasites à l'origine de GEA. Chez les patients consultant les médecins du réseau pour une GEA, un prélèvement de selles serait effectué et adressé au laboratoire de parasitologie le plus proche et participant à l'étude. Ces études restent cependant lourdes et coûteuses en raison en particulier du nombre élevé de patients, du coût des analyses et de sa logistique.

➤ Etudes menées en milieu hospitalier

Ce type d'étude portant sur les cas de GEA hospitalisées est plus simple que les deux types d'études précédentes. Son intérêt est cependant limité pour l'étude des cryptosporidioses chez le sujet immunocompétent car elle serait biaisée par le recrutement des formes les plus graves hospitalisées. Elle reste intéressante pour estimer l'incidence des cryptosporidioses chez les sujets immunodéprimés qui sont souvent suivis en milieu hospitalier. La taille importante de l'échantillon nécessiterait que cette étude soit réalisée sur plusieurs centres hospitaliers.

2.1.3.2. Etude sur les facteurs de risque d'acquisition de la cryptosporidiose

Une étude analytique de type cas-témoins explorant les différents facteurs de risque (alimentaire, hydrique, environnemental, contact avec les animaux) pourrait être conduite à partir des cas identifiés lors des études d'incidence précédentes.

2.1.4. Recueil de données sur la contamination de l'eau et des aliments

2.1.4.1. Contamination de l'eau

Peu de données sont actuellement disponibles directement car, bien que des recherches de cryptosporidies dans l'eau soient pratiquées à titre d'étude ou de surveillance des captages ou lors de la production par les responsables des installations, elles ne sont pas répertoriées dans la base de données SISE-EAUX (Système d'Information en Santé Environnement sur les Eaux) par les DDASS. Peu de déterminations ont été effectuées dans le cadre d'un renforcement du contrôle sanitaire réalisé par les DDASS. La mise en application du décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 devrait améliorer ce recueil de données car la recherche de micro-organismes pathogènes et notamment de *Cryptosporidium sp.* est prévue dans les eaux superficielles, en cas de présence de bactéries sulfito-réductrices. Par ailleurs, les programmes de surveillance prévus par l'article 15 – II du décret devraient renforcer le dispositif de suivi des eaux à risque.

Par ailleurs, le recueil de données microbiologiques, environnementales et épidémiologiques lors d'accidents de contamination du réseau de distribution devrait pouvoir se faire en temps réel de façon à rendre possible la mise en œuvre d'une analyse de la situation fiable et exploitable pour les gestionnaires du risque (voir VII. - 2.6.2).

L'ensemble des données recueillies par les DDASS et par les distributeurs d'eau devrait être regroupé dans la base de données SISE-EAUX. Elles permettront une interprétation locale en fonction des différentes informations environnementales et sanitaires concernant les cryptosporidies, et une exploitation nationale.

2.1.4.2. Contamination des aliments

Les données sur la contamination des aliments en France sont très parcellaires sur les coquillages et sont inexistantes sur les végétaux et les denrées d'origine animale. La présence d'oocystes infectants de *Cryptosporidium sp.* dans les moules est démontrée en France et confirme plusieurs études étrangères, notamment européennes. La contamination des autres coquillages n'est pas démontrée en France mais elle est possible, voire probable. Elle pourrait être indirectement liée à une contamination environnementale par des cryptosporidies d'origine animale provenant d'élevage de bovins ou de caprins. Des incertitudes persistent sur les possibilités d'épuration des coquillages contaminés. Ces incertitudes justifient la réalisation d'enquêtes sur des échantillons représentatifs de différentes espèces de coquillages consommés crus et la mise en œuvre de travaux de recherche sur les conditions d'épuration des parasites par les coquillages.

2.2. Prévention collective du risque lié à l'eau

La prévention collective du risque lié à l'eau ne peut pas se fonder sur le suivi direct de la qualité de l'eau distribuée à la consommation car les méthodes d'analyse des cryptosporidies dans les eaux actuellement disponibles ont une limite de détection de l'ordre de 1 oocyste pour 100 litres d'eau alors que, selon le niveau de sécurité que l'on veut atteindre, il faudrait que les méthodes aient une limite de détection au moins 1 000 à 10 000 fois plus basses. L'ensemble des facteurs intervenant dans la qualité finale de l'eau d'alimentation doit donc être pris en considération.

2.2.1. Protection des ressources et évaluation

S'il est important que les différentes réglementations concernant les rejets soient respectées, leur efficacité sera toujours limitée au regard des risques parasitaires. Il est donc important que soit bien connu le niveau de contamination possible de chaque captage d'eau.

Pour les eaux de surface, il est difficile de maîtriser l'ensemble des ruissellements pouvant être chargés en cryptosporidies mais des mesures d'aménagement, d'installation, de traitement peuvent être prises pour réduire les apports à l'amont des captages d'eau, qu'ils proviennent d'élevages intensifs ou de rejets de station d'épuration d'eaux usées. La mise en place des périmètres de protection des captages en particulier pour les eaux souterraines doit comporter des mesures visant ce risque.

➤ *En ce qui concerne les ressources en **eaux de surface***, l'évaluation de la contamination peut se faire de façon complémentaire par :

- Une enquête de terrain qui doit permettre d'identifier les principales sources d'apport de cryptosporidies pouvant influencer le captage :
 - pollutions localisées : rejets de stations d'épuration, rejets d'élevages ;
 - rejets diffus ou dispersés : écoulement et ruissellements d'effluents d'élevage, d'épandages, déjections d'animaux sauvages.
- Des analyses de la qualité de l'eau de la ressource : elles doivent avoir pour objectif de connaître le niveau de contamination et son évolution en fonction du temps afin de permettre un dimensionnement efficace du traitement et la définition de conduites adaptées en certaines situations : étiages, périodes pluvieuses, crues...

➤ *En ce qui concerne les ressources en **eaux souterraines***, la situation peut être très différente selon les types d'eau et notamment selon qu'elles sont influencées ou non par des eaux de surface ou qu'elles reçoivent des contaminations de surface, ce qui est le cas fréquent notamment dans les zones karstiques. Compte tenu de la limite de détection de la méthode d'analyse, la recherche de cryptosporidies dans les eaux souterraines peut s'avérer insuffisante pour détecter des contaminations faibles. L'évaluation du risque d'une eau souterraine peut s'appuyer sur :

- L'étude hydro-géologique faite pour l'autorisation du captage (éventuellement actualisée pour des installations anciennes), on cherchera à apprécier les voies possibles de contamination de ces eaux par des parasites,
- La recherche d'indicateurs de contamination de l'eau souterraine par des eaux de surface parmi lesquels figurent la contamination fécale, le niveau de turbidité (ou sa variation) et la présence d'algues, notamment de diatomées.

Dans les eaux souterraines identifiées comme à risque au regard de *Cryptosporidium sp.*, un suivi de qualité adapté devrait être mis en place par la recherche directe de parasites et par la mesure d'indicateurs, afin d'apprécier l'importance de la contamination et ses variations en fonction du temps et de différents événements.

2.2.2. Maîtrise de la diffusion du danger

En raison de l'ubiquité du parasite, ces actions de maîtrise doivent être concertées entre les structures de santé publique humaine et animale.

2.2.2.1. Volet animal

L'importance du réservoir représenté par les animaux de rente ou sauvages pour les différentes espèces de cryptosporidies et l'implication du génotype II de *Cryptosporidium parvum* dans plusieurs épidémies conduit à donner une importance particulière à cet aspect de la prévention. Plusieurs éléments peuvent contribuer à limiter la diffusion du danger à partir des animaux de rente :

- une meilleure connaissance de l'épidémiologie de la cryptosporidiose, notamment chez les jeunes animaux devrait permettre d'identifier les élevages les plus "à risque" de diffusion. La réalisation, comme chez l'Homme, d'une enquête de prévalence dans différentes espèces animales de rente et en fonction des conditions d'élevage est une première étape indispensable. Cette enquête devrait également permettre de situer l'importance de la cryptosporidiose dans l'étiologie des diarrhées néonatales et indiquer la nécessité (ou non) de mettre en place un réseau d'épidémiosurveillance.
- un strict respect des réglementations en vigueur pour l'implantation des bâtiments d'élevage, leur aménagement, leur exploitation, notamment pour le stockage et le traitement des effluents d'élevage (réglementation des Installations Classées et Règlement Sanitaire Départemental)
- une sensibilisation des éleveurs à un bon usage des effluents en soulignant que le respect de la réglementation peut être source de bénéfice économique;
- un aménagement contre les ruissellements agricoles.

Pour ce qui concerne les animaux sauvages, aucun élément de maîtrise ne peut être proposé pour cette faune dont le rôle épidémiologique dans la cryptosporidiose humaine reste à mieux définir (VII-3.-Axes de recherche).

2.2.2.2. Volet humain

La prévention de la contamination environnementale par des cryptosporidies d'origine humaine repose sur une maîtrise des rejets d'eaux issues des stations d'épuration et de l'épandage des boues produites par ces installations. Ceci implique également la prise en compte des risques de surcharge des installations en période de fortes pluies ou de dysfonctionnement des installations.

Le rapport du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPPF) sur les risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines joint à la circulaire DGS n° 97/655 du 30 septembre 1997, fixe différentes règles qui conduisent à limiter la diffusion des germes pathogènes : épandage exclusif de produits traités et hygiénisés sur les cultures maraîchères et les terrains de sport ou de loisir, forte limitation de l'épandage des boues non traitées ou enfouissement, définition des conditions de stockage, transport et conditions d'épandage. En particulier, l'épandage est interdit à certaines distances des ressources en eau, lorsqu'il existe un risque de ruissellement ou de dépassement des capacités d'absorption du sol ou de percolation rapide vers les eaux souterraines.

Par ailleurs, des dispositifs de sécurité doivent être mis en place pour éviter des retours d'eaux usées vers le réseau de distribution d'eau potable lors de l'installation des réseaux et lors de travaux sur ces ouvrages.

Une attention particulière doit être apportée au choix des emplacements des ouvrages d'assainissement (déversoirs d'orage, rejets de stations d'épuration ...) par rapport à la situation des captages d'eau en vue de l'alimentation humaine, en tenant compte des caractéristiques de

la ressource en eau (sens des écoulements, variations saisonnières, effets de la pluviométrie ...) et des performances réelles des stations d'épuration.

2.2.3. Procédés de traitement et suivi de leur efficacité

Si les eaux d'origine superficielle doivent faire l'objet d'un traitement systématique, il apparaît que certaines eaux d'origine souterraine, en particulier celles pouvant être influencées par des eaux superficielles, devraient également être traitées vis-à-vis de la présence possible de cryptosporidies. Les installations de traitement doivent être adaptées aux caractéristiques de chaque eau.

L'efficacité réelle de la filière de traitement va dépendre des performances de chaque étape du traitement et notamment des conditions de fonctionnement et d'exploitation des installations. Parmi les points ou opérations critiques figurent le lavage des filtres, la crevaison possible des filtres en fin de cycle et le changement de vitesse de filtration qui lorsqu'elle est trop importante peut entraîner des chocs dans la masse filtrante et faciliter le passage de parasites.

Le suivi de l'efficacité des traitements appliqués lors de la production pour éliminer les cryptosporidies est limité par le seuil de détection de la technique de recherche des oocystes dans l'eau (1 oocyste/100 litres) et ses conditions d'application. Apprécier l'efficacité des filières de traitement par la recherche de cryptosporidies en sortie des installations ne peut se faire qu'au prix de contrôles fréquents et réguliers, sur de très grands volumes, ce qui apparaît difficile à réaliser en pratique quotidienne. Il apparaît alors nécessaire de faire appel à des indicateurs d'efficacité de traitement adaptés à chaque type de procédé :

- pour les filières faisant appel à des traitements de *coagulation, floculation, séparation, filtration*, le suivi de la qualité des eaux produites par l'analyse de la turbidité notamment au moyen de turbidimètres en continu n'est pas le mieux adapté au problème posé par les parasites car d'une part la taille des particules prises en compte dans la mesure de la turbidité correspond à celle des bactéries et non pas des parasites et d'autre part l'expérience montre qu'en cas de difficultés de filtration les fuites concernent les parasites avant les bactéries.

Pour assurer la vérification de l'efficacité de ces filières vis-à-vis des parasites, le comptage de particules apparaît plus pertinent que la mesure de la turbidité. Toutefois, un suivi global de la filière par une mesure de la turbidité permet d'avoir un reflet du fonctionnement de l'installation.

- pour les *traitements par membrane*, (microfiltration, ultrafiltration, osmose inverse, nanofiltration), un dispositif de suivi doit permettre de vérifier l'intégrité de la membrane, plusieurs procédés peuvent être employés : mesure de la perte de pression, par ultrasons, par point de bullage ou par mesure de la turbidité ou le comptage de particules.
- pour les *procédés utilisant des ultraviolets*, les essais qui seront conduits dans le cadre de la procédure d'approbation, devront permettre de déterminer quels sont les meilleurs indicateurs de suivi de l'efficacité du dispositif.

2.2.4. Distribution

Les mesures préventives d'un accident de contamination du réseau de distribution relèvent du bon entretien et du bon fonctionnement des installations de distribution (canalisations et réservoirs), du respect des règles de sécurité vis-à-vis des retours d'eau, des conditions de branchement de dispositifs sur les réseaux notamment au niveau des borne-incendies (des dispositions devraient être prises d'une manière générale vis-à-vis des pratiques de branchement).

En cas d'accident, il convient d'évoquer parmi l'ensemble des causes possible une contamination parasitaires. A ce titre le décret 2001-1220 prévoit dans son annexe I-2.1. qu'en cas de présence de bactéries sulfito-réductrices y compris les spores, une enquête doit être menée pour s'assurer qu'il n'y a aucun danger potentiel pour la santé humaine résultant de la présence de micro-organismes pathogènes, par exemple des cryptosporidies.

2.2.5. Quelle démarche suivre pour élaborer des options de gestion ?

La difficulté de la conduite de la prévention collective des risques liés à l'eau réside dans le fait qu'elle doit intégrer les différents facteurs de risque, dont certains restent difficiles, voire impossibles à évaluer avec précision.

Deux approches d'évaluation intégrée, et donc de gestion peuvent être envisagées :

2.2.5.1. Démarche « Aval-Amont »

Elle consiste à prendre comme base de gestion un risque pré-défini dans la population, identifié par une prévalence "acceptable" de cas chaque année et, en appliquant les modèles d'estimation quantitative du risque, d'en déduire un « seuil limite » de contamination dans l'eau produite.

Cette démarche repose sur la possibilité d'une part, de quantifier le nombre de cas dans la population et d'autre part, de disposer d'un moyen d'analyse de l'eau capable de mesurer, avec un minimum d'erreur, le « seuil limite » de contamination.

Or, cette démarche présente les difficultés et les incertitudes suivantes :

- l'absence de détermination actuelle du risque "acceptable" pour *Cryptosporidium sp.* dans la population française (discuté dans la chapitre VII-1.-Idées clés). Or, dans cette démarche, le niveau de risque « acceptable » est la première étape à renseigner, mais ne peut l'être qu'après une évaluation scientifique et économique, non disponible jusqu'alors ;
- l'insuffisance des données relatives à la prévalence de la cryptosporidiose dans la population, les difficultés du diagnostic biologique de la cryptosporidiose et l'absence de déclaration obligatoire ou de recensement des cas ;
- la faible sensibilité de la technique de détection, le peu de valeur d'un résultat négatif isolé et la nécessité de rechercher des oocystes sur de grandes quantités d'eau (200 litres, voire 1000 litres) ;

Cette démarche a été cependant adoptée par l'Angleterre et les Etats Unis. Pour faire face aux difficultés évoquées dans ce paragraphe, ces pays ont adopté des attitudes différentes, soit par la mise en place d'une déclaration obligatoire des cas de cryptosporidies et l'imposition d'un niveau d'abattement de 99% des cryptosporidies lors de la production (USA), soit par la mise en place d'un contrôle continu de l'eau produite (techniquement très contraignant) dans toute unité dont la ressource est à risque de contamination par les cryptosporidies (Angleterre). Une étude anglaise⁴⁴ récente démontre les difficultés de mise en œuvre et les limites d'une telle démarche.

2.2.5.2. Démarche « Amont-aval »

Cette démarche consiste à prendre comme base de gestion le niveau de contamination de l'eau brute et à appliquer les modèles d'estimation quantitative du risque afin d'estimer le nombre de cas attendus de cryptosporidioses, en intégrant l'impact des traitements appliqués lors de la production d'eau destinée à la consommation humaine. Elle conduit, en fonction de la qualité de la ressource et de la nature des traitements, à produire une estimation du nombre de cas attendus dans une population déterminée et dont il appartient au gestionnaire de définir s'il est acceptable ou non.

⁴⁴ Howe A.D. et al., *Cryptosporidium* Oocysts in a Water Supply Associated with a Cryptosporidiosis Outbreak, 2002 <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no6/01-0271.htm>

Note : La recherche d'oocystes dans de l'eau brute produit des résultats plus représentatifs de la contamination réelle dans la mesure où celle-ci est à un niveau généralement supérieur au seuil de sensibilité de la méthode de détection.

Cette démarche nous semble représenter un outil permettant, pour chaque situation :

- de définir et de choisir les filières de traitement en fonction de la contamination de la ressource ;
- d'estimer le nombre de cas attendus en cas de dysfonctionnement d'un ou de plusieurs traitements de l'eau ;
- de proposer des options de gestion en cas de contamination accidentelle de la ressource ;
- d'évaluer l'efficacité des mesures prises pour la protection des ressources.

Deux exemples peuvent illustrer cette démarche :

- si les analyses sur l'eau brute, réalisées sur un nombre de prélèvements suffisants (cf les pré-requis) montrent une absence de contamination, cela indique, au regard du seuil de détection de la méthode d'analyse, un risque faible pour la population. Une mesure de protection ou de prévention peut prévoir un traitement de ces eaux correspondant aux techniques actuellement recommandées pour des eaux de surface peu contaminées c'est-à-dire un traitement comportant une coagulation, une floculation, une décantation et une filtration. Un traitement de ce type bien conduit permettrait un abattement d'au moins 2 ou 3 logs de cryptosporidies ;
- Si les analyses sur l'eau brute montrent une contamination, un traitement complémentaire à celui indiqué ci-dessus devrait être prévu pour diminuer la quantité de parasites correspondant.

Outre le fait que cette démarche s'intègre aux orientations définies dans le décret 2001-1220 sur la production d'eau, elle s'avère également applicable à d'autres microorganismes présentant une problématique comparable à celle des cryptosporidies.

Par ailleurs, cette démarche pourrait être exportée soit localement, par un traitement des données au niveau des unités de production, soit de façon centralisée à un échelon régional ou national (DDASS et autres instances). Cette exploitation pourrait être réalisée par la mise à disposition d'un logiciel approprié.

2.2.6. Mise en œuvre et application

2.2.6.1. Mise en œuvre

Pour les installations nouvelles en projet, cette démarche d'évaluation du risque devrait être faite lors de la procédure d'instruction de la demande d'autorisation prévue à l'article 5 du décret 2001-1220 du 20 décembre 2001. Le dossier de demande d'autorisation devrait comporter les éléments permettant d'évaluer le risque lié aux parasites et les mesures prévues pour le gérer.

Pour les installations existantes, il serait utile de procéder à une analyse du risque lié aux parasites selon des modalités comparables à celles indiquées pour les nouvelles installations ; cet examen pourrait se faire à l'occasion de la mise en place des dispositions du nouveau décret et concerner de façon prioritaire les productions d'eau faisant appel à des ressources superficielles et celles utilisant des eaux souterraines issues de zones à risques telles les zones karstiques.

L'examen de la situation devrait conclure sur le niveau de contamination possible des eaux distribuées et proposer, si nécessaire des mesures de prévention adaptées, y compris les modalités de suivi des installations en particulier au titre de l'auto-surveillance.

2.2.6.2. Applications

Dans la démarche de type « amont-aval », la première étape de l'évaluation est la recherche d'oocystes de cryptosporidies dans l'eau brute, avec un plan d'échantillonnage permettant une estimation du niveau de contamination de la ressource. Les analyses peuvent être effectuées au titre du contrôle sanitaire ; elles peuvent être complétées par des analyses faites au titre de l'auto-surveillance ou par application de l'article 13 -2° du décret 2001-1220 notamment lorsque l'eau présente des signes de dégradation, si certaines personnes présentent des troubles ou les symptômes d'une maladie pouvant provenir de l'eau distribuée, si un micro-organisme peut être présent en nombre constituant un risque pour la santé des personnes. Cependant, le décret précité ne fixe pas de fréquence minimale pour les cryptosporidies.

Or, le nombre de prélèvements à réaliser est fonction de l'objectif. L'estimation du risque lié à la présence de *Cryptosporidium sp.* dans une eau particulière nécessite une estimation des variations quotidiennes de la contamination. Par défaut, une estimation de la moyenne de cette contamination peut être suffisante pour une approximation de ce risque. Les travaux de modélisation nous indiquent que la réalisation d'un prélèvement mensuel semble être un strict minimum, pour une première évaluation de la qualité d'une ressource. Le calcul du risque à partir de ces données permet de fournir un ordre de grandeur du risque réel. Si ce risque s'avère trop élevé, un suivi plus fréquent de la ressource est nécessaire, d'une part pour prévenir les conséquences des contaminations ponctuelles, d'autre part pour affiner l'estimation de la variabilité de la contamination de l'eau. Dans ce cas, un minimum de 3 prélèvements mensuels est alors nécessaire.

Techniquement, les prélèvements d'eau et la recherche de cryptosporidies doivent être effectués suivant la norme AFNOR NF T90 455 juillet 2001, dont la performance et le rendement sont connus.

A partir des résultats obtenus et des informations recueillies sur l'environnement du captage, le responsable des installations de production et de distribution d'eau et l'autorité sanitaire prennent les mesures adaptées en fonction du contexte local.

2.3. Prévention collective du risque lié à l'alimentation

Les principaux aliments "à risque" sont (i) les fruits et légumes pouvant être souillés par une contamination tellurique ou fécale ou par de l'eau d'arrosage ou d'irrigation provenant d'une ressource contaminée ainsi que leurs produits dérivés (ii) les coquillages (huîtres, moules, clams) récoltés dans une zone insuffisamment protégée des effluents d'origine humaine ou animale et (iii) le lait consommé cru.

La maîtrise de la contamination de ces aliments repose avant tout sur l'application des réglementations existantes sur la protection des zones de production, les conditions d'exploitation et de commercialisation, ainsi que sur l'information du public sur les dangers de la récolte de coquillages provenant de zones à risque.

2.3.1. Les fruits, légumes consommés crus et leurs produits dérivés

La première recommandation est d'assurer la protection des cultures de toute contamination. Ceci implique principalement : (i) une délimitation des zones de culture les protégeant des ruissellements d'eaux usées ou d'eaux issues de zones d'élevage (ii) l'utilisation de fumures compostées (iii) l'utilisation d'eaux d'irrigation provenant d'une ressource protégée et (iv) le choix de techniques d'irrigation limitant le contact direct de l'eau avec les fruits et légumes (le goutte-à goutte, les rigoles d'irrigation, les systèmes enterrés, ou une pulvérisation minimale). Pour tout fruit ou légume exposé à une contamination d'origine animale ou tellurique, un nettoyage suivi d'un rinçage à l'eau, doit être appliqué. L'eau utilisée au contact des aliments ou pour les surfaces en contact avec les aliments doit être potable. Le guide de bonnes pratiques

d'hygiène pour les fruits et légumes frais non transformés⁴⁵ apporte des précisions sur les bonnes pratiques à respecter, telles que :

- Renouvellement régulier de l'eau lors des étapes de lavage,
- Rinçage à l'eau non recyclée au décours des opérations de convoyage et de lavage,
- Dernier rinçage à réaliser avec de l'eau non-recyclée,
- Nettoyage et changements réguliers des brosses et tapis de convoyage.

2.3.2. Les coquillages

La maîtrise de la contamination des coquillages s'appuie sur 3 recommandations :

➤ ***Le respect de la réglementation⁴⁶ sur les zones de pêche et leur contrôle microbiologique***

Pour l'activité professionnelle, les zones conchylicoles sont classées en quatre catégories : A (vente directe), B (vente après purification), C (vente interdite, reparquage obligatoire), D (coquillages insalubres, vente interdite), définies par des contrôles microbiologiques réguliers fondés sur la recherche d'*Escherichia coli*, indicateur de contamination fécale. Cependant, aucune espèce pathogène (bactérie, virus, parasite) n'est recherchée.

La pêche à pied professionnelle ou de loisir est exclusivement autorisée dans les zones A et B. Pour ce qui concerne les zones B, un affichage d'informations sanitaires recommandant la cuisson des coquillages est obligatoire. Par ailleurs, la vente directe des produits de la pêche à pied faite par des professionnels, est interdite sans purification préalable.

➤ ***La réduction du risque de contamination des zones de pêche par les rejets agricoles et urbains***

Les zones conchylicoles sont en principe protégées par une réglementation interdisant l'épandage de lisiers dans un périmètre de 500 m, sauf dérogations. Dans ce cas, il est recommandé que le calendrier d'épandage soit strictement respecté (interdiction d'épandage par temps de pluie, sur sols gelés) pour limiter des apports accidentels directs.

En ce qui concerne les rejets urbains, il importe que les villes proches des points sensibles soient équipées en structures d'épuration de dimensionnement adapté.

La purification des coquillages

Pour les coquillages issus des zones de type A, aucune purification n'est requise. Pour les coquillages de zones B, des incertitudes persistent sur la totale efficacité de la purification pour éliminer les cryptosporidies.

➤ ***L'information du public***

Les coquillages issus de zone C ou D, peuvent être fortement contaminés. Il importe d'informer le public de ce risque et de lui rappeler les interdictions de récolte par voie d'affichage.

2.3.3. Le lait cru et ses produits dérivés

Les oocystes de cryptosporidies ne sont pas présents dans le lait d'un animal infecté. La contamination s'effectue au moment de la traite pratiquée dans de mauvaises conditions d'hygiène (contamination de la peau et/ou du récipient de traite). La principale recommandation est donc d'appliquer de strictes mesures d'hygiène au moment de la traite⁴⁷, en particulier si des cas de cryptosporidiose animale sont identifiés dans l'élevage. Le risque de contamination

⁴⁵ Guide de bonnes pratiques d'hygiène Fruits et légumes frais non-transformés, rédigés sous l'égide du CTIFL (Centre Technique et Interprofessionnel des Fruits et légumes) et d'Interfel (Association interprofessionnelle des fruits et légumes), 1999, Les éditions des journaux Officiels, ISBN :2-11-074801-X

⁴⁶ La conchyliculture est régie par l'arrêté du 21 mai 1999 relatif au classement de salubrité et à la surveillance des zones de production et des zones de reparcage des coquillages vivants

⁴⁷ Guide de Bonnes Pratiques pour la fabrication des produits laitiers et fromages fermiers, Fédération Nationale des Producteurs de lait. 2002, en cours de validation par les pouvoirs publics.

humaine par les produits laitiers est limité à la consommation de lait cru souillé, voire de fromages préparés à partir de lait contaminé. Les oocystes de cryptosporidies étant rapidement détruits par la chaleur (1 minute à 72°C, ou 5 minutes à 64°C ou par pasteurisation), le chauffage ou la pasteurisation des produits laitiers restent la meilleure recommandation de prévention.

2.4. Prévention individuelle

A l'heure actuelle, il n'existe pas de médicament anti-parasitaire dont l'efficacité ait été prouvée dans le traitement curatif de la cryptosporidiose humaine. De même, aucune chimioprophylaxie médicamenteuse individuelle n'est efficace pour prévenir la cryptosporidiose chez les patients à risque.

La prévention individuelle a donc pour principaux objectifs de limiter l'exposition et la contamination.

Suite aux travaux du groupe, sont proposées des recommandations de 2 niveaux : (i) *Niveau 1*, recommandations destinées à limiter les contaminations accidentelles et les fortes expositions : elles s'adressent à l'ensemble de la population et doivent être appliquées avec rigueur pour les personnes considérées comme les plus "sensibles" (jeunes enfants et personnes âgées) ; (ii) *Niveau 2*, recommandations complémentaires destinées aux personnes susceptibles de présenter des formes graves, telles que celles qui sont immunodéprimés, notamment celles infectées par le VIH.

➤ *Niveau 1: recommandations applicables à l'ensemble de la population*

- Respecter des règles d'hygiène simples à savoir le lavage des mains après un passage aux toilettes (un contact avec des selles ou un changement de couches), la manipulation d'animaux, les activités de jardinage et le contact direct avec une personne infectée ;
- Effectuer un lavage à l'eau du robinet de tout fruit ou légume pouvant avoir été souillé par de la terre ou de l'eau sale ;
- Eviter la consommation de coquillages crus, si ceux-ci proviennent d'une zone de récolte non identifiée ou non autorisée (pêche à pied, récolte individuelle) ;
- Eviter la consommation de lait cru qui ne comporte pas de garantie sanitaire ;
- Eviter tout contact avec de jeunes animaux, *a fortiori* s'ils sont diarrhéiques ;
- Eviter les baignades dans des lacs et des rivières en dehors de zones prévues à cet effet et faisant l'objet d'une surveillance microbiologique ;
- Eviter la consommation d'eau de surface susceptible d'être souillée par des excréments d'animaux (camping ; randonneurs) ;
- Personnels travaillant dans la restauration et les collectivités de personnes réceptives : une infection prouvée à *Cryptosporidium sp* doit conduire à une éviction temporaire jusqu'à guérison clinique et négativation de l'examen parasitologique des selles. Ces personnels doivent par ailleurs respecter strictement les règles d'hygiène : des zones séparées pour le lavage des mains et la préparation des repas par le personnel doivent être prévues. Les personnes infectées par des cryptosporidies doivent éviter de travailler dans la restauration et les collectivités de personnes réceptives (crèche, services hospitaliers) ;
- En crèches et dans les services de pédiatrie, le port de vêtements par dessus les couches doit être recommandé.

Cas particulier

Certaines personnes sont, du fait de leur activité professionnelle, soumises à un risque de forte exposition. C'est le cas des éleveurs, vétérinaires, personnels des abattoirs ainsi que des personnels soignants. Les recommandations d'hygiène pré-citées doivent s'appliquer avec une stricte rigueur et être complétées par le port systématique de protections (gants, masque, blouse) lors de tout contact avec un sujet atteint de cryptosporidiose.

➤ Niveau 2: Recommandation applicable de façon permanente chez les malades immunodéprimés⁴⁸

En dehors de l'application stricte des recommandations de niveau 1, les recommandations suivantes doivent être appliquées et ceci avec d'autant plus de rigueur que les personnes sont à risque de développer une maladie grave.

- Consommation exclusive d'eaux embouteillées pour les personnes infectées par le VIH ayant moins de 100 lymphocytes CD4/mm³. De même, la consommation de glaçons préparés à partir d'eau du robinet doit être évitée. L'utilisation de dispositifs individuels pour la filtration de l'eau du robinet, d'une porosité maximale de 1 micron n'est pas recommandée car son efficacité sur les cryptosporidies et sa maintenance ne peuvent être garanties. De même, les dispositifs basés sur l'utilisation exclusive de charbons actifs ou de résines iodées sont inactifs vis-à-vis de cryptosporidies ;
- Cuire ou éplucher les fruits et légumes, sinon éviter leur consommation pour les personnes très immunodéprimé (ayant moins de 100 lymphocytes CD4/mm³) ;
- Ne pas consommer de jus de fruits non pasteurisés ;
- Eviter les pratiques sexuelles qui pourraient entraîner une contamination oro-fécale ;
- A l'hôpital, les précautions habituelles (isolement, ports de gants, lavage des mains après avoir ôté les gants) sont probablement suffisantes pour prévenir la transmission des cryptosporidies d'un patient infecté à un patient réceptif par le manuportage. Cependant, il paraît préférable que les personnes infectées par des cryptosporidies soient isolées et ne partagent pas leur chambre avec d'autres personnes potentiellement réceptives afin d'éviter une potentielle transmission nosocomiale de cette infection. Les personnes infectées ne doivent pas utiliser les fontaines de distribution d'eau ni les machines à distribuer des glaçons qui peuvent être installées dans les services hospitaliers.

2.5.Recommandations en cas de contamination avérée

En cas de contamination avérée de l'eau de distribution, celle-ci doit être considérée comme "non potable".

Les [Tableau 30](#), [Tableau 31](#) et [Tableau 32](#) listent les principaux usages, individuels, domestiques et collectifs, en affectant un niveau de recommandation d'usage.

- Les *interdictions strictes* concernent donc toutes les utilisations pouvant entraîner l'ingestion d'eau contaminée. Elles devraient être appliquées avec rigueur chez toutes les personnes sensibles (malades immunodéprimés, enfants) ;
- L'indication "*usage non recommandé*" indique un risque potentiel qui est difficile à évaluer. En cas de forte contamination, l'interdiction stricte d'usage doit être préférée ;
- L'indication "*usage possible*" se rapporte à des utilisations où le risque d'ingestion accidentelle d'ocystes est faible ou nul.

⁴⁸ Des recommandations américaines de même nature ont été édictées en novembre 2001 et sont consultables sur le site : sur <http://www.hivatis.org/guidelines/other/OIs/OIGNov27.pdf>

L'application de ces recommandations doit s'accompagner d'une information des personnes concernées (public, collectivités, industriels, agriculteurs), en particulier sur certains usages conditionnels, ainsi que sur la possibilité d'avoir à adapter ces recommandations en fonction du niveau de contamination de l'eau distribuée. Il doit proposer des mesures substitutives pour l'approvisionnement d'eau, en cas d'interdiction d'usage ou d'usage non recommandé.

L'expérience montre qu'il est important de vérifier qu'il ne s'agit pas d'une « fausse alerte » due par exemple à une erreur analytique sur l'eau d'alimentation.

Tableau 30 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies en usage domestique ou familial

	Usage déconseillé	Usage non recommandé	Usage possible
Usages à titre individuel :			
-boisson	X		
-toilette du corps			X
➤ lavabos			
➤ douches	X chez les enfants et sujets à risque		
➤ bains	X chez les enfants et sujets à risque		
-brossage des dents	X		
-lavage des mains		X	
-nettoyage des lentilles oculaires	X		
Usages au niveau familial : (préparation des aliments, jardinage)			
-lavage	X		
-cuisson	X		
-incorporation sans cuisson aux aliments	X		
-lavage de la vaisselle à la main	X		
-lavage de la vaisselle en machine	X		X (cycle de lavage long, température >60°C)
-lavage du linge			X
-entretien de l'habitation			X
-arrosage		X uniquement pour les cultures de fruits et légumes	X
Usage pour les animaux domestiques et d'élevage			
-alimentation des animaux domestiques		X pour les jeunes animaux	

Tableau 31 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies pour des usages en collectivités

		Usage déconseillé	Usage non recommandé	Usage possible
Usages alimentaires				
	-boisson	X		
	-lavage des aliments	X		
	-cuisson	X		
	-incorporation sans cuisson aux aliments	X		
	-lavage de la vaisselle à la main	X		
	-lavage de la vaisselle en machine			X (cycle de lavage long, température >60°C)
	-lavage des appareils en contact avec les aliments	X		
Usages domestiques				
	-nettoyage des locaux			X (sauf les crèches, écoles et chambres d'hospitalisation)
Usages de loisir				
	- piscine	X selon niveau de contamination et de traitement de l'eau		
	- bains bouillonnants	X		
	- entretien des locaux			X
Usages en milieu hospitalier				
	- dialyse		X si ultra filtration	
	-autres activités de soins	X		
	- préparation de médicaments	X		
	- nettoyages des matériels	X		
	- lavage du linge			X
	- entretien des locaux		X (chambres d'hospitalisation)	X (locaux communs)

Tableau 32 : Recommandations de conditions d'utilisation d'une eau contaminée par des cryptosporidies pour des usages industriels et urbains

Usage déconseillé		Usage non recommandé	Usage possible
Usages industriels et urbains			
- nettoyage de locaux industriels			X
-refroidissement d'appareils en circuit ouvert sur le réseau			X
-lutte contre l'incendie			X
-évacuation des déchets : ➤ matières fécales (chasse d'eau) ➤ WC			X
-nettoyage des rues et lieux publics			X
-nettoyage des marchés		X en cas de forte* contamination	
- arrosage des cultures		X pour cultures maraîchères	
-usages en activités artisanales autres que la production alimentaire humaine ou animale			X
Activités artisanales et industrielles de production d'aliments frais	X		

* : contamination estimée dans une première évaluation, sur le taux d'attaque

2.6. Conduite de l'information, de la prévention et des investigations en cas d'épidémie ou de contamination avérée de l'eau de distribution

L'investigation des épidémies de cryptosporidiose a un double objectif :

- celui d'identifier rapidement l'origine et la source de l'épidémie et de proposer des mesures de contrôle et de prévention adaptées pour enrayer sa progression.
- celui d'améliorer les connaissances épidémiologiques. En effet, les investigations d'épidémies contribuent à mieux connaître les caractéristiques clinico-épidémiologiques de ces infections, les relations entre l'hôte, l'agent causal et l'environnement, les facteurs de risque et à déterminer les doses infectantes. Ces informations contribuent à l'estimation quantitative du risque et à orienter les mesures de prévention pour éviter l'apparition de nouveaux épisodes. Ce deuxième objectif est particulièrement important pour *Cryptosporidium* pour lequel peu d'informations sont disponibles.

2.6.1. Détection des épidémies

Les épidémies de cryptosporidiose peuvent être détectées dans 3 situations :

- constatation d'un excès de cas de cryptosporidioses. En raison de l'absence de diagnostic de routine de ces infections par les médecins et les biologistes et en l'absence de système de surveillance. Cette situation est rare en France.
- excès de cas de gastro-entérites regroupés dans le temps et l'espace. C'est la situation la plus à même de survenir actuellement en France.
- mise en évidence de *Cryptosporidium* dans de l'eau de distribution ou de loisirs ou sur un aliment sans notification de cas.

L'amélioration de la détection de ces épidémies qui sont probablement insuffisamment détectées en France nécessite que :

- les médecins, les biologistes ou les pharmaciens soient informés de l'intérêt de notifier rapidement à la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) de leur département les cas groupés de gastro-entérites qu'ils identifient. Toute TIAC, définie par la survenue d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (y compris hydrique) doit faire l'objet d'une déclaration à la DDASS ou à la Direction des Services Vétérinaires (DSV) du département de survenue qui sont en charge de leur investigation. Cette déclaration est obligatoire pour tout médecin ou biologiste qui en a constaté l'existence, pour le principal occupant, chef de famille ou d'établissement, des locaux où se trouvent les malades. Les cas groupés de gastro-entérite même sans source commune évidente devraient être également notifiés ;
- le diagnostic de ces infections par les médecins et les biologistes soit amélioré, ce qui passe également par une information des médecins et la création de laboratoires de référence ;
- la mise en place d'un processus de notification aux autorités sanitaires compétentes des mises en évidence de *Cryptosporidium* dans l'eau (notification à la DDASS) ou les aliments (DSV, DDASS).

2.6.2. Méthodologie d'investigations

L'investigation de ces épidémies comporte classiquement trois composantes: (i) une investigation épidémiologique qui permet d'identifier la source et le véhicule de l'épidémie, (ii) une investigation environnementale orientée par les résultats de l'investigation épidémiologique qui permet d'identifier l'origine de la contamination de la source de l'épidémie et (iii) une investigation microbiologique (recherche de l'agent en cause chez les patients et dans la source ou le véhicule suspecté, identification moléculaire et comparaison des souches isolées chez l'Homme et dans la source hydrique, environnementale et alimentaire).

2.6.2.1. Investigation épidémiologique

➤ Détection d'un excès de cas de cryptosporidioses ou de gastro-entérites

La méthode d'investigation épidémiologique comporte les étapes habituelles suivantes :

- affirmation de l'épisode épidémique qui consiste à vérifier que l'excès de cas détectés est réel ;
- confirmation ou détermination de l'agent pathogène en cause. Dans le cas d'épidémies de gastro-entérite d'étiologie non identifiée, une recherche des agents pathogènes viraux, bactériens et parasitaires sera réalisée sur un échantillon de selles de patients ;
- définition et recensement des cas dans une zone géographique et une période de temps déterminée, auprès des médecins de ville et hospitaliers ou de la population considérée comme potentiellement exposée ;
- enquête exploratoire auprès des cas identifiés recueillant à l'aide d'un questionnaire standardisé les expositions à risque au cours de la période d'exposition supposée (déterminée en fonction des dates de survenue des cas et de la durée d'incubation de la maladie en cause) visant à rechercher une exposition commune aux cas ;
- organisation des données en terme de temps, de lieu et de caractéristiques individuelles.

Cette première phase descriptive permet de générer des hypothèses sur la source de l'épidémie. Ces hypothèses sont ensuite testées à l'aide d'enquêtes analytiques de type cas-témoin (comparaison d'un groupe de cas (malades) et de témoins (non malades) en ce qui concerne l'exposition à un facteur de risque donné (par exemple eau de distribution) ou cohorte (comparaison de la proportion de malades parmi les personnes exposées à un facteur de risque donné à la proportion de malades parmi les non exposées). Dans les deux types d'étude, des personnes malades et non malades sont interrogées à l'aide d'un questionnaire standardisé orienté par les résultats de l'enquête exploratoire, sur les expositions à risque au cours de la période d'exposition.

Ces investigations sont habituellement réalisées par les médecins inspecteurs de santé publique des DDASS avec l'appui si nécessaire des épidémiologistes des Cellules inter-régionales d'épidémiologie (CIRE) ou de l'Institut de Veille Sanitaire.

➤ **Mise en évidence de cryptosporidies dans de l'eau de distribution (ou de loisirs ou sur un aliment) sans notification de cas**

Dans cette situation, la première étape a pour objectif de déterminer si la contamination détectée est à l'origine d'un excès de cas de cryptosporidiose (cas à définir au préalable, le plus souvent en situation exploratoire, il s'agira de recenser les cas de gastro-entérites) dans la population exposée. Elle consiste à recenser les cas auprès des médecins libéraux et hospitaliers suivant la même méthodologie que celle décrite précédemment. La période et la zone géographique de recherche sont déterminées par la connaissance du circuit de distribution et de la période supposée de contamination. Les informations nécessaires (cf ci dessous) doivent donc être recueillies avant la mise en place de l'investigation épidémiologique. Si un excès de cas de gastro-entérites est détecté, les étapes ultérieures sont celles décrites précédemment. Le diagnostic de cryptosporidiose devra être confirmé en recueillant les résultats des examens déjà réalisés et en demandant aux médecins de faire pratiquer des examens de selles pour les patients consultant pour gastro-entérite. Les analyses doivent rechercher des agents bactériens, virologiques, parasitologiques car les précédentes épidémies survenues en France liées à la consommation d'eau de boisson étaient dues à plusieurs agents pathogènes d'origine fécale.

2.6.2.2. Investigation environnementale

Cette investigation est particulièrement importante en cas d'épidémie de cryptosporidiose liée à la consommation d'eau de distribution. Elle a pour objectifs d'identifier les causes de la contamination de cette eau et de prendre les mesures spécifiquement adaptées pour mettre fin à l'épisode en cours et éviter l'apparition de nouveaux épisodes.

Elle comporte :

- un recueil d'information sur le captage et le circuit de distribution de la zone de distribution :
 - o description du captage ;
 - o méthodes de traitement de l'eau ;
 - o zone de distribution et taille de la population concernée ;
 - o identification d'anomalies récentes au niveau du captage, du traitement de la distribution (par exemple constatation d'une turbidité importante) ; existence de changements récents dans le captage ou le traitement ; analyse des plaintes recensées auprès de la Mairie, des producteurs ou de la DDASS
 - o vitesse de circulation de l'eau dans le circuit de distribution (est-il possible que de l'eau contaminée soit encore dans le système de distribution ?) ;
 - o historique des analyses : indicateurs fécaux, turbidité, recherche de *Cryptosporidium sp.*, dosages de chlore résiduel ;
- des prélèvements pour la recherche de cryptosporidies à différents niveaux : ressource, étapes de traitement et eau produite (application de la démarche « amont-aval ») ;
- ces prélèvements peuvent faire l'objet d'une analyse bactériologique et virologique pour identifier une co-infection associée ;
- une recherche des facteurs de risque de contamination avec par exemple :
 - o un recueil d'information sur l'environnement du captage : nature des sols, présence de troupeaux, avec réalisation de prélèvements environnementaux ou chez les animaux,
 - o une étude de pluviométrie,
 - o une application d'un modèle « hydraulique », s'il existe.

Ces investigations sont habituellement réalisées par les services « Santé-Environnement » des DDASS.

2.6.3. Mesures de contrôles et de prévention

La nature des mesures de contrôles et de prévention et le moment de leur mise en oeuvre sont déterminés en fonction des résultats des investigations et doivent être adaptés à la situation locale et décidés dans la mesure du possible en collaboration entre les différents partenaires concernés.

Différents types de mesures complémentaires sont envisageables : information de la population exposée sur le risque lié à la consommation d'eau et sur les mesures de prévention individuelles, mesures au niveau de la distribution et du captage (prélèvements d'échantillons, analyses, intervention sur les installations : purge du réseau rapide et maximale pour éviter la contamination des biofilms, modification de traitements ...), alerte des utilisateurs spécifiques : dialyse, production de produits alimentaires ou pharmaceutiques.

L'investigation des épidémies françaises récentes a montré que la réponse rapide et efficace à une situation de contamination avérée du réseau d'eau de distribution publique ou d'épidémies de gastro-entérites d'origine hydrique nécessiterait de développer au niveau départemental un partenariat à compétences multiples. Ceci passe dans un premier temps par l'identification de l'ensemble des partenaires intervenant à différents niveaux (production, distribution de l'eau, alerte, investigation épidémiologique, analyses microbiologiques et parasitologiques (au niveau des selles, de l'eau, de l'environnement), gestion, etc). Une équipe multidisciplinaire (producteurs, distributeurs d'eau, médecins libéraux et hospitaliers, médecins inspecteurs de santé publique (MISP), CIRE, ingénieurs sanitaires (IGS) de la DDASS, microbiologistes, gestionnaires, etc) pourrait ensuite être constituée sur un mode similaire aux pôles de compétence départementaux qui existent déjà dans de nombreux départements dans le domaine « alimentaire ». Elle aurait pour missions : (i) de déterminer un protocole adapté aux situations locales précisant les modalités de notification de contamination ou d'excès de cas ; (ii) d'informer la population ; (iii) de coordonner les investigations, les mesures de contrôle et de prévention ; (iv) de décider de la reprise de la distribution en conditions normales.

2.6.4. Conditions du retour à la normale

Il convient de déterminer les conditions du retour à la normale dans chaque situation. Pour ce faire, il devrait être tenu compte du fait que la ou les causes de la contamination ont été identifiées, des résultats des analyses effectuées et de la mise en oeuvre effective des mesures techniques décidées. Il n'existe pas actuellement de critères consensuels définissant les conditions de réouverture du réseau. Ce point nécessiterait qu'une réflexion complémentaire soit menée.

3. AXES DE RECHERCHE

Le constat d'une grande insuffisance de connaissances dans plusieurs des composantes nécessaires à l'analyse de risque nous a conduit à proposer 6 axes de recherche prioritaires.

3.1. Caractérisation du danger

- Recherche et quantification des oocystes de *Cryptosporidium* dans l'alimentation
 - Optimisation des techniques de recherche de cryptosporidies dans l'eau et l'alimentation,
 - Optimisation des conditions de prétraitement et de concentration des oocystes à partir de l'échantillon alimentaire,
 - Evaluation et validation des techniques de détection par biologie moléculaire,
 - Amélioration des techniques de quantification (cytofluorimétrie, biologie moléculaire) ; caractérisation de leur justesse et de leur fidélité.

- Identification spécifique et infra-spécifique:
 - Développement des travaux d'identification moléculaire (PCR-RFLP, séquençage, anticorps monoclonaux),
 - Caractérisation moléculaire des isolats de *Cryptosporidium* responsables d'infections chez l'Homme immunocompétent et immunodéprimé ;
- Viabilité-infectivité -virulence
 - Validation et standardisation de méthodes d'étude de la viabilité/infectivité des oocystes
Apport de la biologie moléculaire: RT-PCR ou autre technique de dosage de l'ARN spécifique,
 - Modèles expérimentaux pour l'évaluation de l'infectivité des oocystes de *Cryptosporidium*,
 - Variabilité génétique et pouvoir pathogène (virulence) des souches de *Cryptosporidium parvum* ;

Application : Désinfection. Décontamination

- Recherche et validation de procédures de désinfection ou d'inactivation des oocystes (endoscopes, surfaces, aliments, fèces).

3.2.Emission et diffusion du danger

- Contamination des supports alimentaires
 - Nature et importance de la contamination dans les eaux et les aliments en France,
 - Contamination et survie des oocystes dans les fumiers et lisiers,
 - Conditions d'infiltration des sols par les oocystes de *Cryptosporidium*. Modélisation ;
- Identification et caractérisation des réservoirs animaux
 - Rôle des animaux autres que les mammifères d'élevage dans la transmission humaine de la cryptosporidiose,
 - Rôle des oiseaux dans la dissémination passive de *Cryptosporidium parvum*,
 - Rôle des insectes dans la dissémination passive de *Cryptosporidium parvum*,
 - Rôle des fruits de mer dans la transmission de la cryptosporidiose humaine ;
- Epidémiologie
 - Circulation de *Cryptosporidium spp.* parmi les animaux domestiques (ruminants, équidés, porcs) et sauvages (rongeurs, ongulés) en France.

3.3.Appréciation de l'exposition

- Evaluation du risque de contamination par *Cryptosporidium* par les aliments : légumes, coquillages ;
- Evaluation de la contamination tellurique.

3.4.Appréciation des effets

- Prévalence de la cryptosporidiose dans la population française et en particulier dans les différentes populations à risque et chez l'enfant,
- Préciser l'impact de la cryptosporidiose sur le statut nutritionnel et le développement chez les jeunes enfants.

3.5. Estimation quantitative du risque

- Modélisation du risque ;
- Amélioration, par l'expérimentation (animale) et l'investigation des épidémies (humaines), de la connaissance de la courbe dose-réponse.

3.6. Epidémiologie - Gestion du risque

- Mise en place d'un réseau d'épidémiologie-surveillance de la cryptosporidiose humaine et animale à travers les laboratoires de diagnostic vétérinaires départementaux pour les animaux domestiques et sauvages (réseau SAGIR),
- Définition d'indicateurs de qualité et de suivi épidémiologique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agnew, D. G., Lima, A. A., Newman, R. D., Wuhib, T., Moore, R. D., Guerrant, R. L. et Sears, C. L. (1998). Cryptosporidiosis in northeastern Brazilian children : association with increased diarrhea morbidity. *Journal of Infectious Diseases* 177, 754-60.
- Angus, K. W. (1990). Cryptosporidiosis in ruminants. In *Cryptosporidiosis of man and animals* J.P. Dubey, C. A. S. F., CRC Press, ed., Boca Raton. p. 83 - 103
- Antoine, H., Pivont, P., Gregoire, R. et Bughin, J. (1981). Cryptosporidiose intestinale chez deux veaux nouveau-nés. *Point Vétérinaire* 12, 31-2.
- Awad-El-Kariem, F. M., Robinson, H. A., Petry, F., McDonald, V., Evans, D. et Casemore, D. (1998). Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using molecular and biological markers. *Parasitology Research* 84, 297-301.
- Baudin, I., Gabard, N., Bernazeau, F. et Laine, J.M. (2001) Suivi et Optimisation des procédés de clarification pour l'élimination de *Cryptosporidium*. *Technique Science Méthodes* 96, 12, 41-47
- Benhamou, Y., Kapel, N., Hoang, C., Matta, H., Meillet, D., Magne, D., Raphael, M., Gentilini, M., Opolon, P. et Gobert, J. G. (1995). Inefficacy of intestinal secretory immune response to *Cryptosporidium* in acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology* 108, 627-35.
- Bowman, K. O. et Shenton, L. R. (1998). Gamma Distribution. In *Encyclopedia of biostatistics* (Armitage, P. et Colton, T., eds.) Vol. 2 - Wiley, Chichester, p. 1602-1604
- Brasseur, P., Lemeteil, D. et Mallet, E. (1987). La cryptosporidiose chez l'enfant immunocompétent. *La presse médicale* 16, 177.
- Brasseur, P., Uguen, C., Moreno-Sabater, A., Favennec, L. et Ballet, J. J. (1998). Viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts in natural waters. *Folia Parasitologica* 45, 113-6.
- Bretagne, S., Jacovella, J., Breuil, J., Guillot, F., Liance, M. et Houin, R. (1990). [Cryptosporidiosis in children: epidemics and sporadic cases]. *Annales de pédiatrie (Paris)* 37, 381-6.
- Bridgman, S. A., Robertson, R. M., Syed, Q., Speed, N., Andrews, N. et Hunter, P. R. (1995). Outbreak of cryptosporidiosis associated with a disinfected groundwater supply. *Epidemiology and Infection* 115, 555-66.
- Bruce, B. B., Blass, M. A., Blumberg, H. M., Lennox, J. L., Del Rio, C. et Horsburgh Jr, C. R. (2000). Risk of *Cryptosporidium parvum* transmission between hospital roommates. *Clinical Infectious Diseases* 31, 947-950.
- Campbell, A. T., Robertson, L. J. et Smith, H. V. (1992). Viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts: correlation of *in vitro* excystation with inclusion or exclusion of fluorogenic vital dyes. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 3488-93.
- Casemore, D. P., Jessop, E. G., Douce, D. et Jackson, F. B. (1986). *Cryptosporidium* plus *Campylobacter* : an outbreak in a semi-rural population. *The Journal of hygiene* 96, 95-105.
- CDC. (1996). Foodborne outbreak of diarrheal illness associated with *Cryptosporidium parvum* - Minnesota 1995. *MMWR : Morbidity and Mortality weekly report-CDC* 45, 783-784.
- CDC. (1997). Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection and cryptosporidiosis associated with drinking unpasteurized apple cider - Connecticut and New York, October 1996. *MMWR : Morbidity and Mortality weekly report-CDC* 46, 4-8.

- CDC. (1998). Foodborne outbreak of cryptosporidiosis - Spokane, Washington, 1997. *MMWR : Morbidity and Mortality weekly report-CDC* 47, 565-567.
- Chalmers, R. M., Sturdee, A. P., Mellors, P., Nicholson, V., Lawlor, F., Kenny, F. et Timpson, P. (1997). *Cryptosporidium parvum* in environmental samples in the Sligo area, Republic of Ireland: a preliminary report. *Letter in Applied Microbiology* 25, 380-4.
- Champlaud, D., Lopez, J., Bonnin, A. et Naciri, M. (1999) Reply. *Parasitology Today* 15, 80-1.
- Chappell, C. L. et Okhuysen, P. C. (2000). Progress Report, adressé au National Center for Environmental Research, US-EPA.
- Chappell, C. L., Okhuysen, P. C., Sterling, C. R. et Dupont, H. L. (1996). *Cryptosporidium parvum* : intensity of infection and oocyst excretion patterns in healthy volunteers. *Journal of Infectious Diseases* 173, 232-6.
- Chappell, C. L., Okhuysen, P. C., Sterling, C. R., Wang, C., Jakubowski, W. et Dupont, H. L. (1999). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy adults with pre-existing anti-*C. parvum* serum immunoglobulin G. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 60, 157-64.
- Chartier, C., Mallereau-Pellet, M. P., Mancassola, R. et Nussbaum, D. (2002). [Detection of *Cryptosporidium* oocysts from goat kid faeces : comparison of a latex agglutination test with three other conventional techniques]. *Veterinary Research* 33, 169-77.
- Chermette, R. et Blondel, S. (1989a). Cryptosporidiose des carnivores domestiques. Résultats préliminaires en France. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie* 7, 31-36.
- Chermette, R., Tarnau, C., Boufassa-Ouzrout, S., Couderc, O. et Carneiro, S. (1989b). *Survey on equine cryptosporidiosis in Normandy. In : Coccidia and intestinal Coccidiomorphes. Vth International Coccidiosis Conference.* 1989. Tours (France) 17-20 octobre 1989.
- Chermette, R., Polack, B., Boufassa, S. et Bariaud, F. (1984). *Groupe de Recherche et de Développement sur l'Elevage et la Pathologie du veau, Lyon (France) - 16 novembre 1984.*
- Cicirello, H. G., Kehl, K. S., Addiss, D. G., Chusid, M. J., Glass, R. I., Davis, J. P. et Havens, P. L. (1997). Cryptosporidiosis in children during a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin : clinical, laboratory and epidemiologic findings. *Epidemiology and Infectious* 119, 53-60.
- Clavel, A., Olivares, J. L., Fleita, J., Castillo, J., Varea, M., Ramos, F. J., Arnal, A. C. et Quilez, J. (1996). Seasonality of cryptosporidiosis in children. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases* 15, 77-9.
- Cordell, R. L., Thor, P. M., Addiss, D. G., Theurer, J., Lichterman, R., Ziliak, S. R., Juranek, D. D. et Davis, J. P. (1997). Impact of a massive waterborne cryptosporidiosis outbreak on child care facilities in metropolitan Milwaukee, Wisconsin. *Pediatric Infection Disease Journal* 16, 639-44.
- D'Antonio, R. G., Winn, R. E., Taylor, J. P., Gustafson, T. L., Current, W. L., Rhodes, M. M., Gary, G. W., Jr. et Zajac, R. A. (1985). A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts. *Annal of Internal Medicine* 103, 886-8.
- Datry, A., Sarfati, C. et Derouin, F. (2000). *L'eau, la santé et l'environnement (symposium international), Rennes, France.*
- Delaunay, A., Gargala, G., Li, X., Favennec, L. et Ballet, J. J. (2000). Quantitative flow cytometric evaluation of maximal *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in a neonate mouse model [In Process Citation]. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 4315-7.

- Deng, M. Q. et Cliver, D. O. (1999). *Cryptosporidium parvum* studies with dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 46, 113-21.
- De Graaf, D. C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L. M., Abbassi, H. et Peeters, J. E. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology* 29, 1269-87.
- De Wit, M. A., Koopmans, M. P., Kortbeek, L. M., Van Leeuwen, N. J., Bartelds, A. I. et Van Duynhoven, Y. T. (2001). Gastroenteritis in sentinel general practices, The Netherlands. *Emerging Infectious diseases* 7, 82-91.
- Dietz, V. J. et Roberts, J. M. (2000). National surveillance for infection with *Cryptosporidium parvum*, 1995-1998 : what have we learned ? *Public Health Report* 115, 358-63.
- Dumoulin, A., Guyot, K., Lelièvre, E., Dei-Cas, E. et Cailliez, J. C. (2000). [*Cryptosporidium* and wildlife : a risk for humans ?]. *Parasite* 7, 167-72.
- Dupont, H. L., Chappell, C. L., Sterling, C. R., Okhuysen, P. C., Rose, J. B. et Jakubowski, W. (1995). The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *The New England journal of Medicine* 332, 855-9.
- Efron, B. et Tibshirani, R. J. (1993). An introduction to the Bootstrap. *In Monograph on statistics and applied probability*, Chapman et Hall/CRC, Boca Raton. p.57
- Enriquez, F. J. et Riggs, M. W. (1998). Role of immunoglobulin A monoclonal antibodies against P23 in controlling murine *Cryptosporidium parvum* infection. *Infection and Immunity* 66, 4469-73.
- Fayer, R. (1994). Effect of high temperature on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2732-5.
- Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S. et Zarlenga, D. (1998a). *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates : dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology* 28, 49-56.
- Fayer, R., Graczyk, T. K., Lewis, E. J., Trout, J. M. et Farley, C. A. (1998b). Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 1070-4.
- Fayer, R., Lewis, E. J., Trout, J. M., Graczyk, T. K., Jenkins, M. C., Higgins, J., Xiao, L. et Lal, A. A. (1999). *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. *Emerging and Infectious Diseases* 5, 706-10.
- Fayer, R. et Nerad, T. (1996). Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 1431-3.
- Flanigan, T. P. (1994). Human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: protective immune responses. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50, 29-35.
- FAO-WHO, *Risk management and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation*. 1997, Food and Agricultural Organisation : Rome. p. 27.
- Forde, K. N., Swinker, A. M., Traib-Dargatz, J. L. et Cheney, J. M. (1998). The prevalence of *Cryptosporidium* / *Giardia* in the trail horse population utilizing public lands in Colorado. *Journal Equine Veterinary Science* 18, 38-40.
- Freire-Santos, F., Oteiza-Lopez, A. M., Vergara-Castiblanco, C. A., Ares-Mazas, E., Alvarez-Suarez, E. et Garcia-Martin, O. (2000). Detection of *Cryptosporidium* oocysts in bivalve molluscs destined for human consumption. *The Journal of Parasitology* 86, 853-4.

- Frost, F. J., de la Cruz, A. A., Moss, D. M., Curry, M. et Calderon, R. L. (1998). Comparisons of ELISA and Western blot assays for detection of *Cryptosporidium* antibody. *Epidemiology and Infection* 121, 205-11.
- Frost, F. J., Fea, E., Gilli, G., Biorci, F., Muller, T. M., Craun, G. F. et Calderon, R. L. (2000). Serological evidence of *Cryptosporidium* infections in southern Europe. *European Journal of Epidemiology* 16, 385-90.
- Furtado, C., Adak, G. K., Stuart, J. M., Wall, P. G., Evans, H. S. et Casemore, D. P. (1998). Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-95. *Epidemiology and Infection* 121, 109-19.
- Gelletlie, R., Stuart, J., Soltanpoor, N., Armstrong, R. et Nichols, G. (1997). Cryptosporidiosis associated with school milk. *Lancet* 350, 1005-6.
- Glaberman, S., Sulaiman, I., Bern, C., Limor, J., Peng, M. M., Morgan, U., Gilman, R. H., Lal, A. et Xiao, L. (2001). A multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium meleagridis*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* Suppl, 19S - 22S.
- Goldstein, S. T., Juranek, D. D., Ravenholt, O., Hightower, A. W., Martin, D. G., Mesnik, J. L., Griffiths, S. D., Bryant, A. J., Reich, R. R. et Herwaldt, B. L. (1996). Cryptosporidiosis : an outbreak associated with drinking water despite state-of-the-art water treatment. *Annal of Internal Medicine* 124, 459-68.
- Gomez-Bautista, M., Ortega-Mora, L. M., Tabares, E., Lopez-Rodas, V. et Costas, E. (2000). Detection of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and cockles (*Cerastoderma edule*). *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1866-70.
- Graczyk, T. K., Evans, B. M., Shiff, J., Karreman, H. J. et Patz, J. A. (2000). Environmental and geographical factors contributing to watershed contamination with *C. parvum* oocysts. *Environmental Research (Section A)* 82, 263-71.
- Graczyk, T. K., Fayer, R., Lewis, E. J., Trout, J. M. et Farley, C. A. (1999). *Cryptosporidium* oocysts in Bent mussels (*Ischadium recurvum*) in the Chesapeake Bay. *Parasitology Research* 85, 518-21.
- Guerrant, D. I., Moore, S. R., Lima, A. A., Patrick, P. D., Schorling, J. B. et Guerrant, R. L. (1999). Association of early childhood diarrhea and cryptosporidiosis with impaired physical fitness and cognitive function four-seven years later in a poor urban community in northeast Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61, 707-13.
- Guyonnet, J. P. et Claudet, J. (2002). Epidémie de gastro-entérite aiguë à *Cryptosporidium* liée à la pollution des eaux d'alimentation de la ville de Sète. *Technique Science Méthodes* 97, 1, 23-29.
- Guyot, K., Follet-Dumoulin, A., Lelievre, E., Sarfati, C., Rabodonirina, M., Nevez, G., Cailliez, J. C., Camus, D. et Dei-Cas, E. (2001). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from humans in France. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 3472-80.
- Haas, C. N., Crockett, C. S., Rose, J. B., Gerba, C. P. et Fazil, A. M. (1996). Assessing the risk posed by oocysts in drinking water. *Journal of American Water Works Association*, 131-136.
- Haas, C. N., Rose, J. B. et Gerba, C. P. (1999). *Quantitative microbial risk assessment*, Wiley et Sons, New York.
- Haas, C. N. et Trussel, R. R. (1998). Framework for assessing reliability of multiple independent barriers in potable water reuse. *Water science technology* 38, 1-8.

- Harp, J. A., Fayer, R., Pesch, B. A. et Jackson, G. J. (1996). Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 2866-8.
- Holten-Andersen, W., Gerstoft, J., Henriksen, S. A. et Pedersen, N. S. (1984). Prevalence of *Cryptosporidium* among patients with acute enteric infection. *The Journal of Infection* 9, 277-82.
- Hooda, P. S., Edwards, A. C., Anderson, H. A. et Miller, A. (2000). A review of water quality concerns in livestock farming areas. *The science of the total environment* 250, 143-67.
- Hoxie, N. J., Davis, J. P., Vergeront, J. M., Nashold, R. D. et Blair, K. A. (1997). Cryptosporidiosis-associated mortality following a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin. *American Journal of Public Health* 87, 2032-5.
- Hurst, C. J. (2001). Estimating the risk of infectious disease associated with pathogens in drinking water. In *Manual of environmental microbiology* (Hurst, C. J., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., Stezenbach, L. et Walter, M. V., eds.). American society for microbiology, Washington DC.
- INCA. (2000). *Enquête INCA, individuelle et nationale sur les consommations alimentaires* (Volatier, J. L., Ed.), Technique et Documentation, Paris.
- Inungu, J. N., Morse, A. A. et Gordon, C. (2000). Risk factors, seasonality, and trends of cryptosporidiosis among patients infected with human immunodeficiency virus [In Process Citation]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62, 384-7.
- Iqbal, J., Hira, P. R., Al-Ali, F. et Philip, R. (2001). Cryptosporidiosis in Kuwaiti children : seasonality and endemicity. *Clinical Microbiology and Infection* 7, 261-6.
- Isaac-Renton, J., Blatherwick, J., Bowie, W. R., Fyfe, M., Khan, M., Li, A., King, A., McLean, M., Medd, L., Moorehead, W., Ong, C. S. et Robertson, W. (1999). Epidemic and endemic seroprevalence of antibodies to *Cryptosporidium* and *Giardia* in residents of three communities with different drinking water supplies. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 60, 578-83.
- Isaacs, D., Hunt, G. H., Phillips, A. D., Price, E. H., Raafat, F. et Walker-Smith, J. A. (1985). Cryptosporidiosis in immunocompetent children. *Journal of Clinical Pathology* 38, 76-81.
- Izumiyama, S., Furukawa, I., Kuroki, T., Yamai, S., Sugiyama, H., Yagita, K. et Endo, T. (2001). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infections in weaned piglets and fattening porkers in Kanagawa Prefecture, Japan. *Japanese Journal of Infection and Disease* 54, 23-6.
- Jenkins, M. B., Anguish, L. J., Bowman, D. D., Walker, M. J. et Ghiorse, W. C. (1997). Assessment of a dye permeability assay for determination of inactivation rates of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 3844-50.
- Jokipii, L. et Jokipii, A. M. (1986). Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. *The New England journal of medicine* 315, 1643-7.
- Jokipii, L., Pohjola, S., Valle, S. L. et Jokipii, A. M. (1985). Frequency, multiplicity and repertoire of intestinal protozoa in healthy homosexual men and in patients with gastrointestinal symptoms. *Annal Clinical Research* 17, 57-9.
- Kacprzak, E., Kurczewska, M. et Stefaniak, J. (1990). [2 cases of cryptosporidiosis in adults]. *Przegląd Epidemiologiczny* 44, 245-8.
- Kim, C. W. (1990). Cryptosporidiosis in pigs and horses. In *Cryptosporidiosis of man and animals* (J.P. Dubey, C. A. S. F., CRC Press, ed.) - Boca Raton. p 105-111.

- Kim, H. C. et Healey, M. C. (2001). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts following cryopreservation. *Journal of Parasitology* 87, 1191-4.
- Klesius, P. H., Haynes, T. B. et Malo, L. K. (1986). Infectivity of *Cryptosporidium sp* isolated from wild mice for calves and mice. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 189, 192-3.
- Kramer, M. H., Herwaldt, B. L., Craun, G. F., Calderon, R. L. et Juranek, D. D. (1996). Surveillance for waterborne-disease outbreaks--United States, 1993-1994. *MMWR :Morbidity and Mortality Weekly Report CDC Surveillance Summaries* 45, 1-33.
- Kuhls, T. L., Mosier, D. A., Crawford, D. L. et Griffis, J. (1994). Seroprevalence of cryptosporidial antibodies during infancy, childhood, and adolescence. *Clinical infectious diseases* 18, 731-5.
- Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P. et Chermette, R. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Veterinary Parasitology* 89, 1-9.
- Lesne, J. (2001) Cryptosporidiose et usages de l'eau : point sur le risque sanitaire. *Technique Science Méhodes* 96, 12, 24-30
- Li, X. et Brasseur, P. (2000). An NMRI-slucking mouse model for evaluation of infectivity *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitics Diseases* 2, 94-96.
- Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E., Kazmierczak, J. J., Addiss, D. G., Fox, K. R., Rose, J. B. et et al. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *The New England journal of Medicine* 331, 161-7.
- Madore, M. S., Rose, J. B., Gerba, C. P., Arrowood, M. J. et Sterling, C. R. (1987). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters. *The Journal of Parasitology* 73, 702-5.
- Mann, E. D., Sekla, L. H., Nayar, G. P. et Koschik, C. (1986). Infection with *Cryptosporidium spp.* in humans and cattle in Manitoba. *Canadian journal of veterinary research* 50, 174-8.
- Manthey, M. W., Ross, A. B. et Soergel, K. H. (1997). Cryptosporidiosis and inflammatory bowel disease. Experience from the Milwaukee outbreak. *Digestive Diseases and Sciences* 42, 1580-6.
- Mata, L., Bolanos, H., Pizarro, D. et Vives, M. (1984). Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban areas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 33, 24-9.
- McDonald, A. C., Mac Kenzie, W. R., Addiss, D. G., Gradus, M. S., Linke, G., Zembrowski, E., Hurd, M. R., Arrowood, M. J., Lammie, P. J. et Priest, J. W. (2001). *Cryptosporidium parvum*-specific antibody responses among children residing in Milwaukee during the 1993 waterborne outbreak. *Journal of Infectious Diseases* 183, 1373-9.
- McDonald, V., Robinson, H. A., Kelly, J. P. et Bancroft, G. J. (1996). Immunity to *Cryptosporidium muris* infection in mice is expressed through gut CD4+ intraepithelial lymphocytes. *Infection and Immunity* 64, 2556-62.
- McGowan, I., Hawkins, A. S. et Weller, I. V. (1993). The natural history of cryptosporidial diarrhoea in HIV-infected patients. *Aids (London, England)* 7, 349-54.

- Millard, P. S., Gensheimer, K. F., Addiss, D. G., Sosin, D. M., Beckett, G. A., Houck-Jankoski, A. et Hudson, A. (1994). An outbreak of cryptosporidiosis from fresh-pressed apple cider [published erratum appears in JAMA 1995 Mar 8;273(10):776]. *JAMA : The journal of the American Medical Association* 272, 1592-6.
- Monge, R. et Arias, M. L. (1996). Presencia de microorganismos patogenos en hortalizas de consumo crudo en Costa Rica. *Archivos Latino-Americanos de Nutricion* 46, 292-4.
- Morgan, U. M., Buddle, J. R., Armson, A., Elliot, A. et Thompson, R. C. (1999). Molecular and biological characterisation of *Cryptosporidium* in pigs. *Australian Veterinary Journal* 77, 44-7.
- Naciri, M., Lefay, M. P., Mancassola, P., Poirier, P. et Chermette, R. (1999). Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary parasitology* 85, 245-57.
- Netherwood, T., Wood, J. L., Townsend, H. G., Mumford, J. A. et Chanter, N. (1996). Foal diarrhoea between 1991 and 1994 in the United Kingdom associated with *Clostridium perfringens*, rotavirus, *Strongyloides westeri* and *Cryptosporidium spp.* *Epidemiology and infection* 117, 375-83.
- Nichols, G. et Thom, B. T. (1985). Food poisoning caused by *Cryptosporidium* : a load of tripe. *Communicable Disease Report - CDC* 17, 3.
- Nieminski, E. C., Bellamy, W. D. et Moss, L. R. (2000). Using surrogates to improve plant performance. *Journal of American Water Works Association* 9, 67-78.
- Okhuysen, P. C., Chappell, C. L., Crabb, J. H., Sterling, C. R. et Dupont, H. L. (1999). Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *Journal of Infectious Diseases* 180, 1275-81.
- Okhuysen, P. C., Chappell, C. L., Sterling, C. R., Jakubowski, W. et Dupont, H. L. (1998). Susceptibility and serologic response of healthy adults to reinfection with *Cryptosporidium parvum*. *Infection and Immunity* 66, 441-3.
- Ong, C. S., Eisler, D. L., Alikhani, A., Fung, V. W., Tomblin, J., Bowie, W. R. et Isaac-Renton, J. L. (2002). Novel *Cryptosporidium* genotypes in sporadic cryptosporidiosis cases : first report of human infections with a cervine genotype. *Emerging Infectious Diseases* 8, 263-8.
- Ortega, Y. R., Roxas, C. R., Gilman, R. H., Miller, N. J., Cabrera, L., Taquiri, C. et Sterling, C. R. (1997). Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 57, 683-6.
- Peeters, J. E., Villacorta, I., Vanopdenbosch, E., Vandergheynst, D., Naciri, M., Ares-Mazas, E. et Yvove, P. (1992). *Cryptosporidium parvum* in calves : kinetics and immunoblot analysis of specific serum and local antibody responses (immunoglobulin A [IgA], IgG, and IgM) after natural and experimental infections. *Infection and Immunity* 60, 2309-16.
- Peng, M. M., Xiao, L., Freeman, A. R., Arrowood, M. J., Escalante, A. A., Weltman, A. C., Ong, C. S., Mac Kenzie, W. R., Lal, A. A. et Beard, C. B. (1997). Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates : evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerging Infectious Diseases* 3, 567-73.
- Perryman, L. E. et Bjorneby, J. M. (1991). Immunotherapy of cryptosporidiosis in immunodeficient animal models. *The journal of Protozoology* 38, 98S-100S.

- Perz, J. F. et Le Blancq, S. M. (2001). *Cryptosporidium parvum* infection involving novel genotypes in wildlife from lower New York State. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 1154-62.
- Petry, F., Shirley, M. W., Miles, M. A. et McDonald, V. (1998). Characterisation of a *Cryptosporidium parvum*-specific cDNA clone and detection of parasite DNA in mucosal scrapings of infected mice. *Molecular and Biochemical Parasitology* 95, 21-31.
- Polack, B., Chermette, R., Savey, M. et Bussieras, J. (1983). Les cryptosporidioses en France : Techniques usuelles d'identification et résultats préliminaires d'enquêtes épidémiologiques. *Point Vétérinaire* 15, 41-6.
- Pozio, E., Rezza, G., Boschini, A., Pezzotti, P., Tamburrini, A., Rossi, P., Di Fine, M., Smacchia, C., Schiesari, A., Gattei, E., Zucconi, R. et Ballarini, P. (1997). Clinical cryptosporidiosis and human immunodeficiency virus (HIV)-induced immunosuppression: findings from a longitudinal study of HIV-positive and HIV-negative former injection drug users. *Journal of Infectious Diseases* 176, 969-75.
- Quilez, J., Sanchez-Acedo, C., Clavel, A., del Cacho, E. et Lopez-Bernad, F. (1996). Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary parasitology* 67, 83-8.
- Quiroz, E. S., Bern, C., MacArthur, J. R., Xiao, L., Fletcher, M., Arrowood, M. J., Shay, D. K., Levy, M. E., Glass, R. I. et Lal, A. (2000). An outbreak of cryptosporidiosis linked to a foodhandler. *Journal of Infectious Diseases* 181, 695-700.
- Ramisse, J., Lepareur, F., Poudalet, M., Brebion, M. et Moinet, I. (1984). Mise en évidence de rotavirus et de cryptosporidies dans les diarrhées des jeunes agneaux. *Point Vétérinaire* 16, 73-5.
- Ravn, P., Lundgren, J. D., Kjaeldgaard, P., Holten-Anderson, W., Hojlyng, N., Nielsen, J. O. et Gaub, J. (1991). Nosocomial outbreak of cryptosporidiosis in AIDS patients. *British medical journal* 302, 277-80.
- Regli, S., Amirtharajah, A., Borup, B., Hibler, C., Hoff, T. et Tobin, R. (1988). Panel discussion on implication of regulatory changes for water treatment in the United States. In *Advances in Giardia Research* (Wallace, P. a. H., BR, ed.). University of Calgary Press, Calgary, Canada.
- Rennecker, J. L., Marinas, B. J., Owens, J. H. et Rice, E. W. (1999). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone. *Water Research* 33, 2481-2488.
- Robertson, L. J., Campbell, A. T. et Smith, H. V. (1992). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 3494-500.
- Robertson, L. J. et Gjerde, B. (2001). Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. *Journal of Food Protection* 64, 1793-8.
- Rochelle, P. A. et De Leon, R. (2001a). A review of methods for assessing the infectivity of *Cryptosporidium parvum* using in vitro cell cultures. In *Cryptosporidium, the analytical challenge* (Smith, M. et Thompson, K. C., eds.) Royal Society of Chemistry, Cambridge p. 88-95..
- Rochelle, P. A., Ferguson, D. M., Johnson, A. M. et De Leon, R. (2001b). Quantitation of *Cryptosporidium parvum* infection in cell culture using a colorimetric *in situ* hybridization assay. *The Journal of eukaryotic microbiology* 48, 565-74.

- Rochelle, P. A., Ferguson, D. M., Handojo, T. J., De Leon, R., Stewart, M. H. et Wolfe, R. L. (1997). An assay combining cell culture with reverse transcriptase PCR to detect and determine the infectivity of waterborne *Cryptosporidium parvum*. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 2029-37.
- Rogers, J. et Keevil, C. W. (1995). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in aquatic biofilm. In *Protozoal parasites in water* (Thompson, C. et Fricker, C., eds.) Royal society of chemistry, London p. 209.
- Romanova, T. V., Shkarin, V. V. et Khazenson, L. B. (1992). [Group cryptosporidiosis morbidity in children]. *Meditsinskaia parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 50-2.
- Rose, J. B., Gerba, C. P. et Jakubowski, W. (1991). Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Environmental Science Technology* 25, 1393-1400.
- Rose, J. B. et Slifko, T. R. (1999). *Giardia*, *Cryptosporidium*, and *Cyclospora* and their impact on foods : a review. *Journal of Food Protection* 62, 1059-70.
- Ruffell, K. M., Rennecker, J. L. et Marinas, B. J. (2000). Inactivation Kinetics of *Cryptosporidium parvum* oocysts with chlorine dioxide. *Water Research* 34, 868-876.
- Sischo, W. M., Atwill, E. R., Lanyon, L. E. et George, J. (2000). Cryptosporidia on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. *Preventive Veterinary Medicine* 43, 253-67.
- Skeels, M. R., Sokolow, R., Hubbard, C. V., Andrus, J. K. et Baisch, J. (1990). *Cryptosporidium* infection in Oregon public health clinic patients 1985-88 : the value of statewide laboratory surveillance. *American Journal of Public Health* 80, 305-8.
- Smith, H. V. et Rose, J. B. (1998). Waterborne cryptosporidiosis : current status. *Parasitology Today* 14, 14-22.
- Stehr-Green, J. K., McCaig, L., Remsen, H. M., Rains, C. S., Fox, M. et Juranek, D. D. (1987). Shedding of oocysts in immunocompetent individuals infected with *Cryptosporidium*. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 36, 338-42.
- Sterling, C. R., Seegar, K. et Sinclair, N. A. (1986). *Cryptosporidium* as a causative agent of traveler's diarrhea [letter]. *Journal of Infectious Diseases* 153, 380-1.
- Sulaiman, I. M., Lal, A. et Xiao, L. (2001). A population genetic study of the *Cryptosporidium parvum* human genotype parasites. *The Journal of eukaryotic microbiology* Suppl, 24S - 27S.
- Sykora, J. L., Sorber, C. A., Jakubowski, W., Casson, L. W., Gavaghan, P. D., Shapiro, M. A. et Schott, M. J. (1991). Distribution of *Giardia* cysts in wastewater. *Water science technology* 24, 187-192.
- Taghi-Kilani, R., Sekla, L. et Hayglass, K. T. (1990). The role of humoral immunity in *Cryptosporidium spp.* infection. Studies with B cell-depleted mice. *Journal of Immunology* 145, 1571-6.
- Tamburrini, A. et Pozio, E. (1999). Long-term survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and in experimentally infected mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *International Journal for Parasitology* 29, 711-5.
- Theodos, C. M., Sullivan, K. L., Griffiths, J. K. et Tzipori, S. (1997). Profiles of healing and nonhealing *Cryptosporidium parvum* infection in C57BL/6 mice with functional B and T lymphocytes: the extent of gamma interferon modulation determines the outcome of infection. *Infection and Immunity* 65, 4761-9.

- Thurston-Enriquez, J. A., Watt, P., Dowd, S. E., Enriquez, R., Pepper, I. L. et Gerba, C. P. (2002). Detection of protozoan parasites and microsporidia in irrigation waters used for crop production. *Journal of Food Protection* 65, 378-82.
- Tzipori, S., Smith, M., Birch, C., Barnes, G. et Bishop, R. (1983). Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 32, 931-4.
- Ungar, B. L., Kao, T. C., Burriss, J. A. et Finkelman, F. D. (1991). *Cryptosporidium* infection in an adult mouse model. Independent roles for IFN-gamma and CD4+ T lymphocytes in protective immunity. *The Journal of immunology* 147, 1014-22.
- Vakil, N. B., Schwartz, S. M., Buggy, B. P., Brummitt, C. F., Kherallah, M., Letzer, D. M., Gilson, I. H. et Jones, P. G. (1996). Biliary cryptosporidiosis in HIV-infected people after the waterborne outbreak of cryptosporidiosis in Milwaukee. *The New England journal of medicine* 334, 19-23.
- Van Asperen, I. A., Mank, T., Medema, G. J., Stijnen, C., de Boer, A. S., Groot, J. F., Ten Ham, P., Sluiter, J. F. et Borgdorff, M. W. (1996). Une épidémie de cryptosporidiose aux Pays-Bas. *Euro-surveillance* 1.
- Vose, D. (2000). *Risk Analysis, A quantitative guide*. 2nd edit, Wiley and Sons, Chichester.
- Walker, M. J., Montemagno, C. D. et Jenkins, M. B. (1998). Source water assessment and nonpoint sources of acutely toxic contaminants : a review of research related to survival and transport of *C. parvum*. *Water Resources research* 34, 3383-92.
- Wheeler, J. G., Sethi, D., Cowden, J. M., Wall, P. G., Rodrigues, L. C., Tompkins, D. S., Hudson, M. J. et Roderick, P. J. (1999). Study of infectious intestinal disease in England : rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. *British Medical Journal* 318, 1046-50.
- WHO. (1984). Cryptosporidiosis surveillance. *Weekly Epidemiological Record - WHO* 59, 72-73.
- Widmer, G., Tzipori, S., Fichtenbaum, C. J. et Griffiths, J. K. (1998). Genotypic and phenotypic characterization of *Cryptosporidium parvum* isolates from people with AIDS. *The Journal of infectious diseases* 178, 834-40.
- Wieler, L. H., Ilieff, A., Herbst, W., Bauer, C., Vieler, E., Bauerfeind, R., Failing, K., Klos, H., Wengert, D., Baljer, G. et Zahner, H. (2001). Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 48, 151-9.
- Xiao, L. et Herd, R. P. (1994). Review of equine *Cryptosporidium* infection. *Equine Veterinary Journal* 26, 9-13.
- Yang, S., Benson, S. K., Du, C. et Healey, M. C. (2000). Infection of immunosuppressed C57BL/6N adult mice with a single oocyst of *Cryptosporidium parvum*. *The Journal of parasitology* 86, 884-7.
- Zu, S. X., Li, J. F., Barrett, L. J., Fayer, R., Shu, S. Y., McAuliffe, J. F., Roche, J. K. et Guerrant, R. L. (1994). Seroepidemiologic study of *Cryptosporidium* infection in children from rural communities of Anhui, China and Fortaleza, Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 51, 1-10.

**Rapport sur les « Infections à protozoaires liées
aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique
des risques associés à *Cryptosporidium sp.* »**

ANNEXES

Annexe 1: Décisions de création du groupe de travail : 2001-40, 2001-53 et 2002-37

**Décision n°2001-40
relative au groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau »**

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.794-23 ;

Vu le décret n°99-242 du 26 mars 1999 relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Vu l'arrêté du 30 août 2000 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

DECIDE :

Article premier. Il est créé, sur proposition du comité d'experts spécialisé Microbiologie, lors de la réunion du 10 janvier 2001, un groupe de travail dénommé « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau », chargé d'identifier et d'explorer différents axes (outils de diagnostic, faisabilité d'une analyse de risques, pathogénicité en fonction de l'hôte et de l'environnement, épidémiologie, implication en Santé Publique...).

Article 2. Le groupe de travail mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

- Membres du comité d'experts spécialisé Microbiologie :

M. DEROUIN
M. MOLINA

Membres du comité d'experts spécialisé Eaux :

M. HARTEMANN
M. MONTIEL

- Membres du comité d'experts spécialisé Santé Animale :

M. CHERMETTE

- Autres experts :

M. BONNIN (CHU-Dijon)
M. BRASSEUR (CHU-Rouen)
M. CHARTIER (Afssa-Niort)
M. DEI-CAS (IP-Lille)
Mme NACIRI (INRA-Tours)
Mme VAILLANT (InVS)
M. VILAGINES (CRCEP)
M. ZMIROU (InVS)

Article 3. M. DEROUIN est nommé président du groupe de travail mentionné à l'article premier.

Article 4. Un premier état d'avancement des travaux du groupe mentionné à l'article premier sera établi dans un délai de six mois auprès du CES Microbiologie et du CES Eaux.

Article 5. Le secrétariat du groupe de travail mentionné à l'article premier est assuré par la direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires.

Fait à Maisons-Alfort le 22 janvier 2001

**Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments**

Martin HIRSCH

Décision n° 2001 - 253
relative au groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau »

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.794-23 ;

Vu le décret n°99-242 du 26 mars 1999 relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 30 août 2000 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

DECIDE :

Article premier. La composition du groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » institué par la décision n° 2001-40 du 22 janvier 2001 est modifiée :

-en ajoutant parmi ses membres :

M. DUGUET Jean Pierre (SAGEP)

-en ôtant de la liste de ses membres :

M. ZMIROU (InVS), démissionnaire.

Fait à Maisons-Alfort, le 22 juin 2001

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments

Martin HIRSCH

Décision n° 2002 - 37
relative au groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau »

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.794-23 ;

Vu le décret n°99-242 du 26 mars 1999 relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 30 août 2000 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

DECIDE :

Article premier. La composition du groupe de travail « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » institué par la décision n° 2001-40 du 22 janvier 2001 est modifiée :

-en ajoutant parmi ses membres :
M. BEAUDEAU Pascal (InVS)

Fait à Maisons-Alfort, le 23 janvier 2002

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments

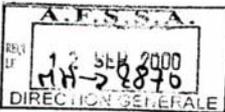
Martin HIRSCH

Annexe 2 : Saisine 2000-SA-0023 de la DGS relative à la demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium* et Avis de l'Afssa en date du 7 février 2002

 **MINISTÈRE DE L'EMPLOI
ET DE LA SOLIDARITÉ**

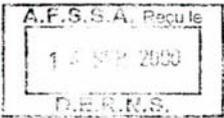
REPUBLIQUE FRANÇAISE
PARIS, **07 SEP. 2000**

DIRECTION GÉNÉRALE DE LA SANTÉ
Sous-direction de la gestion des risques des milieux
Bureau des eaux et aliments
DGS/SD7a **72**
Affaire suivie par Linda NOURRY



NOTE
pour Monsieur le Directeur général
de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

*→ DERNIS
Saisine
à l'Agence
Ni à l'AFSSA
MM
13/4*



OBJET : *Cryptosporidium* dans les moules.

La Direction départementale des affaires sanitaires et sociales de Seine-Maritime (D.D.A.S.S. 76) a informé la Direction générale de la santé d'une étude réalisée par le professeur Brasseur concernant la recherche de *Cryptosporidium* dans les moules.

Les prélèvements ont été effectués par le service santé-environnement de la D.D.A.S.S. 76 sur 3 sites différents (Penly, Yport et Le Tréport), où les pêches à pied de loisirs et semi-professionnelle sont pratiquées. Les résultats montrent que 81,5 % des échantillons sont parasités, de surcroît que les oocystes de *C. parvum* sont infestants.

De nombreuses études ont été réalisées pour évaluer le risque lié à *Cryptosporidium* dans l'eau potable, mais les connaissances sur le risque lié à l'ingestion de coquillages parasités sont quasiment inexistantes. Des études américaines ont néanmoins montré que les coquillages, les huîtres notamment, concentraient les oocystes de *C. parvum* et que ceux-ci pouvaient encore être infectieux après une semaine de présence dans l'huître¹. En France, il n'existe pas de normes réglementaires pour ce protozoaire dans les coquillages, il n'est donc pas recherché ou très peu par les services de contrôle.

par le Conseil scientifique de l'AFSSA en décembre 1999, l'AFSSA doit notamment évaluer le risque par ingestion d'aliments contaminés par *Cryptosporidium*. Je souhaiterais que l'Agence évalue plus particulièrement les risques sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium*, en prenant en compte l'étude réalisée par le Professeur Brasseur.

Vous trouverez, ci-joint, la lettre de la D.D.A.S.S. 76, le rapport du professeur Brasseur, ainsi que l'article cité dans cette note.


Christine d'AUTUME



Maisons-Alfort, le 7 février 2002

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif
à la demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de
coquillages contaminés par *Cryptosporidium***
(saisine 2000 – SA – 0223)

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie le 7 septembre 2000, par la direction générale de la santé, d'une demande d'avis relative à l'évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium*.

Saisine n° 2000-SA-0223

Après consultation du comité d'experts spécialisé « Microbiologie », réuni le 5 décembre 2000, l'Afssa a rendu l'avis suivant.

- Considérant que le parasite *Cryptosporidium parvum* est responsable de parasitose intestinale qui affecte de nombreux mammifères, dont l'homme, et dont l'expression clinique se manifeste sous forme de troubles digestifs plus ou moins marqués selon le statut immunitaire du patient ; que les concentrations d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* retrouvées dans les moules issues des zones étudiées sont supérieures à la dose infectante pour l'homme immunocompétent et a fortiori pour les sujets immunodéprimés ;
- Considérant que le génotype II de *Cryptosporidium parvum*, identifié dans les moules étudiées, est infectant pour l'homme ;
- Considérant que les moules, de par leur capacité de filtration, sont aptes à concentrer, plus que les autres coquillages, les oocystes de *Cryptosporidium parvum* ; qu'en conséquence il ne paraît pas possible d'extrapoler les conclusions de l'étude présentée à l'ensemble des coquillages ;
- Considérant que cette étude concernant la contamination des moules par *Cryptosporidium parvum* est à ce jour la seule menée sur ce thème en France ; qu'aucune donnée n'est, par ailleurs, disponible pour les coquillages autre que les moules ;
- Considérant que le degré de contamination (nombre d'oocystes par coquillage) et la capacité de purification sont encore très mal connus ;
- Considérant que les informations transmises sur la zone de pêche concernée étaient insuffisantes, notamment pour ce qui concerne l'usage fait de ces coquillages ;
- Considérant que la température à partir de laquelle *Cryptosporidium parvum* perd son infectiosité n'est pas connue avec précision ; qu'en tout état de cause, il reste à démontrer que le mode de cuisson des moules apporte toutes les garanties nécessaires à la perte d'infectiosité de ce parasite ;

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que les moules, contaminées par *Cryptosporidium parvum*, dans les conditions décrites dans le dossier transmis, présentaient un danger pour le consommateur.

Cependant, l'Afssa estime ne pas disposer à ce stade d'informations suffisantes lui permettant de répondre avec précision, à travers une analyse des risques, à la question, plus générale, concernant l'évaluation des risques sanitaires liés à la consommation de coquillages contaminés par *Cryptosporidium*. Elle rappelle qu'elle a entrepris, par auto-saisine, un travail sur l'évaluation des risques liés à la présence de protozoaires, dont les *Cryptosporidium*, dans les aliments et l'eau.

23, avenue du
Général de Gaulle
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 00
Fax 01 49 77 90 05
www.afssa.fr

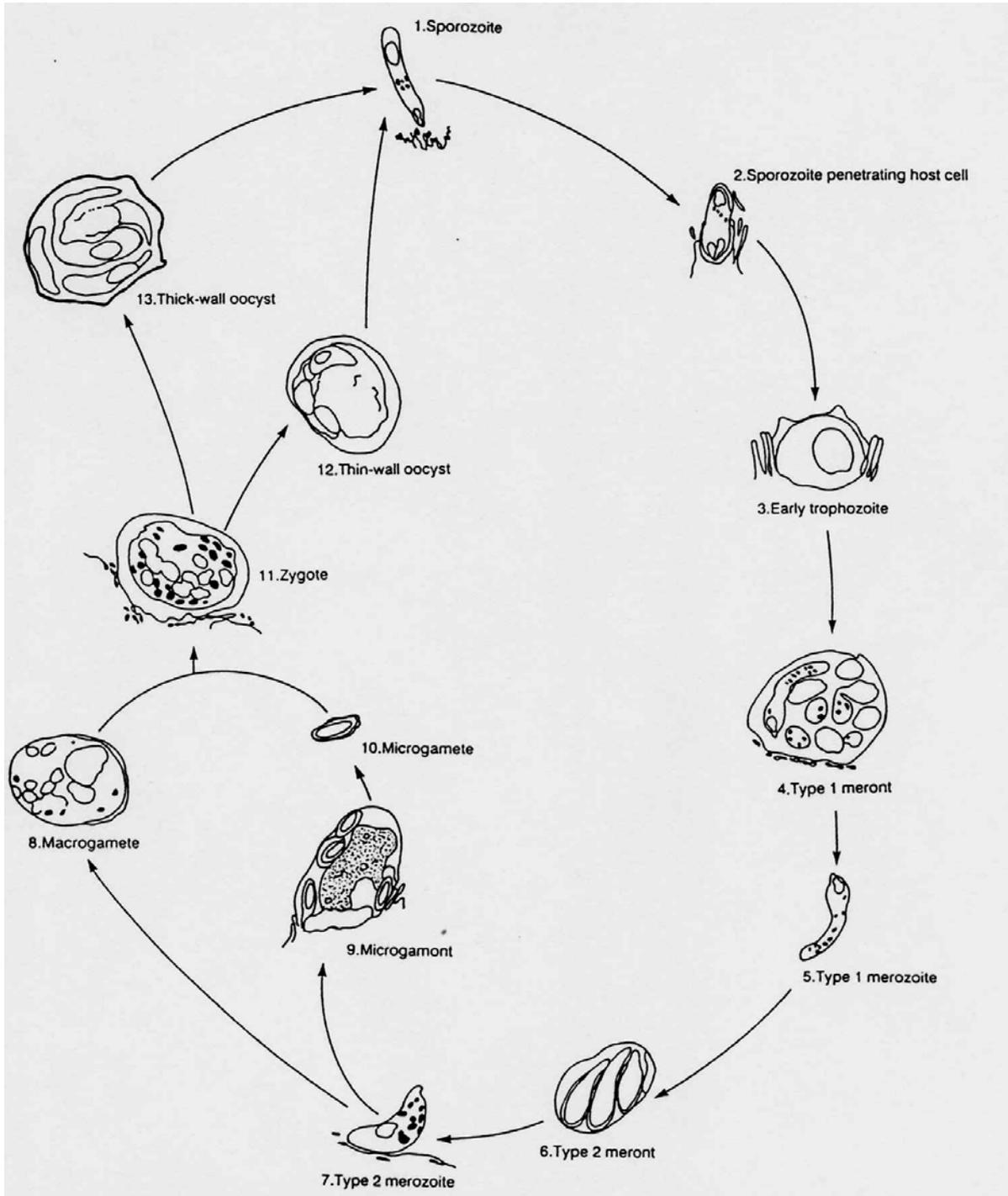
Martin HIRSCH

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

DERNS/Enr.22/Ind.A

Annexe 3 : Cycle de développement de *Cryptosporidium* sp.

(Bonnin A, Dei-Cas E, Camerlynck P. 1992.-In: S. Myint et A. Cann, eds., Chapman et Hall, London, p 143)



Annexe 4 : Fiche de description du danger *Cryptosporidium parvum*

(disponible sur le site de l'Agence : www.afssa.fr)

GT " Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau "	
FICHE DE DESCRIPTION DE DANGER	
SECTION I - AGENT INFECTIEUX	
<i>Nom scientifique:</i> <i>Cryptosporidium</i> spp.	
<i>Nom vernaculaire :</i> Cryptosporidie	
<i>Maladie correspondante</i> Cryptosporidiose	
<i>Caractéristiques</i> C'est un parasite unicellulaire (protozoaire) appartenant à l'ordre des Coccidies, phylum Apicomplexa. Le cycle de multiplication comprend des stades asexués et sexués et se déroule dans la cellule parasitée mais dans une localisation extracytoplasmique. Les différents stades intracellulaires se développent dans la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales, dans des vacuoles parasitophores. Ils peuvent parfois atteindre les épithéliums des voies biliaires ou respiratoires. La multiplication asexuée conduit à la contamination de proche en proche de l'épithélium digestif et à son altération. La multiplication sexuée conduit à la formation d'oocystes matures mesurant de 4,8 µm à 5µm qui sont éliminés dans les selles et sont directement infectants.	
<i>Nota bene:</i> environ 20 espèces de <i>Cryptosporidium</i> ont été décrites mais seulement huit sont généralement reconnues. La principale est <i>C. parvum</i> , avec, à ce jour, huit génotypes identifiés chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages, dont 2 sont infectieux pour l'homme (génotypes I et II). Des cas de contamination humaine ont été rapportés par <i>C. felis</i> (cryptosporidie du chat), <i>C. meleagridis</i> (cryptosporidie des oiseaux) et <i>C. muris</i> (cryptosporidie des rongeurs et des bovins adultes). La fréquence des contaminations par des espèces de cryptosporidies animales ou des génotypes de <i>C. parvum</i> autres que les génotypes I et II est mal connue en raison de la difficulté d'identification des espèces.	
SECTION II - ATTEINTES A LA SANTÉ	
<i>Pathogénicité</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. est considéré comme un entéropathogène fréquent en médecine humaine et vétérinaire. Chez l'homme, la cryptosporidiose est de gravité variable suivant le terrain. Chez le sujet immunocompétent, <i>Cryptosporidium</i> peut provoquer une diarrhée aqueuse, des crampes, des douleurs abdominales, une perte de poids, une anorexie, un ballonnement et un malaise et, dans certains cas, des nausées, des vomissements, de la fièvre et des myalgies. Les symptômes sont spontanément résolutifs (5 jours en moyenne). Chez les patients immunodéprimés, en particulier chez les personnes atteintes de SIDA, ces symptômes peuvent persister durant de longues périodes (diarrhée chronique), croître en intensité et se compliquer d'une atteinte des voies biliaires (cholécystite, cholangite sclérosante), d'une déshydratation sévère et conduire à un état cachectique. Ces complications peuvent être directement la cause de décès. Des localisations pulmonaires ont été signalées chez les malades immunodéprimés. Chez l'animal, <i>Cryptosporidium</i> peut provoquer des diarrhées néonatales graves chez les ruminants.	
<i>Epidémiologie</i> Système de surveillance en France : non Système de surveillance en Europe : non Système de surveillance aux USA : Food Net Statut épidémiologique C'est une parasitose cosmopolite, observée sous forme sporadique ou épidémique. Les taux d'infection varient entre 0,6 et 2 % dans les pays industrialisés et entre 4% et 32 % dans les pays en développement. Des taux plus élevés ont été observés chez des sujets atteints du SIDA et présentant une diarrhée chronique (3% à 20 % aux États-Unis, 50% à 60 % en Afrique et à Haïti). De nombreuses épidémies ont été signalées et rapportées à plusieurs origines: <ul style="list-style-type: none">- contamination de réservoirs d'eau destinée à la consommation humaine (Ex. Milwaukee, 403 000 cas)- contaminations accidentelles de l'eau ou des aliments (jus de pomme).- contamination interhumaine directe : épidémies "familiales", ou de collectivité (crèche).- contamination des eaux récréatives (ex : piscine)- contact direct avec des animaux infectés	
<i>Réservoir parasitaire</i> Pour <i>C. parvum</i> , il s'agit principalement des jeunes bovins, ovins et caprins pour le génotype II, et de l'homme pour le génotype I. Les animaux adultes sont également réservoirs mais les niveaux d'excrétion sont beaucoup plus faibles (portage asymptomatique possible). De nombreux vertébrés sauvages (en particulier cervidés) et domestiques	
FICHE <i>Cryptosporidium parvum</i>	1/4 08 Octobre 2001

GT " Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau "

sont porteurs d'autres génotypes de *C. parvum* et d'autres espèces de *Cryptosporidium*.

Dose infectieuse

La dose infectante 50% (ID50) pour l'adulte immunocompétent varie de moins de 10 à plus de 1000 oocystes en fonction de la souche. Chez l'homme immunodéprimé, l'ID50 n'est pas connue, mais elle est de 1 à 5 oocystes chez l'animal immunodéprimé.

Mode de transmission

L'origine de la contamination est fécale à partir d'un hôte (homme ou animal) infecté. La transmission peut-être directe par l'ingestion d'oocystes par l'intermédiaire des mains sales ou indirecte par ingestion d'eau ou de nourriture contenant des oocystes.

Période d'incubation

De 5 à 11 jours en moyenne suivant les souches (minimum :3 jours, maximum : 22 jours)

Transmissibilité

Les oocystes éliminés dans les selles sont immédiatement et directement infectants. Ils sont émis dans les selles dès l'apparition des premiers symptômes et persistent pendant plusieurs semaines après la disparition des symptômes (infection subclinique).

SECTION III - DISSÉMINATION

Agents de dissémination

Dissémination active par les animaux et l'homme infecté. Dissémination passive par l'eau, les oiseaux, les coquillages filtrants, les insectes (mouches) et contamination indirecte des aliments par l'eau d'arrosage, le matériel d'élevage (blouses, bottes).

Zoonose

Oui : ovins, bovins et caprins pour le génotype II de *C. parvum*, mammifères domestiques, sauvages et oiseaux pour les autres espèces et génotypes.

Vecteurs

Aucun identifié

Surveillance des aliments

Système de surveillance en France : non

Système de surveillance en Europe : Oui, en Angleterre, limité à la surveillance de l'eau, depuis 1999 (consultable sur: <http://www.detr.gov.uk/dwi/regs/infolett/current.htm> et <http://www.detr.gov.uk/dwi/regs/infolett/1999/info1099.htm>).

Système de surveillance aux USA : non

SECTION IV - VIABILITÉ

Sensibilité aux médicaments (antibiotiques, antiparasitaires etc.)

Aucun médicament ne permet d'éradiquer le parasite. Certains médicaments semblent pouvoir réduire la charge parasitaire. Chez l'homme : paromomycine, clarithromycine, azithromycine, nitazoxanide. Chez l'animal : halofuginone (Halocur ®, AMM en 1999), paromomycine et décoquinat.

Sensibilité aux désinfectants

Résiste à la majorité des désinfectants dont l'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel du commerce), les iodophores, le formaldéhyde à 5 %. Seule l'exposition prolongée à des concentrations élevées de dioxyde de chlore ou de monochloramine permettent une inactivation de plus de 90% des oocystes. Sensible à l'ammoniac gazeux 5-50% (OOcide®, désinfectant d'élevage..), le formol 10% , l'H₂O₂ à 3%. Les oocystes (<10⁴/ml) perdent leur infectivité à la suite d'une exposition à l'ozone (1,11 mg/l pendant 6 minutes) ou une exposition prolongée (150 min) aux ultra-violets.

Inactivation par des moyens physiques

Les oocystes sont détruits ou perdent leur infectivité à la suite d'un traitement par la chaleur: 1 minute à 72°C, ou 5 minutes à 64°C ou par pasteurisation 5 secondes à 71,7°C. La congélation à -20°C inactive 80% des oocystes en 5 jours. La dessiccation entraîne une perte complète de viabilité

Viabilité et infectivité dans l'environnement

Les oocystes de *Cryptosporidium* peuvent rester viables et infectieux dans l'eau et dans les fèces animales pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0 et 30°C et jusqu'à un an dans de l'eau de mer. Ils ne peuvent pas se multiplier dans l'environnement.

GT " Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau "

SECTION V - ASPECTS MÉDICAUX

Diagnostic

Le diagnostic de certitude est obtenu par la mise en évidence d'oocystes par l'examen microscopique dans des frottis fécaux, liquide biliaire ou duodénal après coloration par le Ziehl Nielsen modifié (ZNM) ou un marquage par un anticorps monoclonal fluorescent. Une recherche histologique peut être réalisée sur biopsie duodénale ou des voies biliaires.

Ce diagnostic n'est pas réalisé en pratique courante en cas de diarrhée, sauf chez les patients atteints de SIDA ou dans un contexte épidémique.

Premiers soins et traitement

A court terme, le traitement des malades atteints de cryptosporidiose est avant tout symptomatique (anti-diarrhéique, réhydratation). A plus long terme, le traitement le plus efficace chez les malades immunodéprimés est la reconstitution immunitaire.

Immunisation naturelle

Aucune donnée disponible chez l'homme. Chez l'animal, les mères infectées produisent des anticorps en quantité insuffisante pour protéger le jeune. Le transfert passif d'immunité est possible via des colostrums hyperimmuns.

Vaccination

Aucune (essais en cours en médecine vétérinaire)

Prophylaxie

Aucune prophylaxie spécifique n'est recommandée en dehors des recommandations habituelles de prévention des infections à dissémination fécale (règles d'hygiène de base, lavage soigneux des mains). Ces recommandations s'appliquent particulièrement aux personnes étant en contact avec des sujets ou des animaux contaminés ou potentiellement contaminés (personnel médical et paramédical, éleveurs, vétérinaires), en particulier si elles sont immunodéprimées.

SECTION VI - DANGERS POUR LE PERSONNEL DE LABORATOIRE ET MODALITES DE LA PREVENTION

Infections liées ou acquises au laboratoire.

Risques professionnels

Mal évaluée. Un cas dû à une inoculation accidentelle de laboratoire a été signalé en 1983.

Professions exposées : toutes celles conduisant à un contact avec des animaux potentiellement infectés: éleveurs, vétérinaires, personnels des abattoirs

Sources et échantillons

Fèces et contenu digestif principalement

Dangers primaires

Ingestion accidentelle d'oocystes.

Dangers particuliers

Animaux infectés naturellement ou expérimentalement représentent un danger pour le personnel de laboratoire et les préposés aux soins des animaux

Classe de Confinement

Classe de l'agent

Classe 2

Précautions particulières

D'ordre général

Laboratoire de niveau de protection P2

Déversements accidentels

Laisser retomber les aérosols; endosser des vêtements protecteurs, couvrir soigneusement la substance déversée avec une serviette de papier absorbant et appliquer du formol à 10 %, de la périphérie vers le centre; laisser agir pendant une période suffisante (environ 20 minutes) avant de procéder au nettoyage

Elimination

Conformité aux pratiques du niveau 2

Entreposage

Dans des contenants scellés étiquetés de façon appropriée

SECTION VII - RECHERCHE DANS L'ENVIRONNEMENT ET LES ALIMENTS.

Techniques

Concentration par flottation, ou mieux par immunocapture sur billes magnétiques (IMS) puis recherche microscopique après marquage en immunofluorescence avec un anticorps monoclonal (norme AFNOR en cours pour la recherche dans l'eau: NF T 90-455).

PCR (expérimental et pratiquée en routine par quelques laboratoires)

Eau:

Les concentrations habituellement retrouvées varient de :

1 à >100 oocystes/litre dans les eaux usées.

0,001 à >100 oocystes par litre dans les eaux de surface

0,001 à 0,9 oocyste par litre dans les eaux de forage

0,001 à 0,7 oocyste par litre dans les eaux de forage destinées à la consommation

3/4

GT " Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau "

(par comparaison, la législation anglaise exige une concentration <0,1 oocyste par litre dans l'eau destinée à la consommation)

Aliments:

La contamination des aliments par *C. parvum* est mal évaluée en raison des difficultés d'application des techniques de recherche des oocystes sur les aliments. Elle est occasionnellement démontrée dans les coquillages (moules, huîtres, praires, clams) provenant de zone de pêche non surveillées.

SECTION VIII - MODELES D'ETUDE EXPERIMENTAUX.

In vitro:

Culture possible sur cellules digestives (type Caco-2): reproduction du cycle mais entretien et propagation limités des parasites.

In vivo

Modèle d'infection sur souriceau nouveau-né (utilisé pour l'évaluation de l'infectivité) et sur rat cortisoné (tests pharmacologiques)

Evaluation de la viabilité

Colorations vitales (DAPI), test de dékystation

SECTION IX – SITES INTERNET - REGLEMENTATION

Sites internet

- **Cryptosporidium/Coccidial Research** (Division of Biology Kansas State University):
<http://www.ksu.edu/parasitology/>
- **Cryptosporidiosis Information** : page du "National Center for Infectious Diseases" (Etats-Unis):
<http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/cryptocrypto.htm>
- **Cryptosporidium & parasitology links** :
<http://www.ksu.edu/parasitology/links>
- **Cryptosporidium parvum: an emerging pathogen** : un article de Greg Hannahs (Kenyon College)
<http://www2.kenyon.edu/depts/biology/slo nc/bio38/hannahs/crypto.htm>

Réglementation

- Angleterre: :
<http://www.detr.gov.uk/dwi/regs/infolett/current.htm>,
<http://www.detr.gov.uk/dwi/regs/infolett/1999/info1099.htm> .
- Australie (discussion et critique de la législation UK):

<http://www.med.monash.edu.au/epidemiology/crc/hs/HSPAST.HTM>

- Australie (journal) :
www.waterquality.crc.org.au

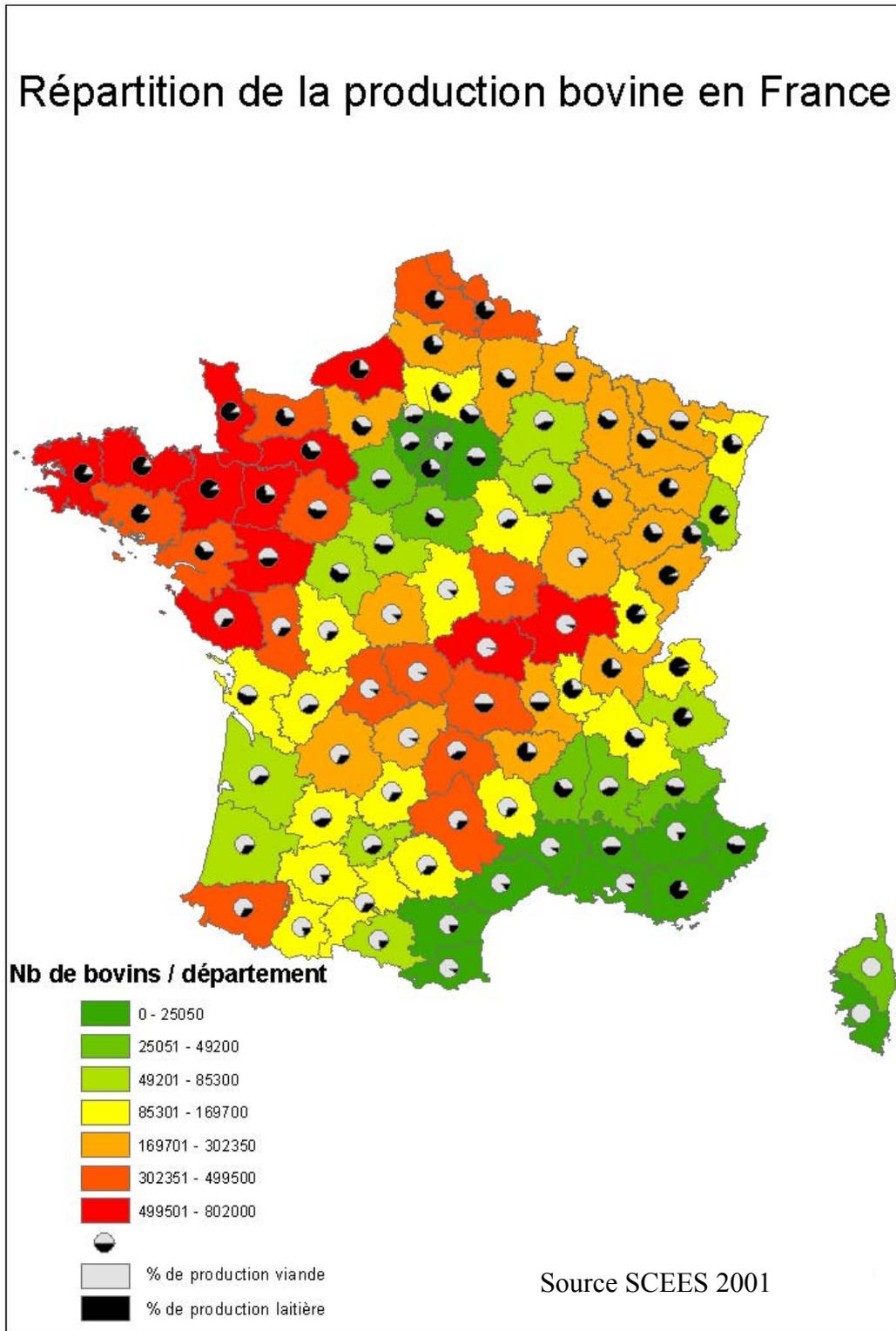
Document élaboré par F. DEROUIN, J.M. MOLINA, M. ELIASIEWICZ, M. NACIRI, R. CHERMETTE, E. DEI CAS, A. BONNIN, P. VILLAGINES

Présenté au groupe " Infection à protozoaires liées aux aliments et à l'eau " le 11 Mai 2001

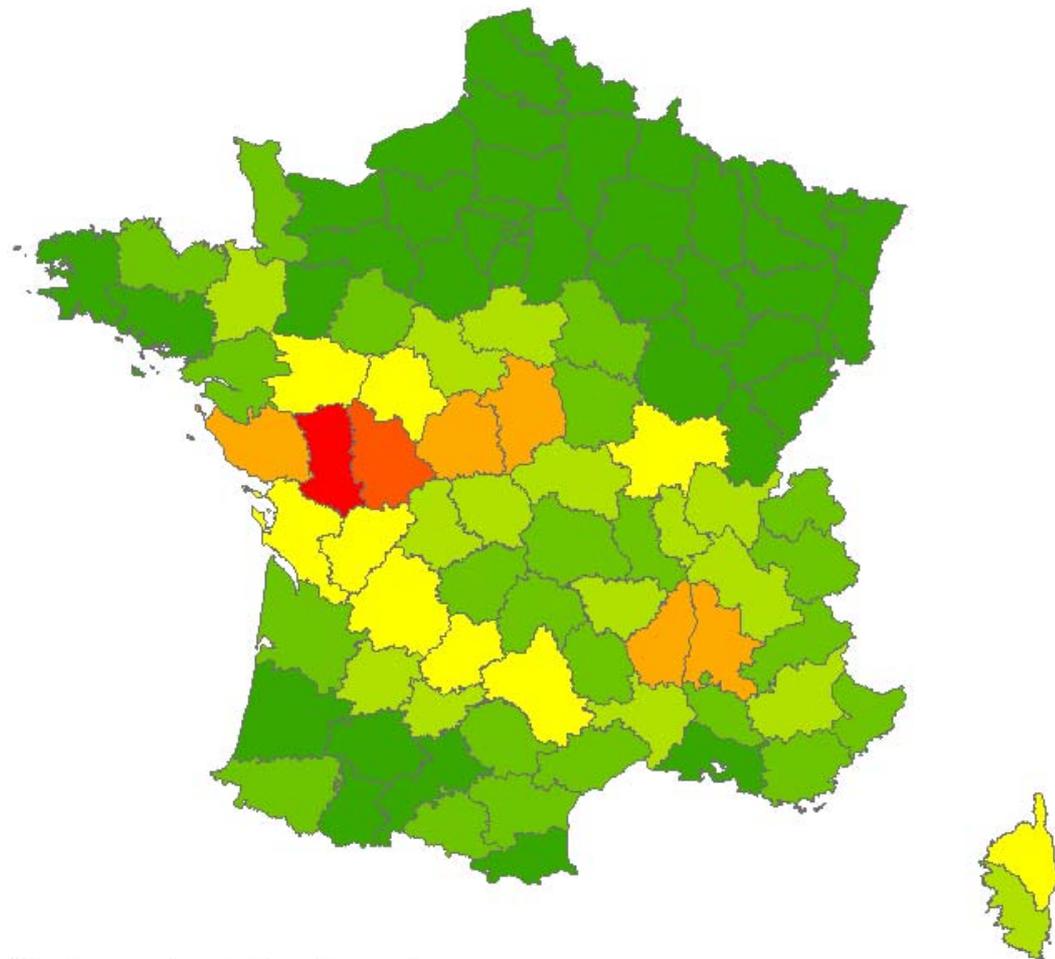
Revu par E. DEI CAS et F. DEROUIN.

Annexe 5 : Cartes de répartition des cheptels bovins, caprins, ovins et porcins en France

(source Service Central des Enquêtes et Etudes Statistiques, L'agriculture, la forêt et les industries agro-alimentaires –2001)



Répartition de la production caprine en France

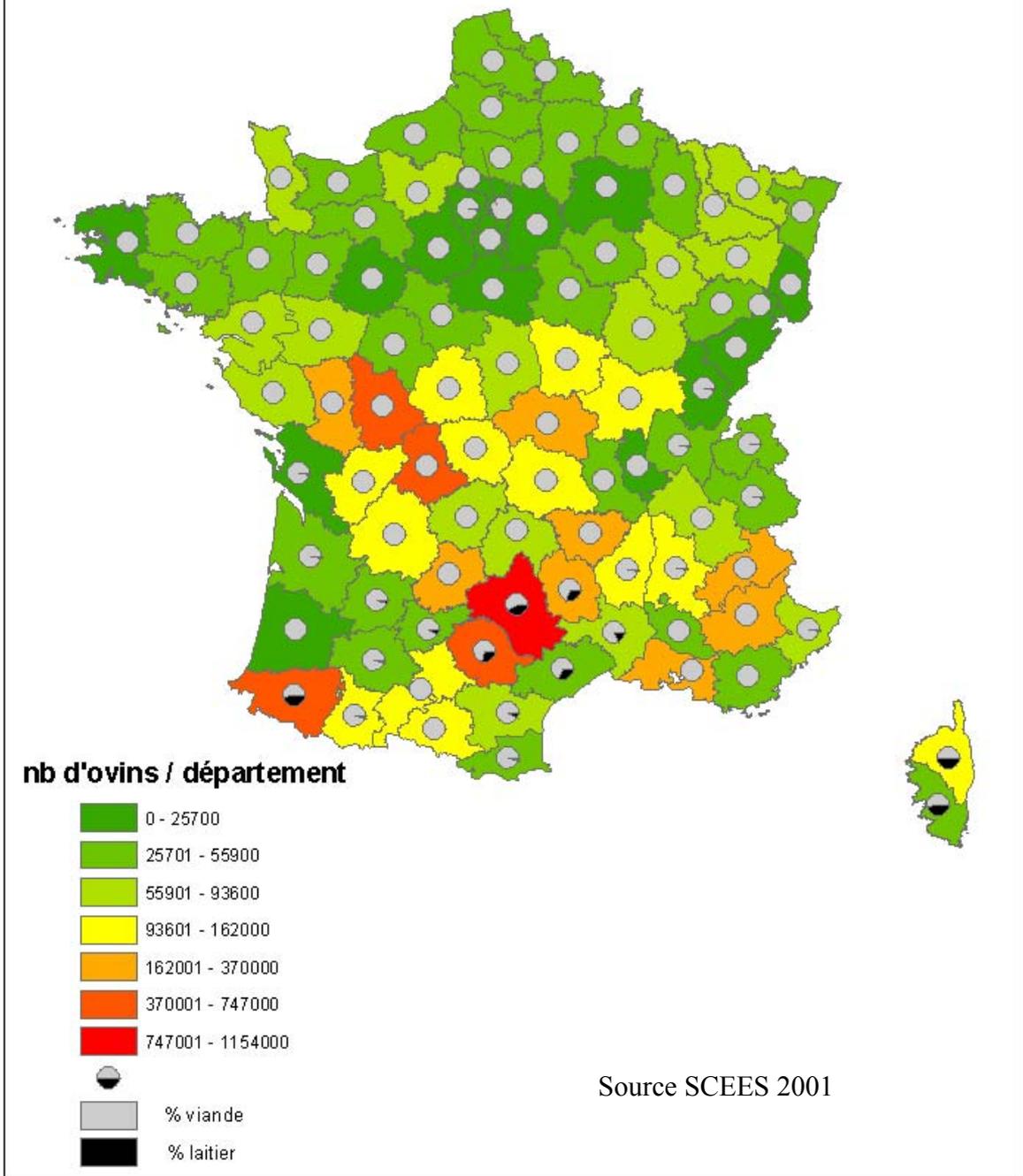


Nb de caprins / département

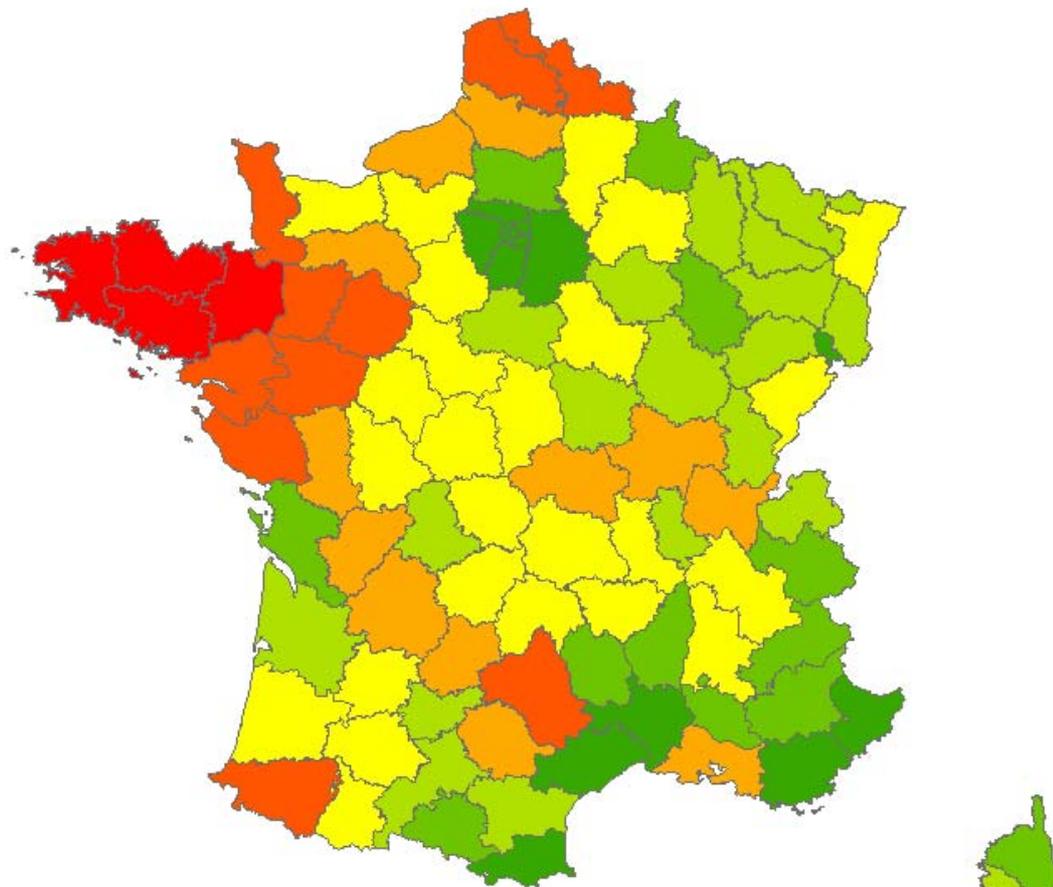


Source SCEES 2001

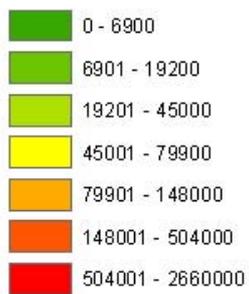
Répartition de la production ovine en France



Répartition de la production porcine en France



nb de porcs / département



Source SCEES 2001

Annexe 6 : « Méthodologie de l'évaluation quantitative du risque »**1. LOI DOSE-REPONSE**

La probabilité pour un individu d'être infecté est clairement liée au nombre de micro-organismes pathogènes ingéré. Dans ce rapport, la loi dose-réponse est la fonction associant la probabilité pour un individu d'être infecté selon la quantité d'oocystes ingérée (la dose, notée D) :

$$\Pr(\text{Infection}|D) = f(D)$$

Plusieurs fonctions dose-réponses ont été proposées. Pour les dangers microbiens, les modèles les plus fréquemment utilisés sont les modèles « exponentiel » et « Bêta-Poisson ». Il a été montré sur les données de Dupont et al. (1995) utilisées dans ce rapport, que le modèle Bêta-Poisson, plus complexe que le modèle exponentiel, ne permettait pas un meilleur ajustement aux données que le modèle exponentiel : selon le principe statistique classique de parcimonie, et en l'absence de données complémentaires sur le processus entraînant ou non l'infection, on utilise donc préférentiellement le modèle exponentiel, plus simple. Nous ne retiendrons et ne développerons donc que ce dernier modèle.

Il existe plusieurs manières de proposer une justification « biologique » du modèle dose-réponse de type exponentiel. Nous préférons la formulation suivante⁴⁹ :

- chaque oocyste ingéré a une probabilité r faible de provoquer une infection. Cette probabilité n'est pas de 1 car il faut que l'oocyste arrive sur le site d'infection, survive aux défenses locales de l'organisme, ... ;
- cette probabilité est identique pour chaque oocyste et chaque individu ;
- cette probabilité ne dépend pas du nombre d'oocystes ingérés. Cette hypothèse suppose l'absence de synergie d'action entre les oocystes ;
- enfin, ce modèle considère que l'infection est effective dès que le nombre d'oocystes « infectant » est supérieur à 0 (pas d'effet seuil).

On aboutit mathématiquement⁵⁰ à la loi dose-réponse (simple) suivante :

$$\Pr(\text{Infection}|D) = 1 - \exp(-r D)$$

Ce modèle ne comporte qu'un seul paramètre r , qu'il est nécessaire d'estimer à partir de données expérimentales.

On notera que r correspond à la probabilité pour un oocyste de provoquer l'infection. On peut également, à partir de ce paramètre évalué la DI_{50} , quantité d'oocystes nécessaires pour que la probabilité d'infection soit de 50%⁵¹ :

$$DI_{50} = -\ln(0.5) / r$$

La figure 1 présente l'ajustement de la loi dose-réponse exponentielle aux données de Dupont *et al.* (1995). On constate visuellement un ajustement correct. Le paramètre estimé est de $r = 0.00419$. La DI_{50} est de 165 oocystes.

Connaissant le paramètre r et acceptant le modèle exponentiel, il est alors possible d'évaluer la probabilité d'infection quelle que soit la dose ingérée.

⁴⁹ différente de celle proposée par Haas, C.n., Rose, J.B., Gerba, C.P., 1999. Quantitative microbial risk assessment. Wiley et Sons, New York, pp. 449..

⁵⁰ si l'on admet toutes ces hypothèses, le nombre d'oocystes provoquant une infection suite à l'ingestion de D oocystes suit une loi Binomiale de paramètre D , le nombre d'oocystes ingérés et r la probabilité pour un oocyste d'entraîner une infection :

$$n \sim \text{Binomiale}(D, r).$$

Comme r est faible et D et grand, on peut utiliser la convergence de la loi Binomiale vers la loi de Poisson, d'où

$$n \sim \text{Poisson}(r D)$$

La probabilité d'obtenir au moins une infection est alors égale à

$$\Pr(\text{Infection}|D) = 1 - \exp(-r D)$$

⁵¹ la DI_{50} correspond à la dose D telle que $\Pr(\text{Infection}|D) = 0.5 = 1 - \exp(-r D)$

Les principales limites de cette méthode sont les suivantes :

- on considère que le paramètre obtenu avec une seule souche et sur un nombre limité d'individus peut être extrapolé à l'ensemble des souches et l'ensemble des individus. Cette hypothèse est extrêmement forte. Un protocole plus complet, réalisé avec plusieurs souches et un grand nombre d'individus, serait nécessaire pour une meilleure intégration de cette relation dose-réponse ;
- on considère que le modèle est encore juste pour des doses inférieures aux doses réellement testées (cf. figure 1). Ainsi, la dose minimale testée était de 30 oocystes, alors que, dans nos modèles d'appréciation du risque, la dose ingérée sera généralement bien plus faible. Rien ne nous permet d'affirmer que le modèle est encore juste à de telles doses. On conçoit qu'un protocole spécifique pour évaluer la probabilité d'infection suite à l'ingestion d'un seul oocyste ne serait guère envisageable, puisqu'il faudrait, avec ce paramètre $r = 0.00419 \dots$ 715 individus pour avoir une bonne chance d'obtenir au moins une infection...

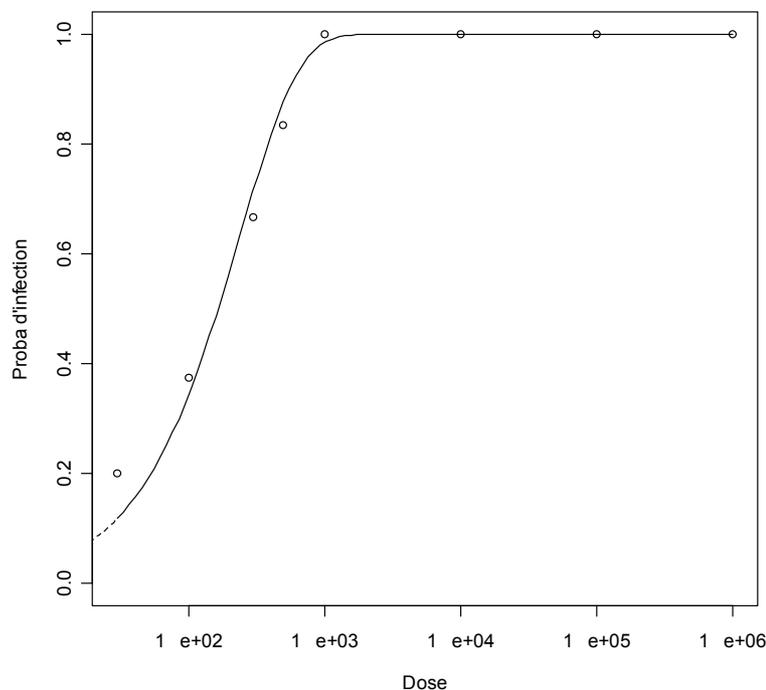


Figure 1 : Ajustement de la loi dose-réponse exponentielle aux données de (DuPont et al., 1995). Les points correspondent aux données expérimentales. L'inférence ne peut être réalisée que dans le domaine d'étude (de 30 à 10^6 oocystes). La courbe en pointillés représente l'extrapolation réalisée à partir de ce modèle pour des contaminations inférieures à 30 oocystes.

2. SIMULATION DE MONTE-CARLO

Beaucoup d'évaluations quantitatives des risques ne proposent qu'une estimation du risque moyen. Ce type d'estimations, dites « estimations ponctuelles de risque », peut généralement être réalisé directement à l'aide de calculs probabilistes (plus ou moins) simples, réalisés à partir d'estimations ponctuelles des différents paramètres du modèle proposé.

Ce genre d'analyse ne prend cependant pas en compte **la variabilité du risque** et **l'incertitude de l'estimation** du risque, ce qui est dommageable (VI-2.-Intérêt de la prise en compte de la variabilité et de l'incertitude).

Le principe de l'analyse probabiliste du risque repose sur l'incorporation dans le modèle non pas d'estimations ponctuelles des différents paramètres, mais **de courbes de distributions des**

différents paramètres reflétant soit la variabilité du paramètre dans la population, soit **l'incertitude autour d'une valeur moyenne** du paramètre. L'incertitude et la variabilité des paramètres sera incorporée et leur influence propagée dans le modèle : la loi de distribution du risque finalement estimée reflétera sa variabilité et l'incertitude quand à son estimation.

Par exemple, une estimation ponctuelle du risque utiliserait la consommation moyenne d'eau dans la population ; pour l'estimation probabiliste, on utilisera la distribution observée de cette consommation, reflétant la variabilité de la consommation d'eau dans la population française.

La figure 2 présente le principe global de l'évaluation probabiliste : à chaque paramètre correspond une loi de distribution. La combinaison mathématique ou probabiliste entre les différents paramètres (dans notre cas, par exemple : consommation d'eau et contamination de l'eau) va aboutir à une nouvelle loi de probabilité, qui soit sera le paramètre final de l'analyse, soit sera elle-même combinée à une autre loi de distribution jusqu'à obtention du paramètre d'intérêt (dans notre cas, le risque d'infection ou de maladie).

Si les différents paramètres ne sont plus des valeurs ponctuelles, mais des distributions de probabilité, les spécifications des distributions de paramètres issues d'une combinaison de distributions peuvent être compliquées. Généralement, les calculs nécessaires à l'obtention de la combinaison de plusieurs lois de probabilités sont impossibles à réaliser.

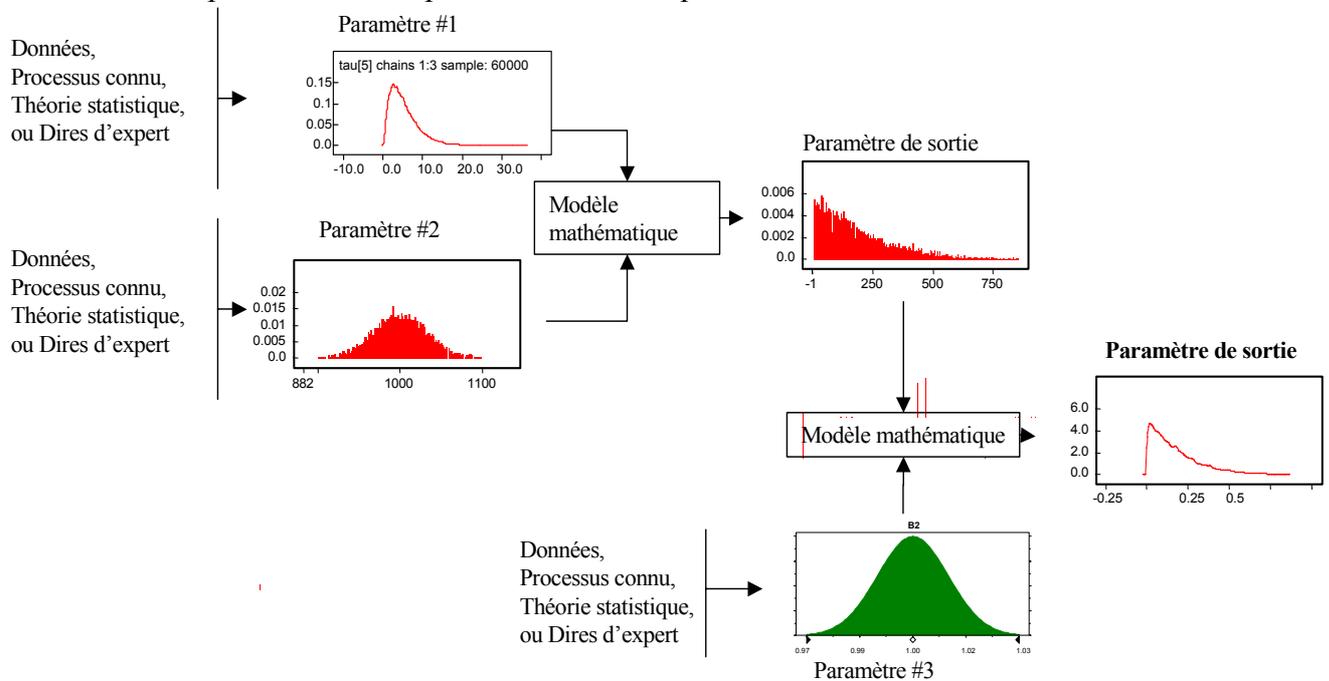


Figure 2 : Schéma général de la démarche de l'appréciation quantitative probabiliste des risques.

La simulation dite de « Monte-Carlo » permet de résoudre ce problème. Son principe est simple. La loi de distribution d'un paramètre (que l'on nommera Y) issu de la combinaison de deux paramètres (que l'on nommera X_1 et X_2) peut être approchée à l'aide de l'algorithme suivant :

- 1) on tire au sort une valeur (que l'on nommera x_1) dans la loi de distribution de X_1 ;
- 2) on tire ensuite au sort une valeur (que l'on nommera x_2) dans la loi de distribution de X_2 ;
- 3) on combine les valeurs x_1 et x_2 pour obtenir une valeur y .

On répète les procédures 1 à 3 un grand nombre de fois. La distribution observée des différentes valeurs de y obtenues tend vers la loi de distribution exacte de Y quand le nombre de répétitions tend vers l'infini.

Exemple : on considère que la contamination moyenne par L. de l'eau λ suit une loi Gamma de paramètre (0.17, 0.0002) (cf. figure 3 a). La consommation quotidienne d'eau c des individus

de la population suit la loi de distribution obtenue à partir des données de la base INCA (cf. figure 3 b). On cherche à connaître le nombre d'oocystes bus *oo*. Le modèle choisi est :

$$oo \sim \text{Poisson}(\lambda c).$$

La procédure de « Monte-Carlo » va procéder comme suit :

- 1° simulation :
 - o tirage au sort d'une valeur de contamination moyenne de l'eau selon la loi Gamma(0.17, 0.0002) : 0.57 oocyste/L.
 - o tirage au sort d'une valeur de consommation d'eau parmi les données de la base INCA : 0.900 L.
 - o tirage au sort du nombre d'oocystes bus, selon une loi de Poisson (0.57×0.900) : 0
 - o stockage de cette valeur
- 2° simulation :
 - o tirage au sort d'une valeur de contamination moyenne de l'eau selon la loi Gamma(0.17, 0.0002) : 1.72 oocystes/L.
 - o tirage au sort d'une valeur de consommation d'eau parmi les données de la base INCA : 0.756 L.
 - o tirage au sort du nombre d'oocystes bus, selon une loi de Poisson (0.57×0.900) : 3
 - o stockage de cette valeur
- et ceci 10 000 fois (par exemple).

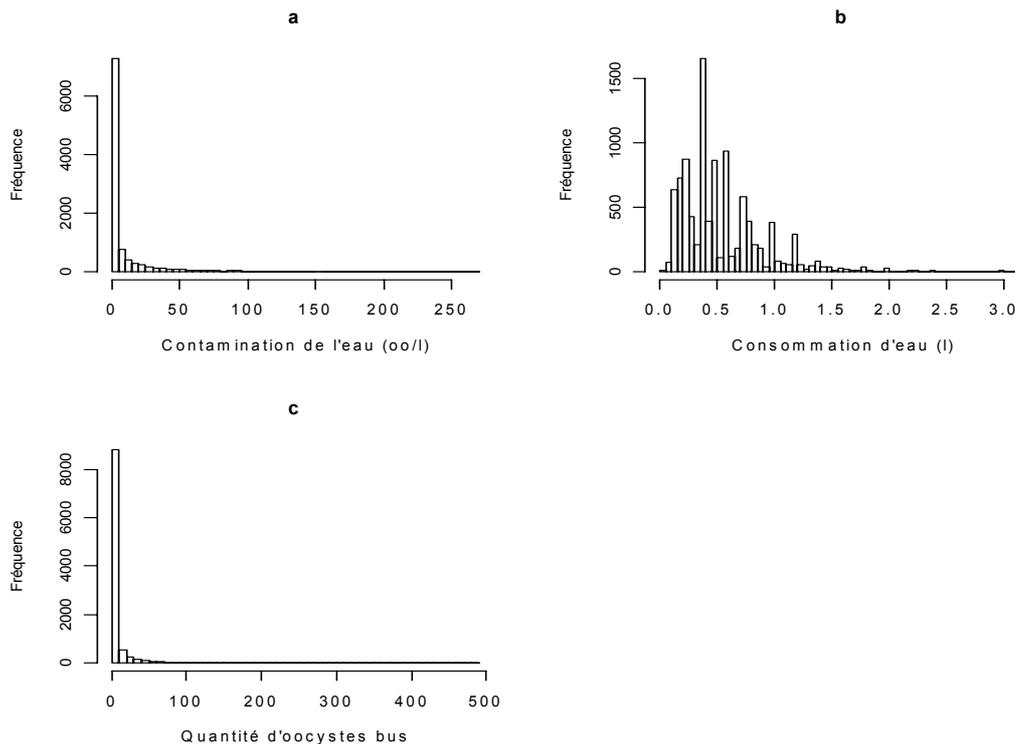


Figure 3 : Exemple de simulation de Monte-Carlo. a) histogramme des valeurs de λ , contamination moyenne de l'eau (oocystes par L.) ; b) histogramme de c , consommation quotidienne d'eau (en L.) ; c) histogramme de *oo* quantité d'oocystes ingérés) (cf. texte).

La figure 3 c) présente la distribution du nombre d'oocystes bus *oo* par les individus, issue des simulations. Cette dernière distribution n'est pas « exacte » car il n'est pas possible de lui donner une forme mathématique simple. Cependant, elle reflète la distribution « réelle » issue du modèle.

Les simulations proposées dans ce rapport sont des modélisations dites de « second-ordre ». Le principe général consiste à réaliser des simulations de « Monte-Carlo » en séparant la simulation des distributions de paramètres correspondant à de l'incertitude de celles correspondant à de la variabilité. Elles permettent de séparer les estimations de la variabilité du risque de celle de l'incertitude des estimations du risque. La présentation de cette procédure dépasse le cadre de cette annexe : le lecteur intéressé pourra se référer à l'ouvrage de Vose (2000).

Dupont, H.L., Chappell, C.L., Sterling, C.R., Okhuysen, P.C., Rose, J.B., Jakubowski, W., 1995. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *N Engl J Med* 332, 855-9.

Haas, C.n., Rose, J.B., Gerba, C.P., 1999. Quantitative microbial risk assessment. Wiley et Sons, New York, pp. 449.

Vose, D., 2000. Risk Analysis, A quantitative guide, 2nd ed. Wiley and Sons, Chichester, pp. 418.