

Difficulté de l'évaluation du risque lié à la présence de protistes parasites pathogènes de l'homme dans l'eau

L. Favennec

CHU C. Nicolle/Université de Rouen

A MASSIVE OUTBREAK IN MILWAUKEE OF CRYPTOSPORIDIUM INFECTION TRANSMITTED THROUGH THE PUBLIC WATER SUPPLY

WILLIAM R. MAC KENZIE, M.D., NEIL J. HOXIE, M.S., MARY E. PROCTOR, PH.D., M.P.H.,
M. STEPHEN GRADUS, PH.D., KATHLEEN A. BLAIR, M.S., R.N., DAN E. PETERSON, M.D., M.P.H.,
JAMES J. KAZMIERCZAK, D.V.M., DAVID G. ADDISS, M.D., M.P.H., KIM R. FOX, P.E.,
JOAN B. ROSE, PH.D., AND JEFFREY P. DAVIS, M.D.

Abstract Background. Early in the spring of 1993 there was a widespread outbreak of acute watery diarrhea among the residents of Milwaukee.

Methods. We investigated the two Milwaukee water-treatment plants, gathered data from clinical laboratories on the results of tests for enteric pathogens, and examined ice made during the time of the outbreak for cryptosporidium oocysts. We surveyed residents with confirmed cryptosporidium infection and a sample of those with acute watery diarrhea consistent with cryptosporidium infection. To estimate the magnitude of the outbreak, we also conducted a survey using randomly selected telephone numbers in Milwaukee and four surrounding counties.

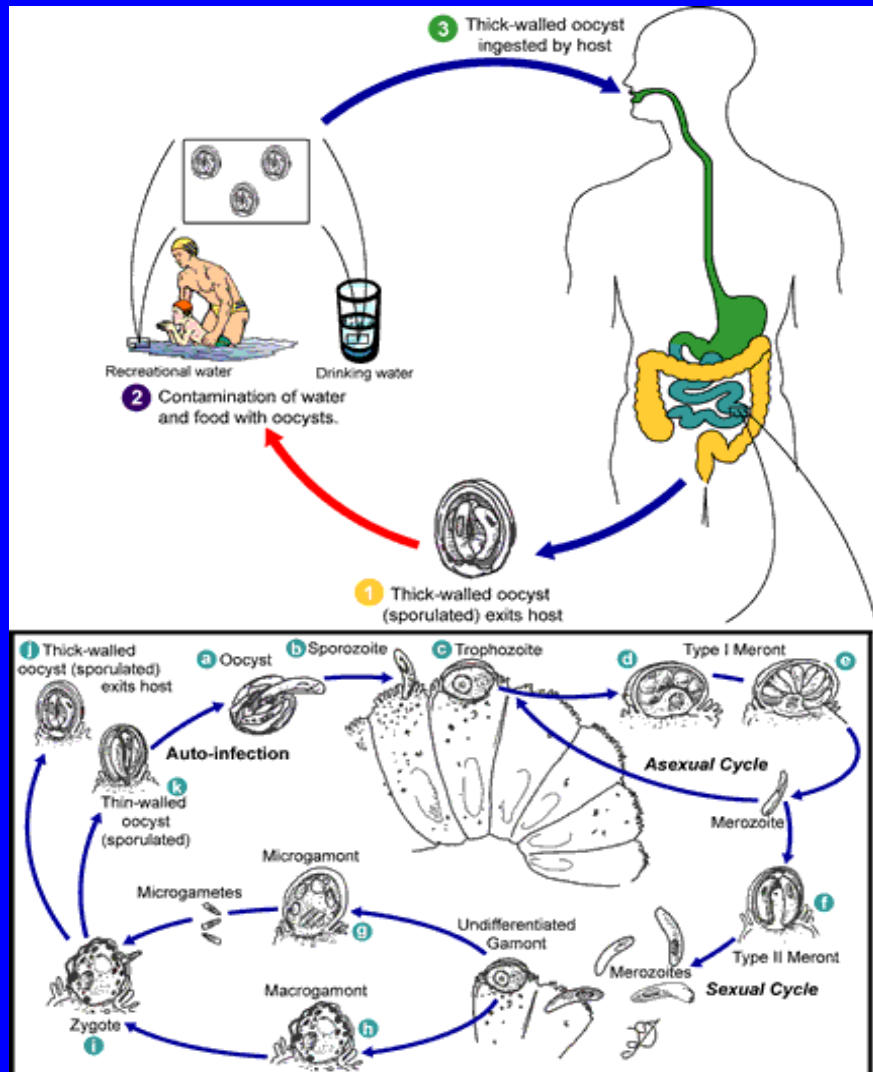
Results. There were marked increases in the turbidity of treated water at the city's southern water-treatment plant from March 23 until April 9, when the plant was shut down. Cryptosporidium oocysts were identified in water

from ice made in southern Milwaukee during these weeks. The rates of isolation of other enteric pathogens remained stable, but there was more than a 100-fold increase in the rate of isolation of cryptosporidium. The median duration of illness was 9 days (range, 1 to 55). The median maximal number of stools per day was 12 (range, 1 to 90). Among 285 people surveyed who had laboratory-confirmed cryptosporidiosis, the clinical manifestations included watery diarrhea (in 93 percent), abdominal cramps (in 84 percent), fever (in 57 percent), and vomiting (in 48 percent). We estimate that 403 000 people had watery diarrhea attributable to this outbreak.

Conclusions. This massive outbreak of watery diarrhea was caused by cryptosporidium oocysts that passed through the filtration system of one of the city's water-treatment plants. Water-quality standards and the testing of patients for cryptosporidium were not adequate to detect this outbreak. (N Engl J Med 1994;331:161-7.)

Milwaukee, épidémie de cryptosporidiose liée à l'eau de boisson, 403 000 cas

CRYPTOSPORIDIUM sp.



CDC,

-Cycle monoxène direct

-Oocystes de petite taille 5 μm (<(MES) directement infectants et très résistants

-Survie 4 à 12 mois dans l'environnement, 3 mois dans les eaux salées

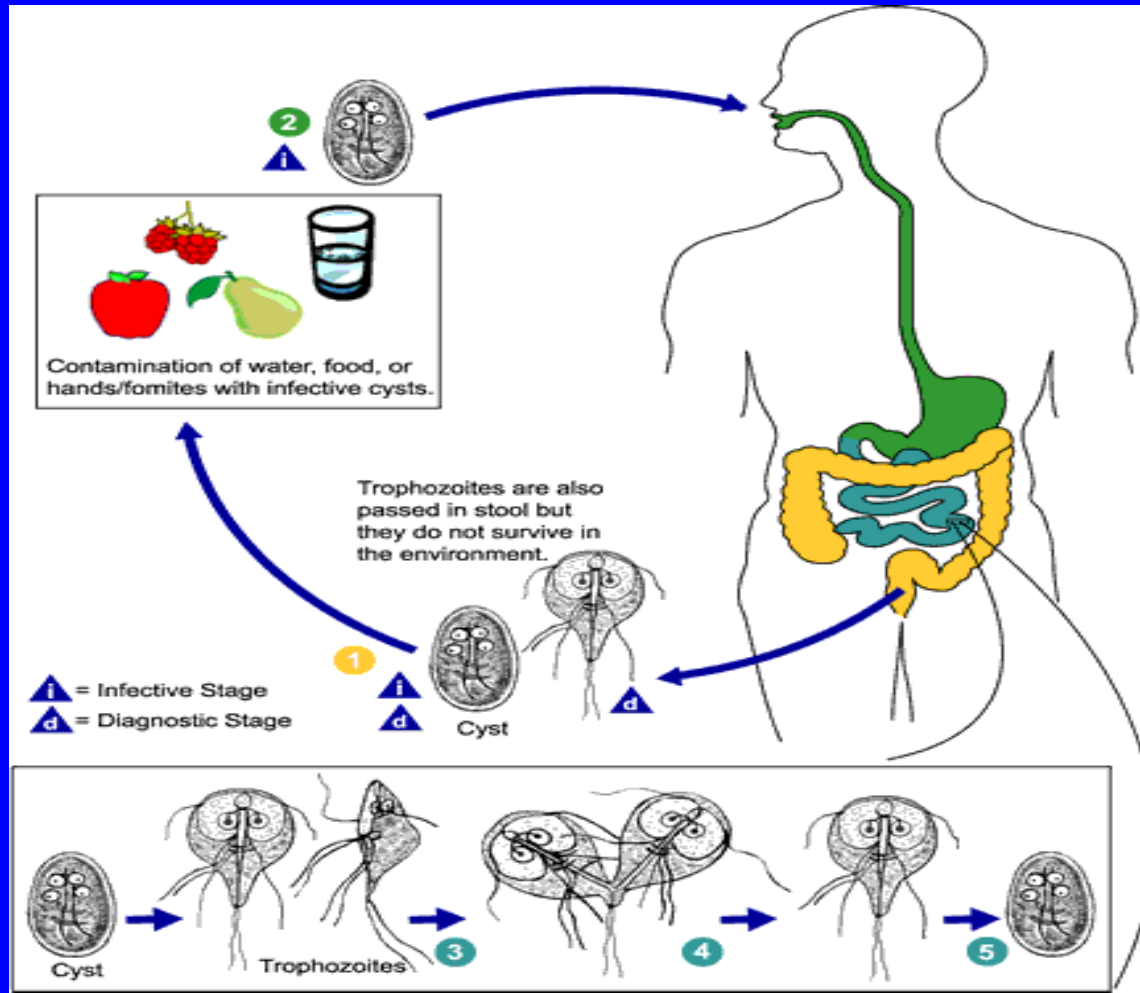
-DI₅₀: 132 oocystes (10 à 1000) chez l'immunocompétent non immunisé

- 152 espèces de mammifères potentiellement infestées principal réservoir: les bovins

- 20 espèces dont 8 retrouvées chez l'homme

- 61 génotypes dont 19 retrouvés chez l'homme et 58 sous génotype (Plutzer et al., 2011)

Giardia duodenalis

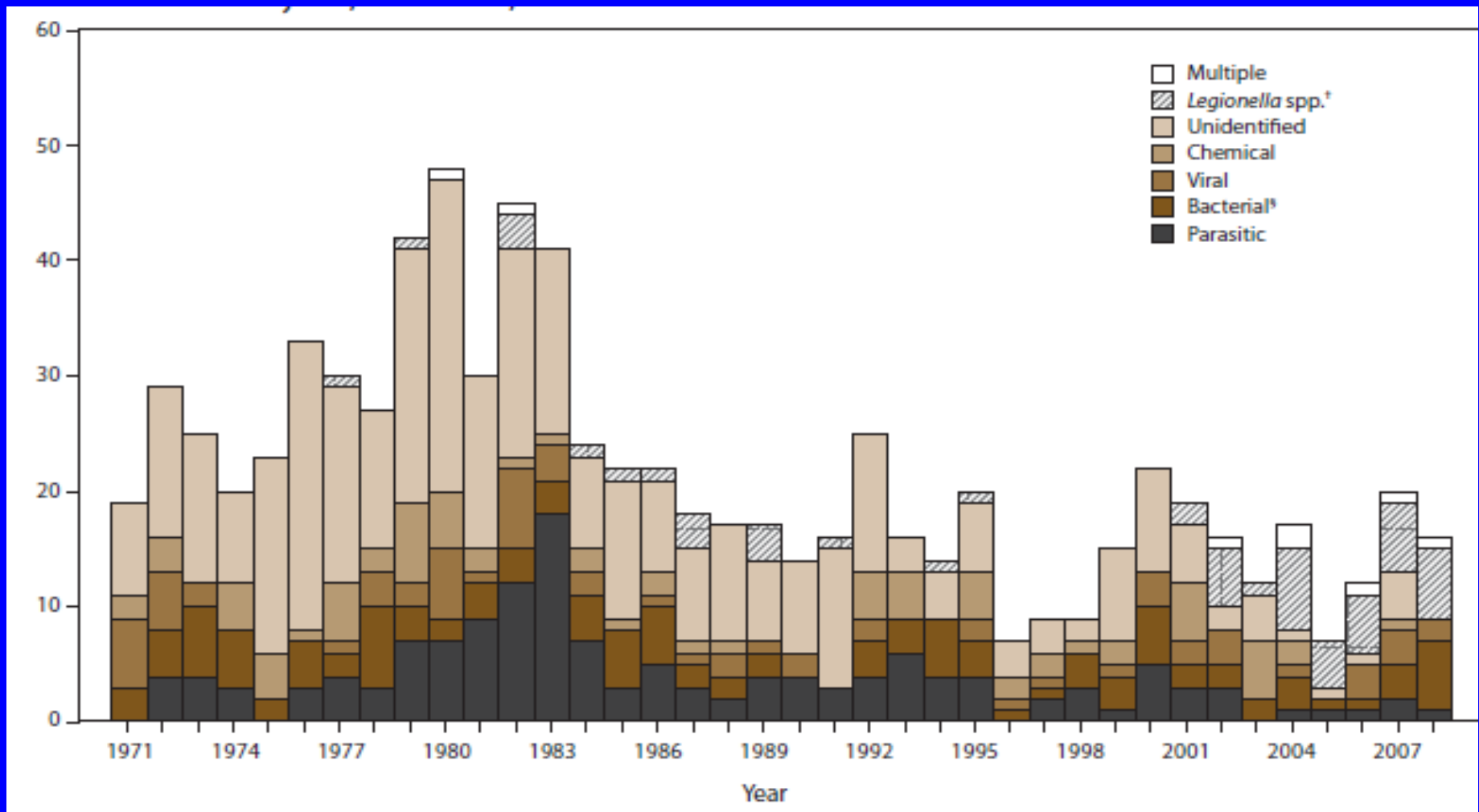


Giardia duodenalis

- Cycle monoxène direct (sexué?)
- kystes directement infectants et résistants (chloration)
- Survie : 2 mois dans l'environnement
- DI₅₀: 35 kystes
- Nombreuses espèces de *Giardia* (selon hôtes)
- Principal réservoir de parasite: l'Homme?
- Plusieurs génotypes

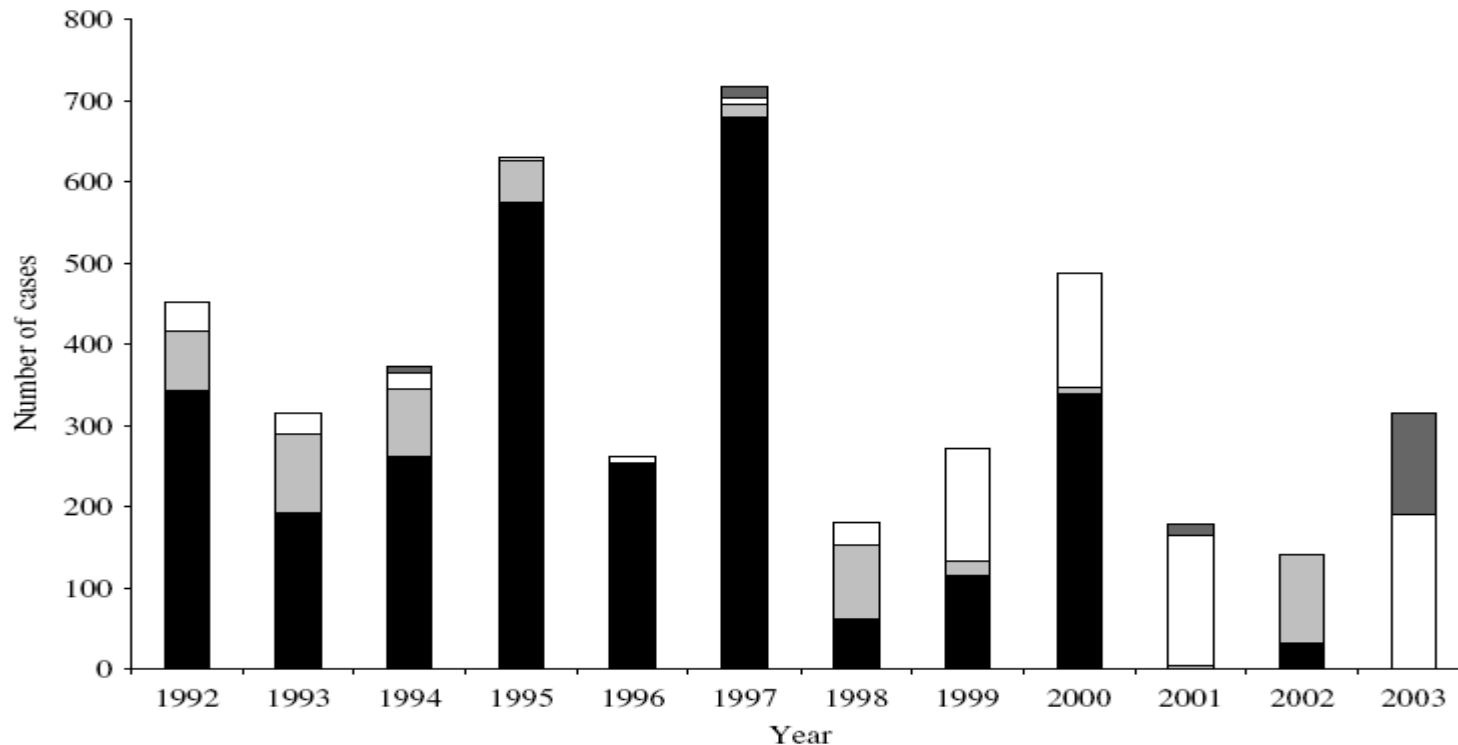
Epidémiologie moléculaire de *Giardia duodenalis*

Dénomination proposée	Nash	Homan	Mayrhofer Monis	Hôtes
Génotype A I	1	pologne	Assemblage A (groupe 1)	Mammifères
Génotype A II	2		Assemblage A (groupe 2)	Homme, castor
Génotype B	3	Belgique	Assemblage B	Mammifères
			Assemblage C	Chien
			Assemblage D	Chien
			Assemblage E	Bétail
			Assemblage F	Chat
			Assemblage G	Rat



Le nombre d'épidémies liées à l'eau de boisson dues aux parasites aux Etats Unis (1971-2008) est en baisse. (Hlavsa et al., 2011)

Le même phénomène est observé en Angleterre (impact de la législation)

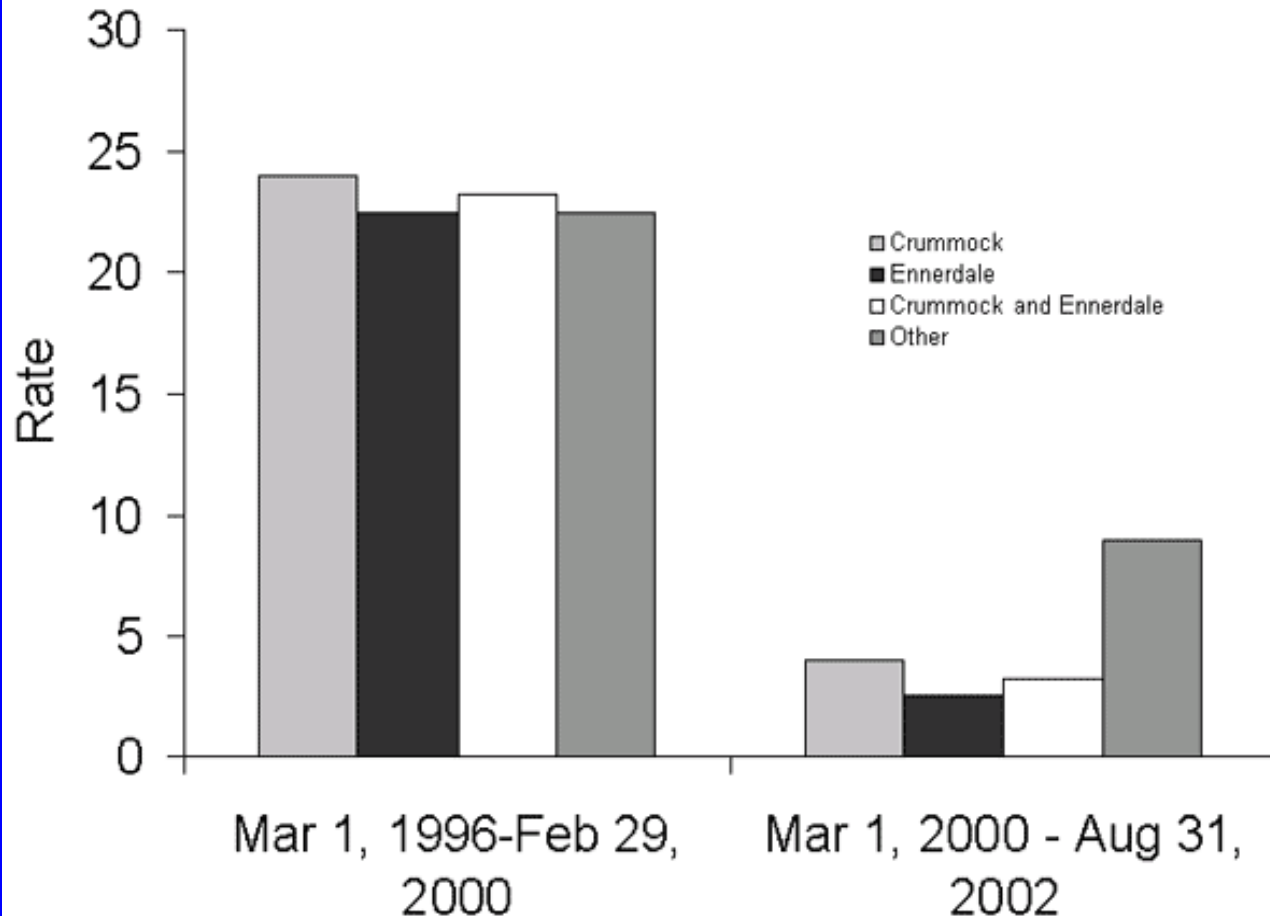


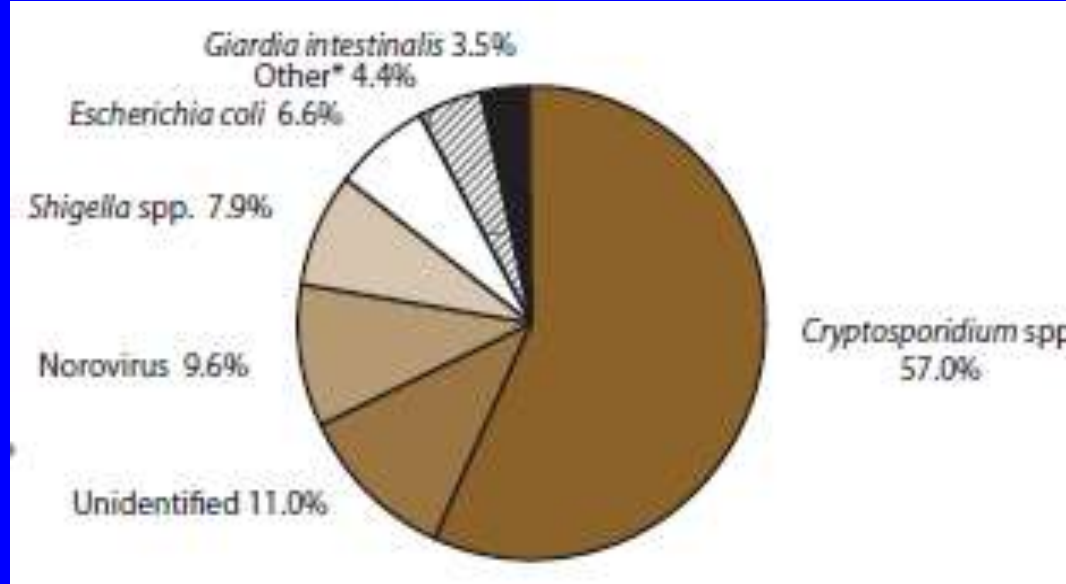
Nombre de cas de gastroentérites liées à l'eau

- eau de boisson (producteur public)
- eau de boisson (producteur privé)
- eau de boisson d'autre origine
- piscines

Impact des processus de traitement d'eau

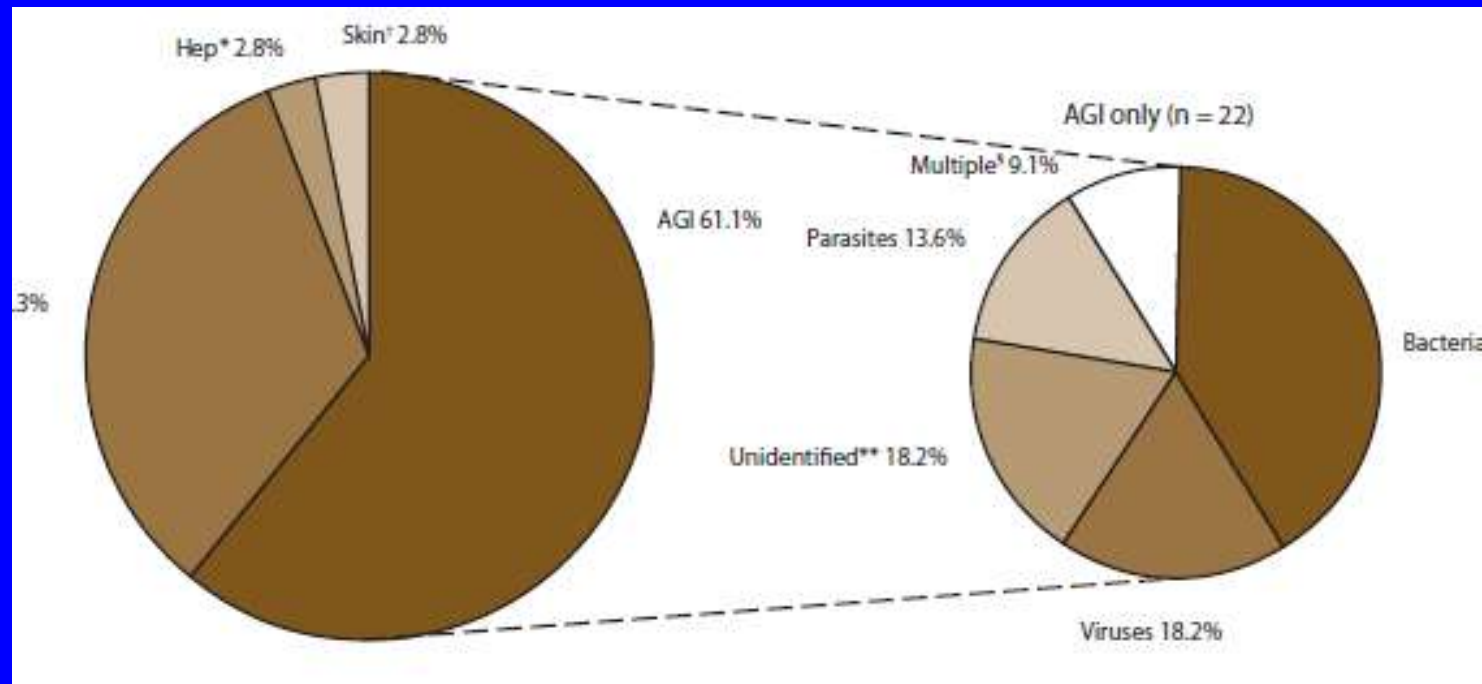
Fréquence (nombre de cas / 100 000 personnes années) de la cryptosporidiose avant et après utilisation de la filtration dans la production d'eau en Angleterre





Les parasites sont très souvent responsables d'épidémies de gastroentérites aux liés à l'eau récréationnelle (Etats Unis 2007-2008)

(Hlavsa et al., 2011)



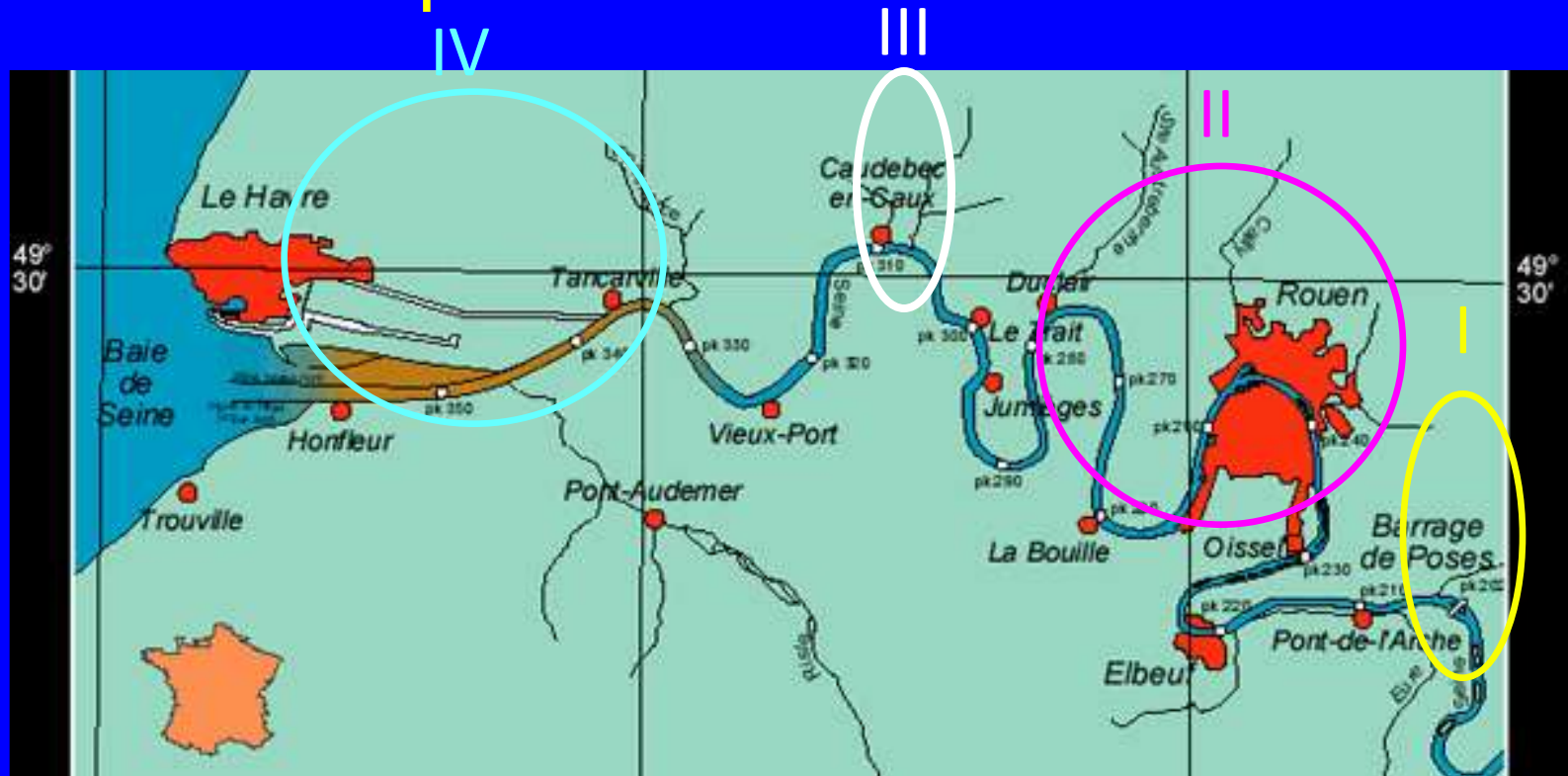
Les parasites restent aussi incriminées dans 1/5 des épidémies liés à l'eau de boisson aux Etats Unis 2007-2008

(Hlavsa et al., 2011)

Le nombre d'épidémies dans les pays développés rapportées dans la littérature (2004-2008) reste significatif

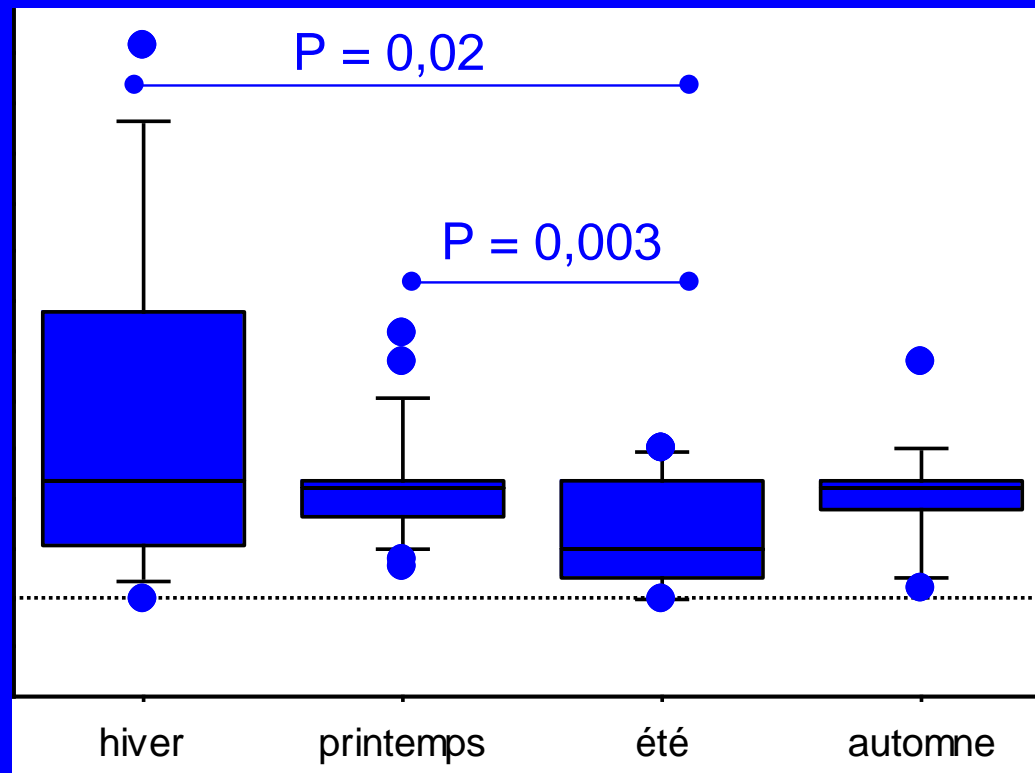
- *Giardia duodenalis*: 73 épidémies (5 en Europe)
- *Cryptosporidium sp.*: 46 épidémies (22 en Europe)

Contamination des eaux de surface: exemple de l'estuaire de Seine



- I. **Zone amont**: limite de propagation de la marée: barrage de Poses
- II. **Zone urbanisée** : effluents de STEP pour 550 000 habitants dans la zone de Rouen (4 sites)
- III. **Limite de salinité** : limite d'intrusion des eaux salées dans l'eau douce : Caudebec-en-Caux (1 site)
- IV. **Bouche de l'estuaire** : gradient de salinité, zone de forte turbidité (Caudebec à Honfleur) (3 sites)

Saisonnalité de la présence de *Cryptosporidium* dans l'estuaire de Seine (2005-2006)



Vulnérabilité des ressources en eau de l'aquifère de la craie par *Cryptosporidium* spp. en Haute-Normandie région Haute-Normandie

- 64% des sites sont contaminés par *Cryptosporidium* (23/36)

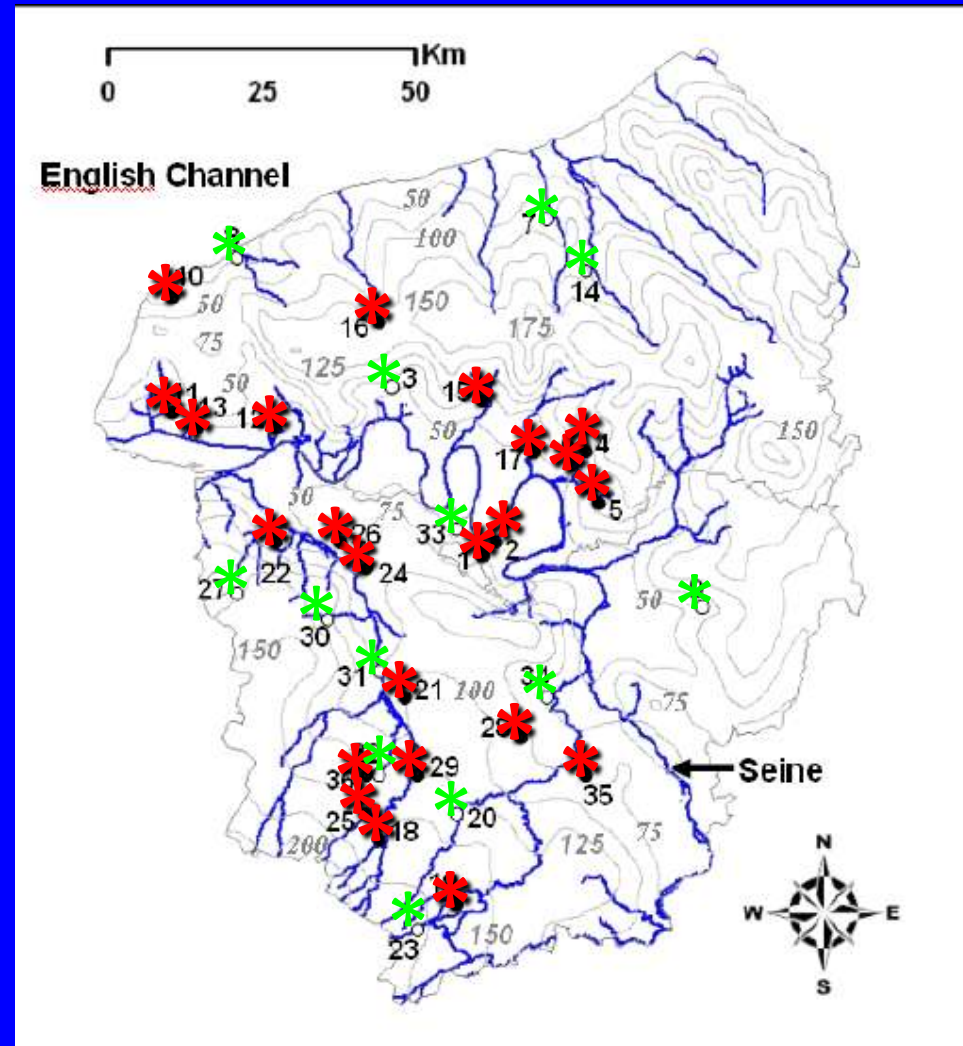
<1 à 165 oocystes / 100 litres

fond en grisé : piézométrie de l'aquifère

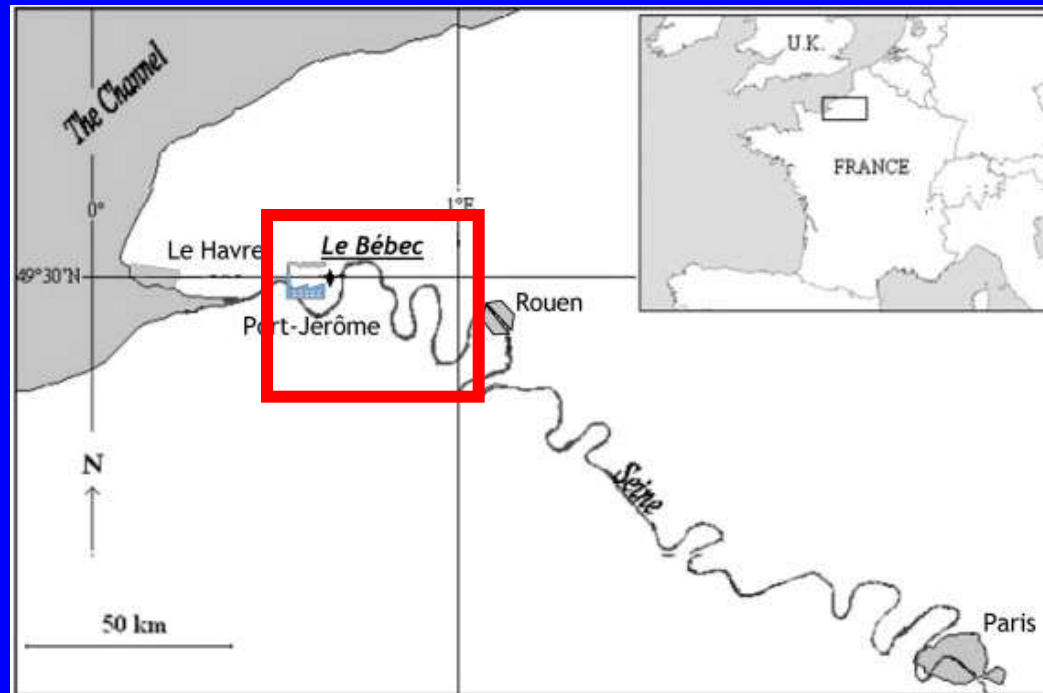
— réseau hydrographique

* présence d'oocystes

* absence d'oocystes



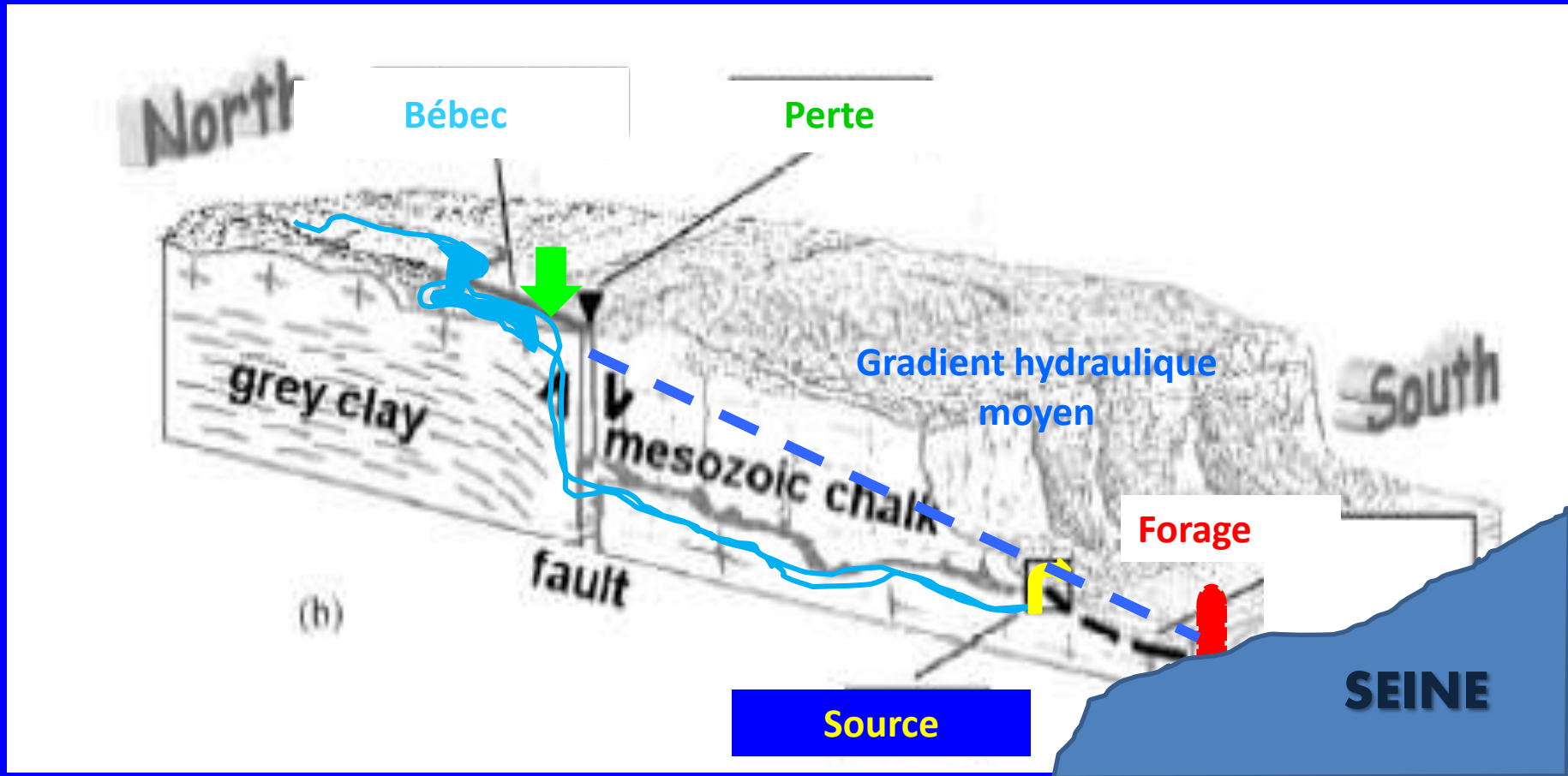
Etude du transfert des oocystes de
Cryptosporidium au sein de l'aquifère de la craie
Site d'étude : le bassin versant de Norville (Haute-
Normandie)



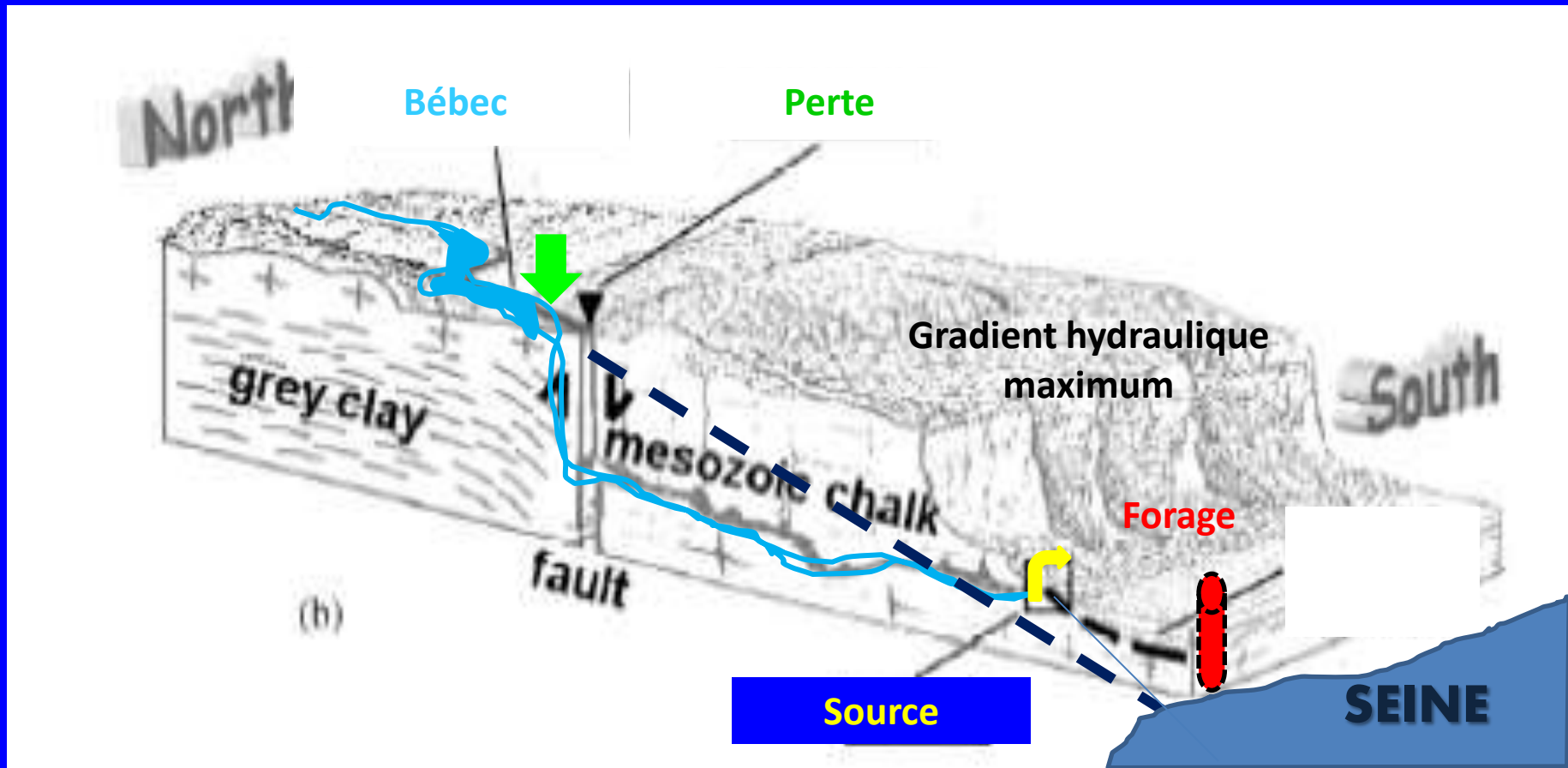
le site est localisé dans la zone de l'estuaire de Seine
soumises aux fluctuations tidales

Contexte hydrologique

le niveau de base du gradient hydraulique est contrôlé par le niveau de la Seine soumis à l'influence de la marée



Contexte hydrologique



Contamination du site atelier par *Cryptosporidium*

36 échantillons analysés

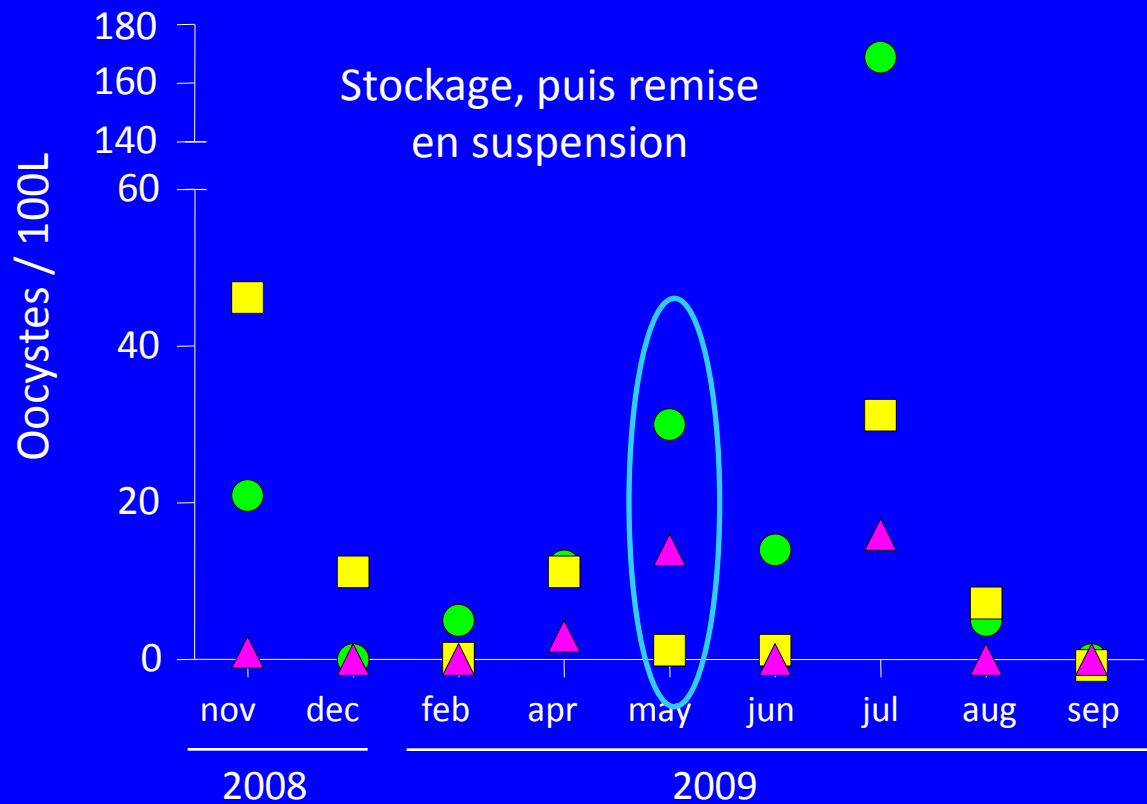
Location	Number of samples	Type of water	Turbidity (NTU ^a) (mean±SEM)	Electrical conductivity (µS.cm ⁻¹) (mean±SEM)	SPM ^b (mg.l ⁻¹)	Positive samples for <i>Cryptosporidium</i>
Swallow hole	9	Surface water	10.0 ± 3.8	283.3 ± 28.5	27.5 ± 20	77%
Spring	9	Groundwater	2.4 ± 1.4	490.7 ± 47.4	9.0 ± 5.3	88%
Well-bore	9	Groundwater	0.5 ± 0.3	504.6 ± 45.7	4.5 ± 4.5	44%
Well-bore during nocturnal continuous pumping	9	Groundwater	0.5 ± 0.2	504.9 ± 45.2	4.5 ± 4.9	100%

^a NTU : Nephelometric Turbidity Unit

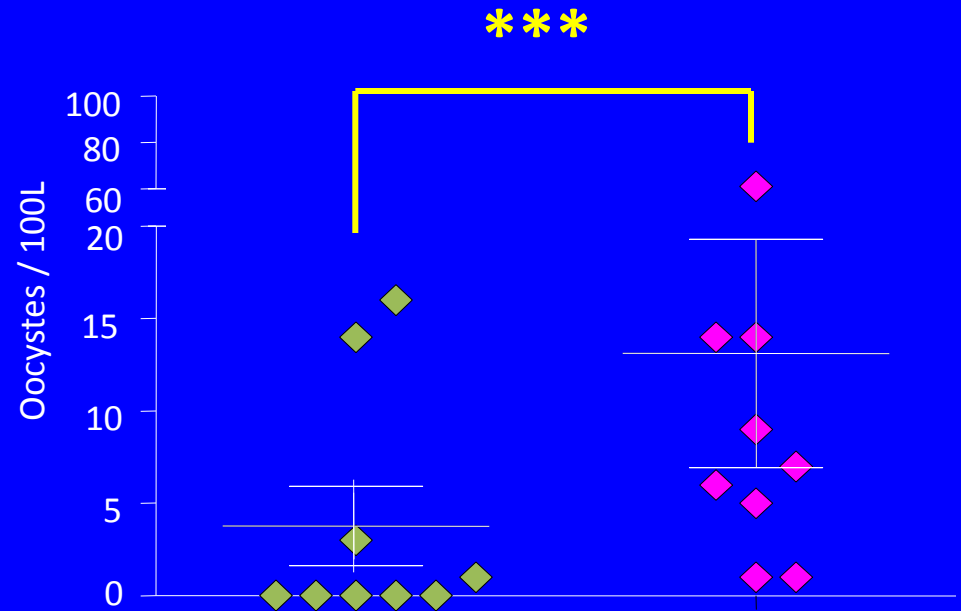
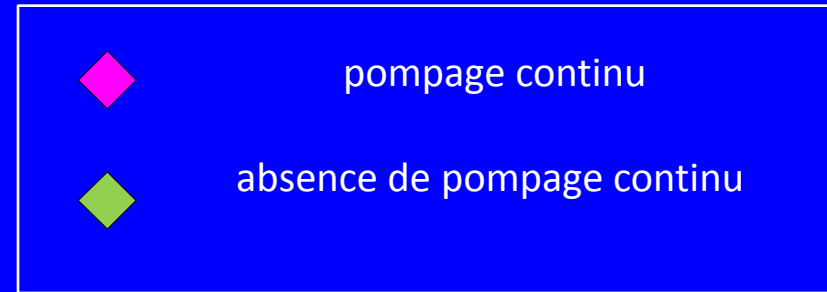
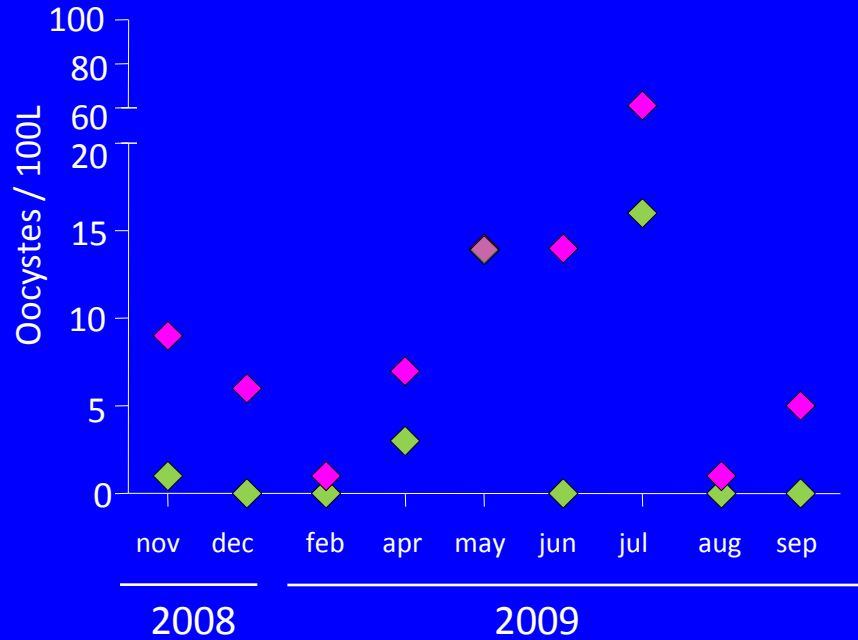
^b SPM : Suspended Particulate Matter

Occurrence des oocystes de *Cryptosporidium* au Forage de St-Maurice d'Ételan

- Perte
- Source
- ▲ Forage



L'exploitation intensive de l'aquifère favorise la contamination de la ressource en eau



Les ressources en eaux sont
impactées:
que représente la présence de ces
parasites dans ces ressources?

- Les parasites sont-ils vivants?
- Les parasites peuvent-ils être infectants pour l'homme?
- Les parasites sont-ils pathogènes?

Détermination de la viabilité

- Mesure du dékystement *in vitro*
- Utilisation de colorant:
 - ✓ Iodure de Propidium (IP)
 - ✓ 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)
 - ✓ Fluorescein diacetate (FDA) + Ac spécifiques

Etude de la synthèse d'ARN messenger (RT
PCR) de HSP70 après choc thermique
(Abbaszadegan et al., 1997; Lee et al., 2008)

Hybridisation avec fluorescence in situ pour
détecter l'ARN ribosomal (Lemos et al., 2005)

Les parasites sont-ils infectants ?

- Etude *in vitro* (*Cryptosporidium* sp.): infectivité dans
 - Lignée Caco-2 (Favennec et al., 1994)
 - Lignée HCT-8
- Etude *in vivo*: inoculation à l'animal
 - Le souriceau NMRI (*C. parvum*) (Delaunay et al., 2000)
 - La gerbille (*Meriones inguiculatus*) (*Giardia* (Li et al., 2007); *C. hominis* (Baishanbo et al., 2006)

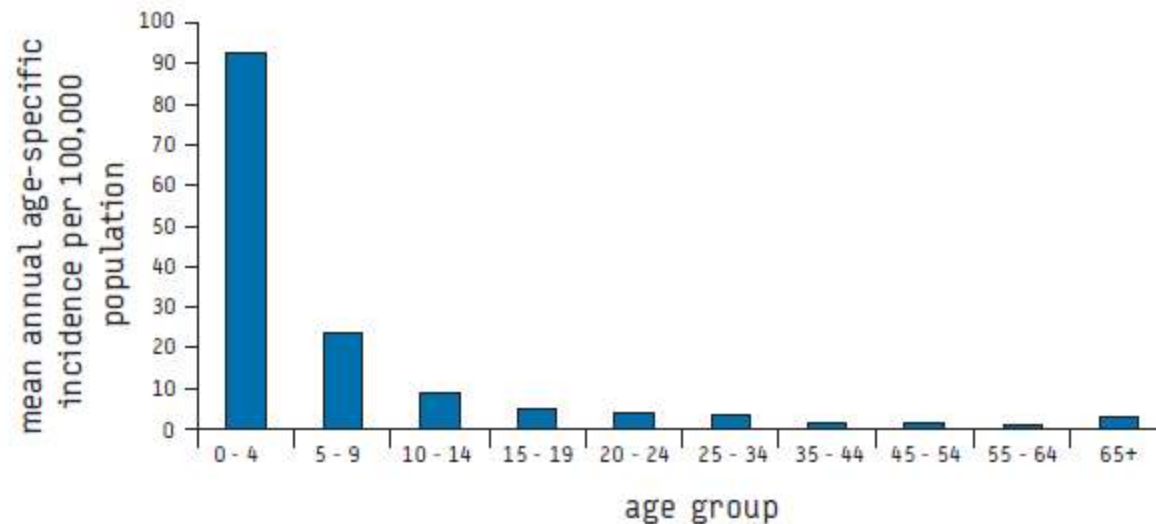
Cryptosporidium sp.: sont ils infectant pour l'homme ?

- La détermination de l'espèce ne présente pas de difficulté mais est indispensable (152 espèces peuvent produire des oocystes, seule 2/20 espèces chez l'Homme immunocompétent: *C. parvum* et *C. hominis*)
- Mais quelle dose est infectante?
 - chez le patient séronégatif, la DI_{50} varie de 10 à 1000 oocystes selon les isolats
 - Aucune étude chez le patient déjà infecté

Cryptosporidium sp.: répartition par âge en Irlande

(Garvey, Eurosurveillance 2009)

Mean annual age-specific incidence rates of cryptosporidiosis, Ireland, 2004-2006



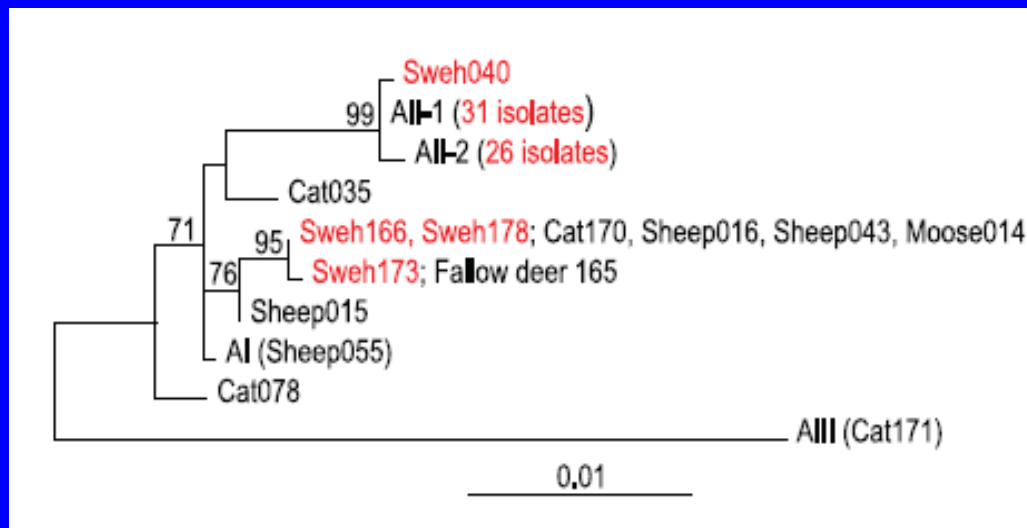
Data source: Computerised Infectious Disease Reporting (CIDR), Health Protection Surveillance Centre (HPSC), Ireland

Giardia duodenalis: sont ils infectant pour l'homme ?

- Génotypage difficile : pas d'unicité des résultats en fonction du marqueur utilisé (Bonhomme et al., 2011) :
- *Giardia* a t il une reproduction sexuée ? (Andersson, 2012)
- Forte infection du bétail par des génotypes «considérés» comme non infectant pour l'homme (Hunt et al., 2000)
- Forte infection des animaux de compagnie

Giardia duodenalis: une zoonose?

- Même génotype retrouvés dans des temples en Thaïlande chez des chiens et des moines (Traub et al., 2009).
- Mêmes résultats dans des communautés Roms en Italie (Marangi et al., 2011)
- Génotypage des isolats humains et animaux en Suède (Lebbad et al., 2011)



Les parasites sont-ils pathogènes pour l'homme ?

- Il existe une variabilité dans la pathogénicité des isolats
 - *Giardia duodenalis* (Buret, 2008)
 - *Cryptosporidium parvum* (Chappell et al., 2000; Khaldi et al., 2010)

Mais aucun marqueur connu de cette pathogénicité

Les parasites peuvent ils être responsables de syndrome de l'intestin irritable post infectieux

- Le SII PI est la première cause de consultation chez les gastroentérologues en ville.
- De 20 à 30% sont considérés comme post infectieux
- *Giardia duodenalis*:
Chez l'homme (Wensaas et al., Gut, 2012)
- *Cryptosporidium parvum*:
Présence dans un modèle expérimental (Baishanbo et al., 2006; Khaldi et al., 2010)
- **Chez l'Homme ?**

Conclusion

- Pour *Giardia duodenalis*:
 - amélioration du génotypage
 - amélioration de l'évaluation de l'infectivité
 - recherche de marqueurs de pathogénicité des isolats
- Pour *Cryptosporidium* sp.:
 - meilleure connaissance de l'épidémiologie
 - les génotypes infectant chez l'homme
 - recherche de marqueurs de pathogénicité des isolats
 - possibilité de survenue d'un PI IBS?

