



23887-3 RM



Agence de l'eau
Rhône-Meuse



**EVALUATION DU RISQUE
MICROBIOLOGIQUE D'ORIGINE
HYDRIQUE :
VALIDATION EPIDEMIOLOGIQUE DES FONCTIONS
DOSE-REPONSE DU RISQUE VIRAL ET
PARASITAIRE**

**Rapport scientifique final du Programme
Environnement - Santé 97
Convention n° EN97C01**

RAPPORT N° 230

NOVEMBRE 1997

CAREPS

Centre Rhône-Alpes d'Epidémiologie et de Prévention Sanitaire

CHU GRENOBLE, BP 217, 38043 GRENOBLE CEDEX 9

Tel : 04 76 51 10 56 Fax : 04 76 51 03 06

Ce travail de recherche a été conduit par Leïla GOFTI sous la direction de Denis ZMIROU, avec la collaboration du :

- CAREPS (Centre Rhône-Alpes d'Epidémiologie et de Prévention Sanitaire, Grenoble, Drs JP FERLEY et A DELORAINE).
- Département EGRIES de l'Ecole Nationale de Santé Publique, Rennes (JL POTELON).
- Laboratoire de Santé Publique de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1 (Pr Ph HARTEMANN).
- Laboratoire régional d'analyse des eaux, Faculté de Médecine de Grenoble (P CHEVALLIER).
- Laboratoire de Virologie du CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier (Pr JM SEIGNEURIN et Dr B GRATACAP).

Et la participation des DDASS de l'Isère (A ALEXANDRE-BIRD, L. BELLEVILLE) et de la Savoie (P. CABAGNOLS, A. GUILLOUD).

L'étude pilote du programme de recherche a été cofinancée par le **Ministère chargé de l'Environnement et les Agences de l'Eau**. Elle a bénéficié également du concours du **Laboratoire central d'analyse des eaux de la CGE** (Générale des Eaux - Vivendi) qui a fourni les cartouches de prélèvement des protozoaires et a réalisé les analyses parasitologiques.

Cette étude fait suite à un premier travail conduit en 1996-1997 grâce au soutien du **Secrétariat d'Etat à la Santé**, et visant à dresser un état de l'art de l'évaluation du risque microbiologique d'origine hydrique par une revue de la littérature.

Sommaire

Rapport d'activité	p 4
I INTRODUCTION	p 6
II MATERIEL ET METHODE	p 7
<i>Principe de l'étude pilote</i>	p 7
<i>Le matériel</i>	p 9
Documents	p 9
Analyses microbiologiques	p 9
<i>L'enquêteur-technicien</i>	p 10
<i>La population d'étude</i>	p 11
Choix des communes d'étude	p 11
Recrutement des foyers volontaires	p 12
La population recrutée	p 12
<i>Tâches à accomplir par les volontaires</i>	p 12
III RESULTATS DE L'ETUDE PILOTE	p 12
III 1 - Evaluation de la faisabilité de l'étude finale	p 12
♦ Adhésion de la population	p 12
♦ Faisabilité matérielle	p 13
III 2 - Incidence et Densité d'incidence des TDA observés au cours de l'étude pilote	p 13
III 3 - Définition et détermination du seuil d'alerte	p 17
<i>Détermination du seuil d'alerte épidémique pour l'étude finale</i>	p 17
III 4 - Résultats des analyses microbiologiques	p 19
1 - Analyses parasitologiques à St Laurent du Pont	p 19
2 - Analyses virologiques des 11 échantillons d'eau prélevés en routine	p 19
3 - Analyses complémentaires	p 19
III 5 - Résultats de l'enquête de consommation d'eau de boisson	p 21
III 6 - Synthèse : principales modifications apportées au protocole de l'étude pilote	p 22
IV - CONCLUSION	p 23
ANNEXES	

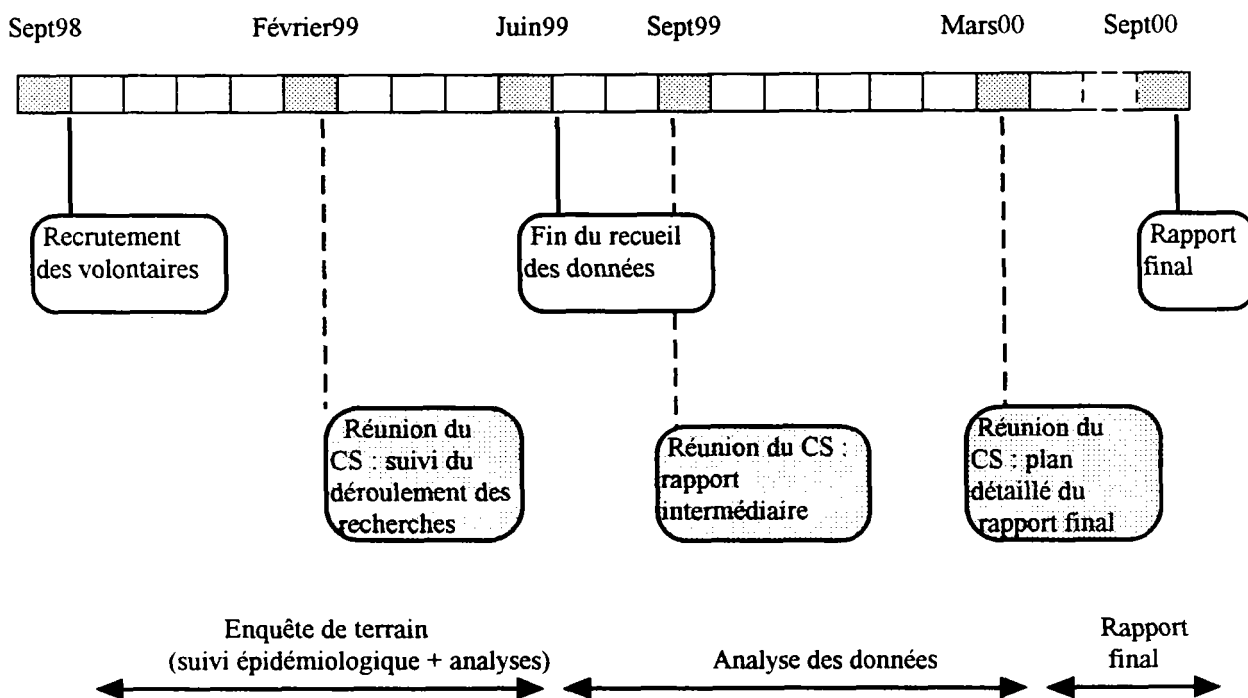
Rapport d'activité

- Août - Sept 1997 : Choix définitif des communes d'étude.
Information et demande d'autorisation auprès des Préfets de l'Isère et de la Savoie et des Maires concernés.
Protocole d'étude soumis à la CNIL.
- Octobre 1997 : Elaboration des documents d'information, des fiches d'inclusion et des questionnaires.
Appel à la participation des volontaires (médias ; mairies, écoles, abonnés aux réseaux d'eau). Accord de la CNIL.
- Novembre 1997 : Recrutement des volontaires et des sentinelles.
Réunion du comité scientifique de la recherche.
Recherche et commande du matériel.
- Décembre 1997 : Démarrage de la surveillance épidémiologique.
Recrutement et formation de l'enquêteur-technicien.
1^{ère} campagne d'analyse microbiologique de routine (17/12).
- Janvier 1998 : Surveillance épidémiologique.
1^{ère} enquête de consommation d'eau de boisson (27/01 et 31/01).
- Février 1998 : Surveillance épidémiologique (suite).
Elaboration du masque de saisie des données partielles.
2^{ème} campagne d'analyse de routine (03/02/98).
Début de la préparation de l'étude finale : rédaction du projet scientifique déposé à l'appel d'offre « Environnement-Santé » du Ministère de l'Environnement.
- Mars 1998 : Surveillance épidémiologique (fin au 30/03/98).
Saisie et début d'analyse des données complètes.
Réunion du comité scientifique de la recherche (03/03/98).
3^{ème} campagne d'analyse microbiologique de routine (03/03/98).
2^{ère} enquête de consommation d'eau de boisson (17/03 et 21/03).
Analyse microbiologique complémentaire à Entre deux Guiers (13/03/98).
- Avril-Mai 1998 : Analyse des données d'incidence des troubles digestifs, des résultats microbiologiques, et des données de consommation d'eau. Recherche bibliographique pour la détermination du seuil d'alerte épidémique.
Préparation de l'étude finale : recherche de nouvelles communes exposées et analyses microbiologiques de leur ressource (05/05/98).

Juin-Août 1998 : Détermination du seuil d'alerte épidémique en vue de l'étude finale et finalisation du protocole.
 Recherche de financements complémentaires; extension de l'autorisation de la CNIL.
 Préparation de communications scientifiques.

Septembre 1998 : Mise en place de l'étude finale; rencontre avec les responsables locaux des communes d'étude; recrutement des volontaires (appel à volontaires par l'intermédiaire de la presse locale, des écoles, des municipalités, des fichiers d'abonnés aux réseaux d'eau); mise en place de la coordination des différentes équipes et achat du matériel.

Plan de travail de l'étude finale



I - INTRODUCTION

En France, comme dans la plupart des pays industrialisés, le dispositif sanitaire en vigueur pour garantir la qualité microbiologique de l'eau distribuée contribue à préserver un bon niveau de santé de la population. Malgré cet acquis majeur, **les limites de ce dispositif conduisent à rechercher des outils complémentaires pour une évaluation plus structurée et une meilleure maîtrise du risque infectieux lié à la consommation d'eau du robinet.** Ainsi, un nombre élevé d'épidémies d'origine hydrique ont été décrites aux Etats-Unis et en Grande-Bretagne, en l'absence des classiques « germes indicateurs de contamination fécale ». Certaines ont affecté une part importante de la population desservie (épidémie de Milwaukee en 1993), entraînant parfois la mort de sujets sensibles, notamment de personnes immunodéprimées (épidémie de Las Vegas en 1994). Le recours à des méthodes de détection sensibles (PCR, immunofluorescence) a souvent permis de retrouver, dans ces circonstances, des agents pathogènes ayant survécu à la chaîne de traitement pourtant bien appliquée au vu des « normes de qualité microbiologiques ».

Les limites des indicateurs bactériens du risque fécal, outils majeurs de gestion du péril infectieux depuis des décennies, sont aujourd'hui mieux reconnues. Bien que les données françaises sur la qualité microbiologique des eaux de boisson soient très parcellaires, se basant sur les statistiques publiées aux Etats-Unis, il y a lieu de penser qu'une majorité des manifestations digestives endémo-épidémiques attribuables à l'eau de boisson sont liées à des contaminations virales ou parasitaires. Or, ces micro-organismes persistent malgré un traitement des eaux répondant aux critères bactériens classiques. Cela conduit donc à rechercher de nouveaux indicateurs de ces contaminations, mais aussi à définir des objectifs de qualité des ressources ou d'efficacité des traitements à partir de niveaux de risques jugés "acceptables".

La démarche d'évaluation du risque appliquée au risque microbiologique (ERM) d'origine hydrique a connu sur continent Nord-américain des applications majeures pour la gestion des ressources en eau potable. Ainsi, par exemple, les normes relatives au traitement des eaux de surface (Surface Treatment Regulation Rules) destinées à l'alimentation en eau potable ont emprunté cette démarche pour définir des objectifs d'efficacité de traitement selon la qualité de la ressource, en prenant comme référence le risque associé à la présence du protozoaire *Giardia lamblia*, avec un niveau maximum "acceptable" de risque infectieux fixé à 10^{-4} par personne-an. La démarche d'ERM reste méconnue en France, alors qu'elle pourrait utilement compléter les outils actuels de gestion du risque lié à la contamination microbiologique de l'eau de boisson.

La démarche d'évaluation du risque, qui permet de disposer des outils d'une évaluation quantitative du risque, s'avère donc pertinente pour optimiser la gestion des risques infectieux liés à l'eau potable. Or, de nombreuses incertitudes pèsent sur les modèles de l'évaluation du risque et nécessitent d'être résolues. Les fonctions dose-réponse fournies par la littérature pour quelques micro-organismes pathogènes restent essentiellement fondées sur des expérimentations animales ou humaines ; les souches de micro-organismes expérimentés, conservés en milieu artificiel, ont une virulence qui

diffère sans doute de celle des germes en milieu naturel, et les sujets testés ne sont pas représentatifs de la population générale.

Le programme de recherche vise à promouvoir la démarche d'ERM en l'appuyant sur des fonctions dose-réponse validées et sur une meilleure estimation de l'exposition des consommateurs. Le projet entend tester la validité de ces fonctions dans les conditions naturelles d'exposition des individus et de survie des pathogènes dans l'environnement. L'objectif du projet de recherche est donc de valider les équations et les paramètres des fonctions dose-réponse pour certains virus et protozoaires d'intérêt sanitaire, transmis par voie hydrique, en combinant un suivi épidémiologique de terrain intensif et des analyses virologiques et parasitologiques de l'eau au moyen de techniques sensibles d'identification (respectivement PCR et immunofluorescence). L'incidence des troubles digestifs aigus (TDA) observée sera corrélée aux concentrations de pathogènes mesurées dans l'eau distribuée.

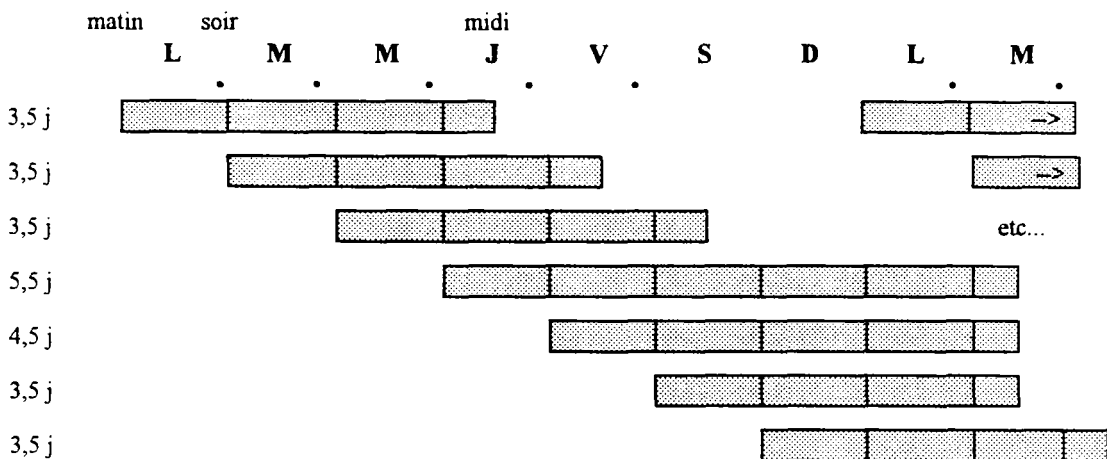
Compte tenu de la complexité du protocole, une étude pilote a été mise en place à partir du mois de septembre 1997. Elle consistait à tester et quantifier précisément les conditions de réalisation de l'étude épidémiologique réelle ultérieure. Le protocole définitif de l'étude finale tiendra donc compte des enseignements de cette première phase.

II - MATERIEL ET METHODE

Principe de l'étude pilote

Il s'agissait de conduire pendant 4 mois une étude longitudinale prospective pour suivre l'apparition des troubles digestifs aigus (TDA) au sein de 2 populations. Une population « exposée » consommant une eau de boisson traitée mais vulnérable sur le plan de la qualité microbiologique (région karstique, réseau où l'eau brute est de mauvaise qualité et où, après un traitement de désinfection, des virus et des protozoaires sont a priori susceptibles de demeurer dans l'eau distribuée malgré l'absence d'indicateurs bactériens). Et une population de référence consommant une eau d'excellente qualité microbiologique (cette population considérée comme « non exposée » devait permettre d'évaluer le bruit de fond de TDA dans la population). Chaque famille disposait d'un carnet d'auto-enregistrement des TDA. 1/5 des familles était contacté chaque soir de la semaine (hors week-end) par un enquêteur téléphonique qui relévit le nombre de cas de TDA apparus le jour même et le nombre de cas enregistrés au cours de la semaine écoulée. Ce sondage au 1/5ème tournant assurait une description continue de la morbidité et le repérage d'éventuels épisodes épidémiques.

En parallèle de la surveillance épidémiologique, un dispositif de conservation d'échantillons d'eaux dans chaque commune a été mis en place grâce à la participation d'une sentinelle par commune, rémunérée et équipée à cet effet. La sentinelle conservait au réfrigérateur 3 flacons de 1.5 l chacun, prélevés quotidiennement et conservés de 3.5 à 5.5 jours selon la séquence décrite sur le schéma suivant :



(*) *Jours de surveillance épidémiologique (appel téléphonique) et [barre] durée de conservation (à 4°) d'échantillons d'eau (3 x 1,5 l) prélevés en distribution. Note : Les flacons prélevés les jeudis et vendredis matin sont conservés plus longtemps pour pouvoir analyser l'eau du week-end, si nécessaire.*

L'intérêt de ce dispositif réside dans son couplage temporel avec la surveillance épidémiologique. En l'absence d'épidémie, les flacons n'étaient pas analysés et étaient donc vidés. En cas de survenue d'un épisode épidémique (lorsqu'un soir d'appel donné, le seuil d'alerte fixé a priori était dépassé, cf "définition du seuil d'alerte"), l'enquêteur-technicien se rendait dès le lendemain matin au domicile de la sentinelle pour récupérer les différents flacons d'eau conservés au frigo par la sentinelle : celui du jour de démarrage "de l'épidémie", celui de la veille, celui de l'avant-veille. Ces échantillons devaient être utilisés pour caractériser la **qualité virologique** de l'eau consommée le jour de l'épisode épidémique et les 2 jours précédents, ce qui inclut les périodes habituelles de latence des troubles infectieux. Valable pour les pathogènes viraux, ce dispositif ne pouvait pas s'appliquer aux indicateurs microbiens (développement ou inhibition de la flore microbienne) et aux protozoaires. La **qualité bactériologique** de l'eau était caractérisée par les prélèvements réalisés par la sentinelle le soir d'appel et qui devaient être récupérés le lendemain par le technicien avec les flacons destinés à l'analyse virologique (en cas d'alerte, il était demandé le soir même à la sentinelle de prélever 500 ml et 5 l d'eau de robinet). La **qualité parasitologique** était caractérisée par le prélèvement réalisé par l'enquêteur-technicien lors de son passage : filtration de 100 litres sur une cartouche par le technicien lui-même au domicile de la sentinelle. Les différents échantillons devaient être rapportés soit le jour même, soit dans les 24 h, aux laboratoires chargés des analyses microbiologiques.

En complément des analyses dans le cadre d'alertes, des **analyses "de routine"** étaient réalisées hors de tout contexte épidémique, afin de vérifier la qualité habituelle de l'eau dans les deux catégories de communes : 3 analyses ont été effectuées au cours de l'étude sur des échantillons d'eau prélevés en distribution, et sur l'eau brute dans les réseaux traités. Cf tableau III « qualité microbiologique de l'eau lors des 3 analyses de routine effectuées dans le cadre de l'étude pilote ».

En parallèle de l'enquête principale, **un questionnaire de consommation d'eau de boisson a été adressé aux volontaires** 2 fois au cours de l'étude pilote. Le questionnaire portait sur la consommation d'eau de boisson (sous différentes formes)

un jour de semaine et sur la consommation d'un jour du week-end. Cf « résultats de l'enquête de consommation d'eau de boisson ».

Il s'agit donc, en définitive, de **réaliser une étude cas témoin nichée au sein d'une étude longitudinale prospective**. Les "cas" sont les jours avec "épidémie" (définie pour le dispositif d'alerte); les "témoins" sont les jours sans épidémie. L'exposition est caractérisée par la qualité de l'eau (et sa quantité) consommée par les volontaires les jours "cas" où les jours "témoins".

Le matériel

Documents (cf annexes)

Le recrutement des volontaires a nécessité la rédaction de nombreux documents pour l'information des personnes directement ou indirectement concernées par l'étude :

- Le document de présentation simplifiée de l'étude, sous le titre « La santé au robinet », qui a été adressé aux Maires des communes d'étude, aux professionnels de santé (médecins généralistes et pharmaciens d'officine), aux Directeurs d'école et Proviseurs de collège de ces communes.
- Le courrier d'appel à volontaires (avec coupon-réponse et enveloppe T) remis aux parents d'élèves de toutes les écoles (au nombre de 8) et tous les collèges (au nombre de 2) des 3 communes d'étude.
- Le courrier d'appel à volontaires (avec coupon-réponse et enveloppe T) adressé à tous les foyers alimentés par les réseaux d'eau des 2 communes exposées.
- Le document de formation de l'enquêteur-technicien

La préparation de l'enquête a aussi nécessité l'élaboration des documents suivants :

- Le questionnaire d'inclusion des foyers volontaires comprenant des fiches familiales et individuelles, et l'attestation d'accord à remplir par le chef de famille conformément aux prescriptions de la CNIL.
- Le carnet familial d'auto-enregistrement quotidien de la morbidité digestive (16 feuillets correspondants aux 16 semaines de l'enquête).
- Le questionnaire de consommation individuelle d'eau de boisson.
- La liste codée des familles volontaires et la liste d'appel des familles chaque soir.
- Les documents de recueil des résultats de la surveillance épidémiologique, comprenant les fiches de suivi de ces familles, les fiches de notification des cas de TDA, et les fiches récapitulant les données hebdomadaires.
- La note explicative détaillant leurs fonctions aux sentinelles, et le protocole de prélèvement des échantillons d'eau de robinet destinés à l'analyse bactériologique et virologique.

Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques devaient être réalisées lors d'épisodes épidémiques mis en évidence par la surveillance téléphonique, ou dans le cadre des 3 échantillonnages de routine prévus pendant l'enquête de terrain. Les micro-organismes recherchés étaient des virus entériques et des protozoaires responsables de troubles

digestifs (les indicateurs bactériens et les salmonelles étaient également recherchés). Lors des épisodes épidémiques, les analyses ne devaient porter que sur l'eau de distribution, alors que pour les analyses de routine, elles portaient également sur l'eau brute dans les réseaux traités.

- Les échantillons d'eau destinés aux **analyses bactériologiques** étaient recueillis dans des flacons plastiques stériles à usage unique contenant du thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore : 1 flacon de 500 ml pour la recherche des indicateurs bactériens classiques, 5 flacons de 1 l pour la recherche des *Salmonelles*. Ces flacons étaient fournis par le service de bactériologie du laboratoire régional d'analyse des eaux de Grenoble. Les prélèvements étaient réalisés après flambage du robinet en préservant la stérilité des flacons. Les échantillons étaient conservés au froid avant d'être analysés dans un délai inférieur à 24 h par les bactériologistes.
- Les échantillons d'eau destinés aux **analyses virologiques** étaient recueillis dans 3 flacons de verres stérilisables de 1.5 l contenant également du thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore. 2 palettes de 344 flacons ont été commandées au fournisseur, et stockées dans les locaux du CAREPS avant leur stérilisation et leur livraison mensuelle aux sentinelles. Lors d'une analyse de routine, ou lors d'un épisode épidémique, l'enquêteur-technicien récupérait les flacons prélevés et stockés au réfrigérateur par la sentinelle. Dans les 24 h qui suivaient, il réalisait alors la concentration des échantillons au laboratoire de virologie du CHU par ultrafiltration tangentielle (appareil Minitan). Les échantillons ainsi concentrés étaient alors congelés à -80°C en attendant l'analyse par PCR (en présence de témoins positifs et négatifs). Les virus entériques recherchés étaient les entérovirus, les rotavirus, et les astrovirus.
- Les échantillons d'eau destinés aux **analyses parasitologiques** étaient concentrés sur une cartouche de filtration Gelman® fournie par le laboratoire central de la Générale des Eaux. Ces cartouches stériles sont destinées à la détection des kystes de protozoaires vivants ou morts. 100 l d'eau distribuée, ou 200 l d'eau brute dans les réseaux traités sont filtrés par l'enquêteur-technicien sur la cartouche à l'aide d'un compteur volumétrique. Le débit à respecter est de 2 l par minute. Les cartouches étaient stockées au froid dans une glacière et envoyées dans la journée par chronopost dans une boîte isotherme (4°C) au laboratoire central d'analyse des eaux de la GE pour être analysées dès le lendemain. La détection des kystes de *Giardia* et de *Cryptosporidium* a été réalisée par technique d'immunofluorescence préconisée par le protocole Gelman®, c'est à dire, élution des cartouches, purification, marquage par des AC monoclonaux et dénombrement sous microscope. Le seuil d'alerte a été homogénéisé en cours d'étude à 2 kystes/100 l.

L'enquêteur-technicien

Le déroulement de l'enquête de terrain a nécessité le recrutement d'une personne à mi-temps pendant 4 mois. Eric DA SILVA a donc été embauché au 10 décembre 1997 pour passer les appels téléphoniques tous les soirs de la semaine, et pour assurer la livraison mensuelle des flacons de verre stérilisés aux sentinelles. Il récupérait ou réalisait les prélèvements d'eau destinés aux analyses microbiologiques, assurait leur

transport aux laboratoires de virologie et de bactériologie. Après une formation par un technicien spécialisé, il a également été chargé de réaliser la concentration des échantillons destinés à la recherche par PCR des virus entériques.

La population d'étude

Choix des communes d'étude

Les foyers volontaires ont été recrutés dans 2 catégories de communes. Les critères de sélection des communes étaient :

- Pour le *groupe non exposé* : distribuer une eau souterraine non traitée dont la qualité microbiologique mesurée par les indicateurs fécaux a été parfaite depuis au moins 3 ans (résultats de la surveillance sanitaire des DDASS : conformité aux normes = 100 %) ; réseau unique sans raccordement occasionnel ; qualité jugée homogène sur l'ensemble du réseau; commune à caractère non touristique.

Saint Laurent du Pont (Isère, 4083 habitants au RGP de 1990) a été choisie comme commune témoin.

- Pour le *groupe exposé* : distribuer une eau (souterraine, de surface ou karstique) ayant subi une désinfection par chloration simple alors que l'eau brute était de médiocre qualité (au moins 10 CF/100 ml et/ou 10 SF/100 ml dans au moins 50 % des échantillons analysés depuis 3 ans); distribuer une eau habituellement (>80 %) conforme aux normes microbiologiques après traitement, sans projet de modification du système de distribution et de traitement avant le terme de l'étude ; réseau unique sans raccordement occasionnel ; qualité jugée homogène sur l'ensemble du réseau; commune à caractère non touristique, de profil socio-économique et géologique semblable au groupe témoin.

Entre deux Guiers (Isère, 1544 habitants au RGP) et **Les Echelles** (Savoie, 1259 habitants au RGP) ont été choisies comme communes exposées. Elles appartiennent au même massif de la Chartreuse que la commune « non exposée », dont elles sont distantes de 10 km.

Recrutement des foyers volontaires

Une rencontre avec les Maires des 3 communes d'étude a été organisée le 26/09/97 afin de leur présenter les objectifs et modalités de l'enquête, et solliciter leur collaboration au recrutement des volontaires et des sentinelles.

Le recrutement des volontaires s'est en partie basé sur un appel à volontaire dans les médias locaux (article dans le Dauphiné Libéré du 06/10/97 et interviews sur les ondes de 3 radios locales).

Le recrutement portant principalement sur des familles avec enfants de 4 à 12 ans (groupe connu pour être le plus pertinent pour la surveillance épidémiologique des gastro-entérites), la coopération des directeurs d'école et des proviseurs de collège a été sollicitée. Cette coopération a été facilement obtenue après une visite

personnalisée auprès de chaque responsable. Il a donc été possible d'adresser un courrier aux parents d'élèves pour requérir leur participation, soit directement par l'intermédiaire des instituteurs ou des professeurs, soit grâce au listing d'adresses fournies par les établissements scolaires.

Dans les communes exposées, le recrutement a été complété par un appel à volontaire adressé par courrier à tous les abonnés des réseaux de distribution.

La population recrutée

Les personnes intéressées par l'étude se sont manifestées en renvoyant le coupon réponse joint à chaque courrier, ou en téléphonant directement pour se faire renvoyer les fiches d'inclusion. Les personnes ont été incluses lorsqu'elles ont renvoyé les fiches d'information familiales et individuelles ainsi que l'attestation d'accord. Lorsqu'un foyer était inclus dans l'enquête, tous les membres de ce foyer faisait l'objet de la surveillance épidémiologique.

Le nombre de personnes suivies pendant les 112 jours de l'étude pilote s'élève au total à 242 sujets [37.6% de 4-14 ans], répartis dans 69 foyers (22 à Saint Laurent du Pont, commune témoin ; 28 à Entre deux Guiers, et 19 aux Echelles, communes exposées).

Tâches à accomplir par les volontaires

Il s'agissait pour un des membres du foyer (si possible, toujours le même, le plus souvent la mère) de remplir chaque soir la fiche familiale d'enregistrement des troubles, et de communiquer rétrospectivement les éventuels cas apparus dans la semaine à l'enquêteur-technicien lors de l'appel téléphonique hebdomadaire.

Par 2 fois au cours de l'enquête, il a été demandé à chaque individu de remplir un questionnaire de consommation d'eau de boisson (sous toutes ces formes). Le questionnaire portait sur la consommation d'eau un jour de semaine et un jour de week-end.

III - RESULTATS DE L'ETUDE PILOTE

III 1 - Evaluation de la faisabilité de l'étude finale

◆ Adhésion de la population

Le recrutement des volontaires dans la commune témoin a été relativement aisé grâce à l'adhésion des parents d'élèves et du personnel municipal. En revanche, le recrutement dans les communes « exposées » a été plus laborieux, nécessitant de solliciter la quasi totalité des habitants des 2 communes (2803 habitants). 61 foyers ont renvoyé un coupon réponse et 4 se sont manifestés par téléphone. Ces 65 foyers représentaient 206 personnes, le taux de réponse a donc été légèrement supérieur à 7.4% (car les habitants non raccordés aux réseaux de distribution étudiés n'ont pas été sollicités). 10 foyers volontaires (24 personnes) n'étaient pas éligibles pour l'enquête.

La surveillance épidémiologique par téléphone, qui a débuté le 1^{er} décembre 1997, devait porter sur 74 familles réparties en 22 familles dans le groupe témoin et 55 familles dans le groupe exposé. Mais, dans ce dernier groupe, 7 foyers ont été exclus avant d'avoir fait l'objet d'un suivi :

5 (8 personnes) n'ont jamais pu être joints par téléphone (absence ou coupure de ligne téléphonique)

2 (3 personnes) étaient composés de personnes présentant une pathologie biaisant le recueil d'information

En cours d'étude, 3 foyers supplémentaires ont été inclus dans le groupe exposé :

1 (2 personnes) à la 2^{ème} semaine

1 (3 personnes) à la 3^{ème} semaine

1 (2 personnes) à la 5^{ème} semaine.

1 foyer (4 personnes) du groupe exposé n'a pas souhaité poursuivre au delà de la 1^{ère} semaine d'étude. 2 foyers (4 personnes) du groupe exposé ont été perdus de vue à compter respectivement du 05/02 et du 12/02/98.

Le panel de volontaires a été définitivement constitué à la 5^{ème} semaine d'enquête. 22 foyers ont été suivis à Saint Laurent du Pont, avec 76 personnes, et 47 foyers suivis à Entre deux Guiers et Les Echelles, avec 166 personnes. S'agissant d'une étude de faisabilité, cet effectif était suffisant. Il ne l'est pas pour l'enquête final, dont le nombre de sujets nécessaire a été recalculé en fonction des données de l'étude pilote.

Exception faite d'une famille qui n'a pas compris l'objectif de l'appel téléphonique hebdomadaire, les volontaires n'ont pas eu de difficultés à remplir le carnet d'auto-enregistrement des troubles, et à notifier les cas à l'enquêteur téléphonique. En revanche, le remplissage du premier questionnaire de consommation d'eau de boisson (janvier 1998) a mis en évidence des possibilités de confusions, ce qui a conduit à sa modification en vue de la seconde enquête (mars 1998).

◆ Faisabilité matérielle

Les appels téléphoniques étaient passés du lundi au vendredi entre 17 h et 20 h en fonction des disponibilités de chaque famille. 14 familles en moyenne étaient contactées chaque soir (4 à Saint Laurent du Pont, 5 à Entre deux Guiers et 4 aux Echelles). D'une semaine à l'autre, quelques aménagements d'horaires ont parfois été nécessaires pour joindre certaines familles. Compte tenu des vacances scolaires, l'enquête a été interrompue entre le 23/12/97 et le 02/01/98 inclus.

Le dispositif de conservation des échantillons d'eau destinés à l'analyse virologique a fonctionné de façon satisfaisante. Les sentinelles qui prélevaient 3 flacons de 1.5 l tous les matins (week-end compris) étaient étroitement impliquées et informées du bon déroulement de l'enquête par des contacts directs et fréquents avec le laboratoire, sur des questions d'ordre pratique. Elles manifestaient leur intérêt pour l'étude, et accomplissaient leur tâche avec rigueur et constance. La livraison mensuelle des flacons de verre était assurée par l'enquêteur-technicien chargé au préalable de les porter pour stérilisation au laboratoire de virologie. A chaque livraison, l'enquêteur-technicien récupérait les flacons usagés et les portait à la stérilisation assurant ainsi un bon roulement des flacons.

Les analyses de routine ont été réalisées à 3 reprises. Les prélèvements étaient réalisés en début de semaine sur 4 sites : les trois domiciles de chaque sentinelle et la ressource commune d'Entre deux Guiers et des Echelles (eau brute). Les temps de prélèvements sont de :

5 minutes pour chaque échantillon destiné à la bactériologie (flambage et prélèvement de 5.5 l), soit 20 minutes pour l'ensemble des quatre échantillons.

60 minutes pour la filtration sur cartouche de 100 l d'eau distribuée destinée à la parasitologie et 120 minutes pour la filtration de 200 l d'eau brute, soit 300 minutes (5 h) pour l'ensemble des quatre échantillons.

5 minutes pour le prélèvement de 4.5 l à la ressource destiné à la virologie. Les échantillons d'eau distribuée du jour sont récupérés dans le réfrigérateur de la sentinelle.

Une campagne de prélèvement en vue d'analyses microbiologiques complètes dure 5 h 30 en moyenne, auxquelles il faut ajouter 3 h de transport (entre le CAREPS, Saint Laurent du Pont, Entre deux Guiers, les Echelles, la Poste, et les laboratoires d'analyse des eaux et de virologie). La concentration des 4 échantillons destinés à l'analyse virologique est réalisée dans les 24 h suivants la campagne de prélèvements. La concentration d'un échantillon requiert 2 h de manipulations.

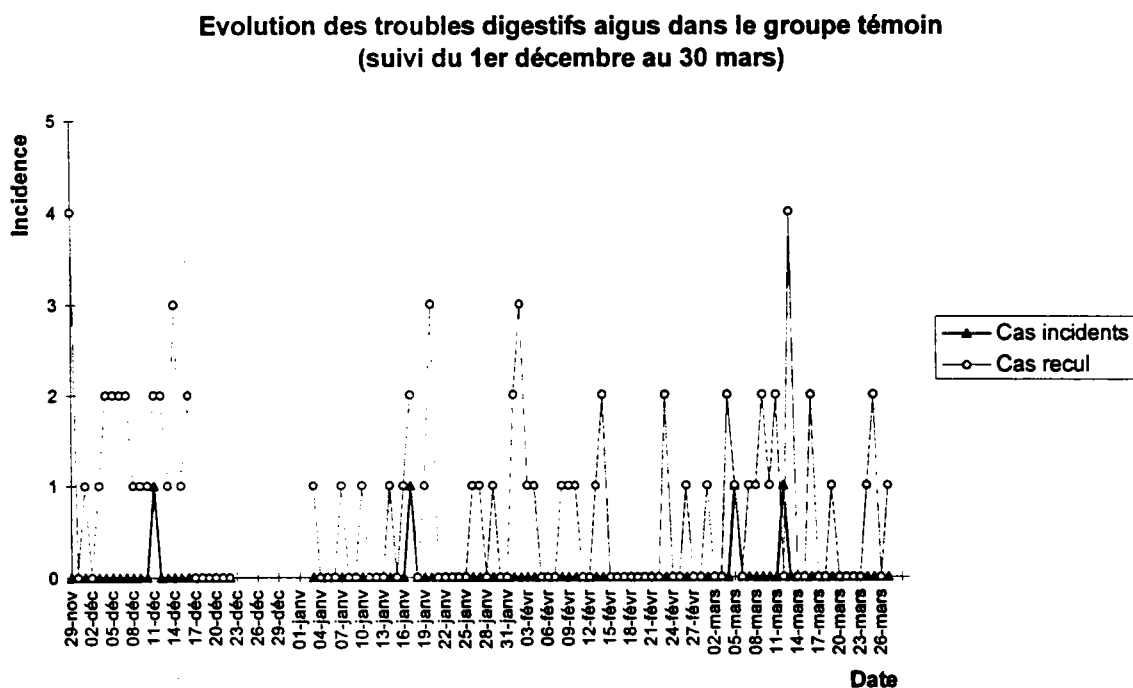
L'alerte épidémique. n'a été déclenchée qu'à une seule reprise à Entre deux Guiers en fin d'étude pour tester le dispositif d'alerte, et ce malgré l'absence de signal épidémique.

Au terme des 4 mois de terrain, l'étude a montré une bonne faisabilité dans les 3 communes et les 69 familles d'étude, tant pour ce qui concerne les prélèvements destinés aux analyse d'eau, que pour la surveillance épidémiologique. La sensibilité de cette surveillance pour détecter un phénomène épidémique sera discutée plus loin

III 2 - Incidence et densité d'incidence des troubles digestifs aigus (TDA) observés au cours de l'étude pilote

Le « bruit de fond » de TDA observé au cours de l'étude était en moyenne de 3 cas par personne-an. La définition des TDA englobe un nombre de cas plus grand que la définition plus stricte des gastro-entérites (GE). Le bruit de fond des GE observé au cours de l'étude a été estimé à 0.4 cas par personne-an (Tableaux I et II). Les définitions des termes cliniques sont en bas du tableau I. **Il convient de considérer avec prudence ces données d'incidences issues d'une enquête de faisabilité.** Les figures 1 et 2 décrivent l'évolution de l'incidence journalière observée au cours de l'étude pilote.

Figure 1 : Evolution de l'incidence journalière observée dans le groupe témoin au cours de l'étude pilote.



Cas incidents = nombre de cas apparus dans la fraction de la population contactée, le jour de l'appel téléphonique.

Cas recul = nombre total de cas apparus un jour donné dans la population d'étude

Figure 2 : Evolution de l'incidence journalière observée dans le groupe exposé au cours de l'étude pilote.

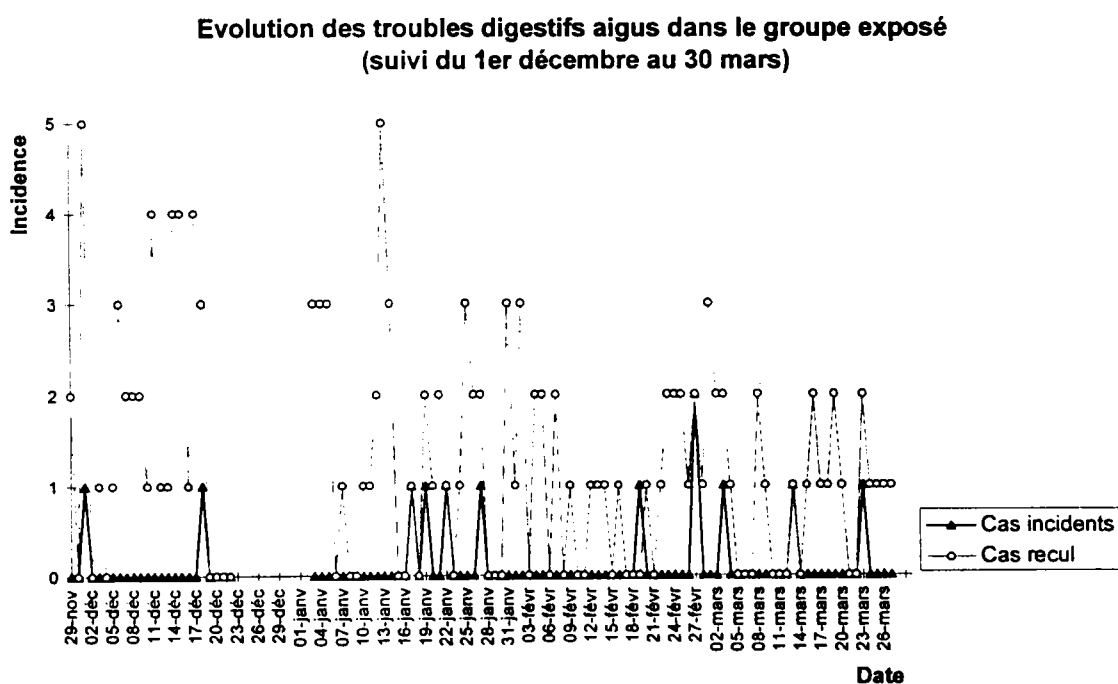


Tableau I : Incidence (I) et densité d'incidence (DI) des différents troubles digestifs aigus (TDA), des épisodes diarrhéiques (ED), et des gastro-entérites (GE) pour les 2 populations suivies pendant 110 jours (29/11/97 → 27/03/98).

	TDA		ED		GE	
	I (cas)	DI (cas/ personne- an)	I (cas)	DI (cas/ personne- an)	I (cas)	DI (cas/ personne- an)
Témoin (n=76 ; 8281 p-j)	91	4.0	15	0.7	8	0.3
Exposé (n=166 ; 17466 p-j)	131	2.7	34	0.7	20	0.4
Total (n=242 ; 25747 p-j)	222	3.1	49	0.7	28	0.4

* TDA = troubles digestifs aigus, épisodes de douleurs abdominales, de nausées, de vomissements et/ou de diarrhée.

ED = épisode diarrhéique, épisode de diarrhée d'une durée de 2 jours minimum accompagné d'au moins un autre signe digestif (douleurs abdominales, nausées et/ou vomissements).

GE = épisode hautement probable de gastro-entérite, diarrhée d'une durée de 2 jours minimum accompagnée d'au moins un autre signe « objectif » (vomissement et/ou fièvre).

Tableau II : Incidence (I) et densité d'incidence (DI) des différents troubles digestifs selon les différentes classes d'âge dans la population d'étude.

Classe d'âge	Personnes -jour.	TDA		ED		GE	
		I (cas)	DI (cas/ personne- an)	I (cas)	DI (cas/ personne- an)	I (cas)	DI (cas/ personne- an)
≤ 4ans (9.9%)	2602	40	4.2	16	1.0	10	0.6
5-14 ans (27.7%)	7147	72		12		7	
15-59 ans (55.4%)	14239	103	2.5	21	0.5	11	0.3
≥ 60 ans (7.0%)	1759	7		0		0	
population d'étude	25747	222	3.1	49	0.7	28	0.4

III 3 - Définition et détermination du seuil d'alerte

Au cours de l'étude pilote, les cas de TDA comptabilisés chaque soir ont permis de préciser, d'une part, le nombre de **cas incidents**, c'est à dire les cas apparus le jour de l'appel dans la fraction (1/5^{ème}, i.e 20%) de la population étudiée ; et d'autre part, le nombre de **cas cumulés** observés sur l'ensemble de la population étudiée un jour donné. Ce nombre de cas n'était connu qu'avec 8 jours de recul. Sur la base de l'incidence journalière observée (entre 1 et 5 « cas recul » par jour, et, en moyenne, moins de 1 « cas incident » par soir d'appel), le seuil d'alerte a été fixé empiriquement, pour l'étude de faisabilité à 2 cas incidents par soir d'appel dans un même groupe (témoin ou exposé), à condition que ces 2 cas n'appartiennent pas au même foyer (pour éviter la confusion avec une TIAC).

Pendant l'étude pilote, plusieurs augmentations sensibles du nombre de TDA se sont produites (observées avec le recul de la semaine) sans que cela fut repéré par une augmentation d'incidence du soir de l'appel (cf figures 1 et 2). Sur la base de cette expérience, il est prévu de baser la détection d'une épidémie au cours de l'étude finale sur le nombre de cas incidents apparus depuis la veille du soir d'appel, et ce, afin d'augmenter la sensibilité de notre dispositif (le seuil d'alerte sera alors défini sur la base de 40% de la population d'étude, et non plus 20%).

Détermination du seuil d'alerte épidémique pour l'étude finale

Le seuil d'alerte qui sera utilisé pour l'étude finale a été calculé sur la base des données d'incidence des TDA observées pendant l'étude pilote. En l'absence de pic épidémique, le seuil d'alerte a été calé sur le bruit de fond observé tout au long de l'étude. Compte tenu de la distribution (non normale) des données, et de la rareté des événements, nous avons été amenés à appliquer une loi de Poisson (tableau III et III bis). Le test de Kolmogorov-Smirnov n'est pas significatif (p=0.2).

La loi de Poisson est une des lois les plus courantes pour une variable aléatoire discrète dénombrable. Elle intervient pour des événements rares dans un intervalle de temps ou d'espace déterminé, pour un grand nombre d'observations. La densité de probabilité du nombre k d'apparition d'un événement dans un intervalle de temps suit une loi de Poisson de paramètre m; sa moyenne et sa variance sont égales à m. Pour la variable aléatoire discrète k prenant les valeurs entières de 0 à l'infini (ici le nombre de cas incidents de TDA par jour), les probabilités individuelles de la loi de Poisson dépendant du paramètre m sont :

$$P (K=k) = e^{-m} m^k / k!$$

où m = paramètre de la loi (ici, m= 2.06)

k = nombre d'événements attendus

P (K=k) = probabilité d'avoir k événements (TDA)
un jour donné

Tableau III : Probabilités cumulées d'observer, un jour donné, k troubles digestifs aigus incidents dans la population d'étude

k TDA incidents/j	P cum (%) Groupe témoin (n=76)	P cum (%) Groupe exposé (n=159)	P cum (%) Ensemble des volontaires (n=234)
0	43	30	13
1	79	66	39
2	95	88	66
3	99	97	88
4	100	99	94
5	100	100	98
6	100	100	99
7	100	100	100

La détermination du seuil d'alerte est basée sur les données concernant l'ensemble des volontaires de l'étude. La probabilité d'observer le bruit de fond habituel avec 4, voire 5, cas incidents de TDA par jour est très faible (respectivement de 6 et 2 %). Il a donc été décidé qu'une alerte épidémique pouvait être déclenchée lorsque plus de 4 cas incidents de TDA (soit 5 cas) seraient observés un jour donné, dans une population de 234 personnes.

Dans le cadre de l'étude finale, l'alerte sera déclenchée indépendamment pour chacun des 4 groupes d'étude (150 personnes environ), et établie sur l'observation de 40 % du groupe, soit sur 60 personnes environ. Un seuil à 5 cas pour 234 volontaires correspond à un seuil de 1.3 cas pour 60. **Lors de l'étude finale, le seuil d'alerte épidémique sera donc déclenché dans un groupe de volontaire à partir de 2 cas incidents de TDA apparus dans 40 % du groupe.**

Tableau III bis : Probabilités d'observer, un jour donné, au plus k troubles digestifs aigus incidents dans la population sondée pour la détermination d'une alerte épidémique

k TDA incidents/j	P cum (%) population sondée pour l'alerte (n=60)
0	59.03
1	90.15
2	98.35
3	99.79
4	99.98
5	100

La probabilité journalière d'observer au moins 2 cas parmi 60 volontaires d'une unité de distribution est de 1.65%. **Ainsi, la probabilité d'observer au total 5 épisodes épidémiques, définis selon ce critère, sur l'ensemble de l'étude (210 jours), concernant l'un quelconque des 4 réseaux de distribution est de 99.95%.**

III 4 - Résultats des analyses microbiologiques (tableau IV) :

Les 3 communes de la phase pilote répondaient aux critères de qualité microbiologique de l'eau de boisson en distribution et la ressource commune des 2 communes exposées était bien conforme aux critères de sélection de l'étude. En revanche, certains résultats ont été surprenants.

1 - Analyses parasitologiques à Saint Laurent du Pont

Une analyse parasitologique positive dans l'eau de la commune témoin constitue un résultat tout à fait surprenant compte tenu des critères qui caractérisent la ressource (il s'agit en particulier d'un captage profond). Ce résultat suggère une erreur d'étiquetage. Le contrôle de la traçabilité des échantillons adressés aux différents laboratoires présenterait donc des points faibles auxquels il sera remédié pour l'étude finale. Une analyse parasitologique complémentaire a été réalisée à Saint Laurent du Pont, le 05/05/98, à l'occasion de pluies abondantes, afin de contrôler l'absence effective de kystes de protozoaires. Il confirme la bonne adéquation de la commune témoin aux critères d'inclusion : aucun indicateur de contamination fécale et absence de protozoaires.

2 - Analyses virologiques des 11 échantillons d'eau prélevés en routine

L'absence de virus dans les 9 échantillons d'eau en distribution, et plus particulièrement dans les 2 échantillons d'eau en ressource des 2 communes exposées peut s'expliquer par :

- des prélèvements en dehors de tout contexte épidémique, donc en l'absence de tout « signal sanitaire » dans la population desservie ;
- une période d'enquête hivernale particulièrement sèche, limitant ainsi les contaminations des ressources d'eau karstiques.

Afin d'assurer une plus grande probabilité de retrouver des pathogènes en distribution, et afin d'élargir la taille de la population exposée, deux nouvelles ressources ont été proposées par la DDASS de Savoie, qui ont fait l'objet d'analyses microbiologiques pour vérifier le respect des critères d'inclusion.

3 - Analyses complémentaires : test de l'alerte et nouvelles communes

◆ Le dispositif d'alerte a été testé sur la commune d'Entre 2 Guiers le 13/03/98, en l'absence d'alerte épidémique. Ce test avait pour objet d'évaluer la réactivité du dispositif de contrôle microbiologique en urgence. Les échantillons ont été conservés et récupérés par l'enquêteur (non informé du caractère "test" de l'alerte), dans le temps imparti. Les résultats des analyses en distribution sont :

Analyses bactériologiques	:	Eau conforme	
Analyses virologiques	:	Absence	
Analyses parasitologiques	:	<i>Giardia</i>	: < 2 kystes / 100 l
		<i>Cryptosporidium</i>	: 10 kystes / 100 l

Tableau IV : Qualité microbiologique de l'eau lors des 3 analyses de routine effectuées dans le cadre de l'étude pilote

		Saint Laurent du Pont	Entre deux Guiers	Les Echelles	Ressource
Analyse du 17/12/97	bactériologie	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est très faible (1 bact revivifiable à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est très faible (3 bact revivifiables à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est un peu élevé (240 bact revivifiables à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Pas de prélèvement effectué : robinet encore non installé.
	Virologie *	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Pas de prélèvement effectué.
	parasitologie **	Giardia < 1.5 kystes/100 l Crypto < 1.5 kystes/100 l	Giardia < 3.2 kystes/100 l Crypto < 3.2 kystes/100 l	Giardia < 4.9 kystes/100 l Crypto < 4.9 kystes/100 l	Pas de prélèvement effectué.
Analyse du 03/02/98	bactériologie	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est nul. Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est nul. Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est très faible (6 bact revivifiables à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau non conforme. Le nombre total de bactéries est peu élevé (56 bact revivifiables à 22°C/ml et 23 bact revivifiables à 37°C/ml). Présence 6 coliformes dans 100 ml. Présence de germes test d'une contamination fécale en nombre assez important, 6 coli thermotolérants, et 5 strepto fécaux dans 100 ml).
	Virologie *	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté
	parasitologie **	Giardia < 1.7 kystes/100 l Crypto < 1.7 kystes/100 l	Giardia < 1.7 kystes/100 l Crypto = 3.4 kystes/100 l	Giardia < 8.2 kystes/100 l Crypto = 8.2 kystes/100 l	Giardia = 0.9 kystes/100 l Crypto < 0.9 kystes/100 l
Analyse du 03/03/98	bactériologie	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est nul (0 bact revivifiable à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est nul (0 bact revivifiable à 22°C/ml). Absence de germes test d'une contamination fécale.	Eau conforme. Le nombre total de bactéries est très faible (15 bact revivifiable à 22°C/ml). de germes test d'une contamination fécale.	Eau non conforme. Le nombre total de bactéries est un peu élevé (56 bact revivifiable à 22°C/ml). Présence 12 coliformes dans 100 ml. Présence de germes test d'une contamination fécale en nombre assez important, 8 coli thermotolérants dans 100 ml).
	Virologie *	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté	Aucun virus détecté
	parasitologie **	Giardia < 2 kystes/100 l Crypto = 2 kystes/100 l	Giardia < 2 kystes/100 l Crypto < 2 kystes/100 l	Giardia < 2 kystes/100 l Crypto < 2 kystes/100 l	Giardia < 1 kystes/100 l Crypto < 1 kystes/100 l

* Cf annexe technique

** Les résultats sont exprimés en nombre de kystes pour 100 l ou en valeur inférieur au seuil de détection ; pour l'étude de faisabilité, ce seuil variait d'un échantillon à l'autre, il sera homogénéisé pour l'étude finale à 2 kystes/100 l.

◆ Des analyses virologiques complémentaires ont également été programmées le 05/05/98 à l'occasion de pluies abondantes en Isère et Savoie. Elles ont porté sur la ressource d'Entre deux Guiers et des Echelles, ainsi que sur les nouvelles ressources de Savoie envisagées pour l'étude finale : Drumettaz-Clarafond (captage souterrain) et le site du lac d'Aiguebelette (captage d'eau de surface). Le volume des prélèvements était de 2*10 l par site. Les 2 prélèvements de chaque site ont fait l'objet d'une analyse par 2 techniques de détection différentes dans 2 laboratoires indépendants (par PCR au laboratoire de virologie du CHU de Grenoble, et par culture au laboratoire central d'analyse des eaux de la CGE). Les résultats de ces analyses figurent au tableau V, et montrent une bonne adéquation aux critères d'inclusion pour la qualité de l'eau brute (l'eau distribuée est conforme aux normes bactériologiques, après désinfection).

Tableau V : Résultats des analyses microbiologiques du 05/05/98 dans les nouvelles ressources (eau brute avant désinfection)

	Ressource de Drumettaz-Clarafond	Lac d'Aiguebelette
Bactériologie	Eau non conforme aux normes des eaux destinées à la consommation humaine, doit subir une épuration bactériologique préalable	Eau non conforme aux normes des eaux destinées à la consommation humaine, doit subir une épuration bactériologique préalable
Virologie *	Présence de virus - ARN entérovirus : ++ - ARN astrovirus : ++	Présence de virus - ARN entérovirus : +++ - ARN astrovirus : +++

* Cf annexe technique, résultats de la PCR

III 5 - Résultats de l'enquête de consommation d'eau de boisson

L'acceptabilité de l'enquête de consommation a pu être testée lors de l'étude pilote, en janvier 1998. Le taux de participation a été de 91 %. Une seconde enquête a été réalisée fin mars 1998, dont le taux de participation a été de 74 %. Le taux de participation des volontaires aux 2 enquêtes de consommation d'eau de boisson a été de 71 %. Les consommations d'eau de robinet (eau bue pure + eau mélangée + eau chauffée) et d'eau de boisson totale (eau de robinet + eau embouteillée) dans la population étudiée suivent une loi normale (tableau VI). 67 % de nos volontaires ne boivent jamais d'eau en bouteille, et parmi ceux qui en boivent, la consommation d'eau embouteillée ne représente qu'une faible fraction des quantités journalières d'eau de boisson (tableau VI bis).

Tableau VI : Moyennes arithmétiques (et écart-types) des consommations d'eau de robinet et d'eau totale en Uj. Janvier et Mars 1998

	Eau robinet		Eau totale	
Population d'étude (n=166)	m= 1.570	σ =0.607	m= 1.783	σ =0.734
≤ 4 ans (n=13)	m= 0.826	σ =0.459	m= 1.109	σ =0.595
5 - 14 ans (n=40)	m=1.312	σ =0.394	m= 1.428	σ =0.569
15 - 59 ans (n=100)	m= 1.727	σ =0.567	m= 1.954	σ =0.709
≥ 60 ans (n=13)	m= 1.895	σ =0.741	m= 2.312	σ =0.666

Tableau VI bis : Médianes des consommations d'eau embouteillée en Uj. Janvier et Mars 1998

	Eau embouteillée
Population d'étude (n=55)	0.500
≤ 4 ans (n=4)	0.657
5 - 14 ans (n=9)	0.500
15 - 59 ans (n=32)	0.464
≥ 60 ans (n=10)	0.507

III 6 - Synthèse : principales modifications apportées au protocole de l'étude pilote

Les aspects opérationnels de l'étude ont été testés, et celle-ci s'avère faisable sur le plan matériel. Des modifications sont apportées au protocole d'étude pour tenir compte de cette expérience :

- ◆ Elargissement de la taille de la population d'étude à 600 personnes (au lieu de 250)
- ◆ Déroulement de l'étude finale sur 9 mois (octobre à juin) afin de cadrer les périodes habituelles de contamination des ressources
- ◆ Diversification des ressources et étude des variations saisonnières pour assurer une meilleure généralisation des résultats, et avoir des communes alimentées par une eau "vraiment" contaminée. Deux nouvelles ressources ont été identifiées; l'analyse des eaux brutes a permis de retrouver une contamination virale conséquente
- ◆ Amélioration de la sensibilité du dispositif d'alerte : accroissement de la taille de la population suivie et utilisation des données d'incidence des 2 derniers jours d'observation au lieu du seul jour d'appel, afin de déterminer la survenue d'un épisode épidémique.

IV - CONCLUSIONS

Cette étude de faisabilité a mis en évidence certaines limites du protocole initial et a permis d'y trouver des solutions. Elle a montré la bonne acceptabilité du protocole par les collectivités locales et les volontaires ainsi que le bon fonctionnement du dispositif de contrôle microbiologique de l'eau, y compris en cas d'urgence (alerte). Le caractère original de ces données les a fait retenir pour des communications dans 3 congrès internationaux récents (cf annexe).

La question centrale à laquelle ce projet de recherche se propose de répondre est celle de la validation des fonctions dose-réponse du risque viral, en vue de leur emploi dans le cadre de l'évaluation puis de la gestion du risque microbiologique d'origine hydrique. Ses résultats pourront déboucher sur de nouveaux efforts de recherche, ciblés, concernant les indicateurs microbiologiques du risque viral ou parasitaire. Ils jetteront des bases quantitatives pour le dimensionnement des installations de traitement, mieux adaptées à la qualité des ressources utilisées, sur la base de critères sanitaires. Ils permettront d'engager une réflexion, plus générale, sur le concept du « risque acceptable », une fois reconnue l'impossibilité de garantir un risque nul, en donnant une mesure du risque viral et parasitaire résiduel dans des réseaux d'eau répondant aux critères microbiologiques actuellement en vigueur.

Le choix de ressources particulières, non représentatives de l'ensemble des réseaux de distribution en France (réseaux où l'eau brute est traitée par simple chloration), n'affecte pas l'intérêt plus général des résultats attendus, au delà de ces types de réseaux, dès lors qu'auront pu être caractérisées les concentrations des pathogènes **dans les eaux distribuées**. Cependant, il ne sera pas possible d'extrapoler ces résultats pour apprécier les risques sanitaires encourus en aval d'une station de traitement conventionnel (sédimentation, filtration...) si seules sont connues des concentrations de pathogènes avant traitement. Plusieurs incertitudes demeurent pour se livrer à cet exercice, notamment les facteurs d'abattement des concentrations par les traitements. Il s'agit là d'un autre domaine de recherche.

ANNEXE TECHNIQUE

RECHERCHE DES VIRUS PAR PCR DANS DES PRELEVEMENTS D'EAU :

• Recherche des Entérovirus, Rotavirus et Astrovirus

Analyses effectuées par O. Genoulaz et B. Gratacap (laboratoire de virologie du CHU de Grenoble).

Echantillons

Prélèvements de 4.5 l ou 10 l d'eau brute ou d'eau distribuée aux communes étudiées.

Techniques

- 1- Concentration des échantillons
 - par ultracentrifugation tangentielle, appareil Minitan = 4.5 ou 10 l \Rightarrow 15 ml
 - puis par ultrafiltres (ultafree - 15 de Millipore) 15 ml \Rightarrow 0.5 à 1 ml
- 2- Extraction des ARN viraux
 - Kit High pure viral DNA (Boehringer)
- 3- Amplification des ARN viraux
 - PCR entérovirus : amplification de 400 paires de bases dans la région 5' non codante permettant la détection de tous les entérovirus humains
 - PCR rotavirus : amplification de 392 paires de bases dans la région VP7, permettant la détection des rotavirus humains et animaux
 - PCR astrovirus : amplification de 289 paires de bases dans la région de la protéase (ORF1 a)
- 4- Révélation par Southern Blot et hybridation à l'aide d'une sonde spécifique pour chaque virus. Pour l'étude finale les résultats seront exprimés sous forme semi-quantitative à l'aide d'un standard externe pour chaque virus (plasmide de produit PCR cloné) permettant la réalisation d'une gamme témoin (approximativement 200 à 200 000 équivalent copies).
- 5- Seuil de sensibilité :
 - Entérovirus : 0.1 à 1 DICT 50 (Dose inhibant les cultures cellulaires à 50 %)
 - Rotavirus : 1 DICT 50
 - Astrovirus : en cours d'évaluation (1 à 100 DICT 50)

TECHNIQUE DE DETECTION DES PARASITES *GIARDIA* ET *CRYPTOSPORIDIUM*

La méthode consiste à concentrer les parasites par filtration sur une cartouche Envirochek en polyether sulfone de 1 μ m. Une élution des parasites est effectuée par agitation mécanique. L'éluat est concentré par centrifugation puis purifié par flotation. Le dénombrement des parasites se fait par microscopie après coloration du concentrat par immunofluorescence. Le résultat s'exprime en parasites par litre selon le calcul suivant : $N = X * 1000 * V_{\text{final}} / V_{\text{initial}} * V_{\text{mb}}$

X = nbre de parasites lus au microscope

N = nbre de parasites par litre

V final = Vol final concentrat (# 5 ml)

V initial = Vol traité (100 l)

V mb = Vol coloré (100 μ l)

ANNEXES

LA SANTE AU ROBINET

Profils de consommation et état de santé des populations alimentées par une eau de boisson de bonne qualité.

ETUDE PILOTE

La contamination microbiologique de l'eau est connue pour entraîner des troubles digestifs parfois sérieux chez les consommateurs. En revanche, **l'état de santé d'une population alimentée par une eau de bonne qualité microbiologique est mal connue**. Celle-ci peut être définie comme une eau répondant régulièrement aux normes de potabilité en vigueur. Or, même lorsque l'eau distribuée est de qualité satisfaisante, il persiste dans la population desservie un « bruit de fond » de troubles digestifs, anodins le plus souvent, qu'il est important d'évaluer pour mieux le distinguer des effets sanitaires d'une eau de mauvaise qualité.

Cette connaissance est utile pour dimensionner les efforts visant à garantir la qualité de l'eau potable.

L'objectif de l'étude « la Santé au Robinet » est double :

- ◆ Il s'agit de décrire la fréquence des troubles digestifs dans une population desservie par une eau du robinet de bonne qualité, en particulier chez les enfants de 4 à 12 ans.
- ◆ Il s'agit aussi de connaître les profils de consommation des différents types d'eau de boisson dans la population (eau de robinet, eau embouteillée), avec leur différents usages.

Pour atteindre ces objectifs, une étude pilote devrait se dérouler dans les communes de St Laurent du Pont, Entre Deux Guiers et les Echelles (Isère et Savoie), choisies pour la qualité de l'eau délivrée aux consommateurs et pour leur proximité géographique. Cette étude, d'une durée de 4 mois, constitue la première phase d'une recherche financée par le programme interministériel « Environnement et Santé » et par les Agences de l'Eau. La seconde phase du projet consistera en une étude d'une durée de 9 mois qui sera mise en place en 1998-99 à l'issue de l'étude pilote.

L'étude sera conduite en collaboration entre la Faculté de Médecine de Grenoble (Laboratoire de Santé Publique) et les DDASS de l'Isère et de la Savoie.

Elle associera également le Laboratoire régional d'analyses des eaux de Grenoble, le Laboratoire de Virologie du CHU de Grenoble, le CAREPS (Centre Régional de Recherche Epidémiologique), le Laboratoire d'Hygiène et de Santé Publique de Nancy et le Département Santé-Environnement de l'Ecole Nationale de Santé Publique (Rennes).

Pour l'étude pilote, les responsables du projet espèrent la participation de 200 familles volontaires (dont une majorité avec enfants) réparties dans les 3 communes. Il leur sera demandé de noter quotidiennement sur un registre l'apparition éventuelle de troubles digestifs pour chaque membre de la famille.

A deux reprises au cours de l'étude, elles seront invitées à noter leur consommation d'eau de boisson, sous toutes ses formes.

En parallèle, une vérification de la qualité microbiologique de l'eau sera réalisée par l'analyse de l'eau brute et de l'eau en distribution, trois fois au cours de l'étude. Cette vérification se fera également par le prélèvement quotidien d'eau au robinet d'un foyer volontaire par commune, prélèvement dont l'analyse ne sera pas systématique. En effet, l'analyse n'aura lieu que si la surveillance téléphonique fait apparaître une augmentation de troubles digestifs dans la population étudiée.

Le concours des familles des trois communes sera sollicité, notamment par voie de presse, début octobre, après la rentrée scolaire. Pendant l'étude pilote - de fin octobre 97 à fin février 98- un enquêteur les contactera par téléphone une fois par semaine (du lundi au vendredi) afin de relever les informations notées sur les fiches d'enregistrement.

Toutes les informations recueillies pour cette étude seront exploitées de manière rigoureusement anonyme et confidentielle.

Pour tout renseignement :

Dr. D. ZMIROU et Leïla GOFTI (coordonnateurs de l'étude) : Faculté de Médecine de Grenoble, tél : 04 76 63 88 15 ou tel/fax : 04 76 63 74 19.

Principaux partenaires :

A ALEXANDRE-BIRD, L. BELLEVILLE (DDASS de l'Isère), P. CABAGNOLS (DDASS de Savoie), Prof. JM SEIGNEURIN (CHU de Grenoble), P. CHEVALLIER (Laboratoire régional des eaux, Grenoble) ; JL POTELON (ENSP, Rennes), Prof. Ph. HARTEMANN (CHU de Nancy).



DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, MEDECINE PREVENTIVE

Grenoble, le 6 octobre 1997

DOCTEUR D. ZMIROU, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR M.R. MALLARET, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR P. FRANCOIS, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR D. BERTRAND, Assistante des Universités
F. BALDUCCI, Statisticien
Y. LACOSTE, Secrétariat

Dr Denis ZMIROU
Leila GOFTI

Objet : appel à volontaire pour l'étude scientifique « la santé au robinet ».

Madame, Monsieur,

Notre équipe prépare, dans le cadre d'un programme national de recherche, une étude sur la **santé des personnes alimentées par une eau de robinet de qualité microbiologique satisfaisante**. La préservation de la qualité de l'eau distribuée à la population reste, en effet, un objectif prioritaire en Santé Publique. Les travaux scientifiques conduits depuis quelques années par les chercheurs grenoblois ont contribué à une meilleure connaissance dans ce domaine. Nous sollicitons aujourd'hui votre concours pour nous aider à mesurer les progrès réalisés et à orienter les efforts qui restent à mener.

L'étude en préparation se déroulera entre octobre 1997 et février 1998. En accord avec les municipalités concernées, les DDASS de l'Isère et de la Savoie ont choisi 3 communes pour la qualité de l'eau délivrée aux consommateurs et pour leur proximité géographique. Il s'agit de **Saint Laurent du Pont, Entre-deux-Guiers et Les Echelles**.

L'enquête repose sur la participation d'environ 200 familles volontaires, une majorité avec enfant(s) d'âge scolaire (4 à 12 ans), réparties dans les 3 communes, à qui il sera demandé :

- de noter tous les jours pendant 16 semaines (hors vacances scolaires) les éventuels troubles digestifs apparus parmi les membres de la famille,
- de répondre 1 fois par semaine à un enquêteur téléphonique qui notera les informations des jours précédents,
- de répondre 2 fois pendant l'étude à un court questionnaire sur leur consommation d'eau.

Cette étude scientifique ne peut donc être engagée qu'avec votre participation. Nous espérons que vous accepterez d'y collaborer étant donné son intérêt majeur pour la Santé Publique. Dans cette optique, nous vous serions reconnaissants d'exprimer votre intérêt en renvoyant au CAREPS le coupon réponse ci-joint, avec vos noms et adresse. Nous vous adresserons alors les documents (courts et simples) nécessaires au bon déroulement de l'étude. **Toutes les informations recueillies seront exploitées de manière rigoureusement anonyme et confidentielle.**

En vous remerciant par avance de l'intérêt que vous porterez à cette étude, et en espérant vivement que vous nous apporterez votre concours, nous vous prions de recevoir, Madame, Monsieur, nos meilleures salutations.

Dr D. ZMIROU

L. GOFTI

Pour tout complément d'information, n'hésitez pas à nous contacter : Dr D. ZMIROU et L. GOFTI (coordonateurs de l'étude) au 04 76 63 88 15 ou au 04 76 63 74 19.

-LA SANTE AU ROBINET-

Rôle de l'enquêteur-technicien

Etude de 16 semaines entre décembre et mars 1997.

A - Activité principale :

Surveillance épidémiologique par téléphone, du lundi au vendredi, de 16 h à 20 h.

Documents de travail :

1. Liste générale des familles faisant partie de l'étude
2. Liste des familles, avec leur code et leur n° de téléphone, à contacter un soir donné de la semaine (du lundi au vendredi, cette liste est changée pour contacter toutes les familles en 1 semaine).
3. Les fiches de suivi des familles à contacter. 1 fiche est réservée à 1 famille pour l'ensemble des 16 semaines de l'étude. Il s'agit de noter l'absence ou la présence de troubles digestifs au cours de la semaine écoulée.
4. Les fiches individuelles d'enregistrement des TDA à remplir si nécessaire.

Mission :

(La 1^{ère} semaine d'appels téléphoniques, vérifier que les familles volontaires n'ont pas de questions en suspens quant au déroulement de l'étude).

Tous les soirs de la surveillance téléphonique :

1. Cocher au fur et à mesure les familles qui ont effectivement été jointes.
2. Cocher les fiches de suivi des familles.
3. Cocher si nécessaire la fiche individuelle d'enregistrement des TDA.
4. Lorsque toutes les familles d'un soir donné ont été contactées, me communiquer les résultats pour déterminer si le seuil épidémique a été dépassé ou non. L'alerte sera déterminée sur le **nombre de cas de troubles digestifs apparus le jour de l'appel.**

B - Si l'alerte est décidée un soir donné

1. Appeler la sentinelle pour lui demander de remplir d'eau de robinet 1 flacon de 500 ml et 1 flacon de 5 l (flacons dont elle dispose en réserve). L'étiquetage de ces flacons devra être correctement complété par la sentinelle, et vérifié le lendemain par l'enquêteur. Pour ce recueil, rappeler à la sentinelle de suivre la procédure de flambage qui lui aura été expliquée au préalable. Convenir avec elle de l'horaire de passage, le plus tôt possible, le lendemain matin.

2. Le matin, filtrer sur la cartouche placée au robinet 100 l d'eau selon la procédure établie (ne pas oublier le débitmètre). L'étiquetage de la cartouche devra être complété par le lieu et la date du prélèvement. La cartouche devra être placée dans la glacière à 4°C.
3. 3 lieux pour ramener les prélèvements : porter au laboratoire d'analyse des eaux les flacons « bactério » (500 ml et 5 l) ; me porter la cartouche « parasito » pour l'envoi en chronopost ; enfin, porter au laboratoire de virologie les 3 échantillons d'eau « viro » (flacons 3×1.5 litres, qui ont été conservés par la sentinelle dans son frigo au cours des 3 à 5 jours précédents) et commencer leur concentration pour la PCR. Il faut compter plus de 2 h de concentration pour un échantillon d'eau de 4.5 l. La surveillance téléphonique de ce soir particulier sera assurée par moi même.
4. Le lendemain matin, terminer la concentration des échantillons, et reprendre le rythme normal d'appels de surveillance téléphonique dès le soir.

C - 3 campagnes de prélèvements d'eau pour les analyses de routine

Les prélèvements devront être effectués le mardi matin.

- 4 échantillons d'eau à prélever :

Prélèvement dans 1 flacon de 500 ml et 1 flacon de 5 l pour la bactériologie.

Prélèvement de 3 flacons de 1.5 l d'eau pour la virologie.

Filtration de 100 l d'eau sur la cartouche destinée à l'analyse des protozoaires.

- Les analyses doivent porter d'une part sur l'eau brute et d'autre part sur l'eau distribuée des 3 communes d'étude. Les échantillons sont donc à prélever sur 4 sites seulement, car l'eau brute de St Laurent du Pont n'est pas traitée, et Entre deux Guiers et Les Echelles possèdent la même ressource.

- Porter au laboratoire d'analyse des eaux les flacons « bactério » ; me porter les cartouche « parasito » pour l'envoi en chronopost ; enfin, porter au laboratoire de virologie les échantillons d'eau « viro » (flacons 3×1.5 litres), et commencer leur concentration pour la PCR. La surveillance téléphonique du soir sera assurée par moi même.

Reprendre le lendemain au soir le rythme d'appels de surveillance téléphonique.

MODALITES DE PRELEVEMENT POUR LES ANALYSES VIROLOGIQUES ET BACTERIOLOGIQUES

Pour l'analyse bactériologique de l'eau, des flacons de 1 l (par groupe de 5) et des flacons de 500 ml sont fournis. Ils doivent être conservés dans un endroit tempéré et sec, non exposé directement à la lumière. Comme les flacons en verre destinés à l'analyse virologique, ces flacons destinés à l'analyse bactériologique sont **stériles**. Il est indispensable qu'ils le restent !

IL FAUT ETIQUETER LES FLACONS AVANT CHAQUE PRELEVEMENT

Pour le prélèvement d'eau dans les **flacons virologiques** (ceux en verre), il suffit de se laver les mains, d'ouvrir le flacon sans toucher le goulot et les parois intérieures du flacon, de placer le flacon sous le robinet (en évitant le contact flacon-robinet) et de le remplir d'eau (jusqu'au goulot). **Remplir 3 flacons de 1,5 l**.

Pour les prélèvements d'eau dans les **flacons bactériologiques**, le protocole est plus rigoureux car la stérilité doit absolument être préservée (il faut éviter l'éventuelle contamination microbienne du milieu, en particulier du robinet) :

Il faudra remplir selon le protocole suivant, chaque fois, 5 flacons de 1 l et 1 flacon de 500 ml

- 1- Se laver soigneusement les mains.**
- 2- Flamber le robinet au chalumeau après avoir enlevé le brise jet.**
- 3- Faire couler l'eau pendant au moins 2 minutes.**
- 4- Dessertir le flacon. Ne pas rincer et laisser le réactif dans le flacon. Faire le prélèvement sans mettre les mains sur le goulot ni sur la partie intérieure du bouchon et du flacon. Refermer soigneusement le flacon.**
- 5- Placer immédiatement les flacons ainsi remplis au réfrigérateur.**

En partant, placer les flacons de virologie dans un carton et les flacons de bactériologie dans la glacière orange, AVEC PRIORITE AUX FLACONS DE 500 ml !!!

Porter la bactério au labo d'analyse des eaux (Montbonnot) avant 13 h (ou juste après 14 h).

Me porter la parasito.

Aller en Viro pour la concentration des échantillons.

FICHE DESCRIPTIVE DE LA FAMILLE

Merci de bien vouloir remplir cette fiche et de la retourner au moyen de l'enveloppe T ci-jointe. (Toutes les informations recueillies pour l'enquête seront exploitées de manière rigoureusement anonyme et confidentielle.)

(Ne rien inscrire dans ce cadre)

- **Nom de famille** : CODE

- **Adresse** :
 **Commune**

- **Téléphone** : (Domicile) (Professionnel)

- **Vous habitez** :
 - Une maison individuelle (1)
 - Un immeuble collectif (2)

Veuillez préciser l'étage /--/--/

- **La consommation d'eau embouteillée du foyer est (en litres/semaine)** : /--/--/

- **Quel jour (du lundi au vendredi) et dans quelle tranche horaire (16 h-20 h), préférez-vous être appelé(e) chaque semaine pour que nous puissions retranscrire les informations que vous aurez notées sur la fiche d'enregistrement ?**

	16 h	17 h	18 h	19 h	20 h
Lundi				
Mardi [-----] *				
Mercredi				
Jeudi				
Vendredi				

* **Exemple** : Si le mardi de 18 h à 20 h vous convient.

- **Informations complémentaires** :
-
-
-

FICHE INDIVIDUELLE

Merci de bien vouloir remplir ce questionnaire et de le retourner avec la fiche familiale au moyen de l'enveloppe T.

(Ne rien inscrire dans ce cadre)

• Nom et prénom : CODE

• Age : /--/--/ ans
(Si nourrisson, indiquer < 1)

- **Activité :** Veuillez cocher la case correspondante
- Au foyer (1)
 - Scolaire (ou pré scolaire)/étudiant (2)
 - Activité professionnelle (3)
Préciser votre profession :
 - Recherche d'emploi (4)
Préciser votre profession :
 - Retraité (5)
Préciser votre profession :
 - Autre (6)
Préciser :

- **Vous consommez l'eau du robinet :**
- | | | | | | |
|----------|--------------------------|-----|---------------|-------------------------------|--------------------------|
| Toujours | <input type="checkbox"/> | (1) | } dans ce cas | - Après l'avoir laissé couler | <input type="checkbox"/> |
| Parfois | <input type="checkbox"/> | (2) | | - Dès le 1 ^{er} jet | <input type="checkbox"/> |
| Jamais | <input type="checkbox"/> | (3) | | | |

- (code postal)
- Commune du lieu de travail, si autre que le domicile : /--/--/--/--/
 - Commune où s'exerce une activité régulière (ex : sport au moins une fois par semaine), si autre que le domicile : /--/--/--/--/
 - Commune du lieu où se prennent les repas (restaurant, cantine...) , si autre que le domicile :
 - Petit déjeuner : /--/--/--/--/
 - Déjeuner : /--/--/--/--/
 - Dîner : /--/--/--/--/



ETUDE LA SANTE AU ROBINET

Je soussigné (Nom et prénom)

résidant à

atteste avoir été informé(e) des objectifs du protocole de l'étude « la Santé au Robinet » à laquelle j'accepte de participer. J'ai notamment reçu le document résumé du projet et la copie des questionnaires de l'enquête.

Cette étude améliorera les connaissances scientifiques sur les relations entre la santé et la qualité de l'eau de boisson.

Je sais que j'ai la possibilité à tout moment de me retirer de l'étude. J'ai été informé(e) de mon droit d'accès aux informations qui seront recueillies sur moi même et ma famille dans le cadre de cette étude, et de la possibilité de demander, s'il y a lieu, la correction des données inexactes.

Le lieu où seront disponibles les informations recueillies, et où elles pourront être corrigées en cas d'erreur, est :

*Laboratoire de Santé Publique, Faculté de Médecine de Grenoble, 38 700 La Tronche
(Dr D. ZMIROU) Tel/Fax : 04 76 63 74 19*

Fait à, le 1997



Département de santé Publique

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, MEDECINE PREVENTIVE

Docteur D. ZMIROU, Maître de Conférence des Universités

Docteur M.R. MALLARET, Maître de Conférence des Universités

Docteur P. FRANCOIS, Maître de Conférence des Universités

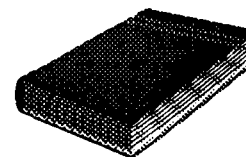
Docteur D. BERTRAND, Assistante des Universités

F. BALDUCCI, Statisticien

Y. LACOSTE, Secrétariat

« LA SANTE AU ROBINET »

*FICHES FAMILIALES D'ENREGISTREMENT
DES TROUBLES DIGESTIFS*



Nom de famille :

Notice d'utilisation :

Principe de l'étude :

Il s'agit de décrire la fréquence des troubles digestifs (TD) dans une population consommant une eau de robinet de bonne qualité. En effet, même lorsque l'eau distribuée est de qualité satisfaisante, il persiste dans cette population un « bruit de fond » de TD, anodins le plus souvent. Il est important d'évaluer ce « bruit de fond » pour mieux le distinguer des effets sanitaires d'une eau de mauvaise qualité. Les connaissances apportées par l'étude « la santé au robinet » seront utiles pour mieux dimensionner les efforts visant à garantir la qualité de l'eau potable.

Mode de remplissage : (effectué par un adulte)

Ce registre est conçu pour relever la fréquence des TD dans votre famille. Il comprend 16 feuillets correspondants aux 16 semaines que dure l'étude. Il doit être rempli **tous les jours** (excepté ceux que toute la famille passe en dehors de la commune) et ce, **pour toutes les personnes** vivant dans votre foyer. **Changez de feuillet chaque lundi** et veuillez noter la date au début de chaque semaine.

Un jour donné, si aucun membre du foyer n'a présenté de troubles, veuillez cocher la première ligne du tableau. Si un ou plusieurs membre(s) du foyer présente(nt) un ou plusieurs troubles, veuillez noter les **3 premières lettres de leurs prénom(s)** dans chaque case correspondante. (Si une seule personne est atteinte un jour donné, il suffit de noter le début de son prénom une seule fois, par exemple dans la 1^{ère} case qui la concerne).

- Pour remplir la case « Fièvre » : noter le début du prénom, et préciser la température relevée.
« Signes respiratoires » (toux, bronchite...) : si c'est le cas, noter juste le début du prénom
« Absence » : si c'est le cas, noter le début du prénom.
« Consultation médicale » : il s'agit de la consultation en rapport avec les signes notés dans les cases précédentes.
« Causes des troubles » : noter le début du prénom et la cause possible associée aux troubles de la personne.

Un enquêteur téléphonique du CAREPS vous contactera une fois par semaine pour relever les informations notées sur ce registre.

Nous vous remercions pour votre participation et restons à votre disposition pour tout renseignement complémentaire.

CAREPS - Centre Rhône-Alpes d'Epidémiologie et de Prévention Sanitaire. CHU Grenoble-BP 217-38043 GRENOBLE CEDEX 9. Tel : 0476511056-Fax : 0476510306
Pour tout renseignement : Leila GOFTI et Dr Denis ZMIROU (coordonateurs de l'étude, Faculté de Médecine de Grenoble) au **04 76 63 88 15** ou
Tel/Fax : 04 76 63 74 19.

		Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Si pas de troubles dans la famille : cocher (x)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sinon, veuillez noter les 3 premières lettres du prénom de chaque personne qui a présenté des troubles dans la case correspondante :								
Signes digestifs	Douleurs abdominales							
	Nausées							
	Vomissements							
	Diarrhées *							
Autres signes	Fièvre **							
	Signes respiratoires							
	Autres (Préciser)							
Attitude adoptée	Absence (travail/école)							
	Consultation médicale							
	Prise de médicaments							
	Cause des troubles ? ***							

* C'est à dire au moins 2 selles molles/jour

** Veuillez préciser la température

*** (Facultatif). Si vous pensez (vous ou le médecin) à une cause possible des troubles, veuillez l'indiquer.

Merci

FICHE INDIVIDUELLE D'ENREGISTREMENT DE LA CONSOMMATION D'EAU DE BOISSON DU MARDI(ou jour de semaine) ET DU SAMEDI (ou dimanche)

(Veuillez remplir une fiche pour chaque membre du foyer et nous les renvoyer par courrier dans l'enveloppe T ci-jointe)

Nom et prénom : (Ne rien inscrire dans ce cadre)
CODE :

Commune :

♣ Veuillez indiquer (approximativement) votre consommation **d'eau du robinet** (1 verre équivaut à 20 cl) :

	Consommation dans la commune du domicile (en nombre de verres) en distinguant :			Consommation totale hors de la commune (en nombre de verres) :
	Eau du robinet bue « pure » (sans modification)	Eau ajoutée (sirop, jus...)	Eau chauffée (thé, café...)	
Consommation du mardi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Consommation du samedi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

♣ Veuillez indiquer (approximativement) votre consommation **d'eau embouteillée** (1 verre équivaut à 20 cl) :

	Consommation (en nombre de verres)
Consommation du Mardi	<input type="checkbox"/>
Consommation du Samedi	<input type="checkbox"/>

♣ Au cours de l'étude, vous est-il arrivé d'arrêter provisoirement de boire l'eau du robinet ?

Je n'ai jamais arrêté de boire l'eau du robinet

Il m'est arrivé d'arrêter de boire l'eau du robinet

Si c'est le cas, pourquoi ?

.....

FICHE A REMPLIR PAR L'ENQUETEUR TELEPHONIQUE (une par famille)

CODE FAMILLE :

Cocher la case correspondante :

Date de l'appel	Pas de troubles (0)	Troubles signalés, dans ce <u>cas remplir la fiche</u> <u>d'information</u> <u>complémentaire</u> (1)
Semaine 1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 6	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 7	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 8	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 9	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 10	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 11	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 12	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 13	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 14	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 15	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Semaine 16	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Document récapitulatif pour l'enquêteur

Semaine n°

Commune

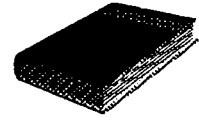
Soir d'appel :	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
Nombre de familles interrogées :					
Nombre d'individus interrogés :					
Nombre de cas de Troubles Digestifs Aigus (incidents) le soir d'appel :					

Entre deux Guiers

Soir d'appel :	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
Nombre de familles interrogées :					
Nombre d'individus interrogés :					
Nombre de cas de Troubles Digestifs Aigus (incidents) le soir d'appel :					

Les Echelles

Soir d'appel :	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
Nombre de familles interrogées :					
Nombre d'individus interrogés :					
Nombre de cas de Troubles Digestifs Aigus (incidents) le soir d'appel :					



ETUDE « LA SANTE AU ROBINET »

Note explicative à l'attention des personnes « sentinelles »

Objectif de l'étude

Il s'agit de décrire la fréquence des troubles digestifs dans une population consommant une eau de robinet de qualité satisfaisante, c'est à dire qui respecte les normes microbiologiques depuis plus de 3 ans.

Principe de l'étude

La fréquence des troubles digestifs anodins (diarrhées, maux de ventre ...) dans une population, en l'absence de toute contamination de l'eau distribuée, représente le « bruit de fond » des troubles digestifs qu'il est important d'évaluer. La mesure de ce « bruit de fond » ne peut se faire que dans les communes où l'eau est de bonne qualité, c'est à dire là où les troubles digestifs ont donc d'autres origines possibles (alimentation, virus respiratoires ...). La connaissance du « bruit de fond » est particulièrement utile pour les communes où l'eau est de mauvaise qualité car elle permet de quantifier précisément la part des troubles digestifs liée à la contamination de l'eau. La connaissance du « bruit de fond » contribuera donc, là où cela est nécessaire, à améliorer le contrôle de la qualité de l'eau distribuée.

L'étude repose sur la participation de familles volontaires sur 3 communes de Chartreuse : Saint Laurent du Pont, Entre deux Guiers et Les Echelles. Chaque famille dispose d'un registre d'auto-enregistrement quotidien des troubles digestifs survenus parmi ses membres. Il doit être rempli par un membre référent qui sera contacté de manière hebdomadaire par téléphone. Au cours des appels, l'enquêteur notera le nombre de personnes ayant présenté des troubles au cours de la semaine écoulée. Lorsqu'un soir donné, le nombre de cas dans une commune aura augmenté de façon significative, des analyses bactériologiques, virologiques et parasitologiques seront réalisées pour contrôler la qualité de l'eau du robinet.

Rôle de la sentinelle

Un frigo, un lot de flacons de 1.5 l, des flacons de 500 ml, 5 l, et des étiquettes (à compléter et à coller sur les flacons lors du prélèvement) sont fournis à la sentinelle au début de l'étude.

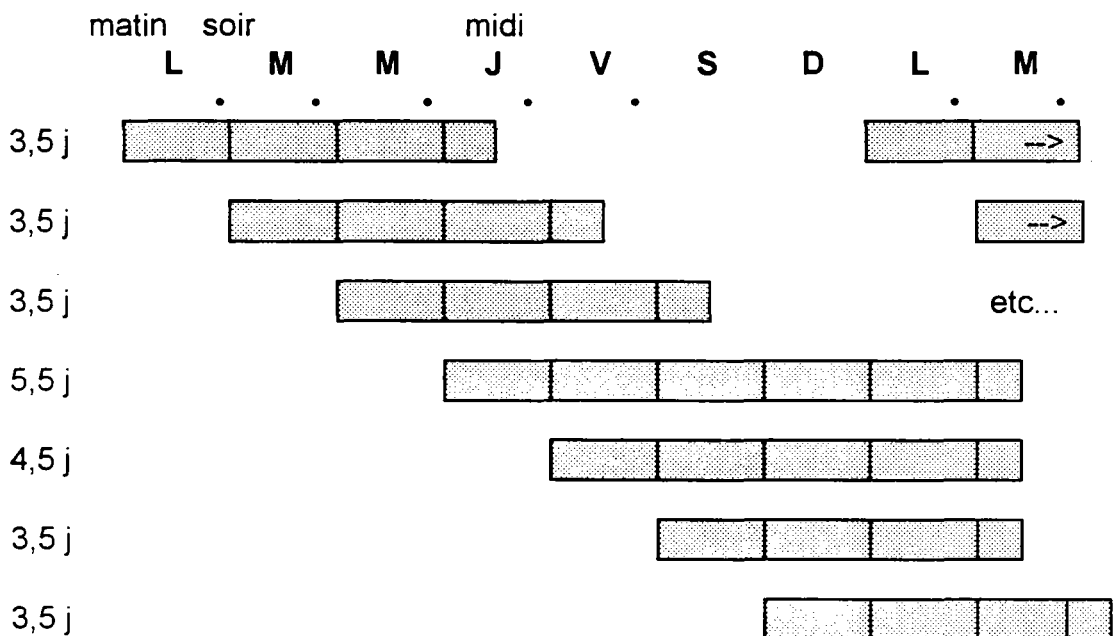


Recueil de l'eau pour les analyses en cas d'augmentation des troubles digestifs

Grâce à la participation d'un volontaire ("sentinelle") par commune, rémunéré (500 FF net/mois) et équipé à cet effet (frigo et flacons), un dispositif est mis en place pour limiter le nombre d'analyses à réaliser pendant l'étude. Comme les conditions de conservation des échantillons d'eau diffèrent selon qu'ils sont destinés à l'analyse bactériologique, virologiques ou parasitologique, le prélèvement de chaque échantillon devra se faire différemment :

Analyses virologiques :

Chaque matin, la sentinelle prélèvera 3 flacons d'eau de robinet de 1,5 l chacun, à conserver au frigo, de 3,5 à 5,5 jours selon la séquence décrite au schéma suivant :



(*) **Jours de surveillance épidémiologique (appel téléphonique)** et **durée de conservation (à 4°) d'échantillons d'eau (3 x 1,5 l) prélevés en distribution.** Note : Les flacons prélevés les jeudis et vendredis matins seront conservés plus longtemps pour pouvoir analyser l'eau du week-end, si nécessaire.

L'intérêt de ce dispositif réside dans son couplage temporel avec le système de surveillance épidémiologique. En effet, en cas de survenue d'un pic de troubles digestifs, ces flacons seront utilisés pour caractériser rétrospectivement la qualité virologique de l'eau. A cet effet, la sentinelle sera prévenue que les flacons correspondants devront être conservés jusqu'au passage de l'enquêteur le lendemain. En l'absence de pic, les flacons seront vidés de leur contenu au terme



de la durée de conservation prévue (de 3.5 à 5.5 jours selon les cas). Les flacons vidés devront être mis de côté, et ne plus être réutilisés. Ils seront récupérés par l'enquêteur lors de son passage pour être stérilisés.

Analyses bactériologiques

Si un pic de troubles digestifs apparaît un soir donné, la sentinelle sera contactée dans la soirée par l'enquêteur pour prélever de l'eau du robinet dans un flacon de 500 ml et dans un flacon de 5 l (les flacons devront être étiquetés). Ces flacons seront mis au frigo et récupérés le lendemain pour analyse. Le mode de prélèvement à suivre sera fourni.

Analyses parasitologiques

Ces analyses seront réalisées au domicile de la sentinelle par l'enquêteur le matin qui suivra un pic de troubles digestifs, lors de son passage pour récupérer les flacons des analyses virologiques et bactériologiques.

En résumé : Chaque fois qu'un pic de troubles digestifs sera apparu à l'enquêteur un soir donné (du lundi au vendredi), celui-ci contactera la sentinelle pour lui demander de remplir les flacons de 500 ml et de 5 l, et pour convenir d'un horaire de passage le lendemain matin pour récupérer les différents échantillons d'eau.

En plus de ces analyses dans le cadre de pics, des analyses dites « de routine » seront également réalisées dans chaque commune, 3 fois au cours de l'étude, sur l'eau de distribution et sur la ressource, afin de vérifier la qualité habituelle de l'eau. Ces analyses seront réalisées par l'enquêteur.

Les analyses virologiques seront effectuées par le service de virologie de l'Université de Grenoble (Prof. JM. SEIGNEURIN, CHU); les analyses bactériologiques seront effectuées par le Laboratoire régional d'analyses des eaux de Grenoble (P. CHEVALLIER), les analyses parasitologiques seront effectuées par le laboratoire central de la CGE.



- Document Sentinelle -

MODALITES DE PRELEVEMENT POUR LES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

(d'après le protocole du Laboratoire Régional d'Analyse des Eaux, faculté de Médecine. 38 700 LA TRONCHE)

Pour l'analyse bactériologique de l'eau, des flacons de 1 l (par groupe de 5) et des flacons de 500 ml sont fournis. Ils doivent être conservés dans un endroit tempéré et sec, non exposé directement à la lumière. Comme les flacons en verre destinés à l'analyse virologique, ces flacons destinés à l'analyse bactériologique sont **stériles**. Il est indispensable qu'ils le restent !

Pour le prélèvement d'eau dans les **flacons virologiques** (ceux en verre, à remplir tous les jours), il suffit de se laver les mains, d'ouvrir le flacon sans toucher le goulot et les parois intérieures du flacon, de placer le flacon sous le robinet (en évitant le contact flacon-robinet) et de le remplir d'eau (jusqu'au goulot).

Pour les prélèvements d'eau dans les **flacons bactériologiques**, le protocole est plus rigoureux car la stérilité doit absolument être préservée (il faut éviter l'éventuelle contamination microbienne du milieu, en particulier du robinet) :

Il faudra remplir selon le protocole suivant, chaque fois, 5 flacons de 1 l et 1 flacon de 500 ml

- 1- Se laver soigneusement les mains.**
- 2- Flamber le robinet après avoir enlevé le brise jet. Un petit chalumeau est fourni.**
- 3- Faire couler l'eau pendant au moins 2 minutes.**
- 4- Dessertir le flacon. Ne pas rincer et laisser le réactif dans le flacon. Faire le prélèvement sans mettre les mains sur le goulot ni sur la partie intérieure du bouchon et du flacon. Refermer soigneusement le flacon.**
- 5- Placer immédiatement les 5 flacons de 1 l et le flacon de 500 ml ainsi remplis au réfrigérateur.**



DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, MEDECINE PREVENTIVE

DOCTEUR D. ZMIROU, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR M.R. MALLARET, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR P. FRANCOIS, Maître de Conférence des Universités
DOCTEUR D. BERTRAND, Assistante des Universités
F. BALDUCCI, Statisticien
Y. LACOSTE, Secrétariat

LISTES DES COMMUNICATIONS ISSUES DE L'ETUDE PILOTE

- "Evaluation du risque microbiologique d'origine hydrique : un état de l'art et des perspectives"
GOFTI L; ZMIROU D; SEIGLE-MURANDI F; HARTEMANN Ph; POTELON JL.
Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique, Revue de la littérature, Février 1999 (sous presse).
- "L'évaluation du risque microbiologique d'origine hydrique. Validation épidémiologique des fonctions dose-réponse du risque viral; évaluation du risque parasitaire".
GOFTI L; ZMIROU D; SEIGNEURIN JM; CHEVALLIER P; DELORAINE A.
Congrès conjoint Association des Epidémiologistes de Langue Française & International Epidemiological Association Joint Congress.
Bordeaux; 14-17 septembre 1998.
- "Waterborne parasitological risk assessment in France".
GOFTI L; ZMIROU D.
Society for Risk Analysis : Open de process
Paris; 12- 15 octobre 1998.
- "Discrepancies between observed number of acute digestive conditions and expected number of cases associated with *Cryptosporidium*".
GOFTI L; JORET JC; DE ROUBIN MR; POTELON JL; ZMIROU D.
Source Water Protection AWWA Symposium
San Francisco; 28-30 octobre 1998.