



**LES APPROCHES METHODOLOGIQUES  
UTILISEES POUR L'ÉTUDE DES EFFETS  
DES FAIBLES DOSES DANS LE  
DOMAINE DE LA MICROBIOLOGIE**

**Pierre-André CABANES**

**Service des Etudes Médicales EDF-GDF**

**25 janvier 2007**

# L'évaluation du risque : une démarche structurée dans un contexte d'incertitude

- ◆ Synthèse des connaissances pour définir les effets sur la santé d'une exposition d'individus ou de populations à des matériaux ou à des situations dangereuses
- ➔ adaptation aux risques microbiologiques
  - plus récente
  - notamment pour l'eau de boisson et le risque alimentaire
  - encore peu appliquée pour d'autres voies d'exposition



# 1ère étape : Identification du danger

- ◆ Connaissance du pathogène
  - Ecologie : habitat naturel, capacité à se développer dans d'autres milieux - résistance aux agents dénaturants
  - Pathogénicité
    - *Infectivité* : capacité à survivre et/ou à se développer chez l'hôte
    - *Virulence* : capacité à induire des troubles cliniques
- ◆ Connaissance de la pathologie humaine
  - Morbidité, mortalité (incidence, prévalence).  
Populations sensibles, épidémies (taux d'attaque)

# 2ème étape : Identification des fonctions dose-réponse

- ◆ Présence ou absence de seuil ?
  - Ancien concept de DMI
  - Chacun a son seuil à un moment donné...
  - Un organisme peut se multiplier chez l'hôte...
- ◆ Établissement d'une courbe dose-réponse
  - A partir des données animales expérimentales (ou humaines)
  - Tester la validité de plusieurs modèles
  - Choisir le plus corrélé aux données animales
  - Extrapoler à l'homme
    - avec confrontation aux données épidémiologiques



# Identification des fonctions dose-réponse (3)

**Log normal** :  $P = (1/\sqrt{2\pi}) \int_{-\infty}^z \exp(-z^2/2) dz$   
 $z = (\log N - \mu) / \sigma$

→ **Protozoaires (amibes libres)**

**Exponentiel** :  $P = 1 - \exp(-rN)$

où  $r$  ( constante ) est la probabilité de survie du germe dans l'hôte

→ **Protozoaires (cryptosporidium, giardia)**

→ **Bactéries (vibrio)**

**Bêta poisson** :  $P = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha}$

ou  $P = 1 - [1 + N(2^{-1/\alpha} - 1)/N_{50}]^{-\alpha}$

où  $\alpha$  et  $\beta$  sont les paramètres du modèle

→ **Virus (entérovirus)**

# 3ème étape : Caractérisation de l'exposition

- ◆ Souvent étape clé
- ◆ Délicate
- ◆ Nombreuses incertitudes
  - hypothèses (> transparentes)
  - Construction de scénarios
- ◆ Exemples
  - eau de boisson
  - eau de baignade
  - aérosol



# 4ème étape : Caractérisation du risque

- ◆ Cette étape consiste à donner une (ou plusieurs) **estimation(s) du risque** qui décrit à la fois les effets attendus, les risques individuels correspondant aux scénarios d'expositions définis, le risque collectif.
- ◆ Les hypothèses et les incertitudes inhérentes à ces estimations sont clairement énoncées et étudiées.
- ◆ **Utilisation par les gestionnaires et les décideurs pour mettre en œuvre des actions ou des politiques de réduction des risques.**

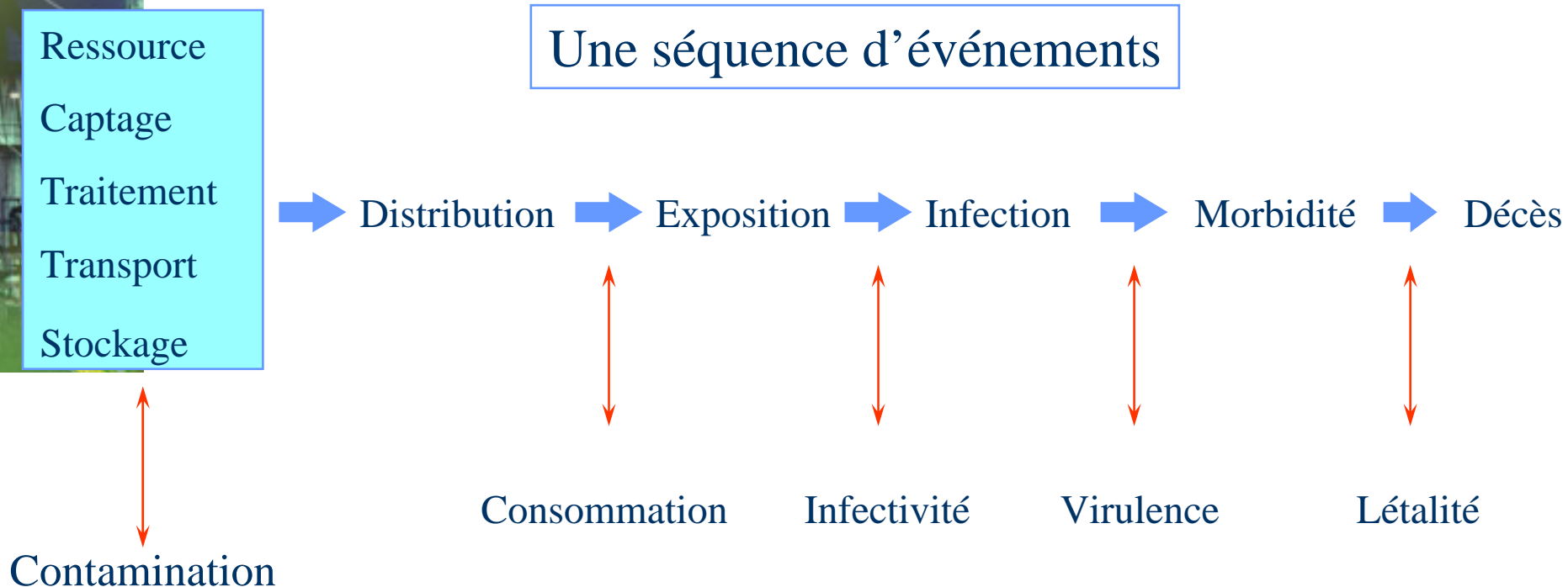
## 4ème étape : Caractérisation du risque

- ◆ Risque individuel « P » pour une exposition, donné par la courbe, en fonction de la dose ou niveau d'exposition
- ◆ Risque collectif
  - $P_i$  (ou  $P_m$ ) \* nombre de personnes exposées
- Pour « x » événements
  - $p_x = 1 - (1 - p)^x$





# Le risque microbiologique lié à l'eau de boisson



# Les principaux micro-organismes pathogènes transmis par voie hydrique

- ◆ Bactéries Risque ↓
- ◆ Virus (virus entériques) Risque ↑
- ◆ Parasites (protozoaires) Risque ↑

➔ Un risque «nouveau» sous-estimé ?  
Des pathogènes problématiques !

# Pathogènes véhiculés par l'eau

## [OMS, 1994]

<i>Pathogène</i>	Résistance au cl2	DI 50	Réservoirs animaux	Symptômes
<i>Campylobacter</i>	faible	modérée	oui	
<i>E. coli path</i>	faible	élevée	oui	
<i>Salmonelles</i>	faible	élevée	oui	GE aiguë
<i>Shigella spp</i>	faible	modérée	non	
<i>Y. enterocolitica</i>	faible	élevée	oui	
<i>V. cholerae</i>	faible	élevée	non	cholera
<i>Adenovirus</i>	modérée	faible	non	
<i>Enterovirus</i>	modérée	faible	non	GE aiguë,
<i>Norwalk</i>	?	faible	non	troubles
<i>Rotavirus</i>	?	modérée	non	respiratoires
<i>VHA</i>	modérée	faible	non	hépatites
<i>Giardia</i>	élevée	faible	oui	GE aiguë
<i>Crypto</i>	élevée	faible	oui	



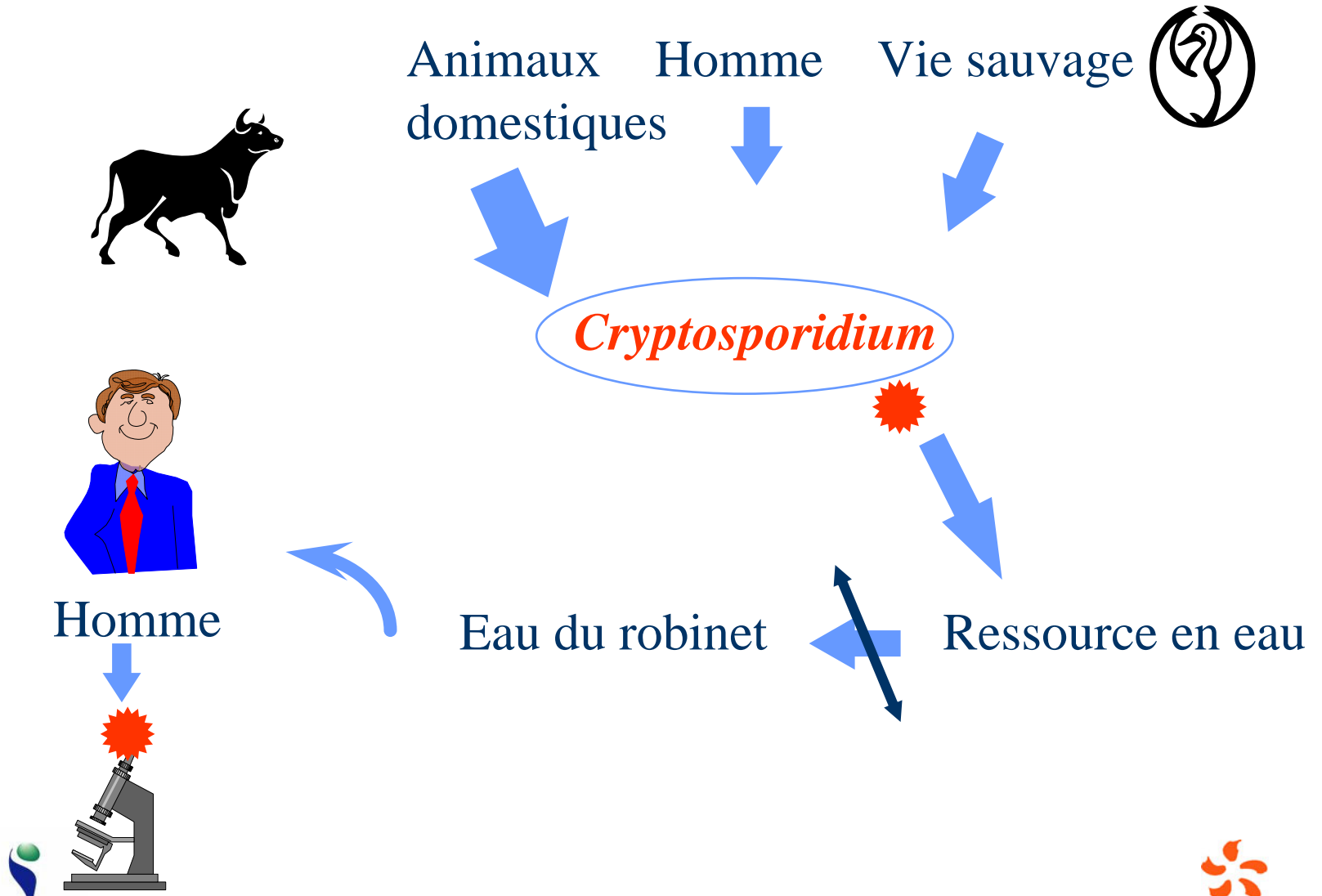
# Le risque lié aux protozoaires ex : *Cryptosporidium*

## Prise de conscience du risque lié à *Cryptosporidium*

- ◆ Responsable de troubles digestifs +/- sévères (ID) et d'épidémies massives aux US
  - Milwaukee, 1993 400 000 malades, 4 400 hospitalisations
- ◆ Responsable de 8 % des GE en Angleterre 13 % des GE en Écosse (données 1989)
- ◆ Forme de résistance directement contaminante
- ◆ Infectivité élevée (1 à 132 oocystes)
- ◆ Difficulté de sa recherche dans l'environnement
- ◆ Résistants aux traitements...



# Cycle de contamination par *Cryptosporidium* (*C. parvum* ou *C. muris*)



# Gestion du risque hydrique basée sur l'évaluation du risque -1

- Evaluation du niveau de contamination responsable d'un impact sanitaire observé
  - Milwaukee (Mac Kenzie *et al*, 1994)
    - 1.2 [0.42-4.5] pour 0.79 oocystes / l (mesuré)
- Autres données expérimentales animales et humaines
- Données traitées avec le modèle exponentiel



# Gestion du risque hydrique basée sur l'évaluation du risque - 2

- ◆ Niveau de risque individuel annuel acceptable
  - Par exemple  $< 10^{-4}$
- ◆ Risque individuel quotidien [ $p_x = 1-(1-p)^x$ ]
  - $2,7.10^{-7}$
- ◆ Relation dose réponse
  - Dose correspondante d'oocystes :  $6,6.10^{-5}$
- ◆ D'où une concentration dans l'eau de boisson
  - $3,3.10^{-5}$  (2 L/j)
  - Soit 0,003 oocyste pour 100 litres

# Gestion du risque hydrique basée sur l'évaluation du risque - 3

- ◆ Comment contrôler ?
- ◆ Difficile de mesurer de si faibles concentrations
- ◆ Connaissance de l'efficacité des traitements de l'eau
- ◆ Mesures des concentrations dans l'eau ressource
  - Si on a un abattement de 6 log
  - la concentration limite est de 30 oocystes par litre
  - Pour 3 log on obtient 3 oocystes pour 100 litres



# Le cas de l'amibe libre *Naegleria fowleri*

Quel risque pour les baigneurs ??

# LES AMIBES LIBRES

- ◆ Cycle de vie indépendant
  - **Bonnes conditions environnementales = multiplication**
    - Températures  $> 30\text{ °C}$  et jusqu'à  $45\text{ °C}$
- ◆ Rien à voir avec les autres amibes
  - Cycle de vie complexe
  - Hôtes intermédiaires
  - Pathologies humaines liées à ces passages
    - « Amibiase »

# Quel danger ??

- ◆ Méningo-encéphalite amibienne primitive (MEAP)
- ◆ Enfants, jeunes adultes, sains
- ◆ Baignade, plongeurs, nage sous-marine
- ◆ Contact amibe-muqueuse nasale
  - irritation préalable, liée aux plongeurs, multiplication locale ?
- ◆ Pénétration cérébrale, multiplication et destruction nerveuse
- ◆ Décès ...



# LA MEAP : Nombre de cas

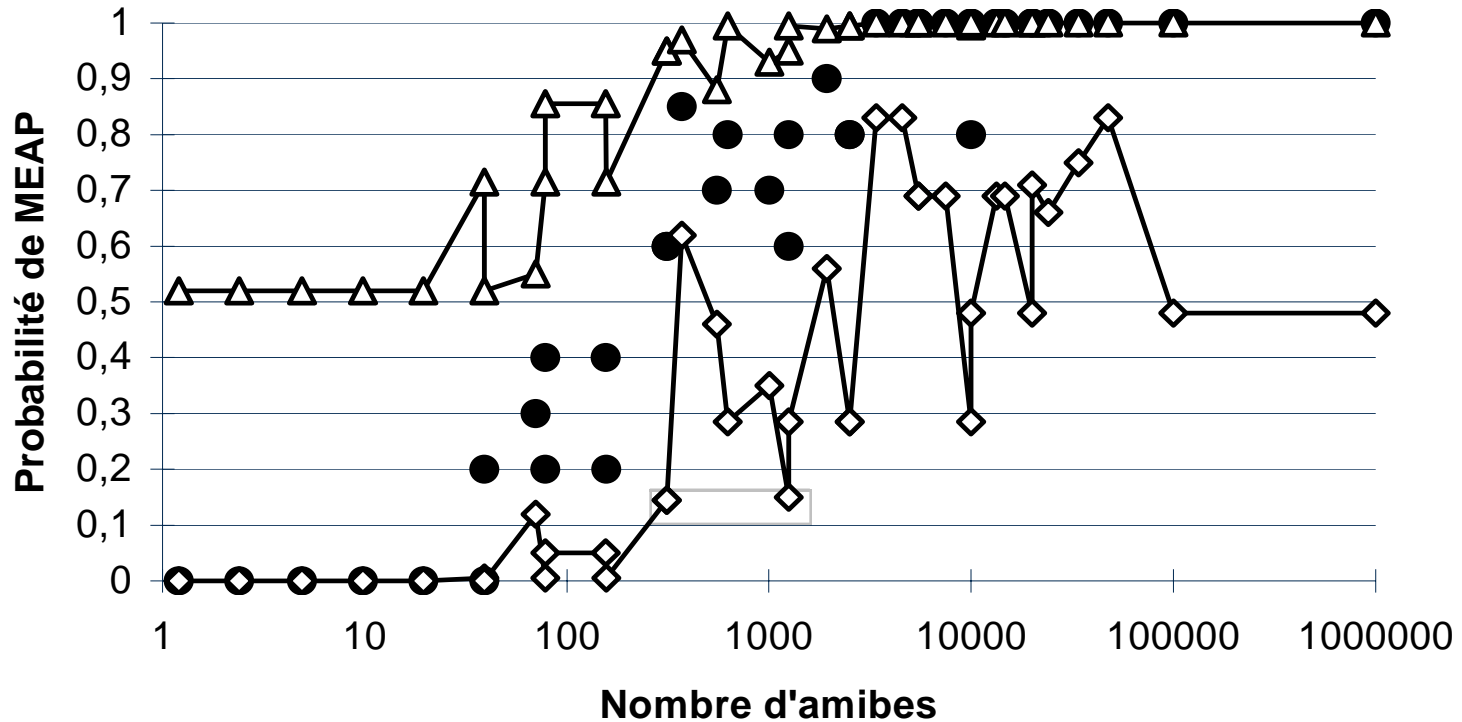
- ◆ Maladie rare (pathogène accidentel)
- ◆ 200 cas publiés (la moitié aux USA)
- ◆ Baignade dans des lacs ou des cours d'eau chauds
- ◆ Eau du robinet (Australie)
- ◆ Piscines (République Tchèque, Belgique)
- ◆ Thermes (NZ, GB)
- ◆ **Effluents industriels ?**
  - **Évaluation du risque**



# RELATION DOSE-EFFET

- ◆ Peu de données humaines
- ◆ Données animales
  - Bon modèle animal
  - Instillation de quantités connues d'amibes chez des souris en intra-nasal
  - Observation du nombre de décès
- ◆ Problèmes
  - fortes doses
  - extrapolation à l'homme

# DONNEES ANIMALES

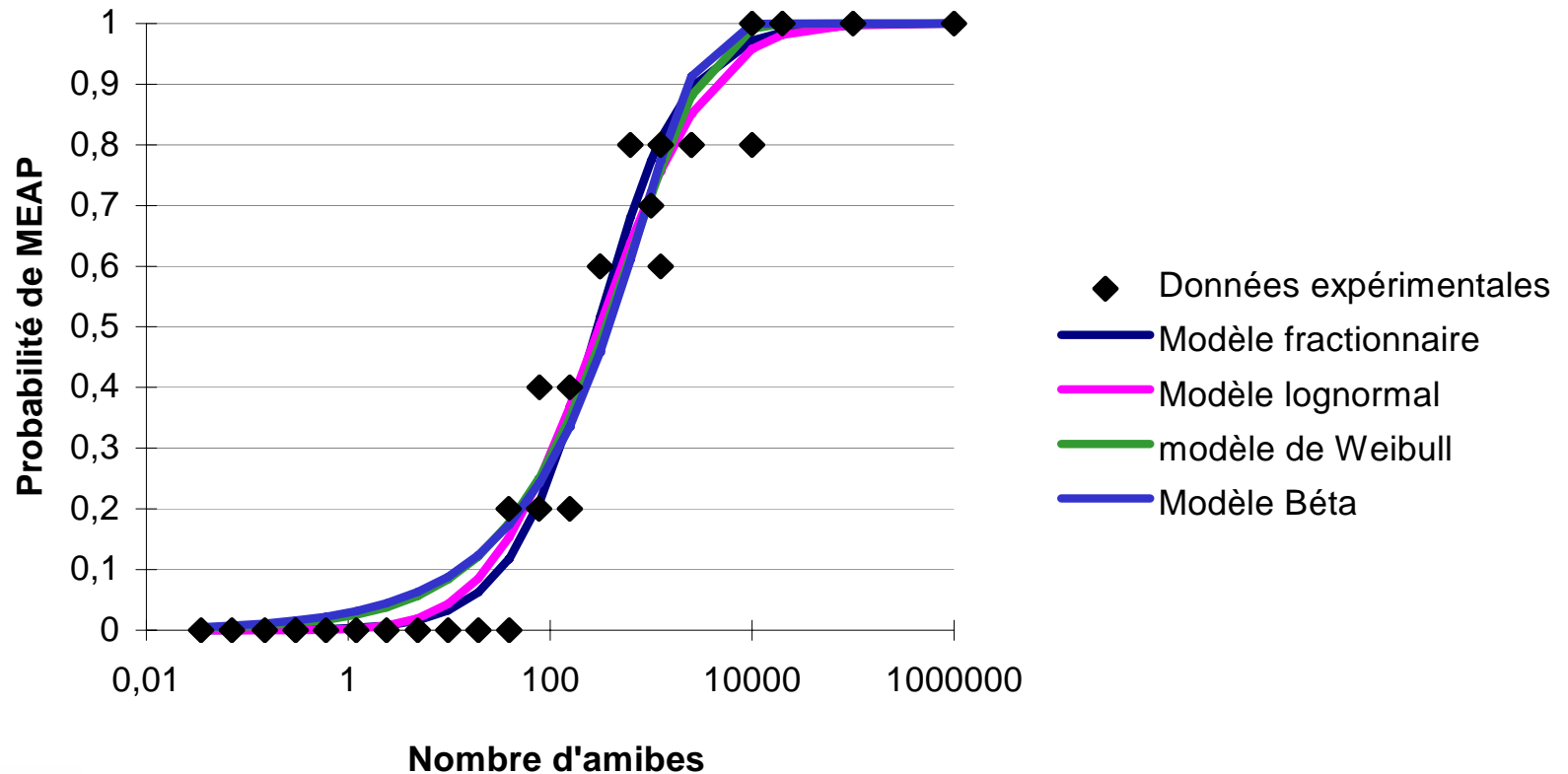


● Données expérimentales

—◇— Bornes inférieures (IC 95 %)

—△— Bornes supérieures (IC 95 %)

# Modélisation données animales



# Estimation de l'exposition

- ◆ Cas des rejets dans un cours d'eau
- ◆ Exposition par baignade
- ◆ Répartition des amibes dans l'eau selon une loi de Poisson
- ◆ Volume d'eau passant dans le nez par baignade = 10 ml
- ◆ Probabilité de doses reçues  $f(C)$



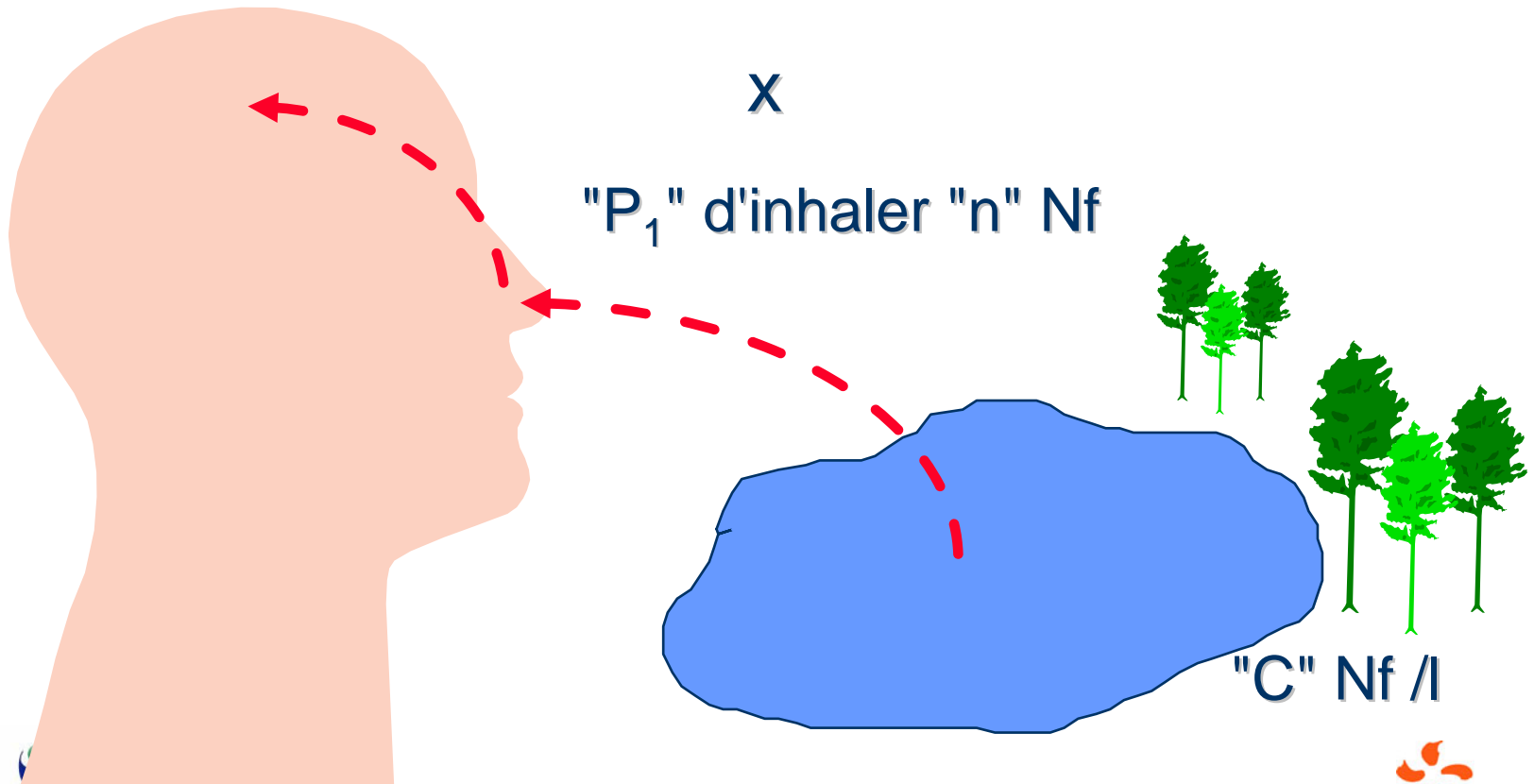


# Caractérisation du risque

"P<sub>2</sub>" probabilité de décès pour "n" Nf

X

"P<sub>1</sub>" d'inhaler "n" Nf

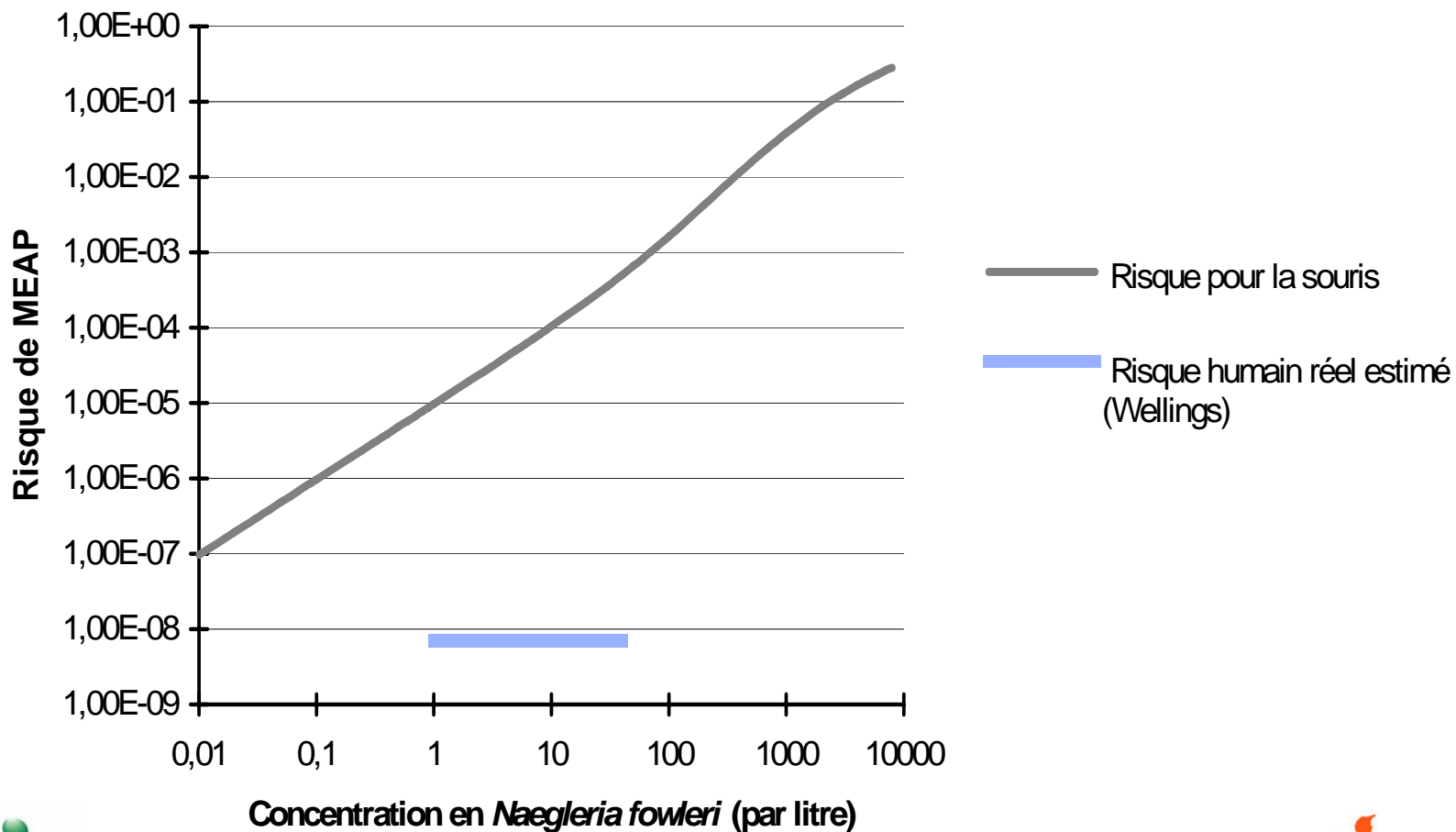


# Caractérisation du risque

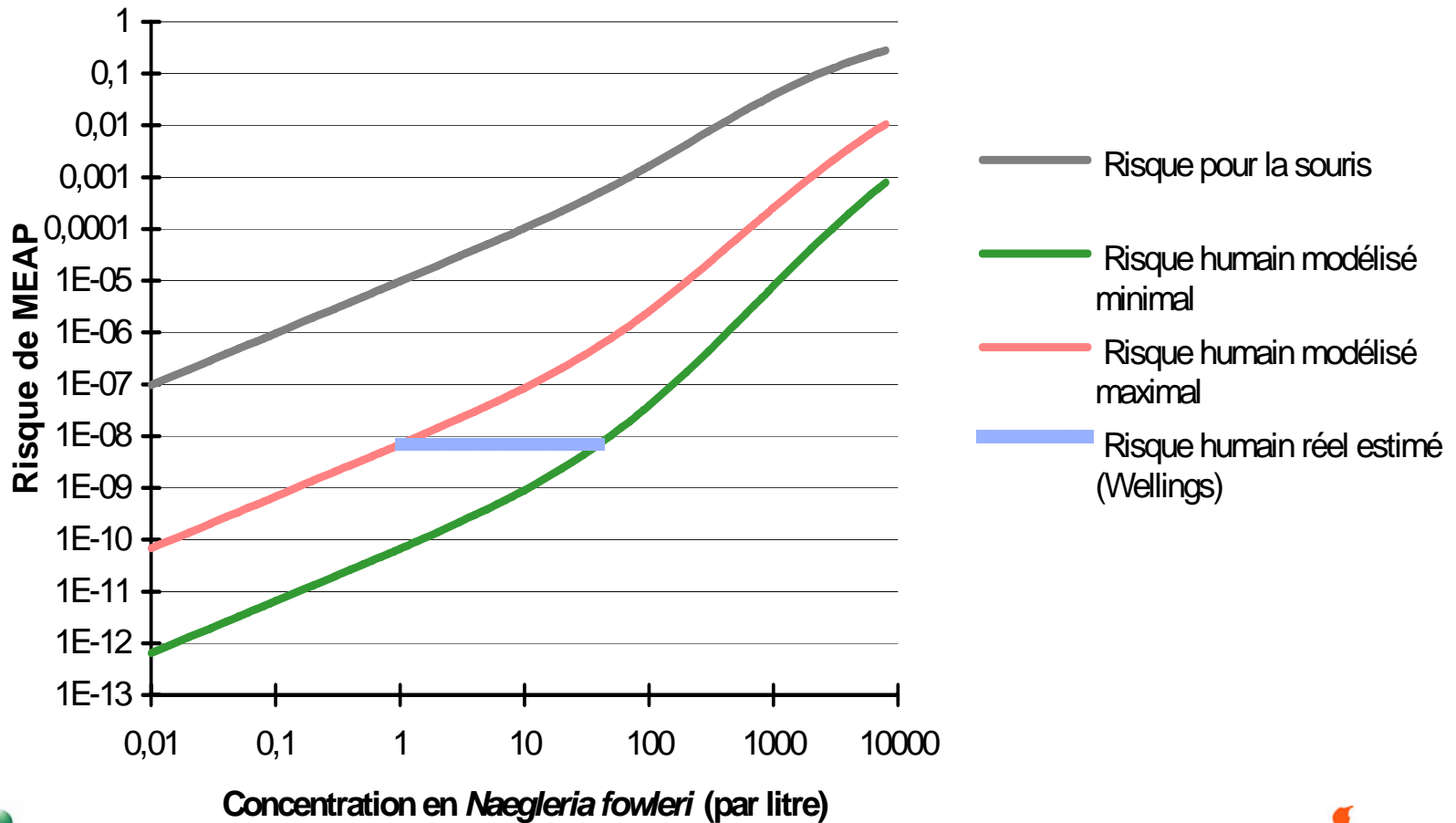
- ◆ Pour chaque concentration dans le milieu on va obtenir une probabilité de MEAP
- ◆ SOMME des produits suivants :
  - $p(\text{inhaler } n \text{ amibes}) * p(\text{meap}/n \text{ amibes})$
- ◆ Risque lié essentiellement à la probabilité d'inhaler une amibe, pour les faibles concentrations
- ◆ Risque pour la souris,
- ◆ Risque pour l'homme ?



# Caractérisation du risque



# Caractérisation du risque



# Conclusions

- ◆ Fixation d'une limite environnementale 100 Nf/L (risque de  $2,5 \cdot 10^{-6}$ )
- ◆ Faiblesses du modèle
  - Souches de laboratoire = souches environnementales ?
  - Incertitude sur la dose injectée
  - Incertitude sur l'exposition
  - Dose minimale infectieuse
  - Agrégation d'amibes avec des MES
  - Homme plus résistant que la souris ?

# L'évaluation des risques liés aux Légionelles

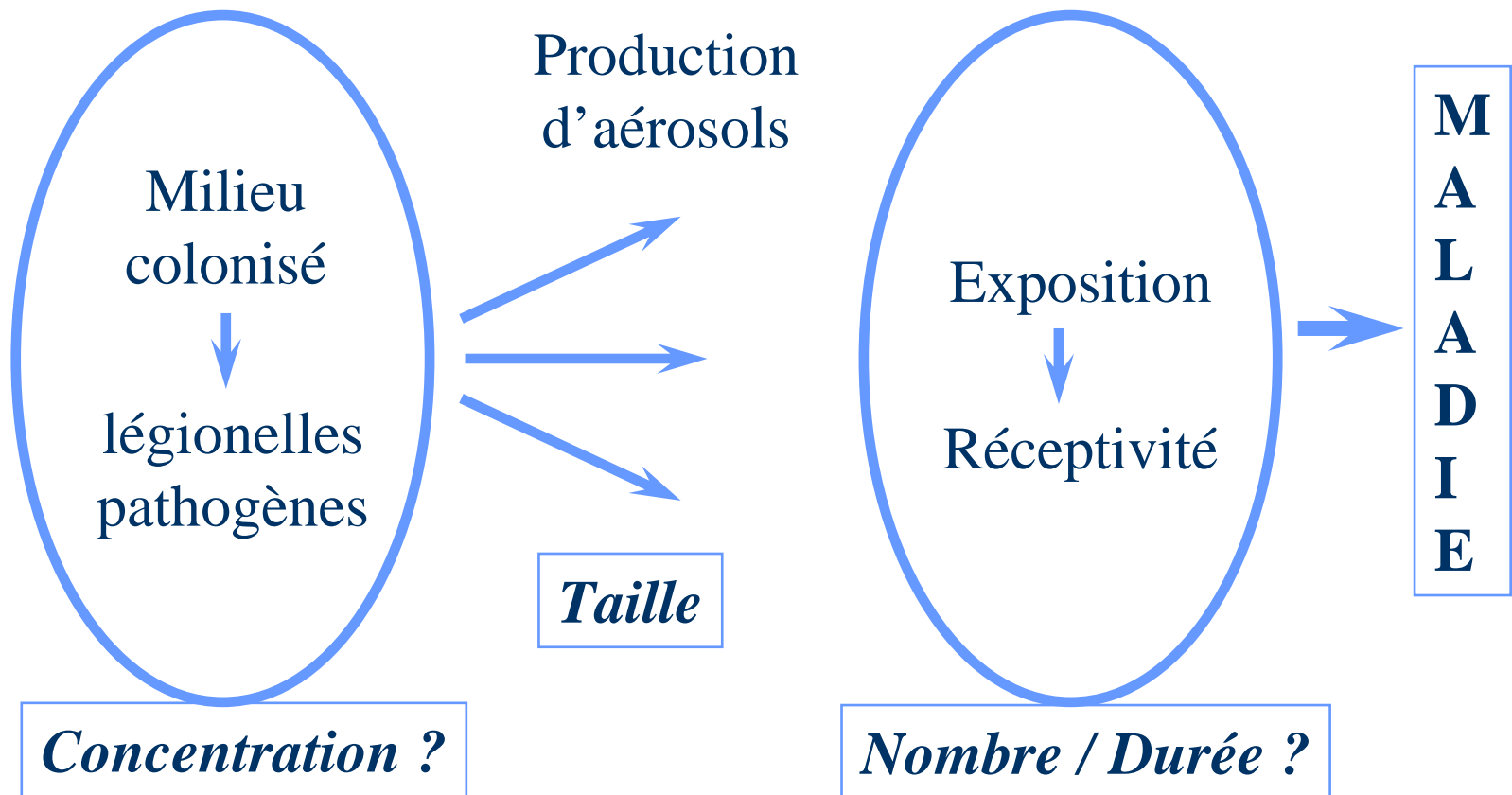


# Position du problème

- ◆ **Maladie des légionnaires**
  - 1400 cas / an en France
  - 12% de taux de létalité
  - Personnes sensibles
  - Formes « bénignes » non diagnostiquées
- ◆ **Risque lié à l'exposition à un aérosol contaminé**
  - Tours aéroréfrigérantes, douches, spas, fontaines, humidificateurs, lagunes avec aérateur
  - Gestion actuelle au niveau du terme source



# Conditions d'apparition d'un cas





# Relation dose-effet

- ◆ Pas de données épidémiologiques quantitatives
  - Raisonne sur le terme source et pas sur une dose
- ◆ Études animales
  - Quelle événement sanitaire ? (fièvre ? décès...)
  - Pas de modèle évident
  - Pathogénicité des souches
    - Chaque souche sera différente
    - Souches d'élevage # souches sauvages
  - Exposition des animaux...
- ◆ Quelques modélisations effectuées (béta-poisson)
- ◆ Application directe à l'homme ???



## Table 2

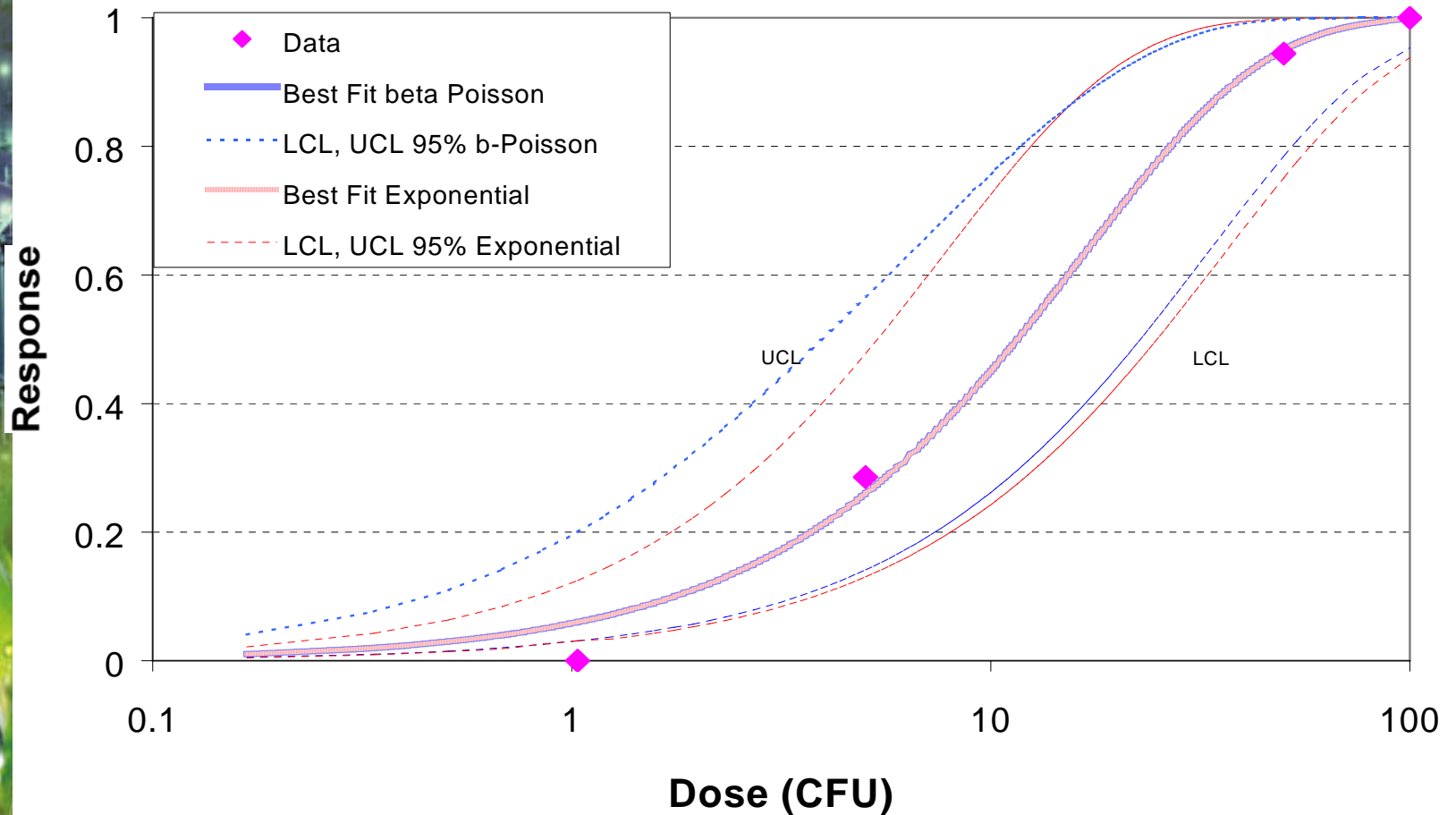
Muller 1983 Estimated Dose-Response, with 95% Lower and Upper Confidence Intervals (as % Response) for the Response

Model	ID <sub>50%</sub> CFU	ID <sub>1%</sub> CFU
Exponential	11.7 (28 – 78)	0.17 (0.5 – 2)
Approximate beta-Poisson	11.5 (30 – 80)	0.17 (0.5 – 4.1)
Exact beta-Poisson*	11.5	0.17
Weibull	11.6 (22 – 76)	0.17 (0.02 – 12)
Probit	9.2 (23 – 75)	0.90 (0 – 18)
Logistic	8.7 (20 – 80)	0.64 (0.01 – 15)

\* confidence intervals not calculated

## Figure 2. beta-Poisson (Approximate) and Exponential Models Muller (1983) Guinea Pig Infectivity

(note: Best Fit Exponential and beta-Poisson (approximate) overlap)



# Estimation de l'exposition...

- ◆ Mesure des légionelles dans l'eau
  - Libres, biofilm, amibes
- ◆ Concentration en zone d'exposition
  - Mesures dans l'air ?
  - Modélisation aérosolisation/dispersion
  - Survie ??
  - Est-ce les légionelles libres l'événement important ?
- ◆ Quelle période d'exposition ?
- ◆ Approche différente longue distance/courte distance ?
- ◆ Approche pragmatique pour la gestion

