

Rapport annuel d'activité du réseau « **CRYPTO-ANOFEL** »

Année 2015

Situation fin 2015

Fin 2015, le réseau était constitué de 39 laboratoires hospitaliers de Parasitologie-Mycologie et de 4 laboratoires de biologie médicale privés spécialisés (Biomnis Nord, Biomnis Sud, Cerba et Laboratoire Cailly et Caux).

La répartition actualisée des laboratoires et des correspondants est présentée dans l'Annexe 1.

Fin 2014, Six priorités avaient été fixées pour l'année 2015:

- Finaliser la déclaration en ligne ;
- Mettre en place un génotypage complet des souches par étude de la gp60 et des microsatellites afin de détecter rétrospectivement (et prospectivement dans l'avenir) d'éventuelles épidémies par analyse de clusters ;
- Poursuivre les évaluations des performances des réactifs de diagnostic de la cryptosporidiose en utilisant la bibliothèque du réseau pour 1) assurer la mission d'évaluation du réseau et 2) apporter un complément financier permettant la poursuite (et le développement) du génotypage des souches ;
- Alimenter la page « Réseau Crypto-ANOFEL » sur le nouveau site ANOFEL ;
- Poursuivre la politique de publication et de communication des résultats ;
- Poursuivre et développer la collaboration avec le CNR gastroentérite virale.

Exposé des réalisations fin 2015

1 Notifications et envois des échantillons

A compter de 2015, la notification des cas a été réalisée via le programme informatique et il a été demandé qu'une copie papier de la déclaration informatique soit jointe à l'envoi des souches.

Concernant la déclaration en ligne, celle-ci a été finalisée et une demande d'autorisation a été déposée auprès de la CNIL. Tous les envois ou échanges d'échantillons ont été effectués dans des conditions sécurisées par les laboratoires. Le transport via DHL s'avère toujours fonctionnel.

Comme en 2014, les échantillons ont été envoyés au CHU de Dijon pour permettre le diagnostic d'espèce en temps réel. Celui-ci a pu être réalisé et rendu dans un délai de moins de 4 semaines.

2 Génotypage complet des souches par étude de la gp60

Le génotypage rétrospectif de tous les isolats adressés au réseau depuis 2010 a été réalisé. Les données sont jointes en annexe.

3 Poursuite des évaluations des performances des réactifs de diagnostic de la cryptosporidiose

En utilisant la banque du réseau, 3 laboratoires ont participé à l'évaluation multicentrique du kit Elisa Savyon de recherche des antigènes de *Cryptosporidium* spp. dans les selles. Les résultats ont été communiqués au congrès de la SFP et à l'ECCMID en 2016. Une publication est en préparation.

Fin 2015, une nouvelle évaluation multicentrique portant sur un nouveau coffret de détection de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia duodenalis* par PCR (Mobidiag) a été initiée.

4 Bilan des données 2015 (arrêt au 31/12/2015) et analyses épidémiologiques

Les informations provenant des 39 laboratoires du réseau et des 4 laboratoires spécialisés ont pu être analysées (pour 38 laboratoires, un relevé du nombre d'examen parasitologique des selles avec ou sans recherche de cryptosporidies a complété le recueil).

4.1 *Cryptosporidium* spp./cryptosporidioses.

Le nombre d'examen de selles et de recherches de cryptosporidies effectués en 2015 a diminué comparativement à l'année 2014 (**Figure 1**). Pour 2015, 154 patients ont été diagnostiqués avec 140 déclarations de cas d'infection à *Cryptosporidium* spp. notifiées par les laboratoires du réseau. Le nombre de cas est stable mais il apparaît que la déclaration en ligne a permis d'augmenter le taux de déclaration (76% en 2014, 84% en 2013 et 90.9% en 2015). De même, le nombre d'isolats adressés pour génotypage au réseau a augmenté (82 en 2015 versus 71 en 2014).

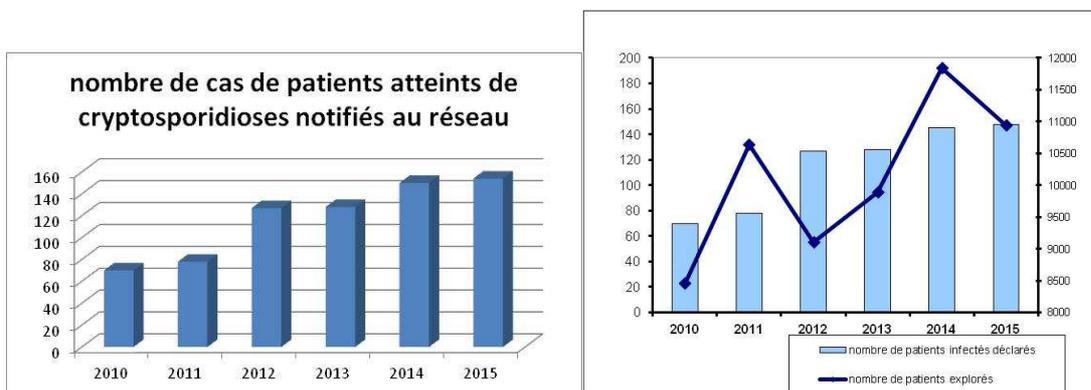


Figure 1 : Nombre de cas de cryptosporidiose diagnostiqués et rapportés au réseau (2010-2015)

Origine des notifications (Tableau 1)

Les 38 laboratoires qui ont fourni le nombre d'examen de selles effectué (Tableau 1) ont diagnostiqué 148 patients, pour lesquels 134 cas ont été déclarés informatiquement. Les 6 derniers cas ont été déclarés informatiquement par les laboratoires n'ayant pas pu nous fournir leur statistique (lié à un changement de SGL)

En 2015, la répartition des notifications par laboratoire hospitalier était assez homogène sur tout le territoire comme ce qui avait été observé en 2014.

Il n'y a pas eu de cas groupés en dehors de 2 cas dans une famille après un séjour dans un camping.

Tableau 1 : Bilan des isollements et des notifications de *Cryptosporidium* spp. en 2015

Labos	Examen des selles		Cryptosporidioses			
	Total	Nbre de patients	Total recherches	Nbre de patients	Nbre de cas	Nbre de patients
AMIENS	409	346	442	300	1	1
ANGERS	645	536	82	68	4	3
ANNECY	194	135	1	1	1	1
BESANCON	442	273	202	141	2	2
BORDEAUX	1596	1012	473	266	12	6
BREST	648	343	398	193	6	2
CAEN	388	298	106	81	3	2
CERBA			640	640	8	8
CLERMONT-FER	892	606	552	376	2	2
DIJON	757	717	757	717	1	1
FORTDEFRANCE	1100	650	171	130	4	2
GRENOBLE	531	394	64	46	2	2
LE HAVRE	241	174	9	9	1	1
LILLE	1544	1149	399	289	9	8
LIMOGES	455	277	157	103	0	0
LYON	2559		452		10	5
MARSEILLE	1696	1059	766	420	17	6
NANCY	662	440	57	41	5	4
NANTES	1174	686	496	341	12	6
NICE	1194	517	725	297	7	6
PARIS BICHAT	1846	1135	379	244	3	2
PARIS COCHIN	570		175		3	2
PARIS K. BICÊTRE	1488	600	669	250	20	6
PARIS MONDOR	418	322	345	265	3	1
PARIS NECKER	778	618	653	520	3	3
PARIS PITIE	2175	1369	550	319	6	3
PARIS POMPIDOU	650	474	490	354	1	1
PARIS St LOUIS	1838	927	1537	753	4	4
PARIS St ANTOINE	2816	2447	381	355	7	7
POINTE A PITRE	670	437	304	230	8	4
POITIERS	588	351	137	93	1	1
REIMS	854	569	160	114	0	0
RENNES	1639	855	445	274	4	4
ROUEN	1120	832	1712	1439	13	12
St ETIENNE	546	351	1080	583	20	15
STRASBOURG	1314	1131	275	264	8	3
TOULOUSE	1233	867	291	176	12	6
TOURS	1052	735	322	253	6	6
TOTAL	38722	23632	16854	10945	229	148

ND:non déterminé

Répartition mensuelle des cas de cryptosporidiose (Figure 2).

L'analyse des notifications montre, comme en 2014, une répartition des cas homogène sur toute l'année alors qu'en 2013 avec une tendance saisonnière marquée était relevée (65% des cas sur le 2^{ème} semestre et 66% en 2014 vs 80% en 2013)

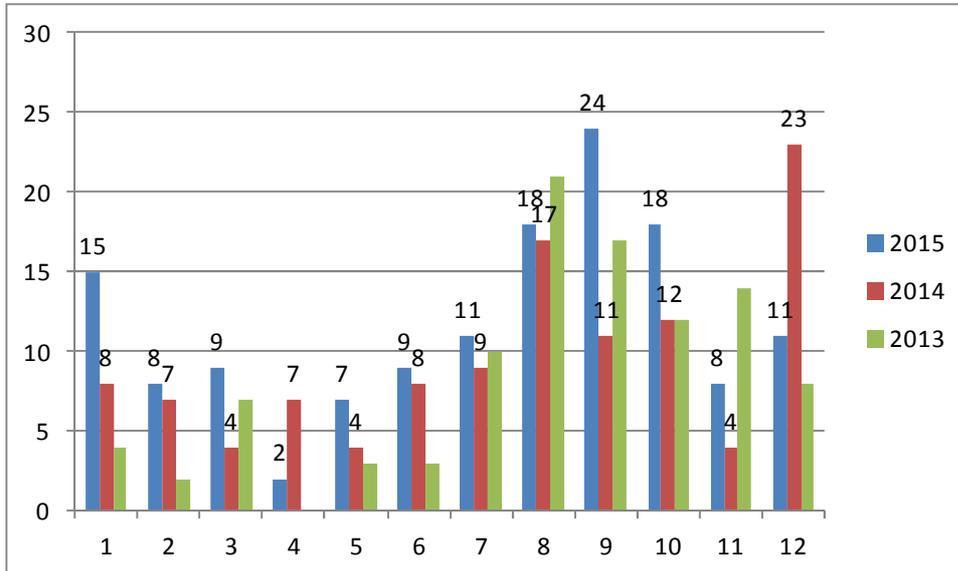


Figure 2: Répartition mensuelle des cas de cryptosporidiose sur les années 2013, 2014 et 2015.

Il est à noter que 25% des cas ont été contracté lors d'un séjour hors métropole, mais la répartition de ces cas est homogène tout au long de l'année.

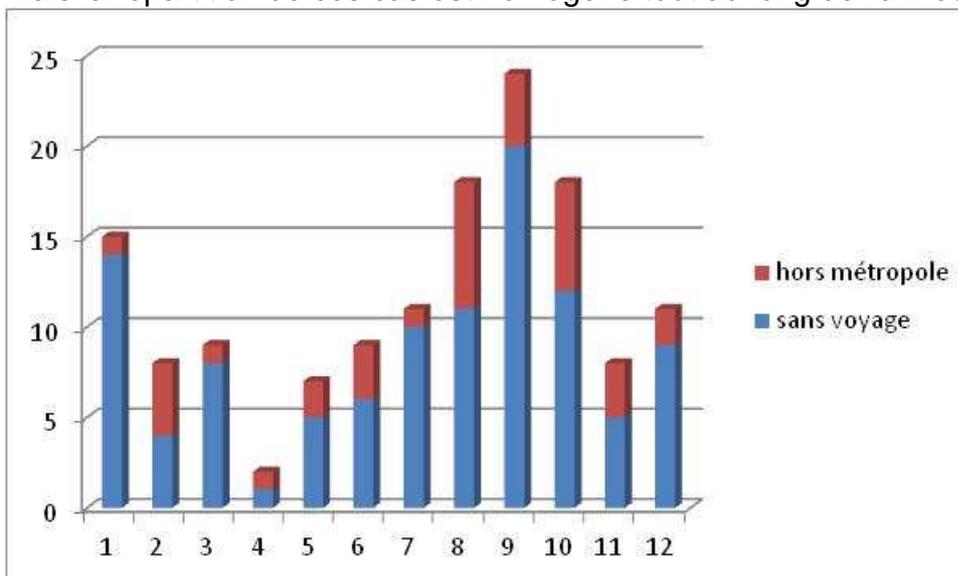


Figure 3: Répartition mensuelle des cas de cryptosporidiose contractée lors d'un séjour hors de métropole en 2015.

Espèces identifiées en 2015 (Figure 4 et 5).

Comme en 2014, l'espèce *C. parvum* est restée majoritaire avec 59% des cas, mais la proportion de cas dus à *C. hominis* a doublé pour atteindre 29% des cas. Il est à

noter que 12% des cas étaient dus à des espèces différentes de *C. parvum* et de *C. hominis*. L'apparition en 2015 de cas à *C. felis* relève essentiellement des Antilles pour lesquelles ce génotype apparaît largement majoritaire en 2015. La répartition des espèces a été homogène tout au long de l'année (Figure 3 et 4).

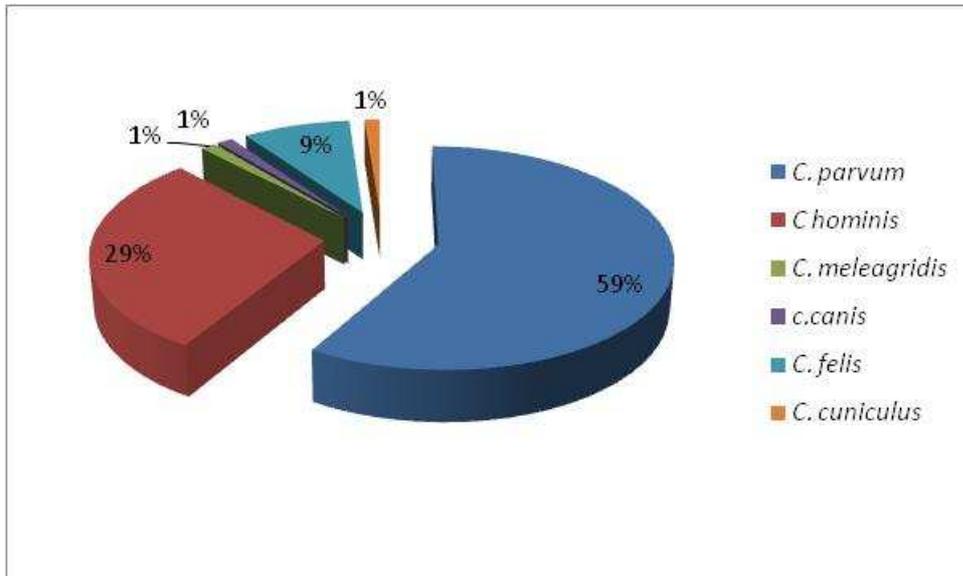


Figure 4 : Répartition des cas de cryptosporidiose (Métropole et Outre-Mer) en fonction de l'espèce diagnostiquée.

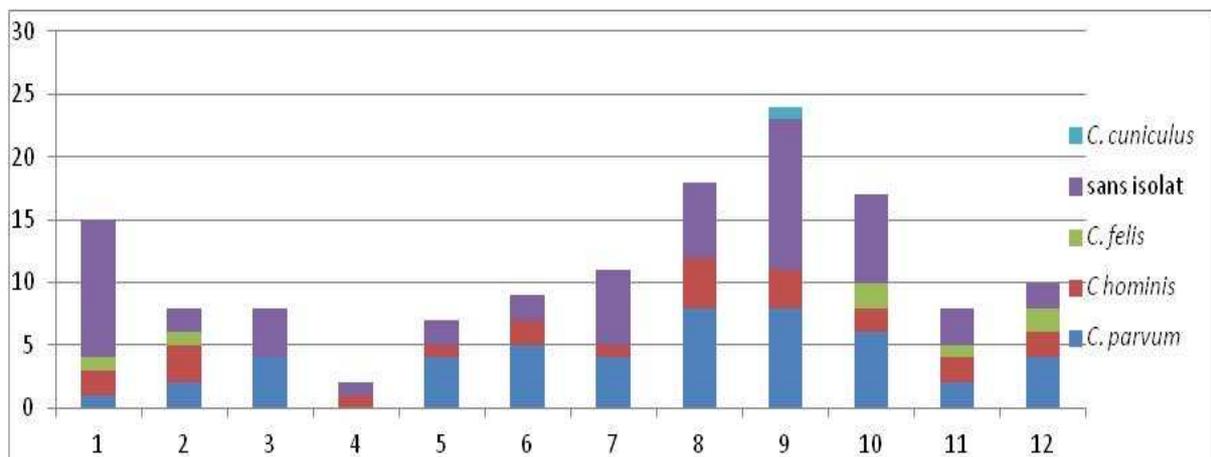


Figure 5: Répartition mensuelle des cas de cryptosporidiose en fonction des espèces de parasites retrouvées en 2015.

Etiologie de cas de cryptosporidiose en France en 2015 (Figures 6 et 7)

En 2015, grâce à la déclaration en ligne, nous avons pu recueillir des données concernant l'étiologie possible des cas. Une étiologie possible est signalée dans près de la moitié des cas déclarés (65 cas). Dans 34 cas, la diarrhée a été contractée lors d'un séjour hors de métropole. Par ailleurs, la diarrhée est survenue dans 18 cas alors que d'autres cas de diarrhée préexistaient -i) dans l'entourage familial (13 cas), -ii) au lieu de garderie des jeunes enfants (4 cas à *C. hominis*), et -iii) à l'école (1 cas à *C. parvum*). Il est dommageable que ces cas n'aient pas pu être comparés aux cas cliniques associés.

Un contact avec des animaux était mis en cause dans 9 cas : 2 cas de contact professionnel avec des animaux de rente, 4 cas avec des animaux de compagnie (un oiseau en liberté, un cheval et un chat (cas à *C. parvum*!) et un cobaye (cas à *C. cuniculus*), et 3 cas avec d'autres animaux (singe, chèvre dans un zoo et âne). Enfin un patient a contracté la cryptosporidiose après avoir ingéré du lait cru et 2 patients semblent l'avoir contracté après baignade dans une piscine (Cf cas groupés dans un camping).

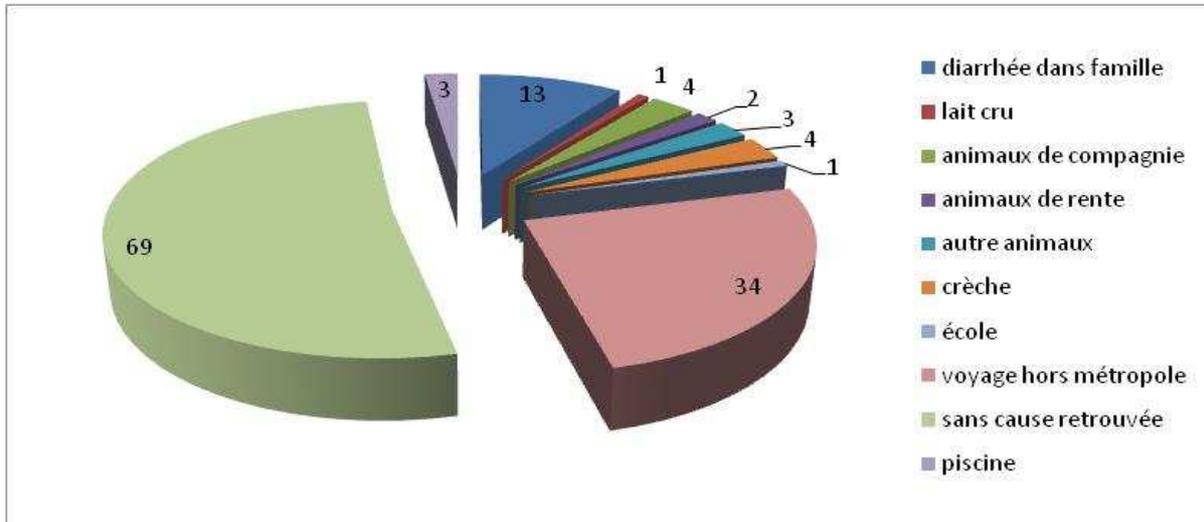


Figure 6 : Analyse de l'étiologie possible des cas de cryptosporidiose humaine en 2015

En 2015, la répartition des cas par classe d'âge est relativement homogène avec un sex ratio proche de 1, contrairement à la prédominance masculine retrouvée les années précédentes

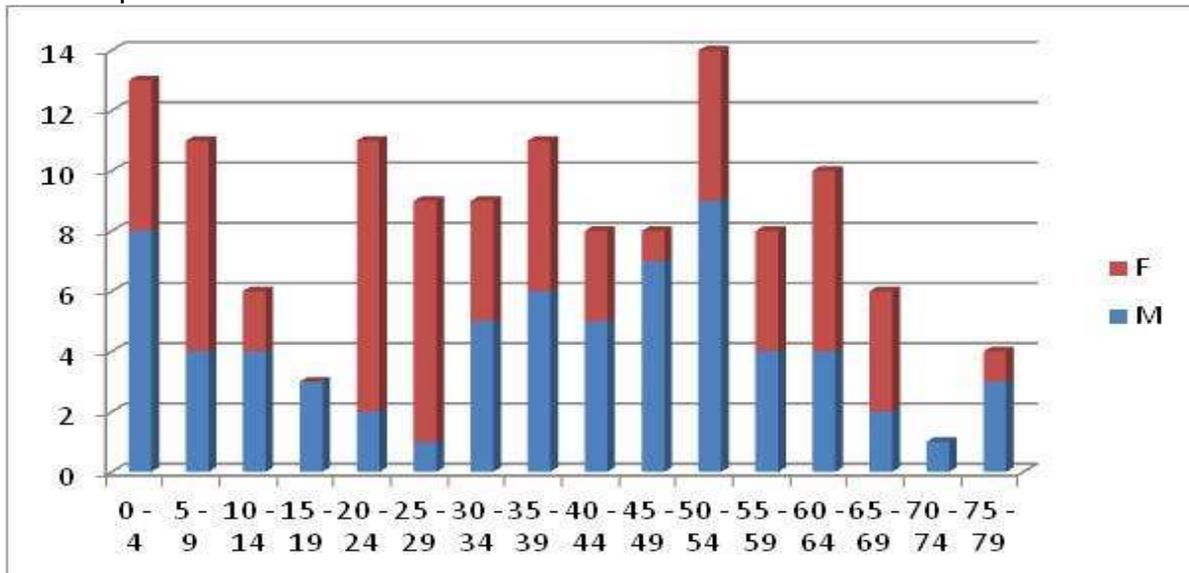


Figure 7 : Distribution des cas de cryptosporidiose par classe d'âge et par sexe.

Distribution en fonction du statut immunitaire (Figures 8 et 9)

Les données sur le statut immunitaire des patients ont pu être obtenues chez 140/154 patients. Elles confirment les tendances relevées depuis quelques années.

Le pourcentage de patients immunocompétents est resté remarquablement stable : 32 % des cas déclarés en 2015 comme en 2014. De même, le nombre de cas observés chez des patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe solide est resté stable avec 25 % des cas en 2015 (26% en 2014). L'analyse faite en 2015 confirme celle de 2014 qui montrait déjà une nette prédominance des patients transplantés rénaux (22%, 31 patients) comme en 2014 (21%, 31 patients). Il est à noter que le nombre de cas diagnostiqués chez des patients infectés par le VIH a augmenté de façon significative entre 2014 et 2015 (18 patients en 2014 et 31 patients en 2015).

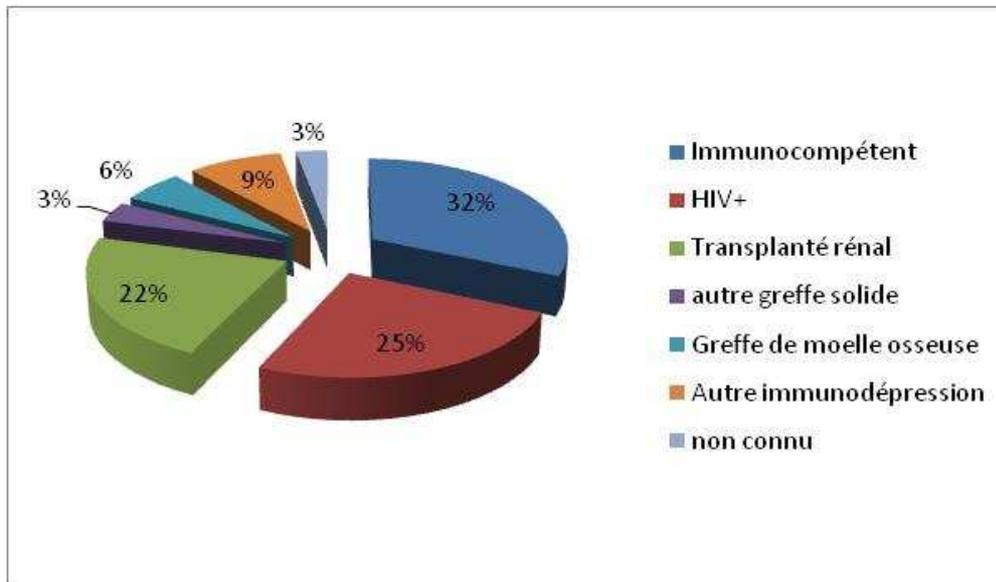


Figure 8 : Répartition des cas de cryptosporidiose en fonction du statut immunitaire

Dans la majorité des cas de patients VIH+, ceux ci présentent une immunodépression sévère (Figure 9)

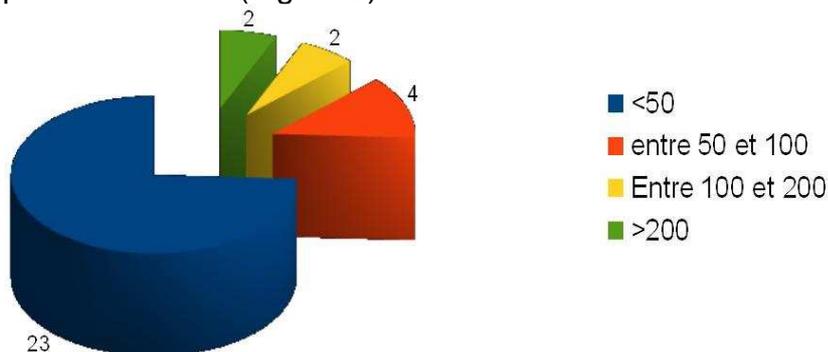


Figure 9 : nombre de lymphocyte T CD4+ chez les patients VIH atteints de cryptosporidiose.

Symptomatologie des patients infectés en 2015 (Figures 10 et 11)

Le principal symptôme observé est la diarrhée retrouvée dans 86% des patients. Elle est accompagnée de vomissement dans près d'un quart des cas. Il est à noter qu'une fièvre isolée est retrouvée chez 3% des patients (Figure 10). La durée de la diarrhée varie chez l'immunocompétent de 1 à 2 semaines et de 2 à 4 semaines chez

l'immunocompromis (Figure 11). **Chez 6 patients** qui n'ont pas survécu, la cryptosporidiose a été identifiée comme la cause principale de décès.

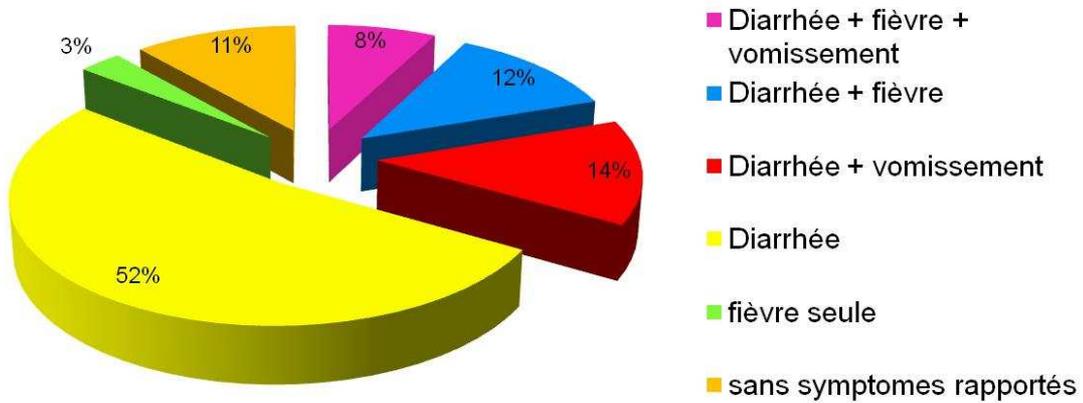


Figure 10 : Séméiologie de la cryptosporidiose en 2015

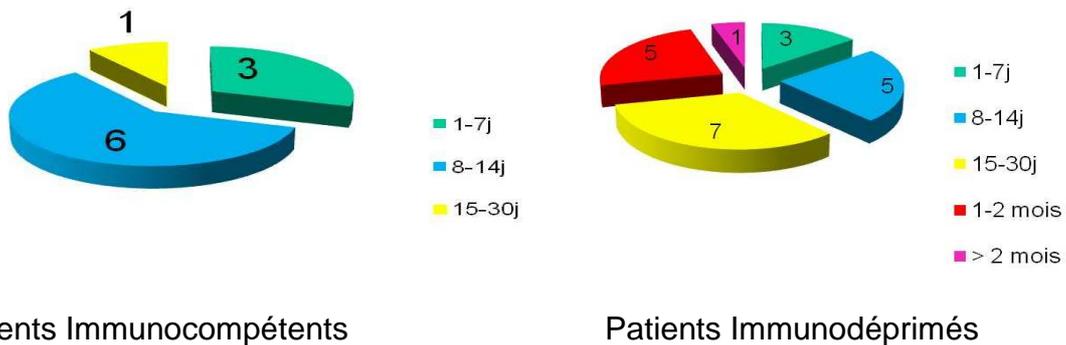


Figure 11: Durée de la diarrhée chez les patients

Méthodes utilisées pour le diagnostic de la cryptosporidiose en France en 2015

Sur les 38 laboratoires ayant déclarés des cas en 2015, 28 utilisent la méthode de Henricksen (Ziehl modifié) associée dans 6 cas à une ou plusieurs autres techniques. La PCR seule est utilisée par 4 laboratoires (Figure 12).

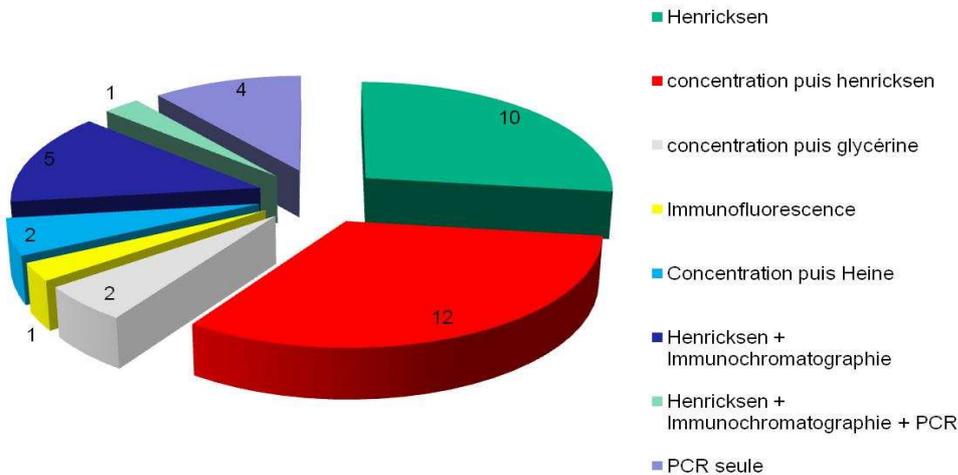


Figure 12 : Méthodes biologiques utilisées pour le diagnostic biologique de la cryptosporidiose.

Prise en charge thérapeutique de la cryptosporidiose

En 2015, sur 105 patients documentés, un traitement médicamenteux a été instauré pour 48 d'entre eux, soit symptomatique (7 cas) soit étiologique (41 cas). Chez 3 patients (en vert sur la figure), seule une diminution de l'immunodépression a été réalisée. La principale molécule anti-cryptosporidienne utilisée est le nitazoxanide (Figure 13).

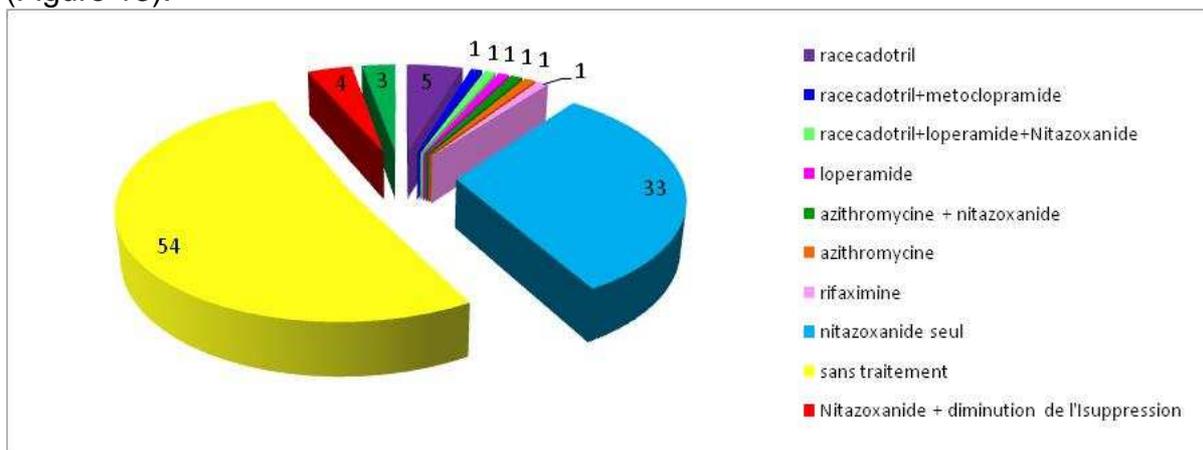


Figure 13 : prise en charge thérapeutique des patients atteints de cryptosporidiose.

4.2 Isolements de *Giardia*, *Isospora*, *Cyclospora*, *Blastocystis* et des *microsporidies*

Si le nombre de patients atteints de giardiose, isosporose, cyclospore reste stable entre 2014 et 2015, le nombre de cas de microsporidiose, agent responsable de diarrhées sévères continue d'augmenter (Tableaux 2 et 3).

Tableau 2 : Bilan des isolements de *Giardia*, *Isospora*, *Cyclospora* et *Blastocystis*

Labos	Giardiases		Isosporoses		Cyclospores		Blastocystoses	
	Nbre de cas	Nbre de patients	Nbre de cas	Nbre de patients	Nbre de cas	Nbre de patients	Nbre de cas	Nbre de patients
AMIENS	2	2	0	0	0	0	2	2
ANGERS	22	19	0	0	1	1	71	68
ANNECY								
BESANCON	11	6	0	0	0	0	13	10
BORDEAUX	17	13	2	1	0	0	100	68
BREST	13	5	0	0	0	0	15	14
CAEN	4	4	0	0	0	0	4	3
CERBA								
CLERMONT-FER	5	4	0	0	0	0	35	30
DIJON	6	3	0	0	0	0	5	4
FORTDEFRANCE	2	2	0	0	0	0	28	18
GRENOBLE	10	7	0	0	0	0	19	12
LE HAVRE	1	1	0	0	0	0	0	0
LILLE	7	6	0	0	4	3	28	70
LIMOGES	12	7	0	0	0	0	7	5
LYON	53		1	1	0	0	34	
MARSEILLE	4	4	0	0	0	0	2	1
NANCY	13	10	0	0	0	0	13	9
NANTES	14	6	0	0	7	1	33	23
NICE	28	26	1	1	0	0	9	7
PARIS BICHAT	26	14	6	4	0	0	42	31
PARIS COCHIN								
PARIS K. BICÈTRE	13	6	0	0	2	1	26	25
PARIS MONDOR	0	0	0	0	0	0	3	2
PARIS NECKER	1	1	0	0	0	0	1	1
PARIS PITIE	18	12	0	0	1	1	60	47
PARIS POMPIDOU	0	0	0	0	0	0	ND	ND
PARIS St LOUIS	18	13	3	2	0	0	14	14
PARIS St ANTOINE	24	20	1	1	0	0	46	43
POINTE A PITRE	3	2	0	0	0	0	10	8
POITIERS	6	6	0	0	0	0	0	0
REIMS	13	11	0	0	0	0	13	12
RENNES	33	20	7	2	0	0	201	122
ROUEN	15	9	0	0	0	0		
St ETIENNE	12	6	8	8	3	2	6	3
STRASBOURG	14	9	0	0	0	0	136	86
TOULOUSE	8	6	1	1	0	0	57	42
TOURS	14	14	0	0	0	0	9	8
TOTAL	442	274	30	21	18	9	1042	788

ND: non déterminé

Tableau 3 : Bilan des isollements de microsporidies

Labos	Microsporidioses			
	Total recherches	Nbre de patients	Nbre de cas	Nbre de patients
AMIENS	438	262	0	0
ANGERS	0	0	0	0
ANNECY	0	0	0	0
BESANCON	143	82	6	2
BORDEAUX	462	261	5	4
BREST	225	117	1	1
CAEN	103	80	2	1
cerba	0	0	0	0
CLERMONT-FER	553	368	0	0
DIJON	36	36	3	3
FORTDEFRANCE	23	23	0	0
GRENOBLE	50	35	0	0
LE HAVRE	0	0	0	0
LILLE	51		2	1
LIMOGES	76	51	0	0
LYON	441		6	2
MARSEILLE	742	435	0	0
NANCY	55	39	8	7
NANTES	352	257	10	10
NICE	257	239	1	1
PARIS BICHAT	354	231	0	0
PARIS COCHIN	0	0	0	0
PARIS K. BICÊTRE	639	250	2	2
PARIS MONDOR	345	265	0	0
PARIS NECKER	497	358	5	5
PARIS PITIE	543	317	1	1
PARIS POMPIDOU	286	204	0	0
PARIS St LOUIS	1493	752	19	11
PARIS StANT/TEN	415	380	3	3
POINTE A PITRE	124	79	0	0
POITIERS	9	8	0	0
REIMS	22	16	0	0
RENNES	93	63	2	2
ROUEN	416	314	0	0
St ETIENNE	315	186	3	2
STRASBOURG	246	226	1	1
TOULOUSE	232	142	13	6
TOURS	318	251	5	4
TOTAL	10354	6327	98	69

5 Réunion

En plus de réunions ciblées des membres du réseau, une réunion de l'ensemble des membres du réseau a eu lieu à la Faculté de Pharmacie de Paris Descartes le 15 décembre 2015 afin de discuter le bilan de l'année 2015 et des objectifs pour 2016.

CONCLUSION 2015 ET PERSPECTIVES 2016

Les objectifs assignés au réseau ont été atteints et valorisés tant au niveau national qu'international.

Si le nombre de cas de cryptosporidiose est globalement stable en 2015 comparativement à 2014, la mise en place de la déclaration en ligne a permis d'obtenir une augmentation significative du taux de déclaration.

*En 2015, il est à noter une augmentation de la diversité des espèces identifiées puisque les espèces différentes de *C. parvum* et *C. hominis* représentent 12% des isolats. De plus, l'espèce *C. felis* est retrouvée quasi exclusivement aux Antilles. Une étude des microsatellites est en cours*

Les caractéristiques de saisonnalité et de sex-ratio s'atténuent fortement en 2015 : on ne retrouve plus le pic d'automne ni de prévalence dans la population masculine.

Des cas chez des patients d'âge mur immunocompétents ont été rapportés.

La distribution de la répartition suivant le statut immunitaire montre cette année une augmentation des cas chez les patients infectés par le VIH et une stagnation des cas retrouvés au cours des autres situations d'immunodépression. Le rapport 2015 confirme la forte proportion de cas chez les patients transplantés rénaux ce qui justifie la mise en place d'une information spécifique auprès des équipes.

*Parmi les autres parasites identifiés et notifiés par les laboratoires du réseau, *Blastocystis* et *Giardia* restent les plus fréquents. La notification en 2015 des cas de microsporidiose confirme une prévalence importante de ce diagnostic (69 cas)*

Perspectives 2016

Les perspectives l'année 2016 doivent tenir compte de la faiblesse de l'allocation fournie par l'InVs qui permettra seulement d'assurer l'envoi des échantillons aux centres de Dijon pour le génotypage et au centre de Lille pour l'archivage.

Six priorités sont envisagées pour 2016 :

- Maintenir la déclaration en ligne des cas de cryptosporidiose et mettre en place une déclaration pour les cas de microsporidiose
- Elargir le réseau aux laboratoires de centre hospitalier généraux afin d'étendre le réseau et de mieux évaluer la prévalence de cryptosporidiose.
- Poursuivre les évaluations des performances des réactifs de diagnostic de la cryptosporidiose en utilisant la bibliothèque du réseau pour 1) assurer la mission d'évaluation du réseau et 2) apporter un complément financier permettant la poursuite (et le développement) du génotypage des souches.
- Alimenter la page « Réseau Crypto-ANOFEL » sur le nouveau site ANOFEL. Les informations sur le CQ Crypto seront annexées.
- Développer au niveau européen un programme d'évaluation externe de qualité pour le génotypage de *Cryptosporidium spp.* et *Giardia duodenalis*. Ce projet qui va être soumis à la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases a reçu le soutien de 2 groupes de travail de cette société, l'EFWISG et le ECPSG.
- Rejoindre le réseau de surveillance européen COST Foodborne parasite

Rapport établi le 25 mai 2016 par Loic Favennec et Nathalie Kapel