

Fin février 2005, l'Institut de veille sanitaire était informé par le Centre national de référence des *Salmonella* d'une augmentation du nombre de souches de *Salmonella enterica* sérotype Agona isolées chez des nourrissons en janvier-février 2005. Une investigation épidémiologique était mise en œuvre afin de confirmer l'existence d'une épidémie, d'en mesurer l'importance, d'identifier son origine et de proposer des mesures de contrôle adaptées.

Un cas a été défini comme un nourrisson résidant en France, ayant eu, depuis le 1er janvier 2005, un isolement de *Salmonella* Agona à l'occasion d'une fièvre ou d'une diarrhée. Les familles des cas ont été interrogées à partir du 3 mars sur les symptômes, les aliments et boissons consommés au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition des signes cliniques, l'existence de cas de diarrhées dans l'entourage et le mode de préparation et de conservation des biberons. Afin de tester l'origine alimentaire suspectée par les résultats des premiers interrogatoires, une enquête cas-témoins a été réalisée auprès des 23 premiers cas et de 23 nourrissons témoins. Les souches humaines, alimentaires et environnementales de *Salmonella* Agona ont été comparées par électrophorèse en champ pulsé (PFGE).

Le 4 mars, l'enquête cas-témoins montrait que tous les cas avaient consommé des poudres de lait infantile de marque Picot et qu'aucun des témoins n'en avait consommé ($p<0,00001$). Aucun autre aliment n'était associé à la survenue de la maladie. Le retrait immédiat des poudres de lait infantile de marque Picot a été suivi d'une baisse rapide du nombre de cas ayant consommé ces poudres, mais d'une augmentation du nombre de cas consommateurs de poudres de lait de marque Blédilait. Cinq lots de poudres de lait Blédilait avaient été fabriqués sur la même chaîne de production que les poudres de lait Picot. Au total, 146 cas ont été identifiés entre le 4 janvier et le 3 juin 2005 : 44 (31 %) liés à la consommation de poudres de lait Picot et 92 (65 %) de poudres de lait Blédilait. *Salmonella* Agona a été isolée dans un des 176 échantillons de poudres de lait Picot analysés, dans 6 des 420 échantillons prélevés de l'environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement des poudres Picot et dans 4 des 27 boîtes de poudres de lait Blédilait prélevées chez les familles des cas. Ces souches alimentaires et environnementales présentaient le même profil PFGE que 82 % des souches isolées chez des cas.

Il s'agit de la première épidémie documentée d'infections à *Salmonella* Agona en France. Cette investigation a montré l'inadéquation des autocontrôles à *Salmonella* dans les poudres de lait pour détecter une contamination faible et hétérogène. Elle souligne également l'importance d'investiguer tous les cas pour évaluer l'efficacité des mesures de contrôle.

*At the end of February 2005, the National Institute for Health Surveillance was informed by the National Reference Centre for Salmonella of an increase of *Salmonella enterica* serotype Agona isolated in infants in January-February 2005. An epidemiological investigation was set up to confirm the outbreak, to identify the origin and to propose appropriate control measures.*

*A case was defined as an infant living in France with fever or diarrhoea and an isolate of *Salmonella* Agona from stools, blood or urine since 1 January 2005. Families of cases were interviewed since 3 March on the symptoms, food and drinks consumed in the 7 days before the onset of symptoms, contact with other symptomatic persons and the practices of preparation and storage of feeding-bottles. To test the hypothesis of an association between *Salmonella* Agona infection and the consumption of suspected food, a case-control study was carried out on the 23 primary cases and 23 controls. *Salmonella* Agona strains isolated from infants, food and environment were typed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).*

*On the 4th March, the case-control study revealed that all the cases and none of the controls had consumed powdered formula of the same brand Picot ($p<0.00001$). No other food was associated with the salmonellosis. The withdrawal of powdered formula brand Picot was followed by a rapid decrease in cases having consumed formula brand Picot, but by an increase in cases having consumed formula brand Blédilait. Five batches of formula brand Blédilait had been manufactured on the same production line as formula brand Picot. A total of 146 cases were identified between 4 January and 3 June 2005: 44 (31%) linked to formula brand Picot and 92 (65%) to formula brand Blédilait. *Salmonella* Agona was isolated from one of 176 samples of formula brand Picot, 6 out of 420 environmental swabs from production and packaging lines of formula Picot and in 4 of 27 tins taken from infected infants' homes. These strains presented the same PFGE pattern as 82% of the strains isolated from cases.*

*This is the first documented outbreak of *Salmonella* Agona in France. This investigation shows that regular microbiological examinations of formula were insufficient to detect low-grade or inhomogeneous contamination. It also highlights the importance of continuous investigation of cases to evaluate the effectiveness of control measures.*

Epidémie de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Agona chez des nourrissons liée à la consommation de poudres de lait infantile, France, janvier-mai 2005



1 Alerte	p 2
2 Méthodes	p 2
2.1 Enquêtes épidémiologiques	p 2
Définition de cas	p 2
Identification des cas	p 2
Enquête descriptive	p 2
Enquête cas-témoins	p 3
Analyse statistique	p 3
2.2 Enquête sur les poudres de lait	p 3
2.3 Enquêtes microbiologiques	p 3
Souches d'origine humaine	p 3
Souches d'origine non humaine	p 4
Comparaison des souches d'origine humaine et non humaine	p 4
3 Résultats	p 4
3.1 Description des cas	p 4
3.2 Première phase (semaine 53 de 2004- semaine 10 de 2005)	p 5
Enquête descriptive	p 5
Enquête cas-témoins	p 6
Enquête sur les poudres de lait Picot	p 7
3.3 Deuxième phase (semaines 11-21 de 2005)	p 9
Enquête descriptive	p 9
Enquête sur les poudres de lait Blédilait	p 10
3.4 Bilan	p 11
3.5 Enquêtes microbiologiques	p 12
4 Mesures de contrôle	p 12
4.1 Première phase	p 12
4.2 Deuxième phase	p 13
5 Discussion	p 14
6 Références bibliographiques	p 17
7 Annexes	p 20
Annexe 1 : questionnaire	p 20
Annexe 2 : analyses sur les poudres de lait infantile de marque Picot	p 26

Les annexes ci-dessous sont téléchargeables sur le site internet de l'InVS :
www.invs.sante.fr/publications/2006/S_enterica_agona

Annexe 3 : rapport du CNR des *Salmonella*

Annexe 4 : rapport du Lerqap de l'Afssa

Annexe 5 : mesures de contrôle et communiqués de presse

Epidémie de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Agona chez des nourrissons liée à la consommation de poudres de lait infantile, France, janvier-mai 2005

Rapport rédigé par :

C. Brouard^{1,2}, E. Espié¹, V. Vaillant¹, H. de Valk¹

¹Département des maladies infectieuses, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

²Programme de formation à l'épidémiologie de terrain, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Institutions et personnes ayant contribué aux investigations :

Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (DGCCRF)

D. Hulaud, B. Pouyet, F. Thierry

Laboratoire DGCCRF de Rennes

J. Michard

Directions départementales de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes de Mayenne, du Rhône et du Nord

Laboratoire DGCCRF de Lille

Direction départementale des affaires sanitaires et sociales de Seine-Maritime

A.-M. Forgue

Agence française de sécurité sanitaire des aliments

A. Brisabois, A. Kérouanton

Centre national de référence des *Salmonella*

F. Grimont, F.-X. Weill

Direction générale de la santé

M.-C. Paty, L. Pochat, S. Veyrat

Institut de veille sanitaire

C. Brouard, H. de Valk, E. Espié, V. Vaillant

1. Alerte

Fin février 2005, le Centre national de référence (CNR) des *Salmonella* notait une augmentation du nombre de souches de *Salmonella enterica* sérotype Agona isolées chez des nourrissons en janvier-février 2005 : 16 souches avaient été isolées contre une en moyenne sur cette période en 2003 et 2004. Par ailleurs, en février, la Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) de Seine-Maritime (76) avait été chargée d'investiguer 6 cas groupés d'infections à *S. Agona*.

Le 3 mars 2005, l'enquête menée par la Ddass 76 montrait que 4 de ces 6 cas étaient des nourrissons qui avaient tous consommé des poudres de lait infantile de même marque au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition de leurs signes cliniques.

Le même jour, l'Institut de veille sanitaire (InVS) mettait en œuvre une investigation épidémiologique afin de confirmer l'existence d'une épidémie, d'en mesurer l'importance, de générer des hypothèses sur son origine et de proposer des mesures de contrôle et de prévention adaptées.

2. Méthodes

2.1 Enquêtes épidémiologiques

Définition de cas

Un cas a été défini comme un nourrisson (enfant de moins d'1 an), résidant en France, ayant eu, depuis le 1^{er} janvier 2005, un isolement de *Salmonella* Agona dans un prélèvement de selles, de sang ou d'urines à l'occasion de la survenue de symptômes compatibles avec une infection à *Salmonella*.

Identification des cas

Les cas identifiés par le CNR des *Salmonella* étaient notifiés à l'InVS. En cas de signalement direct d'un cas suspect par des médecins ou des familles, l'InVS demandait la réalisation d'une coproculture et l'envoi de la souche au CNR pour sérotypage.

Enquête descriptive

A partir du 3 mars 2005, les parents des cas ont été interrogés par téléphone à l'aide d'un questionnaire standardisé.

Il recueillait les informations suivantes (annexe 1) :

- les signes cliniques survenus au cours de l'épisode de salmonellose,
- l'existence de maladie chronique, de prise de traitement au long cours, d'antibiothérapie, phytothérapie ou homéopathie au cours du mois ayant précédé l'apparition des signes cliniques,
- l'existence de cas de diarrhées dans l'entourage du cas au cours des 7 jours ayant précédé ou suivi l'apparition des signes cliniques,
- la prise de repas en dehors du foyer familial (crèche, nourrice...) dans les 7 jours ayant précédé l'apparition des signes cliniques,
- la consommation alimentaire de l'enfant (produits carnés, charcuterie, produits laitiers, aliments pour bébés, gâteaux/friandises, boissons...) au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition des signes cliniques,
- le mode de préparation des biberons (eau utilisée pour la préparation des biberons, méthodes de lavage, de stérilisation et de chauffage des biberons, préparation des biberons à l'avance...),
- l'information sur la marque, le lieu d'achat et le numéro de lot de lait infantile consommé par le nourrisson.

Enquête cas-témoins

Une enquête cas-témoins a été réalisée par téléphone du 3 au 4 mars par les épidémiologistes de l'InVS afin de tester l'origine alimentaire suspectée par les résultats des premiers interrogatoires.

Les cas inclus étaient les cas identifiés par le CNR des *Salmonella* à la date du 3 mars 2005. Les témoins ont été recrutés auprès des laboratoires de bactériologie hospitaliers ou privés ayant réalisé les isolements de *S. Agona* des cas et auprès de leurs médecins traitants. Ils devaient avoir le même âge (à plus ou moins 2 mois près) que les cas et ne pas avoir présenté de gastro-entérite ou d'épisode fébrile au cours du mois précédent l'interrogatoire.

Le questionnaire administré était le même pour les cas et les témoins.

Les parents des témoins ont été interrogés sur les expositions de leur enfant au cours des 7 jours ayant précédé l'interrogatoire.

Analyse statistique

L'analyse des données a été effectuée sur Epi Info version 3.3.2 (CDC Atlanta, OMS Genève). La force de l'association entre l'aliment suspecté et la maladie a été mesurée par l'odds ratio (OR) pondéré de Mantel-Haenszel. La précision de l'OR était donnée par son intervalle de confiance à 95 %.

2.2 Enquête sur les poudres de lait

Des enquêtes ont été menées par la Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (DGCCRF) et les Directions départementales de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (DDCCRF) de la Mayenne (53) et du Nord (59) dans les entreprises productrices des poudres de lait infantile suspectées. Ces enquêtes avaient pour objectifs d'identifier l'ensemble des processus de fabrication et de conditionnement, les types de produits fabriqués et conditionnés sur les chaînes de production et les zones de distribution (nationale et internationale) de ces poudres de lait. Des prélèvements ont été réalisés dans ces entreprises au niveau :

- de l'échantillothèque,
- des matières premières,
- des produits en cours de fabrication,
- des produits finis,
- de l'environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement (prélèvements de surface).

En parallèle, des prélèvements de poudres de lait infantile ont été effectués auprès de familles ayant conservé la(les) boîte(s) de lait consommée(s) dans les 7 jours précédent l'apparition des signes cliniques.

Les prélèvements alimentaires et environnementaux ont été envoyés aux laboratoires des DDCCRF 35 et 59 et au Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agro-alimentaires (Lerqap) de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) pour la recherche de salmonelles et typage.

Des analyses ont également été réalisées à l'initiative des entreprises productrices dans leurs laboratoires ou à l'Afssa.

Plusieurs méthodes de détection ont été simultanément appliquées à ces échantillons (deux méthodes bactériologiques et trois méthodes alternatives) (Annexe 4).

2.3 Enquêtes microbiologiques

Souches d'origine humaine

Au CNR des *Salmonella*, un échantillon de souches de *Salmonella* Agona isolées chez les cas (cas "épidémiques") a été comparé par électrophorèse en champ pulsé après macrorestriction de l'ADN par *Xba*I (PFGE) à un échantillon de souches de *S. Agona* isolées en 2004 chez des nourrissons et en 2005 chez des patients de plus de 2 ans (cas "non épidémiques").

Souches d'origine non humaine

Au Lerqap, des souches de *Salmonella* Agona d'origine alimentaire et environnementale ont été analysées par électrophorèse en champ pulsé (*Xba*I) selon la même technique standardisée et comparées aux souches de *S. Agona* isolées en 2002 et 2003 référencées dans la base de données Afssa des profils moléculaires et isolées des filières alimentation humaine, alimentation animale, santé et production animale et écosystème.

Comparaison des souches d'origine humaine et non humaine

Les profils de PFGE des souches d'origine humaine, alimentaire et environnementale ont été comparés par le Lerqap à l'aide du logiciel Bionumerics®.

3. Résultats

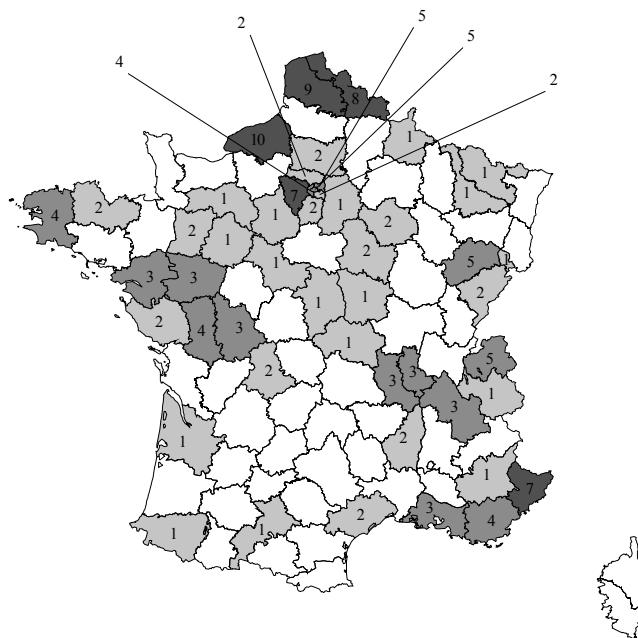
3.1 Description des cas

146 souches de *Salmonella* Agona isolées de nourrissons ont été identifiées par le CNR des *Salmonella* entre le 4 janvier et le 3 juin 2005. Les familles de 141 nourrissons ont pu être interrogées.

Les 141 cas étaient âgés de 1 mois à 12 mois au moment de l'apparition des signes cliniques (médiane : 5,9 mois). Le sex-ratio garçons / filles était de 1 (70/71).

Les 141 cas résidaient sur l'ensemble du territoire français, avec des regroupements de 10 cas en Seine-Maritime et 9 cas dans le Pas-de-Calais (Figure 1).

Figure 1 : Distribution géographique des 141 nourrissons avec une salmonellose à *Salmonella* Agona selon leur département de résidence, France, janvier-mai 2005



Leurs signes cliniques étaient apparus entre le 28 décembre 2004 et le 26 mai 2005 (Figure 2). La diarrhée était quasi-constante (99 %), sanglante pour 56 % des cas. Une fièvre supérieure à 38°C était rapportée par 75 % des familles des nourrissons (Tableau 1).

Cinquante enfants (36 %) ont été hospitalisés, dont 18 le jour même de l'apparition des signes. L'hospitalisation a duré entre 1 et 14 jours (médiane : 4 jours, moyenne : 4,6 jours).

L'évolution a été favorable pour tous. Aucun décès n'a été constaté.

Tableau 1 : Signes cliniques décrits chez les 141 nourrissons au cours de la salmonellose à *Salmonella Agona*. France, janvier-mai 2005

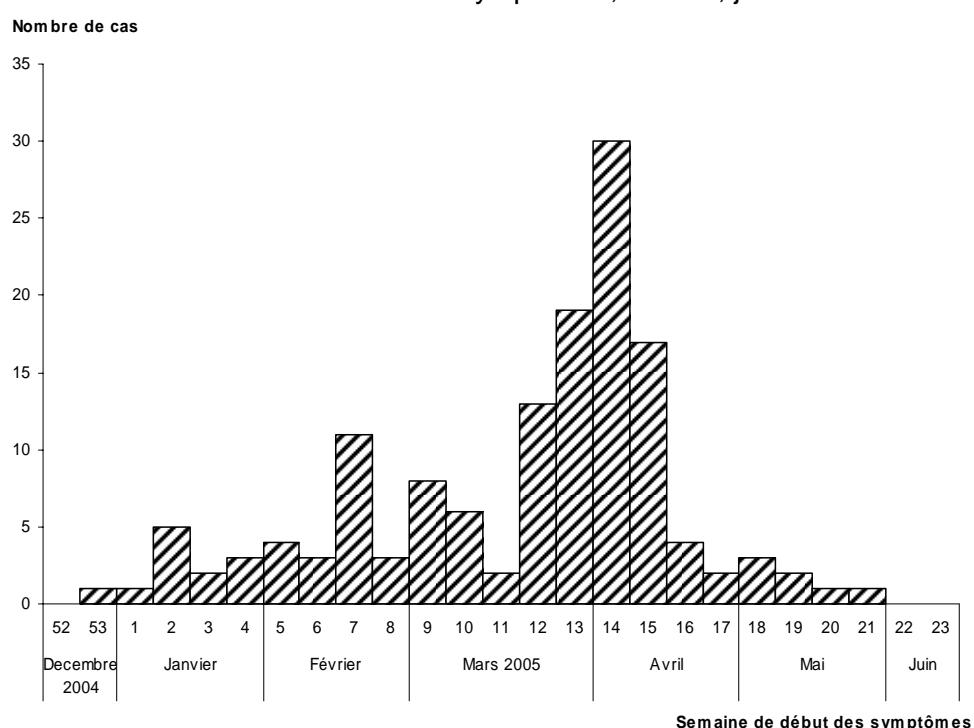
	Nombre de cas	Pourcentage
Diarrhée	140	99
<i>Diarrhée sanglante</i>	79	56
Fièvre	105	75
Douleur abdominale	63*	46
Vomissements	55	39
Nausées	43*	31
Autres signes (fatigue, somnolence...)	17	12

* Nombre de cas renseignés=138

L'épidémie s'est déroulée en deux phases successives :

- une première phase de la semaine 53 de l'année 2004 à la semaine 10 de l'année 2005 présentant un pic épidémique en semaine 7,
- une seconde phase de la semaine 11 à la semaine 21 de l'année 2005, comportant un pic épidémique en semaine 14 plus important que celui observé au cours de la 1^{ère} phase.

Figure 2 : Distribution hebdomadaire des 141 nourrissons avec une salmonellose à *Salmonella Agona* selon la semaine civile de début des symptômes, France, janvier-mai 2005



3.2 Première phase (semaine 53 de l'année 2004- semaine 10 de l'année 2005)

Enquête descriptive

L'enquête menée auprès des familles des 47 cas dont les signes cliniques étaient apparus entre le 28 décembre 2004 et le 13 mars 2005 retrouvait deux aliments consommés par 100 % des nourrissons au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition des symptômes (Tableau 2) :

- les poudres de lait infantile : 91 % des nourrissons avaient consommé des poudres de lait infantile de marque Picot, Picot hypo-allergénique pour 49 % et Picot antirégurgitation pour 23 % d'entre eux. Aucune information sur les numéros de lots consommés n'a pu être retrouvée.
- l'eau embouteillée : 9 marques ont été citées, dont la marque E consommée par 66 % des nourrissons.

Tableau 2 : Fréquences de consommation des aliments consommés par au moins 30 % des nourrissons au cours des 7 jours ayant précédé le début des signes cliniques de salmonellose à *Salmonella Agona*, France, janvier-mars 2005

Aliments consommés	Nombre de cas ayant consommé N=47	Proportion de consommateurs (%)
Pots de fruits	17	36
pots fruits marque B*	15	32
pots fruits marque N*	11	23
Pots de légumes	15	32
pots légumes marque B *	15	32
pots légumes marque N *	8	17
Poudres de lait infantile	47	100
poudres de lait Picot	43	91
<i>Picot hypo-allergénique</i>	21	49
<i>Picot antirégurgitation</i>	10	23
<i>Autres poudres de lait Picot</i>	12	28
poudres de lait Blédilait	2	4
autres poudres de lait	2	4
Eau embouteillée (utilisée pour les biberons)	47	100
eau marque E	31	66

* Certains nourrissons avaient consommé à la fois des petits pots de marque B et de marque N.

Dix-sept familles (36 %) ont rapporté l'existence d'au moins un cas de diarrhée dans leur foyer ou dans leur entourage dans les 7 jours ayant précédé ou suivi l'apparition des signes cliniques de leur enfant.

Enquête cas-témoins

L'enquête cas-témoins, réalisée le 3 et 4 mars 2005 auprès des 23 premiers cas interrogés et de 23 témoins, montrait que tous les cas avaient consommé des poudres de lait infantile de marque Picot et qu'aucun des témoins n'en avaient consommé (OR incalculable). Aucune association n'était mise en évidence entre la consommation d'autres aliments et la survenue de la salmonellose.

Aucune différence significative n'était retrouvée concernant les modes de préparation des biberons chez les familles des cas et chez celles des témoins (Tableau 3).

Tableau 3 : Fréquences des expositions et mesures d'association pour les aliments consommés par au moins 25 % des cas. *Salmonella Agona*, France, janvier-mars 2005

Aliments	Cas N=23		Témoins N=23		OR	IC 95 %
	Effectifs	(%)	Effectifs	(%)		
Exposition alimentaire						
Pots de légumes	6	26	5	22	1,3	0,3-5,0
Pots de légumes marque B	6	26	2	9	3,7	0,7-20,8
Pots de légumes marque N	3	13	2	9	1,6	0,2-10,4
Pots de fruits	6	26	5	22	1,3	0,3-5,0
Pots de fruits marque B	5	22	3	13	1,9	0,4-8,9
Pots de fruits marque N	3	13	3	13	1,0	0,2-5,6
Poudres de lait infantile Picot	23	100	0	0	OR incalculable	
Eau embouteillée marque E	15	65	12	52	1,7	0,5-5,6
Préparation des biberons						
Stérilisation des biberons	14/21	67	14/15	93	0,1	0,02-1,3
Préparation des biberons à l'avance	6/20	30	5/16	31	0,9	0,2-3,9
Conservation des biberons au réfrigérateur si préparation à l'avance	4/6	67	4/5	80	0,5	0,007-14,5

Enquête sur les poudres de lait Picot

L'enquête menée par la DGCCRF rapportait que les poudres de lait infantile de marque Picot étaient fabriquées par l'entreprise Célia située en Mayenne (53). Les inspections de la chaîne de fabrication de l'entreprise Célia menées par la DDCCRF de Mayenne les 8 et 15 mars 2005 n'ont pas mis en évidence de dysfonctionnement. Par ailleurs, tous les autocontrôles réalisés en routine par l'entreprise étaient négatifs pour *Salmonella*.

Les analyses réalisées par la DGCCRF et l'entreprise Célia sur 206 prélèvements alimentaires (matières premières, produits en cours de fabrication, produits finis) et 420 prélèvements environnementaux au niveau des chaînes de fabrication et de conditionnement (Tableau 4, Annexe 2) mettaient en évidence la présence de *Salmonella Agona* dans :

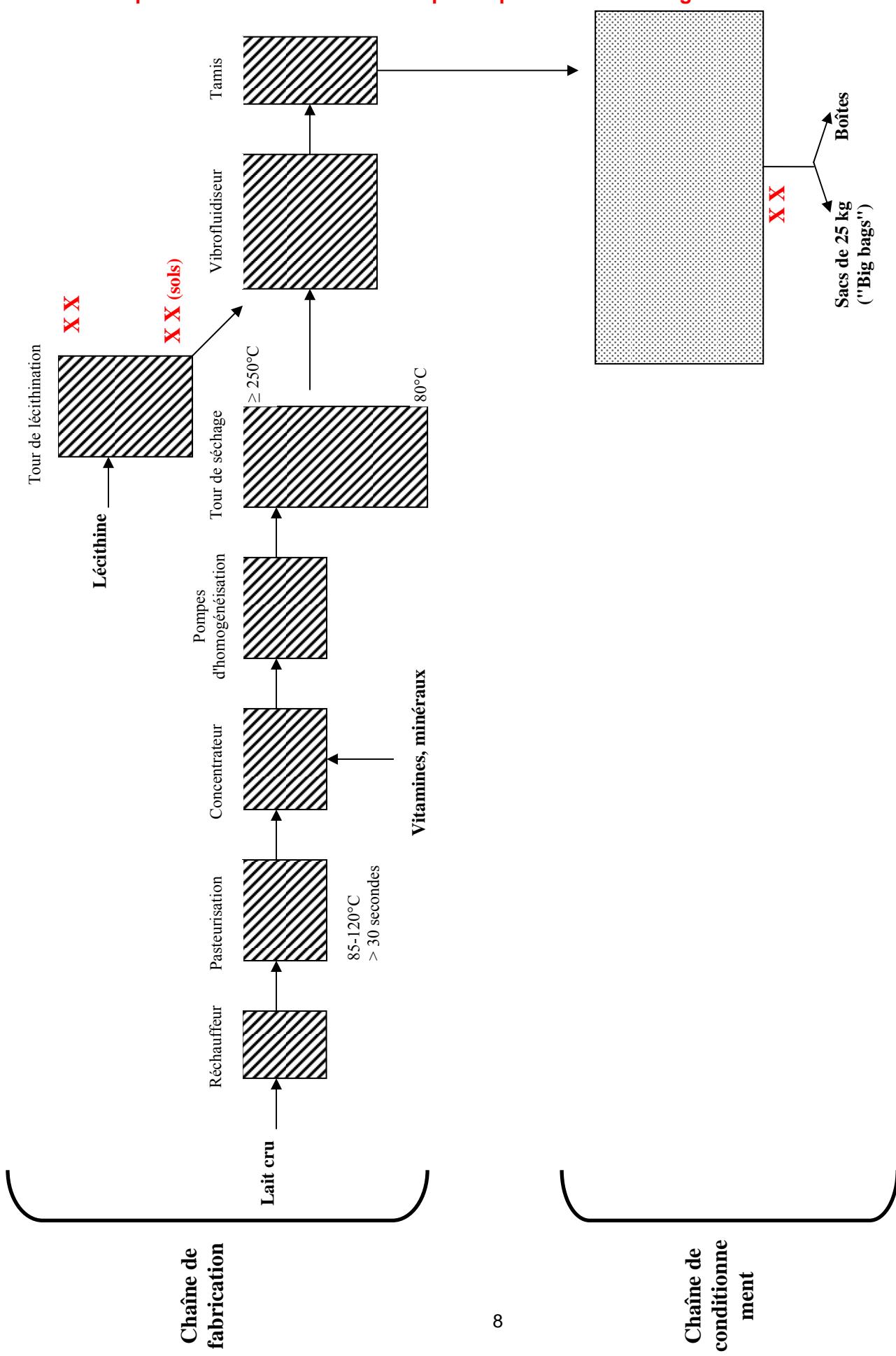
- une boîte de Picot nutrition quotidienne 1^{er} âge fabriquée le 15 juillet 2004 (une prise d'essai positive sur deux prises d'essai de 200g),
- 2 prélèvements de lécithine retrouvée sur le sol,
- 1 prélèvement dans un aspirateur de la tour de lécithination,
- 1 prélèvement dans une cuve de préchauffage de la lécithine,
- 2 prélèvements environnementaux en fin de chaîne de conditionnement (Figure 3).

Tableau 4 : Analyses réalisées sur les poudres de lait infantile de la marque Picot et dans l'environnement de l'entreprise Célia. *Salmonella Agona*, France, janvier-mars 2005

Description du prélèvement	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs pour <i>Salmonella Agona</i>
Matières premières (lactose, maltodextrines, lécithine)	24	0
Poudres de lait en cours de fabrication (début mars 2005 avant désinfection)	6	0
Poudres de lait fabriquées et conditionnées en mars 2005 avant désinfection	102	0
Poudres de lait provenant de l'échantillothèque (fabriquées entre août 2003 et février 2005)	66	1 : boîte de Picot fabriquée le 15 juillet 2004
Poudres de lait de boîtes provenant de familles de nourrissons malades	8 boîtes	0
Environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement avant désinfection	420	6 : poste de lécithination (4 échantillons), fin de chaîne de conditionnement (2 échantillons)

Figure 3 : Schéma des chaînes de fabrication et de conditionnement des poudres de lait de l'entreprise productrice Célia

X = 1 prélèvement environnemental positif pour *Salmonella Agona*



3.3 Deuxième phase (semaines 11-21 de l'année 2005)

Enquête descriptive

L'enquête menée auprès des familles des 94 cas dont les signes cliniques étaient apparus entre le 14 mars et le 26 mai 2005 retrouvait que 93 % des nourrissons avaient consommé des poudres de lait infantile de marque Blédilait de la gamme Blédilait 2^{ème} âge au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition des signes cliniques (Tableau 5).

Tableau 5 : Fréquences de consommation des aliments consommés par au moins 30 % des nourrissons au cours des 7 jours ayant précédé le début des signes cliniques de salmonellose à *Salmonella Agona*, France, mars-mai 2005

Aliments consommés	Nombre de cas ayant consommé N=94	Proportion de consommateurs (%)	
Pots de fruits	57	61	
pots de fruits marque B*	52	55	
pots de fruits marque N*	30	32	
Pots de légumes	46	49	
pots de légumes marque B *	39	42	
pots de légumes marque N *	23	25	
Poudres de lait infantile	94	100	
poudres de lait Blédilait	87	93	
Blédilait 2 ^{ème} âge	79	91	
Blédilait 2 ^{ème} âge + autres	8	9	
poudres de lait Gallia	3	3	
poudres de lait Picot	1	1	
autres poudres de lait	3	3	
Eau embouteillée (utilisée pour les biberons)	92	98	
eau marque E	64	68	

* Certains nourrissons avaient consommé à la fois des petits pots de marque B et de marque N.

Des informations sur les lots de Blédilait 2^{ème} âge ont pu être obtenues pour 62 nourrissons (Tableau 6). Sept lots différents ont été cités, dont 2 par 90 % des familles :

- Blédilait 2^e âge 900g 1231/BL9 DEC 06, consommé par 35 nourrissons (56 %),
- Blédilait 2^e âge 900g 1229/BL7 DEC 06, consommé par 21 nourrissons (34 %).

Tableau 6 : Lots de poudres de lait infantile Blédilait 2^e âge consommés par les cas dans les 7 jours ayant précédé les symptômes de salmonellose à *Salmonella Agona* (pour les 62 cas pour lesquels l'information était connue), France, mars-mai 2005

Numéro de lot	Nombre de consommateurs*
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1229/BL7 DEC 06	21
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1231/BL9 DEC 06	35
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1221/BLX DEC 06	6
Blédilait 2 ^{ème} âge 450g 1210/BLJ DEC06	1
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 289/DNH JANV 07	1
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 290/DNH JANV 07	2
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 295/DFT FEV07	1

* Certains nourrissons avaient consommé des poudres de lait de plusieurs lots différents au cours de 7 jours ayant précédé les signes cliniques.

Enquête sur les poudres de lait Blédilait

L'enquête de la DGCCRF mettait en évidence que l'entreprise Célia avait fabriqué, sur la même chaîne de fabrication que les poudres de lait Picot, 5 lots de poudres de lait infantile pour l'entreprise Blédina en décembre 2004. Ces poudres de lait, livrées en vrac ("big bag"), avaient été conditionnées par l'entreprise Blédina située dans le département du Nord (59) et vendues sous les marques Blédilait 2^{ème} âge et Gallia 2^{ème} âge (Tableau 7). Tous les auto-contrôles réalisés par l'entreprise Blédina sur ces lots étaient négatifs (14 analyses sur 25g pour chaque lot).

Tableau 7 : Lots de poudres de lait infantile fabriqués par l'entreprise Célia pour l'entreprise Blédina. *Salmonella Agona, France, mars-mai 2005*

Lots	Dates de fabrication
Gallia 2 ^{ème} âge 450g 1210/BLJ DEC06	10/12/2004
Blédilait 2 ^{ème} âge 450g 1210/BLJ DEC06	10/12/2004
Gallia 2 ^{ème} âge 900g 1211/BLK DEC06	11/12/2004
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1221/BLX DEC06	21/12/2004
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1229/BL7 DEC06	29/12/2004
Blédilait 2 ^{ème} âge 450g 1229/BL7 DEC06	29/12/2004
Blédilait 2 ^{ème} âge 900g 1231/BL9 DEC06	31/12/2004

En outre, les enquêtes de traçabilité des lots 289/DNH, 290/DNH et 295/DFT (consommés par des cas) (Tableau 6) montraient que les lots 289/DNH et 290/DNH avaient été fabriqués et conditionnés par l'entreprise Blédina juste après les lots Blédilait 1229/BL7 et 1231/BL9, avant le nettoyage hebdomadaire et la désinfection mensuelle.

Au cours d'une inspection de l'entreprise Blédina, la DDCCRF 59 a réalisé :

- 25 prélèvements de surface ;
- 4 prélèvements de poudre de lait ;
- 16 prélèvements de boîtes de l'échantillothèque ;
- 6 prélèvements de poudre résiduelle ;
- 20 prélèvements de lots conditionnés après les lots 289 et 290¹.

Tous ces échantillons étaient négatifs pour la recherche de *Salmonella*.

A partir des 27 boîtes de Blédilait ou Gallia prélevées chez les familles des cas, *Salmonella* Agona a été isolée dans 2 boîtes du lot 1229/BL7 et dans 2 boîtes du lot 1231/BL9 (1 à 2 prises d'essai positives sur 10 prises d'essai de 25g) (Tableau 8).

Tableau 8 : Recherches de *Salmonella* Agona dans des boîtes de Blédilait consommées par les cas. *Salmonella Agona, France, mars-mai 2005*

Lots	Nombre de boîtes analysées	Mise en évidence de <i>Salmonella</i> Agona
Blédilait 2 ^{ème} âge 1229/BL7 DEC06	10	2*
Blédilait 2 ^{ème} âge 1231/BL9 DEC06	9	2**
Blédilait 2 ^{ème} âge 1221/BLX DEC06	3	0
Gallia 2 ^{ème} âge 1211/BLK DEC06	1	0
Blédilait 2 ^{ème} âge 289/DNH JAN07	2	0
Blédilait 2 ^{ème} âge 290/DNH JAN07	2	0

*1 positif / 6x25g pour une boîte, 2 positifs / 10x25g pour une boîte.

**1 positif / 10x25g pour les 2 boîtes.

¹ Données communiquées lors des réunions téléphoniques.

3.4 Bilan

Cette épidémie s'est déroulée en deux phases successives (Figure 4) :

- la première phase de fin décembre 2004 à mi-mars 2005 était liée à la consommation de poudres de lait de marque Picot et a concerné 44 cas (Tableau 9) ;
- la seconde phase a débuté au cours de la 4^e semaine de mars et a concerné 92 cas. Elle était liée à la consommation de plusieurs lots de poudres de lait de marque Blédilait / Gallia :
 - o 5 lots fabriqués par l'entreprise Célia et conditionnés par l'entreprise Blédina,
 - o 2 lots fabriqués et conditionnés par l'entreprise Blédina juste après ces 5 lots.

Figure 4 : Distribution hebdomadaire des 141 nourrissons avec une salmonellose à *Salmonella* Agona selon la semaine civile de début des symptômes et selon la marque de poudres de lait infantile consommées dans les 7 jours ayant précédé l'apparition des symptômes, France, janvier-mai 2005

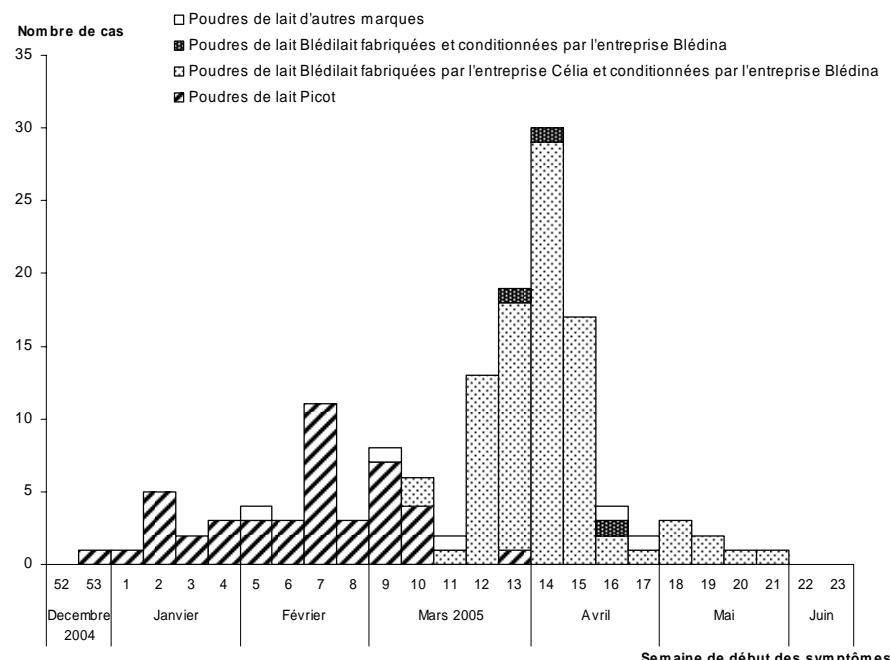


Tableau 9 : Distribution des poudres de lait infantile consommées par les cas au cours des 7 jours ayant précédé le début des signes cliniques de salmonellose à *Salmonella* Agona (n=141 cas), France, janvier-mai 2005

Marque et type de poudres de lait infantile	Nombre de consommateurs N = 141	Proportion de consommateurs parmi les cas (%)
Poudres de lait de marque Picot	44	31
Poudres de lait de marque Blédilait	89	63
Blédilait 2 ^{ème} âge 1229/BL7 DEC 06	21	15
Blédilait 2 ^{ème} âge 1231/BL9 DEC 06	35	25
Blédilait 2 ^{ème} âge 1221/BLX DEC 06	6	4
Blédilait 2 ^{ème} âge 1210/BLJ DEC 06	1	1
Un de ces 4 lots (sans précision du lot)	8	6
Blédilait 2 ^{ème} âge 289/DNH JAN 07	1	1
Blédilait 2 ^{ème} âge 290/DNH JAN 07	2	1
Blédilait 2 ^{ème} âge 295/DFT FEV 07	1	1
Blédilait 2 ^{ème} âge (lots inconnus)	14	10
Poudres de lait de marque Gallia 2 ^{ème} âge	3	2
Autres marques de poudres de lait infantile	5	4

3.5 Enquêtes microbiologiques

Au CNR des *Salmonella*, 11 souches isolées chez des cas "épidémiques" (4 consommateurs de poudres de lait Picot, 7 consommateurs de poudres de lait Blédilait) ont été comparées à 13 souches de *S. Agona* isolées chez des cas "non épidémiques" (8 souches isolées en 2004 chez des enfants de moins de 1 an et 5 souches isolées en 2005 chez des malades de plus de 2 ans) et à une souche isolée de poudres de lait Picot.

Le profil X1 était majoritaire, retrouvé pour 9 des 11 souches (82 %) des cas "épidémiques", 7 des 13 souches (54 %) des cas "non épidémiques" et pour la souche isolée de poudres de lait Picot (Tableau 10).

Parmi les 7 souches isolées chez des cas "non épidémiques" présentant le profil X1, 5 souches avaient été isolées de mai à décembre 2004 chez des nourrissons ayant consommé des poudres de lait Picot au cours des 7 jours ayant précédé l'apparition de leurs signes cliniques (Annexe 3).

Tableau 10 : Pulsotypes des souches de *Salmonella Agona* d'origine humaine, alimentaire et environnementale, France, janvier-mai 2005. Lerqap, Afssa, CNR des *Salmonella*

Pulsotype	Nombre de souches d'origine humaine (n=24)		Nombre de souches d'origine alimentaire Picot (n=1)	Nombre de souches d'origine alimentaire Blédilait (n=5)	Nombre de souches d'origine environnementale entreprise Célia (n=6)
	Cas épidémiques (11)	Cas non épidémiques (13)			
X1	9	7	1	5	6
X2 (proche X1)		1			
X4	1				
X5	1				
X6	1				
X7	1				
X8	1				
X9	1				
X10	1				

Au Lerqap de l'Afssa, le profil de la souche provenant de poudres de lait Picot a été comparé aux profils de 6 souches isolées de l'environnement de l'entreprise Célia, de 5 souches isolées de poudres de lait Blédilait et aux profils référencés dans la base de données des profils moléculaires comprenant 18 souches non reliées et isolées en 2002 et 2003 des filières : alimentation humaine (9 souches), alimentation animale (3 souches), santé et production animale (4 souches) et écosystème (2 souches).

Le profil X1 était retrouvé pour la souche de poudres de lait Picot, les 5 souches de poudres de lait Blédilait, les 6 souches de l'environnement de l'entreprise Célia et une des 18 souches de la base de données de l'Afssa, isolée de l'environnement de l'atelier d'une industrie laitière d'Ille-et-Vilaine (35) en 2002 (Annexe 4).

4. Mesures de contrôle

4.1 Première phase

Le 4 mars 2005, au vu des résultats de l'enquête épidémiologique descriptive qui suspectaient les poudres de lait infantile Picot, l'entreprise Célia procédait par communiqué de presse à un retrait et un rappel de toutes les poudres de lait infantile de la marque Picot vendues en pharmacies et parapharmacies (Figure 5, Annexe 5).

De plus, des poudres de lait infantile fabriquées par l'entreprise Célia étant exportées vers l'Italie, la Finlande et les pays tiers à la Communauté européenne, une information a été faite à tous ces pays par le système d'alerte européen RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) et par Infosan (OMS) (Annexe 5).

La chaîne de fabrication des poudres de lait infantile Picot a été immédiatement arrêtée et un audit a été réalisé par l'Institut Pasteur de Lille dans l'entreprise Célia. Après un nettoyage et une désinfection, la chaîne de fabrication a été remise en marche le 23 mars. Le 30 mars, 4 auto-contrôles de l'environnement de la chaîne de fabrication et de conditionnement (au niveau des sols du laboratoire, sous le poste de lécithination, sous le vibro-fluidiseur et en fin de chaîne de conditionnement) se sont révélés positifs. La chaîne a été de nouveau arrêtée et nettoyée et la production produite entre le 23 mars et le 6 avril a été stockée. Après de nouveaux contrôles qui se sont révélés négatifs, les poudres de lait infantile fabriquées à partir du 14 avril 2005 ont pu être commercialisées.

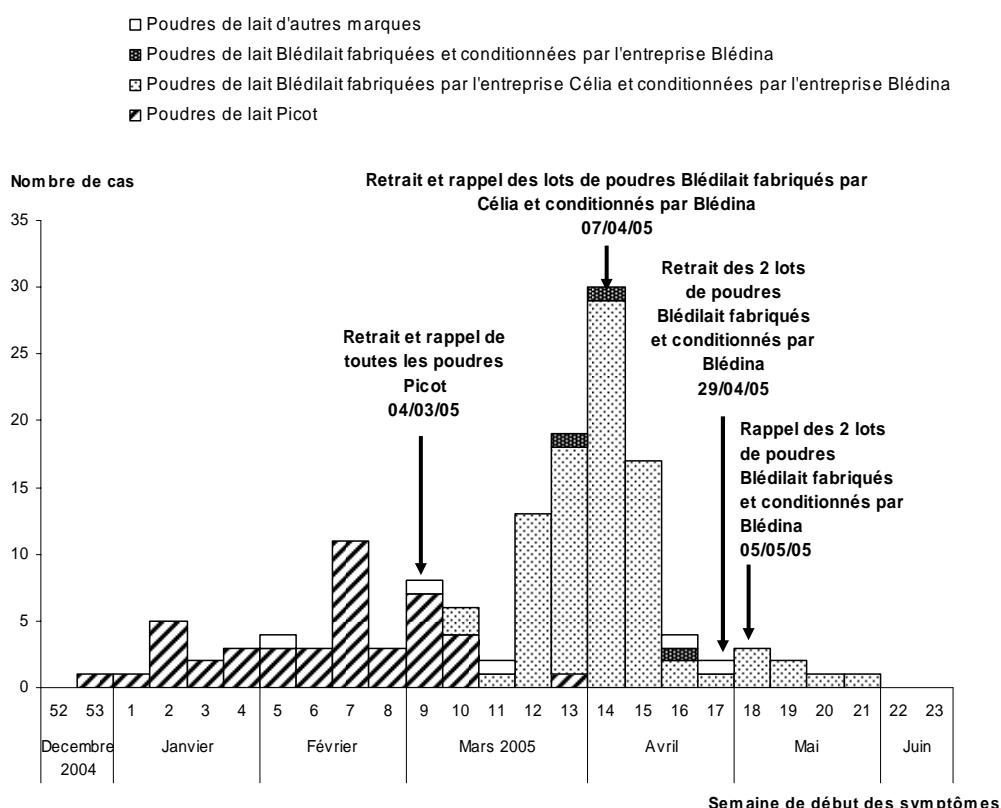
4.2 Deuxième phase

Le 7 avril 2005, au vu des résultats des différentes investigations, l'entreprise Blédina procéda par communiqué de presse à un retrait et un rappel des 5 lots de poudres de lait Blédilait / Gallia 2^{ème} âge produits par l'entreprise Célia, conditionnés par l'entreprise Blédina et vendus en pharmacies et dans les grandes et moyennes surfaces (Annexe 5).

Ces lots de poudres de lait Blédilait étant exportés vers l'Italie et les pays tiers, une information a été faite à ces pays par RASFF et Infosan (OMS)(Annexe 5).

Le 29 avril 2005, des mesures de retrait supplémentaires des 2 lots de poudres de lait infantile Blédilait et Gallia 2^{ème} âge fabriqués et conditionnés par l'entreprise Blédina juste après les 5 lots fabriqués par l'entreprise Célia et conditionnés par l'entreprise Blédina ont été mises en place. Le rappel de ces 2 lots a été réalisé le 5 mai 2005 (Annexe 5).

Figure 5 : Distribution hebdomadaire des 141 nourrissons avec une salmonellose à *Salmonella* Agona selon la semaine de début des symptômes et selon la marque de poudres de lait infantile consommées dans les 7 jours précédant l'apparition des symptômes, France, janvier-mai 2005



5. Discussion

La surveillance des *Salmonella* par le CNR des *Salmonella* a permis de détecter cette épidémie de salmonellose à *Salmonella* sérotype Agona survenue chez des nourrissons en France entre janvier et mai 2005.

Les résultats des différentes investigations montrent que cette épidémie s'est déroulée en deux phases successives et qu'elle est attribuable à la consommation de poudres de lait infantile de deux marques.

La première phase était liée à la consommation de poudres de lait infantile de marque Picot d'après les arguments suivants :

- les résultats de l'enquête cas-témoins, mettant en évidence une association statistiquement significative entre la consommation de poudres de lait infantile Picot et la survenue de la salmonellose,
- l'isolement de *Salmonella* Agona dans un échantillon de poudres de lait Picot et dans des échantillons provenant de l'environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement des poudres de lait Picot,
- la similitude des profils des souches d'origine humaine, alimentaire et environnementale,
- l'efficacité des mesures de contrôle (arrêt de la production et retrait et rappel de toutes les poudres de lait infantile Picot) sur la baisse du nombre de cas.

La seconde phase était liée à la consommation de poudres de lait infantile Blédilait/Gallia 2^{ème} âge en raison :

- des résultats de l'enquête de la DGCCRF mettant en évidence que 5 lots de poudres de lait Blédilait/Gallia 2^{ème} âge avaient été fabriqués en décembre 2004 sur la même chaîne de fabrication que les poudres de lait Picot et conditionnés par l'entreprise Blédina et que 2 lots avaient été conditionnés juste après ces 5 lots sur la même chaîne de conditionnement de l'entreprise Blédina,
- de la fréquence de consommation de poudres de lait infantile Blédilait 2^{ème} âge par les cas de la seconde vague (93 %),
- de l'isolement de *Salmonella* Agona dans des boîtes de Blédilait 2^{ème} âge consommées par les cas,
- de la similitude des profils des souches humaines et alimentaires,
- de l'efficacité des mesures de contrôle (retrait et rappel des 5 lots Blédilait/Gallia) sur la diminution du nombre de cas.

La similitude des profils en PFGE des souches isolées des poudres de lait de marque Picot et de marque Blédilait confirme qu'il s'agit bien de la même épidémie.

L'origine de la contamination reste inconnue.

Plusieurs hypothèses semblent plausibles. La contamination des poudres de lait par *Salmonella* Agona pourrait être liée :

- soit à l'arrivée en début de chaîne de fabrication de lait cru contaminé et à des durées et/ou des températures de chauffage insuffisantes lors du processus de pasteurisation. La contamination de lait cru par *Salmonella* est en effet connue [1,2]. Cependant, aucun dysfonctionnement de la chaîne de fabrication n'a été relevé par la DDCCRF ;
- soit à une contamination après pasteurisation du lait à partir de l'environnement de la chaîne de fabrication et/ou de la chaîne de conditionnement ou à partir d'une matière première introduite après pasteurisation du lait (la lécithine par exemple). Des souches de S. Agona ont en effet été isolées de divers points de l'environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement (poste de lécithination, sol sous le vibrofluidiseur, fin de chaîne de conditionnement).

La contamination des poudres de lait Picot semble relativement ancienne puisqu'une souche de S. Agona a été isolée de poudres de lait Picot fabriquées le 15 juillet 2004. De plus, l'interrogatoire des familles de 23 nourrissons, chez lesquels des souches de S. Agona avaient été isolées par le CNR des *Salmonella* en 2004, montrait que 18 d'entre eux avaient consommé des poudres de lait infantile Picot. Ces dix-huit nourrissons avaient présenté leurs signes cliniques entre mai et décembre 2004. Cinq souches de *Salmonella* Agona isolées chez six d'entre eux présentaient le profil X1 commun à 82 % des souches humaines épidémiques, à la souche isolée de poudres de lait Picot et aux 6 souches isolées de l'environnement de la chaîne de fabrication de l'entreprise Célia. Ces 5 souches humaines, classées dans le groupe des 13

souches de cas "non épidémiques" expliquaient que près de 54 % d'entre elles présentaient le pulsotype X1.

Par ailleurs, la positivité de quatre autocontrôles de l'environnement des chaînes de fabrication et de conditionnement de l'entreprise Célia après les procédures de nettoyage et de désinfection, ainsi que la contamination croisée de la chaîne de conditionnement de l'entreprise Blédina par l'intermédiaire des 5 lots Blédilait/Gallia fabriqués sur la chaîne de fabrication de l'entreprise Célia et conditionnés par l'entreprise Blédina, confirment une persistance et une résistance des salmonelles dans l'environnement.

Au cours de cet épisode épidémique, les investigations épidémiologiques ont permis d'identifier la source de l'épidémie, de suivre l'efficacité des mesures de contrôle et ainsi, de mettre en évidence et de contrôler rapidement la seconde phase de l'épidémie. Elles se sont révélées plus sensibles que les analyses bactériologiques pour détecter une contamination probablement faible et hétérogène des poudres de lait par *S. Agona* comme en témoigne :

- le faible nombre de cas identifiés par rapport au grand nombre de consommateurs de poudres de lait (particulièrement de marque Blédilait),
- la négativité de tous les auto-contrôles de routine réalisés par les entreprises Célia et Blédina,
- la négativité de la majorité des analyses réalisées dans le cadre de cette investigation (1,5 % d'analyses positives) malgré des recherches nombreuses et ciblées (dans des boîtes de lait consommées par des cas dans les 7 jours ayant précédé l'apparition de leurs signes cliniques) et les moyens techniques mis en œuvre (augmentation du nombre et de la quantité de prises d'essai, diversité des méthodes de détection),
- le taux élevé de prises d'essai négatives pour les échantillons de poudres de lait dans lesquels *S. Agona* a pu être isolée (80 à 90 % pour les poudres de lait Blédilait, 50 % pour les poudres de lait Picot).

Il s'agissait de la première épidémie de salmonellose à *S. Agona* survenant en France. *Salmonella Agona* est néanmoins relativement fréquente en France puisqu'elle fait partie, en 2003 et 2004, des dix souches de *Salmonella* d'origine humaine les plus souvent reçues au CNR des *Salmonella* (70 à 100 souches *S. Agona* par an). Plusieurs épidémies de salmonelloses à *S. Agona* ont été décrites dans d'autres pays. Elles étaient liées à la consommation de lait en poudre [3], de goûter à la cacahuète [4,5], de viande de dinde [6], de céréales à base d'avoine grillée [7] et de tisane à base d'anis et de fenouil [8].

De nombreuses épidémies de salmonelloses liées à la consommation de poudres de lait infantile ont été rapportées depuis les années 1950 chez des nourrissons [2,9-13]. Les *Salmonella* ont en effet la capacité de survivre dans les poudres de lait et de se multiplier rapidement lors de la reconstitution [1,14,15]. Cette aptitude à survivre dans les poudres de lait est liée aux caractéristiques microbiologiques des *Salmonella* :

- elles croissent à des températures comprises entre 5,5 et 45°C [1], les poudres de lait étant probablement stockées à des températures comprises dans cette fourchette,
- elles peuvent s'adapter à la dessication, devenir résistantes au stress environnemental comme la chaleur et le manque de nutriments et ainsi survivre pendant de longues périodes dans un environnement sec [16,17]. Dans de telles conditions, elles subissent des dommages métaboliques se manifestant souvent par une inaptitude à former des colonies sur des géloses sélectives [18].

Ces caractéristiques des *Salmonella* expliquent la persistance de la contamination. Associées à une contamination présumée faible et hétérogène, elles sont en partie responsables des difficultés d'isolement constatées au cours de cette épidémie et probablement de la faible fréquence d'isolement des salmonelles dans les poudres de lait : une étude menée sur 141 poudres de lait provenant de 35 pays n'a pas retrouvé *Salmonella* [19] ; dans une autre étude portant sur 200 usines de lait en poudre, 1 % des 3 315 échantillons de produits et 8,2 % des 1 475 échantillons environnementaux étaient contaminés par *Salmonella* [20].

Au cours de nombreuses investigations d'épidémies liées à la consommation de poudres de lait [2,9-12] ou d'autres aliments [4,5,8,21,22], les investigations microbiologiques ont mis en évidence de faibles concentrations de *Salmonella* dans les aliments, suggérant une faible dose infectante. Cette observation concorde avec les résultats d'une revue de 11 épidémies de

salmonelloses montrant que dans 6 épidémies, la dose ingérée estimée était inférieure à 10^3 organismes [23].

Les épidémies associées à de faibles contaminations concernaient en effet essentiellement des nourrissons, des jeunes enfants ou des personnes âgées, qui constituent ainsi probablement des groupes plus à risque vis-à-vis de faibles contaminations alimentaires. Les nourrissons sont particulièrement vulnérables aux pathogènes entériques du fait de facteurs physiologiques telle l'hypochlorhydrie gastrique [23].

Suite à cette épidémie, un groupe de travail de l'Afssa s'est mis en place afin d'améliorer les méthodes de détection des *Salmonella* dans les poudres de lait. Plusieurs protocoles de "réparation de dommages métaboliques" subis par *Salmonella* dans les poudres de lait ont été publiés dans d'autres pays [24-28].

Par ailleurs, du fait de la faiblesse des niveaux de contamination et de son hétérogénéité dans les poudres de lait, il serait également nécessaire de reconsidérer les normes en rigueur. En France, la législation impose l'absence de salmonelles dans 25g de produit fini [29]. Les recommandations actuelles du Codex Alimentarius pour les *Salmonella* sont l'absence d'organismes dans 60 échantillons de 25 grammes chacun [30]. Une réflexion sur les normes imposées aux fabricants est actuellement en cours au niveau européen et international [31,32]. Les conditions de préparation et de conservation des biberons sont prépondérantes pour éviter les contaminations bactériennes et leur multiplication. Lors de cette investigation, les enquêtes épidémiologiques (étude exploratoire et étude cas-témoins) n'ont pas mis en évidence de mauvaises pratiques en termes de préparation et de conservation des biberons. Un tiers des familles de cas ont indiqué ne pas stériliser les biberons, mais leurs méthodes de lavage étaient adéquates. Dans ce cas, selon les recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons récemment élaborées par l'Afssa [33], la stérilisation n'est pas utile. Enfin, cet épisode épidémique est l'occasion de rappeler que, selon les recommandations de l'OMS [34], l'allaitement maternel constitue la référence pour l'alimentation du nourrisson pendant les premiers mois de la vie. Plusieurs études ont confirmé que l'allaitement maternel a un effet protecteur fort contre la survenue de salmonellose chez le nourrisson [35,36].

6. Références bibliographiques

- [1] Marth EH. *Salmonellae* and salmonellosis associated with milk and milk products. A review. *J Dairy Sci* 1969;52:283-315.
- [2] Rowe B, Begg NT, Hutchinson DN, Dawkins HC, Gilbert RJ, Jacob M, et al. *Salmonella* ealing infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet* 1987;2:900-3.
- [3] Sramova H, Dedicova D, Petras P, Benes C. Epidemic occurrence of alimentary bacterial infections in the Czech Republic 1979-1989. *Cesk Epidemiol Mikrobiol Imunol* 1991;40:74-84.
- [4] Killalea D, Ward LR, Roberts D, de LJ, Sufi F, Stuart JM, et al. International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella* Agona infection from a ready to eat savoury snack--I: England and Wales and the United States. *BMJ* 1996;313:1105-7.
- [5] Shohat T, Green MS, Merom D, Gill ON, Reisfeld A, Matas A, et al. International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella* Agona infection from a ready to eat savoury snack--II: Israel. *BMJ* 1996;313:1107-9.
- [6] Synnott MB, Brindley M, Gray J, Dawson JK. An outbreak of *Salmonella* Agona infection associated with precooked turkey meat. *Commun Dis Public Health* 1998;1:176-9.
- [7] Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* serotype Agona infections linked to toasted oats cereal--United States, April-May, 1998. *JAMA* 1998;280:411.
- [8] Koch J, Schrauder A, Alpers K, Werber D, Frank C, Prager R, et al. *Salmonella* Agona outbreak from contaminated aniseed, Germany. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1124-7.
- [9] Park JK, Seok WS, Choi BJ, Kim HM, Lim BK, Yoon SS, et al. *Salmonella enterica* serovar London infections associated with consumption of infant formula. *Yonsei Med J* 2004;45:43-8.
- [10] Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella* serotype Tennessee in powdered milk products and infant formula--Canada and United States, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993;42:516-7.
- [11] Usera MA, Echeita A, Aladuena A, Blanco MC, Reymundo R, Prieto MI, et al. Interregional foodborne salmonellosis outbreak due to powdered infant formula contaminated with lactose-fermenting *Salmonella* Virchow. *Eur J Epidemiol* 1996;12:377-81.
- [12] Threlfall EJ, Ward LR, Hampton MD, Ridley AM, Rowe B, Roberts D, et al. Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella enterica* serotype Anatum responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. *Epidemiol Infect* 1998;121:289-93.
- [13] Bornemann R, Zerr DM, Heath J, Koehler J, Grandjean M, Pallipamu R, et al. An outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul in a children's hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:671-6.
- [14] LiCari JJ, Potter NN. *Salmonella* survival differences in heated skimmilk and in spray drying of evaporated milk. *J Dairy Sci* 1970;53:1287-9.

- [15] Collins RN, Treger MD, Goldsby JB, Boring JR, III, Coohon DB, Barr RN. Interstate outbreak of *Salmonella* Newbrunswick infection traced to powdered milk. *JAMA* 1968;203:838-44.
- [16] Mitscherlich E, Marth EH. Microbial survival in the environment. Springer-Verlag ed. New York: 1984.
- [17] Mattick KL, Jorgensen F, Wang P, Pound J, Vandeven MH, Ward LR, et al. Effect of challenge temperature and solute type on heat tolerance of *Salmonella* serovars at low water activity. *Appl Environ Microbiol* 2001;67:4128-36.
- [18] Hurst A. Bacterial injury: a review. *Can J Microbiol* 1977;23:935-44.
- [19] Muytjens HL, Roelofs-Willemse H, Jaspar GH. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 1988;26:743-6.
- [20] Schroeder SA. What the sanitarian should know about salmonellae and staphylococci in milk and milk products. *J Dairy Food Tech* 1967;30:376-80.
- [21] Craven PC, Mackel DC, Baine WB, Barker WH, Gangarosa EJ. International outbreak of *Salmonella* Eastbourne infection traced to contaminated chocolate. *Lancet* 1975;1:788-92.
- [22] Lehmacher A, Bockemuhl J, Aleksic S. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. *Epidemiol Infect* 1995;115:501-11.
- [23] Blaser MJ, Newman LS. A review of human salmonellosis: I. Infective dose. *Rev Infect Dis* 1982;4:1096-106.
- [24] Dhiaf A, Chnity N, Bakhrout A. Fate of *Salmonella* in baby powder milk. *Food, Agriculture & Environment* 4 A.D.;2:149-50.
- [25] Rocelle M, Clavero S, Beuchat LR. Suitability of selective plating media for recovering heat- or freeze-stressed *Escherichia coli* O157:H7 from tryptic soy broth and ground beef. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:3268-73.
- [26] Ray B, Jezeski JJ, Busta FF. Repair of injury in freeze-dried *Salmonella* Anatum. *Appl Microbiol* 1971;22:401-7.
- [27] Ray B, Jezeski JJ, Busta FF. Effect of rehydration on recovery, repair, and growth of injured freeze-dried *Salmonella* Anatum. *Appl Microbiol* 1971;22:184-9.
- [28] McCleery DR, Rowe MT. Development of a selective plating technique for the recovery of *Escherichia coli* O157:H7 after heat stress. *Lett Appl Microbiol* 1995;21:252-6.
- [29] Arrêté du 1er juillet 1976 relatif aux aliments destinés aux nourrissons et aux enfants en bas âge.
- [30] WHO. Joint FAO/WHO Workshop on *Enterobacter Sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula, Geneva 5-8 February 2004.
- [31] WHO. Illnesses linked to consumption of powdered infant formula intrinsically contaminated by *Salmonella*. Background paper prepared for the joint FAO/WHO technical meeting on *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula. FAO Headquarters, Rome 16-20 January 2006.

- [32] Autorité Européenne de Sécurité des Aliments. Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques sur une demande de la Commission relative aux risques microbiologiques dans les préparations pour nourrissons et les préparations de suite. The EFSA Journal 2004;1-35.
- [33] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons. Maisons-Alfort : Agence française de sécurité sanitaire des aliments; 2005 Jul.
- [34] WHO. 54th World Health Assembly. Infant and young child nutrition. WHA 54.2, Geneva 14-20 May 2001.
- [35] Rowe SY, Rocourt JR, Shiferaw B, Kassenborg HD, Segler SD, Marcus R, et al. Breast-feeding decreases the risk of sporadic salmonellosis among infants in FoodNet sites. Clin Infect Dis 2004;38 Suppl 3:S262-S270.
- [36] Haddock RL, Cousens SN, Guzman CC. Infant diet and salmonellosis. Am J Public Health 1991;81:997-1000.

7. Annexes

Annexe 1 : questionnaire

Institut de veille sanitaire, 12 rue du Val d'Osne, 94415 St-Maurice Cedex
Tél : 01.41.79.67.00 Télécopie: 01.41.79.67.69

QUESTIONNAIRE EXPLORATOIRE EPIDEMIE A SALMONELLA AGONA - 2005

Le questionnaire concerne une personne malade et ses témoins

Laboratoire : adresse Téléphone :

Date d'isolement : ____ / ____ / ____ Prélèvement de : selles sang autres préciser :

Nom médecin traitant : Téléphone médecin :

Nom de l'enquêteur (Institution) : Date : ____ / ____ / ____

Personne interrogée : malade membre de la famille préciser : autre préciser :

Numéro d'identification du patient ou de son témoin :

NOM : ____ Prénom : Date de naissance (ou âge) : Sexe : M F
(3 premières lettres)

Téléphone :

Code postal du domicile :

Commune :

SIGNES CLINIQUES AU COURS DE L'EPISODE DE SALMONELLOSE : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>			
	OUI	NON	NSP
Date de début : ____ / ____ / ____ Fièvre >38°C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nausées	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vomissements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Douleurs abdominales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhée (selles liquides)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nombre max. de selles/jour :			Durée (en jours) :
Sang dans les selles	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autres signes cliniques (préciser) :			

Avez-vous consulté un médecin pour ces problèmes ? OUI NON NSP

Hospitalisation : OUI NON Si OUI, Hôpital
Service :
Date d'hospitalisation : ____ / ____ / ____
Date de sortie : ____ / ____ / ____

Décès : OUI NON Si OUI, date du décès : ____ / ____ / ____
Cause du décès :

TERRAIN

Êtes-vous (ou votre enfant) atteint d'une maladie chronique ? : OUI NON NSP

Si OUI, la(les)quelle(s) :

Prenez-vous (ou votre enfant) un ou des traitements au long cours ? OUI NON NSP

Anti-acides ou anti-ulcériens

Corticoïdes (Cortisone)

Autre traitement prolongé

OUI

OUI

OUI

NON

NON

NON

NSP

NSP

NSP

Si OUI, lequel :

Avez-vous (ou votre enfant) pris des antibiotiques dans le mois précédent la maladie ? OUI NON NSP

Si OUI, lesquels :

Avez-vous (ou votre enfant) pris des produits issus de la phytothérapie, homéopathie, médecine traditionnelle dans le mois précédent la maladie ? OUI NON NSP

Si OUI, lesquels :

CAS DANS L'ENTOURAGE

Combien de personnes habitent dans le foyer familial ? _____

Un (des) cas de diarrhée est-il (sont-ils) survenu(s) dans le foyer familial dans les 7 jours précédent ou suivant le début de vos signes ? OUI NON NSP

Si OUI, - nombre de cas de diarrhée (exclus le cas interrogé) : _____

- au même moment (3 jours avant à 3 jours après)

- 7 jours avant la maladie (3 à 10 jours avant)

- 7 jours après la maladie (3 à 10 jours après)

Cas n°	Age (ans)	Sexe (M/F)	7 jours précédent *	Même moment *	7 jours suivant *	Symptômes \$

* cocher la case et préciser la date de début des signes si connue

\$ Fièvre (F), Nausées (N), Vomissements (V), Douleurs abdominales (DA), Diarrhée (D), Diarrhée sanguinolente (DS), Autres signes (A)

Avez-vous (ou votre enfant) eu un contact avec quelqu'un d'autre présentant de la diarrhée dans les 7 jours précédent le début de vos signes (autre que la famille) ? OUI NON NSP

Si OUI, préciser qui ?

où (collectivité, événements,...)

si collectivité : précisez le nom et l'adresse :

Le questionnaire suivant doit porter sur l'alimentation dans les **7 JOURS PRECEDANT** les symptômes

Période d'exposition : du ____ / ____ / ____ au ____ / ____ / ____

REPAS PRIS HORS DU DOMICILE

Avez-vous (ou votre enfant) pris un repas en dehors de votre domicile (crèche, halte garderie) dans la semaine précédant le début des signes cliniques ?

OUI NON NSP

Si OUI, préciser le type d'établissement :

la (les) date(s) :

le(s) lieu(x) :

les aliments consommés :

.....

.....

ALIMENTS POUR BEBES

LIEUX D'ACHAT OU DE CONSOMMATION (restaurant, cantine...) : préciser le nom et la ville

1 :	_____	3 :	_____
2 :	_____	4 :	_____

*Pour le conditionnement, indiquer l'initiale : Pré-(E)mballé, Fabrication (M)aison

	OUI	NON	NSP	Conditionnement* E/M	Lieu d'achat ou de consommation (si différent du numéro de la liste)	Marque et Type
Petits pots légumes préciser						
Petits pots légumes + viandes préciser						
Soupes						
Purée de légumes frais						
Petits pots aux fruits préciser						
Desserts préciser						
Autre préciser						

PRODUITS LAITIERS

LIEUX D'ACHAT OU DE CONSOMMATION (restaurant, cantine...) : préciser le nom et la ville

1 :	3 :
2 :	4 :

Avez-vous (ou votre enfant) bu du **lait** (thé, café, céréales...) ? OUI NON NSP

Si OUI, préciser : lait cru (de la ferme) lait UHT lait pasteurisé lait en poudre
 lait maternisé lait 2^{ème} age NSP

Si lait maternisé, précisez la marque et le lieu et date d'achat :

.....
.....

PRODUITS CARNES : BOEUF, VOLAILLE, CHARCUTERIE

*Pour le conditionnement, indiquer l'initiale : Pré-(E)mballé, à la (C)oupe, Fabrication (M)aison, (S)urgelé

	OUI	NON	NSP	Conditionnement* E/C/M/S	Lieu d'achat ou de consommation (si différent du numéro de la liste)	Marque et Type
CHARCUTERIE préciser.....						
BOEUF						
Steak haché de bœuf Saignant ou cru : oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>						
PORC : préciser.....						
VEAU : préciser.....						
POULET : préciser.....						
DINDE : préciser.....						
POISSON : préciser.....						
OEUFS : préciser.....						

GATEAUX, FRIANDISES / ENCAS

*Pour le conditionnement, indiquer l'initiale : (M)aison, (S)urgelé, (T)raiteur, Pré(E)mballé

	OUI	NON	NSP	Conditionnement* M/S/T/E	Lieu d'achat ou de consommation	Marque et type
DESSERTS						
Pâtisseries : préciser						
.....						
Glaces ou sorbet : préciser.....						
.....						
Autres : préciser						
.....						
FRIANDISES						
Chocolat						
Gâteaux secs						
Bonbons						
CEREALES : préciser.....						
AUTRES ALIMENTS : préciser.....						
.....						
.....						

BOISSONS

*Pour le conditionnement, indiquer l'initiale : (F)rais, (P)rêt à l'emploi, (C)onserve, (S)urgelé

	OUI	NON	NSP	Conditionnement* F/P/C/S	Lieu d'achat ou de consommation (si différent du numéro de la liste)	Marque et type
EAU						
Eau embouteillée						
Eau du robinet						
Eau d'une source naturelle						
JUS DE FRUITS						
Orange						
Pomme						
Autres : préciser						
.....						
Tisane ou thé pour enfants						
Autre boisson pour enfants avec des plantes						

Préparation des biberons

Quantité de poudre utilisée :

Marque d'eau :

Quantité de lait reconstitué :

Préparation avec eau chaude ou eau froide :

Nombre de biberons par jour :

Type de biberon (marque) :

Type de tétine (silicone, caoutchouc, etc.) :

Méthode de lavage du biberon avant stérilisation :

Méthode de stérilisation des biberons :

Chauffage des biberons (micro-onde, bain-marie, chauffe-biberon) :

Préparation de biberons en avance (oui /non)

Si oui, conservation au frigo

Si oui, délai avant utilisation

Annexe 2 : analyses sur les poudres de lait infantile de marque Picot

	Nature des prélevements	Date prélèvements	Prises d'essai / Méthode d'analyse	Mise en évidence de <i>Salmonella Agona</i>
Prélèvements et analyses réalisés par DDCCRF 53 et 35	11 échantillons de produits finis de différentes gammes (dates de fabrication : du 10/09/03 au 17/02/05)	08/03/05	10 x 25 g Méthode de référence ISO6579	0/11
	24 échantillons de matières premières : 4 échantillons de lactose et maltodextrines + 20 échantillons de lécithine	08/03/05 : 4 échantillons 15/03/05 : 20 échantillons de lécithine	10 x 25 g Méthode de référence ISO6579	0/24
	6 échantillons de produits en cours de fabrication	08/03/05	10 x 25 g Méthode de référence ISO6579	0/6
	40 échantillons de l'environnement	08/03/05 : 22 échantillons 15/03/05 : 18 échantillons de l'environnement du poste de lécithinisation	10 x 25 g Méthode de référence ISO6579	Prélèvements du 08/03/05 : 2 positifs/22 : - tâche de lécithine sur le sol résultant d'une fuite d'une pompe - poussières prélevées dans un aspirateur au 3 ^{ème} étage de la tour de lécithinisation Prélèvements du 15/03/05 : 2 positifs/18 : - tâche de lécithine sur le sol résultant d'une fuite d'une pompe - couvercle d'une cuve de préchauffage de la lécithine
	8 boîtes de lait prélevées dans 5 familles de nourrissons malades		Par fraction de 25g 3800 g analysés Méthode de référence ISO6579	0/8
Prélèvements et analyses réalisés par l'entreprise Célia	55 analyses de boîtes provenant de l'échantillothèque fabriquées entre août 2003 et février 2005		2 x 200 g Méthode AOAC	1 boîte de Picot Nutrition quotidienne 1^{er} âge fabriquée le 15/07/04 positive : 1/200g : positive 1/200g : négative
	142 analyses de poudre en sortie de tour	Semaines 10 et 11 : 44 analyses Semaines 12 et 13 : 98 analyses (14 lots)	Semaines 10 et 11 : 1 x 200 g Semaines 12 et 13 : 7 x 225 g Méthode AOAC	0/142
	128 analyses de poudre après conditionnement	Semaines 10 et 11 : 58 analyses Semaines 12 et 13 : 70 analyses (10 lots)	Semaines 10 et 11 : 1 x 200 g Semaines 12 et 13 : 7 x 225 g Méthode AOAC	0/128
	452 analyses de l'environnement de la tour de séchage*	Semaine 10 : 100 analyses sur tour à l'arrêt, en lavage et au	Méthode AOAC	6 échantillons positifs/452 - 1 échantillon provenant de la manchette de remplissage des

	démarrage Semaine 11 : 105 analyses (dont 26 sur des points au contact des poudres) en cours de process Semaine 12 : 12 analyses en cours de lavage et 66 analyses (dont 27 sur des points au contact des poudres) en cours de process Semaine 13 : 43 analyses (dont 10 sur des points au contact des poudres) en cours de lavage et 61 analyses (dont 24 sur des points au contact de les poudres) en cours de process Semaine 14 : 65 analyses (dont 23 sur des points au contact des poudres) en cours de process		tôtes prélevé en semaine 10 - 1 échantillon provenant de l'aspirateur de dessus de tête prélevé en semaine 10 - 1 échantillon provenant du sol sous le vibro-fluidiseur prélevé en semaine 12 (en cours de lavage) - 1 échantillon provenant du sol du laboratoire prélevé en semaine 13 (en cours de lavage) - 1 échantillon provenant du sol sous la lécithinisation prélevé en semaine 13 (en cours de lavage) - 1 échantillon provenant du sol au remplissage des tôtes prélevé en semaine 13 (en cours de lavage)
325 analyses de l'environnement du mélange à sec, de l'emboîtement et de l'ensachage	Semaine 10 : 140 analyses sur atelier à l'arrêt après nettoyage et en cours de process Semaine 11 : 35 analyses (dont 14 sur des points au contact des poudres) en cours de process et après nettoyage Semaine 12 : 38 analyses (dont 15 sur des points au contact des poudres) en cours de process et après nettoyage Semaine 13 : 76 analyses (dont 27 sur des points au contact des poudres) en cours de process et après nettoyage Semaine 14 : 36 analyses (dont 22 sur des points au contact des poudres) en cours de process et après nettoyage	Méthode AOAC	0/325

* Pour une meilleure détection de salmonelle et selon les recommandations de l'Institut Pasteur de du laboratoire de la DGCCRF de Rennes, une partie des prélèvements (notamment les sols et quelques matériels) ont été réalisés pendant la phase humide du lavage avant mise en chauffe de la tour de séchage.