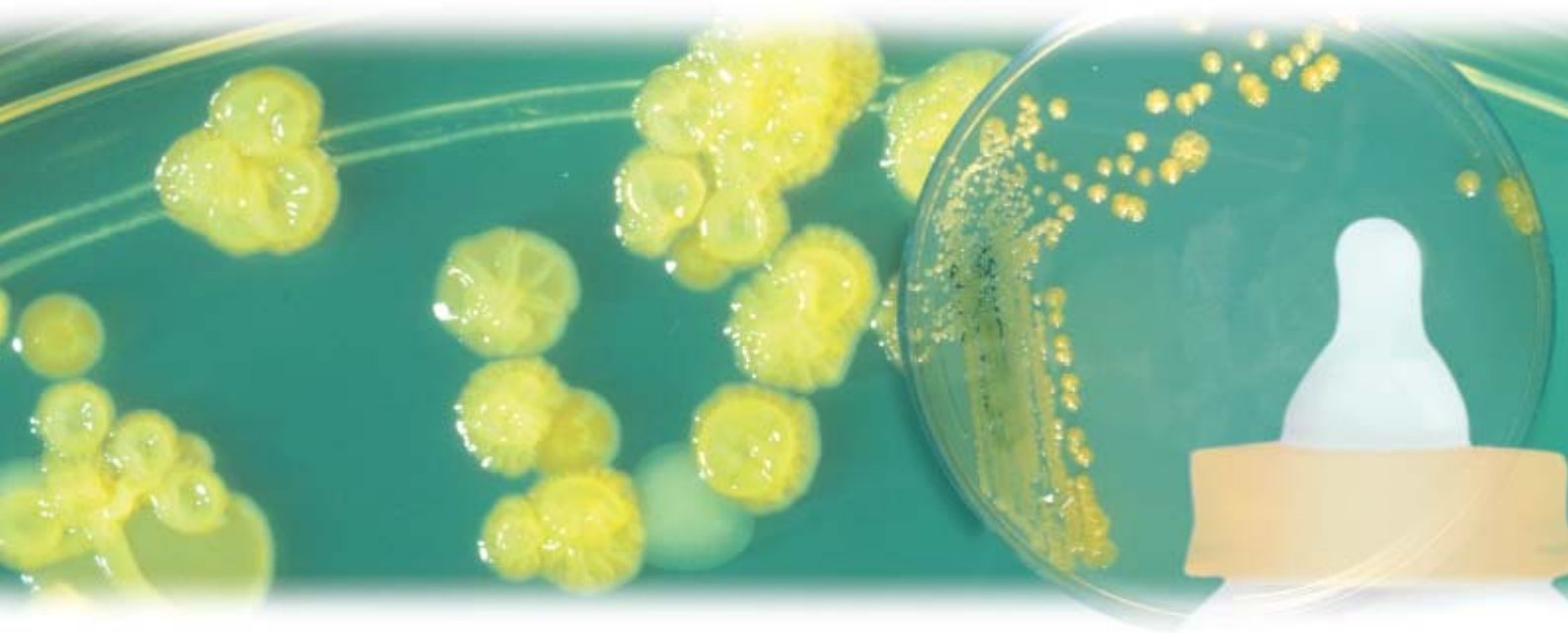


Infections à *Enterobacter sakazakii* associées à la consommation d'une préparation en poudre pour nourrissons



France, octobre à décembre 2004
Rapport d'investigation

1	Introduction	p. 4
1.1	Contexte	p. 4
1.2	Alerte	p. 4
2	Méthodes	p. 6
2.1	Investigations épidémiologiques	p. 6
2.2	Audits de pratiques réalisés par les CClin dans les établissements de santé	p. 7
2.3	Investigations microbiologiques	p. 7
2.4	Enquête dans l'unité de production des Pays-Bas	p. 11
3	Résultats	p. 12
3.1	Investigations épidémiologiques	p. 12
3.2	Audits de pratiques réalisés par les CClin dans les établissements de santé	p. 15
3.3	Investigations microbiologiques	p. 15
3.4	Enquête dans l'unité de production des Pays-Bas	p. 21
4	Gestion de l'alerte : mesures de contrôle mises en place	p. 22
5	Discussion	p. 23
6	Conclusion	p. 28
7	Recommandations	p. 29
7.1	Recommandations internationales existantes (avant l'épisode français)	p. 29
7.2	Recommandations issues de cette investigation	p. 30
8	Références	p. 32
9	Annexes	p. 34

Infections à *Enterobacter sakazakii* associées à la consommation d'une préparation en poudre pour nourrissons France, octobre à décembre 2004

Rédaction

Bruno Coignard (Unité infections nosocomiales et résistance aux antibiotiques) et Véronique Vaillant (Unité infections entériques, alimentaires et zoonoses), Département des maladies infectieuses, InVS.

Comité de relecture

Jean-Claude Desenclos (InVS, Saint-Maurice) et François Dabis (Isped, université de Bordeaux II, Bordeaux).

Remerciements

Nous remercions les structures et personnes ayant contribué à cette investigation :

- l'équipe d'investigation à l'InVS (B. Coignard, V. Vaillant, H. Aubry-Damon, A. Lepoutre, G. Delmas, V. Goulet, H. de Valk, J.C. Desenclos) ;
- les Centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales :
 - CClin Sud-Est, Lyon (C. Bernet, L. Ducruet, A. Savey, A. Vincent, I. Poujol),
 - CClin Paris-Nord, Paris (F. L'Heriteau, A. Carbonne, D. Landriu, A. Bourmaud),
 - CClin Ouest, Rennes (H. Sénéchal) ;
- les laboratoires qui ont réalisé les analyses de préparation en poudre et expertisé les souches :
 - SERMHA, Institut Pasteur de Lille, Villeneuve d'Ascq (J.-P. Vincent, F. Dupont, C. Eloire),
 - Laboratoire vétérinaire départemental de l'Allier (A. Reynaud, M.-L. Diot),
 - DGCCRF (P. Dauchet, O. Pierre, G. Cousyn, Mme Guichaoua, M. Rosec, M. D. Cheront),
 - Afssaps (Y. Cortez, I. Salvetat, F. Hubert),
 - Centre d'identification moléculaire des bactéries (CIMB), Institut Pasteur, Paris (P. Grimont, A. Leflèche),
 - Laboratoire de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris (E. Bingen, P. Mariani-Kurkdjian) ;
- les centres hospitaliers qui ont signalé les cas :
 - Centre hospitalier, Moulins-Yzeure (S. Bourzeix, P. Crost, I. Cloix, M.-C. Gbadamassi, I. Schrive),
 - Centre hospitalier, Gonesse (P.-G. Ratsimba, D. Nesa, V. Kurer, S. Benkhelifa, S. Rousseau, D. Barraud),
 - Centre hospitalier, Villefranche-sur-Saône (B. Grisi, P. Rebaud, M.-N. Letouzey, C. Poulain, S. Jacquand),
 - CHU, Rennes (M. Aupée, V. Belloir-Thébault, P.-Y. Donnio, A. Thomas de la Pintièrre, V. Le Bail),
 - CH intercommunal, Créteil (J.-C. Janaud, S. Aberrane, S. Dubois, A. Thebaut) ;
- les structures ou personnes suivantes :
 - Ddass de l'Allier, Moulins (D. Delettre),
 - Ddass du Val-d'Oise, Cergy Pontoise (M. Gastellu-Etchegorry),
 - Ddass du Val-de-Marne, Créteil (C. Rousseau),
 - DDSV de l'Allier, Moulins,
 - Alexandre Leclercq (Institut Pasteur, consultant de l'European Food Safety Authority),
 - Mead Johnson France (B. Auguste, M. Bamberger, G. Grolleau),
 - DGS (S. Veyrat, L. Pochat).

Liste des tableaux

Tableau 1	Nature des prélèvements d'environnement effectués dans les hôpitaux le 15 décembre. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 8
Tableau 2	Nombre d'échantillons de Pregestimil® analysés par lot et par laboratoire. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 8
Tableau 3	Jour et heure de production des lots de Pregestimil® analysés. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 9
Tableau 4	Origine des lots analysés à l'Institut Pasteur de Lille et nombre de boîtes. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 9
Tableau 5	Analyses mises en œuvre à l'Institut Pasteur de Lille sur les échantillons de préparation en poudre pour nourrissons. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 10
Tableau 6	Principales caractéristiques des cas recensés. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 13
Tableau 7	Délais de signalement des infections. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 13
Tableau 8	Numéros de lots de Pregestimil® susceptibles d'avoir été consommés par les cas. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 14
Tableau 9	Souches cliniques de <i>E. sakazakii</i> reçues pour expertise et confirmation. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 16
Tableau 10	Résultats des recherches de <i>E. sakazakii</i> par lots, pour les 4 laboratoires. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 17
Tableau 11	Numéros de lots de Pregestimil® susceptibles d'avoir été consommés par les cas et résultats des recherches de <i>E. sakazakii</i> dans ces lots. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 17
Tableau 12a	Estimation de la contamination du lot S402077. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 18
Tableau 12b	Estimation de la contamination du lot S401026. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 18
Tableau 13	Comparaison par ribotypie et électrophorèse en champ pulsé des souches de <i>E. sakazakii</i> reçues pour expertise. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 19
Tableau 14	Caractéristiques des lots de Pregestimil® distribués en France en 2004. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 62
Tableau 15	Résultats des tests effectués lors de la production du lot S401026, fraction 1. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 64

Liste des figures

Figure 1	Répartition des cas recensés par semaine de diagnostic et hôpital. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 14
Figure 2	Histoire clinique et régime nutritionnel du cas D-1. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 44
Figure 3	Lot S401026, boîtes testées et positives pour <i>E. sakazakii</i> selon l'heure de production. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 54
Figure 4	Lot S401420, boîtes testées et positives pour <i>E. sakazakii</i> selon l'heure de production. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 54
Figure 5	Lot S401719, boîtes testées et positives pour <i>E. sakazakii</i> selon l'heure de production. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 55
Figure 6	Lot S402077, boîtes testées et positives pour <i>E. sakazakii</i> selon l'heure de production. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 55
Figure 7	Ribotypie automatisée de 7 souches en étude (enzyme EcoRI). Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 57
Figure 8	Ribotypie automatisée de 7 souches en étude (enzyme EcoRI). Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 57
Figure 9	Ribotypie automatisée de souches en étude (enzyme EcoRI). Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre-décembre 2004	p. 58
Figure 10	Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 9 souches cliniques, d'une souche "poudre" et de 3 souches de référence. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 59
Figure 11	Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 19 souches "poudre". Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 59
Figure 12	Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 16 souches "poudre". Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 60
Figure 13	Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 15 souches "poudre". Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 60
Figure 14	Comparaison par électrophorèse en champ pulsé des 8 souches "cas", de 3 souches "poudre" et de 3 souches de référence. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 61
Figure 15	Processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons dans l'usine des Pays-Bas. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 63
Figure 16	Nombre total d'appels traités par les numéros verts mis en place par Mead Johnson en décembre 2004 et janvier 2005. Infections et colonisations à <i>E. sakazakii</i> , France, octobre à décembre 2004	p. 66

1 Introduction

1.1 | Contexte

Enterobacter sakazakii est une bactérie opportuniste de la famille des *Enterobacteriaceae*, genre *Enterobacter*. Auparavant nommée “*Enterobacter cloacae* pigmenté de jaune”, elle a été individualisée en 1980 comme nouvelle espèce et rebaptisée *E. sakazakii*. Elle est responsable de plusieurs types d’infections graves, parfois mortelles : entérocolites nécrosantes, septicémies et méningites. Manifestation clinique la plus fréquente chez les nouveau-nés, la méningite peut se compliquer de séquelles neurologiques sévères (hydrocéphalie).

Les infections à *E. sakazakii* sont rares : une soixantaine de cas ont été rapportés dans le monde. Elles sont observées chez des adultes, en particulier âgés ou immunodéprimés, mais surtout chez des nouveau-nés prématurés ou hypotrophes. Des infections invasives (méningites et bactériémies) ont également été décrites chez des nouveau-nés à terme ou non hypotrophes et chez des nourrissons plus âgés. Le taux de létalité est élevé : supérieur à 50 % dans certaines publications, il est aujourd’hui estimé à 20 % [1,2].

Il n’existe pas de système de surveillance spécifique des infections à *E. sakazakii* en France. Cependant, les quelques données disponibles suggèrent que cette infection y est également rare. De 1988 à 1990, 17 cas d’infections invasives à *E. sakazakii* (11 chez des adultes, 5 chez des enfants et 1 chez un nouveau-né) ont été notifiés par le réseau de laboratoires volontaires Epibac, qui surveillait jusqu’en 1990 toutes les bactéries isolées du sang ou de liquide céphalo-rachidien (LCR) [3]. En 2002, un cas isolé d’infection à *E. sakazakii* chez un nouveau-né a été notifié par le biais du signalement des infections nosocomiales, mis en place en 2001 [4].

Un lien entre les infections à *E. sakazakii* et la consommation de préparations en poudre pour nourrissons a été clairement établi dans plusieurs pays après l’investigation d’épisodes de cas groupés survenus dans des unités de néonatalogie [5-9]. Par ailleurs, la contamination de ces préparations en poudre par *E. sakazakii*, fréquente mais à faible concentration, a été mise en évidence par plusieurs études [10,11].

1.2 | Alerte

Le vendredi 03/12/04, l’Institut de veille sanitaire (InVS) recevait un signalement d’infection nosocomiale concernant un cas de méningite à *E. sakazakii* diagnostiqué semaine 44 chez un nouveau-né prématuré et hypotrophe, hospitalisé dans le service de néonatalogie de l’hôpital A (Allier) ; le nouveau-né décédait de son infection à J10 après transfert en réanimation néonatalogique au centre hospitalier régional de référence. Alors que l’investigation de ce premier cas était en cours, l’InVS recevait le vendredi 10/12/04 un autre signalement d’infection nosocomiale de l’hôpital B (Val-d’Oise). Celui-ci concernait 3 cas d’infections à *E. sakazakii* chez des nouveau-nés prématurés et hypotrophes hospitalisés en néonatalogie : une méningite diagnostiquée semaine 44 entraînant le décès du nouveau-né à J19, une bactériémie diagnostiquée semaine 50 et une colonisation digestive diagnostiquée semaine 49.

La survenue rapprochée dans le temps, dans 2 hôpitaux distants géographiquement, de plusieurs cas d’une infection très rare suggérait une source commune de contamination à distribution potentiellement large. Une investigation nationale était mise en œuvre immédiatement le 10/12/04 pour identifier cette source et instituer rapidement des mesures de contrôle.

Ces infections pouvant être liées à la consommation de préparations en poudre, les données initialement recueillies concernaient le régime nutritionnel de chaque nouveau-né : l’enfant hospitalisé à l’hôpital A et 2 des 3 enfants hospitalisés à l’hôpital B avaient consommé des laits reconstitués à partir d’une même préparation en poudre de marque Pregestimil® (laboratoires Mead Johnson). Le Pregestimil® est indiqué en cas d’intolérance aux protéines

du lait de vache et de troubles digestifs sévères chez le nouveau-né ; il est utilisé à l'hôpital mais aussi en médecine de ville (distribué en pharmacie). Trois lots différents étaient utilisés dans les 2 hôpitaux au moment de la survenue des cas : lots S401719 et S401420 dans l'hôpital A ; lot S402077 dans l'hôpital B.

Sur la base de ces premiers éléments et en raison de la gravité des infections (2 décès), le retrait et le rappel de ces 3 lots étaient mis en œuvre par le producteur dès le

10/12/04, en lien avec la Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (DGCCRF) et la Direction générale de la santé (DGS) (annexe 1).

Les investigations ultérieures avaient pour objectifs de déterminer l'ampleur de l'épisode, de confirmer l'origine de ces infections, d'en préciser les circonstances favorisant et de mettre en œuvre d'éventuelles mesures de prévention et de contrôle complémentaires.

2 Méthodes

2.1 | Investigations épidémiologiques

2.1.1 | Recherche de cas

En France

Elle a été conduite de manière rétrospective et prospective en demandant aux Centres interrégionaux de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CClin), aux Directions départementales des affaires sanitaires et sociales (Ddass) et aux établissements de santé hébergeant des services de maternité, de néonatalogie ou de pédiatrie de signaler sans délai à l'InVS tout cas d'infection à *E. sakazakii*.

Un cas était défini comme tout nouveau-né hospitalisé en France chez lequel était isolé *E. sakazakii* depuis le 01/01/04 ; les cas étaient classés en 3 catégories selon la nature du prélèvement et des manifestations cliniques associées à l'isolement de *E. sakazakii* :

- infection invasive : isolement dans un prélèvement d'un site normalement stérile (LCR, hémoculture, etc.) ;
- infection non invasive : isolement dans un prélèvement d'un site normalement non stérile (coproculture, aspiration bronchique, etc.) avec documentation d'un tableau clinique infectieux dans les 24 h précédant le prélèvement ;
- colonisation : isolement dans un prélèvement d'un site normalement non stérile (coproculture, aspiration bronchique, etc.) sans documentation d'un tableau clinique infectieux dans les 24 h précédant le prélèvement.

La conduite à tenir devant tout cas était la suivante : a) avertir immédiatement l'équipe opérationnelle d'hygiène pour investigation, documentation du cas et de son régime alimentaire ; b) procéder à un signalement d'infection nosocomiale en mentionnant notamment sur la fiche la notion ou non de consommation de Pregestimil® par le

nouveau-né ; c) envoyer cette fiche à l'InVS sans délai par télécopie, au CClin et à la Ddass selon la procédure habituelle ; d) conserver la ou les souche(s) de *E. sakazakii* isolée(s) afin de les transmettre au laboratoire expert centralisant les prélèvements ; e) consigner à la pharmacie de l'hôpital toutes les boîtes de Pregestimil® potentiellement administrées au(x) cas pour analyse ultérieure.

L'InVS contactait les médecins à l'origine du signalement pour confirmer et documenter chaque cas à l'aide d'un questionnaire standardisé (annexe 18) recueillant des informations sur les caractéristiques du nouveau-né (date de naissance, sexe, âge gestationnel, poids de naissance, motif d'hospitalisation et autres antécédents), son histoire clinique (date, type et circonstances du prélèvement, antibiogramme de la souche, date des premiers signes cliniques, nature des symptômes, type de cas, traitement et évolution) et son régime alimentaire (consommation ou non de Pregestimil®, autres types de préparation administrés, numéro des lots concernés, mode d'administration). Les investigations complémentaires autour d'un cas étaient réalisées par le CClin concerné, en lien avec l'équipe d'hygiène, le laboratoire de bactériologie et les services cliniques de l'établissement de santé concerné.

En Europe

Deux messages mentionnant les cas signalés et le retrait de plusieurs lots de Pregestimil® exclusivement distribués en France et en Algérie ont été diffusés sur le réseau d'alerte Early Warning and Response System (EWRS) le 10/12/04 et le 20/12/04 (annexe 3).

2.1.2 | Enquête alimentaire

Les types et marques de préparations en poudre consommées par les nouveau-nés étaient recherchés à partir des informations contenues dans leur dossier médical et infirmier. En l'absence de traçabilité individuelle des

numéros de lots consommés, ceux susceptibles d'avoir été consommés par les cas étaient identifiés à partir des bons de commande ou de livraison de la pharmacie et des données de vente du producteur (Mead Johnson France).

2.2 | Audits de pratiques réalisés par les CClin dans les établissements de santé

Les conditions de préparation, de conservation et d'administration des biberons dans les services de néonatalogie des hôpitaux ayant signalé un ou plusieurs cas ont été évaluées par des audits réalisés par les CClin en collaboration avec l'équipe d'hygiène locale et la Ddass. Ces pratiques ont été documentées à partir d'entretiens avec les personnels, de vérification des protocoles existants ou d'observations sur site. L'ensemble de la chaîne de

préparation et de conservation des biberons, de la pièce où ils étaient préparés jusqu'au service clinique, a été étudié. Les températures de conservation dans les réfrigérateurs ont été relevées le jour de ces visites et à partir des enregistrements existants. Les précautions d'hygiène appliquées dans les services de néonatalogie ont également été étudiées.

2.3 | Investigations microbiologiques

2.3.1 | Prélèvements cliniques

Les souches ont été isolées chez les cas à partir de prélèvements (hémocultures, LCR, prélèvement de pus, etc.) orientés par la clinique (signes d'appel infectieux ou détérioration de l'état général inexplicable) ou réalisés à titre systématique (coprocultures). Elles ont été centralisées pour confirmation et typage au Centre d'identification moléculaire des bactéries (CIMB) à l'Institut Pasteur Paris et au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Robert Debré à Paris.

Au CIMB-Institut Pasteur de Paris, les souches isolées des prélèvements ont été ensemencées, dès réception, sur

gélose trypto-caseine soja et identifiées par galerie biotype-100 (auxanogramme à 99 substrats) (BioMérieux) et par séquençage du gène *rpoB*, gène plus discriminant que le gène *rrs* (codant l'ARNr 16S) pour la famille des *Enterobacteriaceae*.

Au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Robert Debré, les souches isolées des prélèvements ont été ensemencées sur les milieux classiques en bactériologie médicale (Drigalski, milieux chromogènes, etc.) et identifiées par les méthodes biochimiques (galerie API 20 E et API 32GN, BioMérieux).

2.3.2 | Prélèvements environnementaux

Des prélèvements environnementaux ont été réalisés par les équipes des CClin lors de visites sur site dans les hôpitaux A, B et D ; ils ont été transmis pour analyse à l'Institut Pasteur de Lille. Ces prélèvements étaient réalisés à l'aide de boîtes contact (incubées avant envoi), écouvillons stériles ou lingettes. Ils ont ciblé chaque étape de la chaîne de préparation et conservation des biberons,

de la biberonnerie (paillasse, placard, ustensiles utilisés pour la reconstitution, réfrigérateur) au service de néonatalogie (réfrigérateur, placard, baignoire, etc.). La nature et le nombre des prélèvements transmis pour chaque hôpital sont présentés ci-après (tableau 1) ; leur description détaillée est disponible en annexe 8.

Tableau 1 - Nature des prélèvements d'environnement effectués dans les hôpitaux le 15 décembre. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Hôpital	Nombre et nature des prélèvements
A	8 écouvillons + 8 boîtes contact incubées
B	16 lingettes
D	9 écouvillons + 1 seringue de gavage

À réception à l'Institut Pasteur de Lille, les lingettes et les écouvillons ont été placés dans 10 ml d'eau peptonée tamponnée, puis incubés à 30 °C durant 24 h. Les enrichissements ont été isolés sur gélose VRBG¹ incubées par la suite à 30 °C pendant 24 h. Les boîtes contact ont été incubées par le laboratoire de l'hôpital A. Chaque type de colonie ayant cultivé a été repiqué sur gélose TSA² (24 h à 30 °C). Des tests de coloration de Gram et recherche de l'oxydase ont été effectués. Les colonies Gram (-) et oxydase (-) ont été isolées sur gélose ESIA³ et incubées 24 h à 44 °C pour la mise en évidence de *E. sakazakii*.

2.3.3 | Prélèvements des préparations en poudre pour nourrissons

2.3.3.1 | Échantillonnage des boîtes de Pregestimil®

Des échantillons de préparation en poudre prélevés dans des boîtes appartenant à 4 lots consommés par les cas signalés en décembre ont été analysés par le Service de microbiologie et d'hygiène des aliments (SERMHA) de l'Institut Pasteur de Lille, mandaté par l'InVS dans le cadre de cette investigation, et dans un cadre réglementaire par 3 laboratoires de la DGCCRF et un laboratoire de l'Afssaps.

En complément, des échantillons de 3 lots non consommés par les cas (un antérieur et deux postérieurs) ont été analysés par les laboratoires de la DGCCRF et de l'Afssaps (tableau 2). Six des 7 lots analysés représentaient l'ensemble des lots distribués aux hôpitaux et aux officines en France d'avril à novembre 2004 (dernier lot distribué avant le retrait et la suspension de mise sur le marché).

Cent quinze boîtes de préparation en poudre ont été fournies aux différents laboratoires par le producteur.

Dix-sept boîtes des lots consommés par les cas, présents dans les services de néonatalogie ou dans les pharmacies centrales de 4 hôpitaux, ont été transmises pour analyses au laboratoire de l'Institut Pasteur de Lille (tableau 4).

Enfin, le laboratoire départemental d'analyse (LDA) de l'Allier a analysé des échantillons d'une boîte du lot S401719 et d'une boîte du lot S401420 saisies par la Direction départementale des services vétérinaires (DDSV) de l'Allier à l'hôpital A.

Tableau 2 - Nombre d'échantillons de Pregestimil® analysés par lot et par laboratoire. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

N° de lot	Date de production	Nombre d'échantillons testés pour <i>E. sakazakii</i> par lot/laboratoire				Total
		IP Lille (100 g)	Afssaps (50 g)	DGCCRF (50 g)	LDA Allier (25 g)	
S303690	2003	0	5	0	0	5
S401026	02/04/04	28 dont 1*	0	25	0	53
S401420	07/05/04	31 dont 1*	5	30	1 *	67
S401719	04/06/04	41 dont 1*	5	30	1	77
S402077	02/07/04	32	5	30	0	67
S402632	01/09/04	0	5	60	0	65
S403458	09/11/04	0	5	60	0	65
Total		132	30	235	2	389

En gras, lots consommés par les cas.

* Prélevé dans une boîte entamée saisie dans un des hôpitaux.

¹ VRBG : gélose glucosée, billée, au cristal violet et rouge neutre.

² TSA : Tryptone soja agar.

³ ESIA : *Enterobacter sakazakii* isolation agar (AES laboratoire, Bruz, France).

Les jours et heures de production des boîtes analysées sont détaillés ci-dessous (tableau 3). Ces informations n'étaient pas disponibles pour les boîtes analysées dans les laboratoires de la DGCCRF ou au LDA de l'Allier.

Tableau 3 - Jour et heure de production des lots de Pregestimil® analysés. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

N° de lot	Jour de production	Heure de production
Boîtes reçues à l'Institut Pasteur de Lille		
S401026	02/04/04	3 boîtes à 04:16
	02/04/04	25 boîtes de 03:11 à 04:40
S401420	06/05/04	1 boîte à 02:22
S401719	05/06/04	1 boîte à 20:28
	05/06/04 au 06/06/04	30 boîtes de 22:28 à 02:48
	05/06/04 au 06/06/04	10 boîtes de 23:20 à 00:16
S402077	03/07/04	1 boîte à 20:06
	03/07/04	1 boîte à 20:34
	03/07/04	30 boîtes de 22:21 à 22:33
Boîtes reçues au laboratoire de l'Afssaps		
S303690	2003	1 boîte à 22:37, 2 boîtes à 22:38, 2 boîtes à 22:39
S401420	07/05/04	5 boîtes à 2:27
S401719	05/06/04	5 boîtes à 2:29
S402077	03/07/04	4 boîtes à 22:30, 1 boîte 22:31
S402632	03/09/04	3 boîtes à 3:42, 2 boîtes à 2:43
S403458	11/11/04	5 boîtes à 6:26

2.3.3.2 | Analyses réalisées dans les différents laboratoires

À l'Institut Pasteur de Lille

Des échantillons de préparation en poudre provenant de boîtes appartenant à 4 lots différents ont été analysés dans ce laboratoire (tableau 4). Le nombre de boîtes

analysées, fixé initialement à 30 par lot, a été adapté en fonction du nombre de boîtes disponibles dans les entrepôts du producteur et dans les pharmacies des hôpitaux.

Tableau 4 - Origine des lots analysés à l'Institut Pasteur de Lille et nombre de boîtes. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Lot	Origine	Nombre de boîtes
S401026	Hôpital D	3 dont 1 entamée
	Producteur via DGCCRF	25
S401420	Hôpital A	1 entamée
	Producteur via DGCCRF	30
S401719	Hôpital A	1
	Producteur via DGCCRF	30
	Hôpital D	10 dont 1 entamée
S402077	Hôpital B	2
	Producteur via DGCCRF	30

Trois méthodes différentes, deux par culture et une par PCR, ont été menées en parallèle sur 2 prises d'essai de 100 g. Le tableau 5 en présente les étapes principales.

Tableau 5 - Analyses mises en œuvre à l'Institut Pasteur de Lille sur les échantillons de préparation en poudre pour nourrissons. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Étape		ISO draft <i>E. sakazakii</i> *	ISO 21528-1	PCR Bax® system
Préenrichissement de 100 g en milieu liquide	Milieu	900 ml EPT	900 ml EPT	900 ml mLSTV
	Incubation	37 °C 18 h	37 °C 18 h	45 °C 20/22 h
Enrichissement en milieu liquide	Milieu	0,1 ml/10 ml ESSB	1 m/10 ml EE	10 µl/500 µl BCC
	Incubation	45 °C 24 h	37 °C 24 h	37 °C 3 h
Isolement et sélection pour confirmation	Milieu	ESIA	VRBG	
	Incubation	44 °C 24 h	37 °C 24 h	Détection par PCR
Confirmation	Milieu	TSA	GN	TSA (isolement des BCC)
	Incubation	25 °C 48 h	25 °C 48 h	25 °C 48 h
Identification		Galeries API pour entérobactéries		

* Utilisation du bouillon ESSB (fournisseur AES) à la place du bouillon mLSTV.

Légende :

- EPT : eau peptonée tamponnée ;
- VRBG : gélose glucosée, bilisée, au cristal violet et rouge neutre ;
- ESIA : *E. sakazakii* isolation agar ;
- mLSTV : modified Lauryl Sulfate Tryptose broth-with Vancomycin ;
- ESSB : *E. sakazakii* Selective Broth ;

- EE : bouillon tamponné à la bile, au vert brillant et au glucose pour entérobactéries ;
- BCC : bouillon cerveau cœur ;
- TSA : tryptone soja agar ;
- GN : gélose nutritive.

Le niveau de contamination des lots S402077 et S401026 a été estimé : 5 échantillons de ces lots, positifs dans 100 g, ont été analysés selon la méthode du projet ISO *Enterobacter sakazakii* 2004⁴ dans des prises d'essai de 100, 50, 25, 10 et 1 g.

Dans les laboratoires de la DGCCRF

La présence de *E. sakazakii* a été recherchée dans 30 ou 60 boîtes de 5 lots de Pregestimil® – 3 consommés par les cas (S401420, S401719, S402077) et 2 postérieurs (S402632 et S403458) – toutes fournies par le producteur.

Les trois laboratoires de la DGCCRF ont appliqué la méthode ESSB/ESIA développée par le laboratoire AES⁵, proche de celle proposée par le projet ISO, sur des prises d'essai de 50 g par boîte. Les étapes suivantes ont été mises en œuvre :

- prises de 50 g par unité ;
- enrichissement dans 450 ml de bouillon ESSB ;
- incubation 24 h à 37 °C ;

- isolement de 10 µl de culture sur gélose ESIA. Incubation 21 h à 44 °C ;
- repiquage sur gélose TSA de 5 colonies caractéristiques ;
- incubation 44 à 48 h à 25 °C ;
- identification sur galeries API 20 E.

Au laboratoire de l'Afssaps

L'Afssaps a analysé :

- 5 boîtes de 6 lots de Pregestimil® : 3 consommés par les cas (S401420, S401719, S402077), 1 antérieur (S303690) et 2 postérieurs (S402632 et S403458) ;
- 5 boîtes de 4 lots de Nutramigen®, préparation en poudre produite immédiatement après le Pregestimil® sur la même chaîne : lots S402095 (produit en juillet 2004), S403071 (octobre 2004), S303706 et S403473 (novembre 2004).

Toutes ces boîtes ont été fournies par le producteur Mead Johnson.

⁴ Anonyme (2005). ISO/DTS 22964 – IDF/DRM 210: Lait et produits laitiers – détection d'*Enterobacter sakazakii*. ISO, Genève (document de travail).

⁵ AES laboratoire, Bruz, France.

La méthode de la pharmacopée européenne (chapitre 2.6.13 – sous-chapitre : Entérobactéries et certaines autres bactéries gram négatif) a été mise en œuvre sur une prise d'essai de 50 g, réalisée sur chacune des 5 boîtes de chaque lot.

La prise d'essai a été introduite dans 90 ml de milieu liquide lactosé (milieu de la pharmacopée) puis homogénéisée et incubée 3 h à 37 °C ; 10 ml du milieu précédent (correspondant à 5 g de poudre) ont été inoculés dans le milieu E (milieu de Mossel) d'enrichissement pour entérobactéries puis incubés à 37 °C pendant 24 heures.

À partir du milieu précédent, des subcultures ont été effectuées sur milieu F (milieu VRBG) qui ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

En cas de présence de colonies, un isolement était effectué sur une gélose trypto-caséine-soja à partir de laquelle était effectuée l'identification de la colonie isolée. Cette

identification était réalisée par une coloration de gram (bacille gram négatif), une recherche d'oxydase (oxydase négative) et une galerie d'identification dont la lecture se faisait à 24 heures.

Au laboratoire départemental d'analyses de l'Allier

La présence de *E. sakazakii* a été recherchée sur une boîte non entamée du lot S401719 et une boîte entamée du lot S401420, saisies par la Direction départementale des services vétérinaires de l'Allier à la pharmacie centrale de l'hôpital A.

Des prises d'essai de 25 g de poudre, réalisées sur chacune des 2 boîtes de chaque lot, ont été placées dans 225 ml d'EPT puis incubées à 37 °C durant 24 heures. Les enrichissements ont été repiqués sur gélose au sang et Drigalsky. Les colonies ont été isolées sur gélose au sang et identifiées par une galerie d'identification API 20E.

2.3.4 | Caractérisation et comparaison des souches

Toutes les souches de *E. sakazakii* isolées lors de cette investigation ont été caractérisées et comparées par 2 méthodes de typage moléculaire : ribotypie automatisée au CIMB (Institut Pasteur, Paris) et électrophorèse en champ pulsé dans le service de microbiologie de l'hôpital Robert Debré.

La ribotypie automatisée a été réalisée selon la méthode de Grimont et Grimont [12], qui a depuis été automatisée (Dupont Qualicon RiboPrinter® system,

<http://www.qualicon.com/riboprinter.html>). Cette technique rapide permet de différencier en 7 heures des souches à l'intérieur d'une espèce. Les endonucléases *EcoRI*, *PstI* et *PvuII* ont été utilisées. Pour *EcoRI*, il existait une base de données d'une trentaine de profils pour *E. sakazakii*.

L'électrophorèse en champ pulsé (avec 2 enzymes : *XbaI* et *SpeI*) a été réalisée selon la méthode de Tenover. Les souches présentant moins de 3 fragments de différence étaient considérées comme génétiquement reliées [13].

2.4 | Enquête dans l'unité de production des Pays-Bas

2.4.1 | Description des méthodes de production et des produits

Ces informations ont été fournies par Mead Johnson à la demande de l'InVS.

2.4.2 | Inspection de l'unité de production par les autorités hollandaises

Les méthodes et résultats de cette inspection ont été obtenus sur le site officiel de la VWA hollandaise (Food and Consumer Product Safety Authority)⁶.

Une inspection du système HACCP de l'usine avait été réalisée par les autorités hollandaises le 12 décembre 2004.

Au cours de cette inspection, 9 lots différents, dont les 3 lots retirés en France le 10/12/04 ont été analysés à la recherche de *E. sakazakii*.

Le compte rendu détaillé de cette visite figure en annexe 15.

⁶ http://www.vwa.nl/download/nieuws/20041215_Monsteronderzoek_Pregestimel.pdf (consulté le 21/11/05).

3 Résultats

3.1 | Investigations épidémiologiques

3.1.1 | Description des cas

3.1.1.1 | Infections

Quatre infections à *E. sakazakii* (2 invasives et 2 non invasives) ont été signalées. Ces infections sont survenues entre les semaines 44 et 50 dans 4 hôpitaux de quatre départements différents : Allier, Val-d'Oise, Ille-et-Vilaine et Rhône-Alpes. Par ordre chronologique (date d'isolement de la souche), il s'agissait des hôpitaux A, B, C et D (figure 1).

Un 5^e cas d'infection (**B-3**) notifié lors du deuxième signalement à l'origine de l'alerte a été secondairement exclu après que l'expertise de la souche isolée d'une hémoculture lors de la semaine 50 ait montré qu'elle appartenait à l'espèce *cloacae* (genospecies *E. hormaechei*) et non *sakazakii*.

Les 2 infections invasives (**cas n° A-1 et B-1**) étaient des méningites bactériennes survenues 6 à 8 jours après la naissance des nouveau-nés, avec une détérioration rapide de leur état clinique et une issue fatale malgré une antibiothérapie adaptée. Les 2 infections non invasives (**cas n° C-1 et D-1**) correspondaient respectivement à 1 conjonctivite bactérienne diagnostiquée à 26 jours de vie et à 1 colite hémorragique diagnostiquée à 28 jours de vie ; leur évolution a été favorable sous traitement antibiotique.

3.1.1.2 | Colonisations

Neuf colonisations digestives à *E. sakazakii* ont été signalées par 2 hôpitaux.

Dans l'hôpital B, la colonisation d'un nouveau-né a été diagnostiquée lors de la semaine 49 suite à une coproculture prescrite à titre systématique dans le cadre d'un dépistage autour du premier cas diagnostiqué dans ce service (**cas B-2**) ; la souche n'a pas été conservée.

Dans un 5^e hôpital du Val-de-Marne (hôpital E), 4 colonisations digestives ont été diagnostiquées entre la semaine 49 et la semaine 51 (**cas E-1 à E-4**). Les coprocultures à l'origine de ces diagnostics ont été

prescrites à titre systématique, dont 2 après l'alerte du 10/12/04 car les nouveau-nés avaient consommé des lots de Pregestimil® ayant fait l'objet du retrait.

Dans ce même hôpital E, une recherche de cas rétrospective à partir du laboratoire a retrouvé 3 colonisations digestives à *E. sakazakii* en 2004 en néonatalogie, diagnostiquées entre mars et août (**cas E-a à E-c**) ; les souches des cas E-a et E-c n'ont pas été conservées. Enfin, une nouvelle colonisation digestive à *E. sakazakii* était diagnostiquée de manière fortuite après l'alerte, lors de la semaine 2 de 2005 (**cas E-d**).

Tableau 6 - Principales caractéristiques des cas recensés. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Cas	Sexe	Terme (SA)	Poids (kg)	Cas			Pregestimil	
				Type	Âge	Évolution	Consommé	Âge d'introduction
A-1	F	36	1,995	Invasive (méningite)	J6	Décès (J10)	Oui	J0
B-1	M	35	1,980	Invasive (méningite)	J7	Décès (J19)	Oui	J0
C-1	M	30	1,420	Non invasive (conjonctivite)	J26	Favorable	Oui	J10
D-1	F	37	3,250	Non invasive (colite hémorragique)	J26	Favorable	Oui	J2 * J24 **
B-2	F	32	1,520	Colonisation	J32	Favorable	Oui	J20
E-1	M	28	1,370	Colonisation	J20	Favorable	Oui	nd
E-2	F	26	1,100	Colonisation	J45	Favorable	Oui	nd
E-3	F	28	0,900	Colonisation	J36	Favorable	Oui	nd
E-4	F	32	1,400	Colonisation	J26	Favorable	Oui	J15
E-a	F	30	1,580	Colonisation	J12	Favorable	Non	-
E-b	F	25	0,710	Colonisation	J43	Favorable	Oui	nd
E-c	F	33	1,490	Colonisation	J28	Favorable	Oui	nd
E-d	M	27	0,720	Colonisation	J47	Favorable	Non	-

* Lot S401026.

** Lot S401719.

SA : semaines d'aménorrhée.

nd : non déterminé.

Âges exprimés en jours (si infection : à la date des premiers signes ; si colonisation : à la date d'isolement).

La distribution temporelle des cas est indiquée en figure 1. Les caractéristiques des cas sont résumées dans le tableau 6 et décrites en détail en annexe 6.

Aucun cas survenu dans d'autres pays européens n'a été notifié à l'InVS.

3.1.1.3 | Délais de signalement des infections à l'InVS

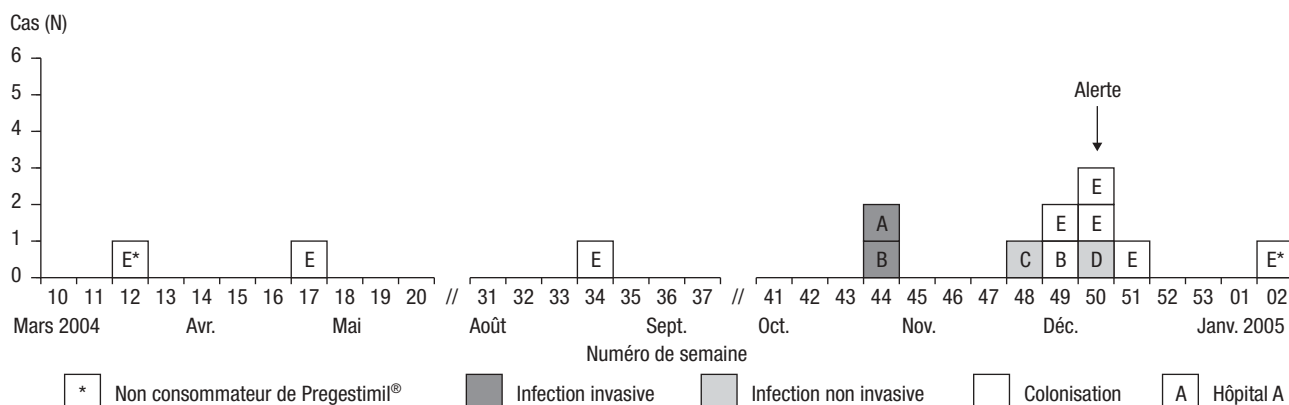
Les deux premières infections, à l'origine de l'alerte, ont été signalées à la Ddass et au CClin plus d'un mois après leur survenue. Le premier signalement a été transmis à l'InVS 8 jours après sa réception par la Ddass, et le second a été transmis fortuitement à l'occasion d'un contact avec le CClin concerné.

Les deux dernières infections ont été signalées et transmises plus rapidement, après envoi du message d'alerte DGS/DHOS/InVS/DGCCRF du 17/12/04.

Tableau 7 - Délais de signalement des infections. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Cas	Lieu	Délai entre diagnostic des cas et signalement (j)	Délai entre signalement et réception à l'InVS (j)	Circonstances de transmission à l'InVS
A-1	Hôpital A	31	8	Spontanée
B-1	Hôpital B	40	3	Sollicitée par InVS
C-1	Hôpital C	20	0	Après alerte
D-1	Hôpital D	6	11	Après alerte

Figure 1 - Répartition des cas recensés par semaine de diagnostic et hôpital. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



Tous les cas d'infections sont regroupés sur 7 semaines entre octobre et décembre 2004.

Pas de nouveaux cas ayant consommé du Pregestimil® après le retrait du 17/12/2004.

3.1.2 | Enquête alimentaire

Les 4 cas d'infection et 7 des 9 cas de colonisation digestive avaient consommé du lait reconstitué avec la préparation en poudre Pregestimil® ; les 2 autres cas de colonisation digestive (E-a et E-d) avaient consommé du lait maternel et du lait de mère lyophilisé pour l'un, du lait maternel et du Galliagène® pour l'autre.

Les 9 nouveau-nés infectés ou colonisés entre octobre et décembre 2004 étaient nourris au biberon sauf le cas B-1 qui était en alternance nourri au biberon et par nutrition entérale à débit alterné ; l'information sur le mode d'administration n'était pas disponible pour les 4 autres.

Concernant la consommation de Pregestimil®, 4 lots fabriqués entre avril 2004 et juillet 2004 étaient utilisés dans les établissements ayant diagnostiqué des cas entre octobre et décembre 2004 : lot S401026 (fabriqué en avril 2004), lot S401719 (fabriqué en mai 2004), lot S401420 (fabriqué en juin 2004) ; lot S402077 (fabriqué en juillet 2004). Ces lots, fabriqués aux Pays-Bas, étaient distribués exclusivement en France et en Algérie. 3 autres lots de Pregestimil® (S400584, S302919 et S303348) étaient susceptibles d'avoir été consommés par les cas E-b et E-c.

Le tableau 8 précise le(s) lot(s) susceptible(s) d'avoir été consommé(s) par chaque cas.

Tableau 8 - Numéros de lots de Pregestimil® susceptibles d'avoir été consommés par les cas. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Cas	Type de cas	Lots de Pregestimil® consommés			
A-1	Invasive (méningite)	S401719	S401420		
B-1	Invasive (méningite)	S402077			
C-1	Non invasive (conjonctivite)	S402077			
D-1	Non invasive (colite hémorragique)	S401719	S401026		
B-2	Colonisation	S402077			
E-1	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-2	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-3	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-4	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-a	Colonisation	nc			
E-b	Colonisation	S400584	S302919	S303348	
E-c	Colonisation	S401719	S401026	S400584	S302919
E-d	Colonisation	nc			

nc : non consommateur de Pregestimil®.

3.2 | Audits de pratiques réalisés par les CClin dans les établissements de santé

Des visites ont été réalisées dans 4 des 5 hôpitaux ayant signalé un ou plusieurs cas (hôpitaux A, B, D et E) par les CClin concernés et ont ciblé les mesures d'hygiène en biberonnerie et en néonatalogie ; les informations concernant l'hôpital C ont été communiquées par courrier.

La visite de l'hôpital B a permis d'exclure l'hypothèse d'une transmission croisée entre les 2 nouveau-nés infectés : ils n'ont jamais séjourné à proximité l'un de l'autre et les pratiques d'hygiène lors des soins étaient conformes aux recommandations. Pour l'hôpital E, qui a signalé 4 colonisations en 2 semaines, cette hypothèse est également peu probable : la proximité géographique éventuelle des cas n'a pas été documentée mais les pratiques d'hygiène observées par le CClin étaient conformes.

Dans un hôpital (hôpital A), les pratiques de préparation et de conservation des laits reconstitués n'étaient pas toutes conformes aux recommandations existantes [14,15]. Les recommandations du CClin étaient notamment de revoir l'organisation de la biberonnerie afin de garantir le respect de la "marche en avant" (séparation des secteurs et cheminement des denrées, du matériel et du personnel

pour respecter les principes d'hygiène), de respecter les bonnes pratiques d'hygiène de base pour les accessoires utilisés pour la reconstitution des laits, et de respecter les températures de stockage des biberons reconstitués. Dans les 4 autres hôpitaux, les pratiques (observées ou déclarées, selon les cas) étaient conformes aux recommandations en vigueur à l'époque.

Un point critique commun à plusieurs établissements a été identifié ; il concernait les conditions de conservation des biberons dans les services cliniques :

- durée prolongée de stockage (jusqu'à 24 h) dans les hôpitaux A, B, C et D ; dans l'hôpital E, les biberons n'étaient conservés que 8 h au maximum ;
- stockage dans des réfrigérateurs non professionnels, ne garantissant pas une température $< 4^{\circ}\text{C}$ et sans traçabilité pour les hôpitaux A, B, D et E ; les résultats des autocontrôles de température de l'hôpital C étaient conformes ($\leq 4^{\circ}\text{C}$).

Les principales constatations des visites de chaque établissement sont décrites en annexe 7.

3.3 | Investigations microbiologiques

3.3.1 | Confirmation par séquençage des souches isolées de prélèvements cliniques

Treize souches isolées de prélèvements cliniques ont été transmises pour expertise.

Onze souches ont été identifiées comme étant *E. sakazakii* et confirmées comme telles par séquençage du gène *rpoB*.

Deux souches, l'une isolée le 07/12/04 d'une hémoculture dans l'hôpital B (souche B-3) et l'autre isolée le 14/12/04

d'un prélèvement de selles dans l'hôpital F (souche F-1) appartenaient à l'espèce *cloacae* : *genospecies E. hormaechei* pour la souche B-3 et *genospecies E. asburiae* pour la souche F-1. Les 2 patients correspondants ont été exclus de la liste des cas.

La liste complète des 13 souches cliniques expertisées est détaillée ci-après (tableau 9).

Tableau 9 - Souches cliniques de *E. sakazakii* reçues pour expertise et confirmation. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Souche	Cas	Origine	Date	Type	Séquençage
<i>Souches cliniques</i>					
A-1a	A-1	Hôpital A	25/10/04	Liquide gastrique	<i>E. sakazakii</i>
A-1b	A-1	Hôpital A	25/10/04	LCR	<i>E. sakazakii</i>
B-1	B-1	Hôpital B	28/10/04	LCR	<i>E. sakazakii</i>
C-1	C-1	Hôpital C	27/11/04	Conjonctival	<i>E. sakazakii</i>
D-1	D-1	Hôpital D	11/12/04	Selles	<i>E. sakazakii</i>
E-1	E-1	Hôpital E	30/11/04	Anus	<i>E. sakazakii</i>
E-2	E-2	Hôpital E	07/12/04	Selles	<i>E. sakazakii</i>
E-3	E-3	Hôpital E	12/12/04	Selles	<i>E. sakazakii</i>
E-4	E-4	Hôpital E	13/12/04	Selles	<i>E. sakazakii</i>
E-b	E-b	Hôpital E	27/04/04	Selles	<i>E. sakazakii</i>
E-d	E-d	Hôpital E	16/01/05	Selles	<i>E. sakazakii</i>
B-3	Exclu	Hôpital B	07/12/04	Sang	<i>E. hormaechei</i>
F-1	Exclu	Hôpital F	14/12/04	Selles	<i>E. asburiae</i>

3.3.2 | Analyse des prélèvements environnementaux

Aucune souche de *E. sakazakii* n'a été isolée des prélèvements environnementaux réalisés dans les hôpitaux A, B ou D.

La liste de ces prélèvements figure en annexe 8.

3.3.3 | Analyse des préparations en poudre pour nourrissons

3.3.3.1 | Lots identifiés comme positifs à *E. Sakazakii*

E. sakazakii a été isolé par 3 laboratoires dans 4 lots de Pregestimil® produits entre avril et juillet 2004 : 3 lots distribués dans les établissements hospitaliers concernés (S401026, S401420 et S402077) et un lot postérieur à ces lots (S402632) (tableau 10). Tous les cas signalés entre octobre et décembre ont pu consommer au moins un des lots positifs.

Le lot S401420 est probablement à l'origine de la contamination du cas A-1 : *E. sakazakii* a été isolé d'une boîte ayant probablement servi à la préparation de ses biberons à partir d'un échantillon de 25 g selon des méthodes d'isolement non spécifiques. L'autre lot éventuellement consommé (S401719) n'a pas été retrouvé contaminé.

Le lot S401026 est probablement à l'origine du cas D-1 : *E. sakazakii* a été isolé d'une boîte ayant probablement servi

à la préparation de ses biberons et l'autre lot éventuellement consommé (S401719) n'a pas été retrouvé contaminé.

Enfin, le lot S402077 est très probablement à l'origine de la contamination des cas B-1, C-1 et B-2 puisqu'il s'agit du seul lot consommé par ces 3 enfants ; il pourrait aussi être à l'origine des cas E-1 à E-4 (tableau 11).

La contamination de cette préparation est hétérogène d'un lot à l'autre. Parmi ces 4 lots, 2 sont en effet fréquemment contaminés : lot S401026 produit en avril 2004 (32 % des boîtes analysées positives pour *E. sakazakii*) et lot S402077 (22 % des boîtes analysées positives pour *E. sakazakii*). Les boîtes testées pour ces 2 lots avaient été fabriquées sur un intervalle de temps court (1 h 30 et 2 h 30, respectivement, voir annexe 9). Ces 2 lots pourraient expliquer à eux seuls 8 des 9 cas signalés.

Les résultats détaillés des analyses figurent en annexe 9.

Tableau 10 - Résultats des recherches de *E. sakazakii* par lots, pour les 4 laboratoires. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

N° de lot	Date de production	Nombre de boîtes positives pour <i>E. sakazakii</i> /nombre de boîtes testées, par laboratoire et taille d'échantillon				Total
		IP Lille (100 g)	Afssaps (50 g)	DGCCRf (50 g)	LDA Allier (25 g)	
S303690	2003	0/0	0/5	0/0	0/0	0/5
S401026	02/04/04	12*/28	0/0	5/25	0/0	17*/53
S401420	07/05/04	0/31	0/5	0/30	1*/1	1*/67
S401719	04/06/04	0/41	0/5	0/30	0/1	0/77
S402077	02/07/04	12/32	0/5	3/30	0/0	15/67
S402632	01/09/04	0/0	0/5	3/60	0/0	3/65
S403458	09/11/04	0/0	0/5	0/60	0/0	0/65
Total		24/132	0/30	11/235	1/2	36/399

En gras, lots consommés par les cas.

* Dont 1 boîte entamée prélevée dans un des hôpitaux des cas.

Tableau 11 - Numéros de lots de Pregestimil® susceptibles d'avoir été consommés par les cas et résultats des recherches de *E. sakazakii* dans ces lots. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Cas	Type de cas	Lots de Pregestimil® consommés			
A-1	Invasive (méningite)	S401719	S401420*		
B-1	Invasive (méningite)	S402077			
C-1	Non invasive (conjonctivite)	S402077			
D-1	Non invasive (colite hémorragique)	S401719	S401026*		
B-2	Colonisation	S402077			
E-1	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-2	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-3	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-4	Colonisation	S402077	S401719	S401420	S401026
E-a	Colonisation	nc			
E-b	Colonisation	S400584**	S302919**	S303348**	
E-c	Colonisation	S401719	S401026	S400584**	S302919**
E-d	Colonisation	nc			

En gras : lots positifs pour *E. sakazakii*.

* Prélèvements dans l'hôpital d'une boîte entamée ayant pu être consommée par le cas.

** Lot non testé.

nc : non consommé.

3.3.3.2 | Estimation du taux de contamination des lot S402077 et S401026

Les résultats vont dans le sens d'un faible taux de contamination de ces 2 lots, entre 1 et 10 UFC pour 100 g, et d'une grande hétérogénéité de la contamination au sein d'un même lot : en dessous de 100 g, l'effet aléatoire de la prise d'essai est très visible.

Lot S402077 : sur 5 échantillons testés, 2 ont répondu positivement pour des prises d'essai inférieures à 100 g : 1 dans une prise d'essai de 10 g et 1 dans une prise d'essai de 50 g (tableau 12a).

Tableau 12a - Estimation de la contamination du lot S402077. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Échantillon	Heure de production	Taille de prise d'essai				
		100 g	50 g	25 g	10 g	1 g
1	22:21	+	-	-	-	-
2	22:21	+	-	-	-	-
3	22:28	+	-	-	+	-
4	22:32	+	+	-	-	-
5	22:33	+	-	-	-	-

+ : présence de *E. sakazakii*.

- : absence de *E. sakazakii*.

Lot S401026 : sur 5 échantillons testés, 3 ont répondu positivement pour des prises d'essai inférieures à 100 g : 1 dans une prise d'essai de 10 g, 1 dans une prise

d'essai de 50 g et 1 dans deux prises d'essai de 50 g et 25 g (tableau 12b).

Tableau 12b - Estimation de la contamination du lot S401026. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Échantillon	Heure de production	Taille de prise d'essai				
		100 g	50 g	25 g	10 g	1 g
1	03:42	+	-	-	-	-
2	04:06	+	+	+	-	-
3	04:14	+	+	-	-	-
4	04:22	+	-	-	-	-
5	04:26	+	-	-	+	-

+ : présence de *E. sakazakii*.

- : absence de *E. sakazakii*.

3.3.3.3 | Confirmation par séquençage des souches isolées de préparations en poudre

Trente-six souches de *E. sakazakii* isolées des lots de Pregestimil® S401026 (n = 17), S401420 (n = 1), S402077 (n = 15) et S402632 (n = 3) ont été confirmées comme étant *E. sakazakii* par séquençage du gène *rpoB*.

Une souche isolée d'une préparation de marque Nutramigen® appartenait à l'espèce *cloacae* (*genospecies E. hormaechei*) et non *sakazakii*.

La liste de ces 36 souches est disponible en annexe 10.

3.3.3.4 | Synthèse

Ces résultats indiquent la présence intermittente de *E. sakazakii* dans 4 lots de Pregestimil® fabriqués sur une période de 5 mois (avril à septembre 2004) dans l'usine Mead Johnson des Pays-Bas.

Le taux de contamination apparaît faible pour tous les lots. La contamination est très variable (de 0 à 32 % des

échantillons testés) d'un lot à l'autre et très hétérogène au sein d'un même lot. Sur les 4 lots concernés, les lots produits en avril (S401026) et juillet (S402077) étaient les plus fréquemment contaminés et pourraient être à l'origine de 8 des 9 cas recensés.

3.3.4 | Comparaison des souches de *E. sakazakii* confirmées

3.3.4.1 | Ribotypie automatisée

Les 9 souches isolées chez les 8 cas signalés entre octobre et décembre donnent le même profil ribotypique (RIBO1 155-871-S-1) par le Riboprinter, profil ci-après dénommé “profil épidémique”. Deux autres profils sont retrouvés pour les souches des cas E-b et E-d (non consommateurs de Pregestimil®), isolées à l’hôpital E en avril 2004 et janvier 2005.

Le profil épidémique est retrouvé pour 25 (71 %) des 35 souches isolées de 35 boîtes de Pregestimil® : 9 souches isolées de 9 boîtes du lot S401026, 12 souches isolées de 12 boîtes du lot S402077, 1 souche isolée du lot S401420 et 3 souches isolées de 3 boîtes du lot

S402632. Un profil différent (RIBO1 155-880-S-4) est retrouvé pour 2 souches isolées de 2 boîtes du lot S402077, ainsi que pour 6 souches isolées du lot S401026.

Le profil épidémique n’est pas retrouvé chez 4 souches de la collection Institut Pasteur⁷.

Au total, des souches de *E. sakazakii* de même ribotype ont été mises en évidence dans les prélèvements cliniques de 8 enfants et dans les échantillons de préparation en poudre appartenant aux 4 lots positifs produits entre le 2 avril et le 1^{er} septembre 2004 : S401026, S401420 et S402077 consommés par les cas, et lot S402632 non consommé par les cas (tableau 13) (annexe 11).

Tableau 13 - Comparaison par ribotypie et électrophorèse en champ pulsé des souches de *E. sakazakii* reçues pour expertise. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Souche	Cas/lot	Type	Séquençage <i>rpoB</i>	Ribotypie automatisée	PFGE Xbal	PFGE Spel
Souches cliniques						
A-1a	A-1	Liq. gastrique	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
A-1b	A-1	LCR	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
B-1	B-1	LCR	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
C-1	C-1	Conjonctival	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
D-1	D-1	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
E-1	E-1	Anus	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
E-2	E-2	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
E-3	E-3	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
E-4	E-4	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
E-b	E-b	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-887-S-4		
E-d	E-d	Selles	<i>E. sakazakii</i>	1 155-889-S-5		
B-3	Exclue	Sang	<i>E. hormaechei</i>	1 155-875-S-6		
F-1	Exclue	Selles	<i>E. asburiae</i>	1 155-887-S-5		
Souches “poudre”						
L-13	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 2	Spel 2
L-21	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel3'
L-22	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1*	Xbal 2	Spel2
L-23	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4		Spel3'
L-24	S401026	Pregestimil®	E. sakazakii	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel1
L-25	S401026	Pregestimil®	E. sakazakii	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel1
L-26	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel3'
L-27	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel3'
L-28	S401026	Pregestimil®	E. sakazakii	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel1

* Confirmation visuelle du ribotype.

En gras : profil épidémique.

⁷ Origine de ces souches de référence accessible sur <http://cip.pasteur.fr/rech-bacteries-gb.html> en mentionnant le numéro cité dans le tableau 13.

Tableau 13 (suite) - Comparaison par ribotypie et électrophorèse en champ pulsé des souches de *E. sakazakii* reçues pour expertise. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Souche	Cas/lot	Type	Séquençage <i>rpoB</i>	Ribotypie automatisée	PFGE Xbal	PFGE Spel
Souches "poudre"						
L-29	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 2	Spel 2
L-30	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1*	Xbal 1	Spel 1
L-31	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel 3'
L-32	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel 3'
L-33	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1*	Xbal 1	Spel 1
L-34	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 2	Spel 2
L-35	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel 3'
L-36	S401026	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4*	Xbal 3	Spel 3'
L-1	S401420	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-2	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-3	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-4	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-5	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-6	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-7	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-8	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-9	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-10	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-11	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-12	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-17	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4	Xbal 3	Spel 3
L-18	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-880-S-4	Xbal 3	Spel 3
L-19	S402077	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Xbal 1
L-20	S402095	Nutramigen	<i>E. hormaechei</i>	1 155-883-S-1		
L-14	S402632	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-15	S402632	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
L-16	S402632	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>	1 155-871-S-1	Xbal 1	Spel 1
Souches témoins (collection Institut Pasteur)						
R-1	103183	Témoin	<i>E. sakazakii</i>	1 155-897-S-5	Xbal 4	Spel 4
R-2	103581	Témoin	<i>E. sakazakii</i>	1 155-887-S-1	Xbal 5	Spel 5
R-3	104951	Témoin	<i>E. sakazakii</i>	1 155-887-S-2		
R-4	104952	Témoin	<i>E. sakazakii</i>	1 155-887-S-3	Xbal 6	Spel 6

* Confirmation visuelle du ribotype.

En gras : profil épidémique.

3.3.4.2 | Électrophorèse en champ pulsé

Les 9 souches isolées des prélèvements cliniques de 8 cas signalés entre octobre et décembre donnent le même profil (Xbal 1 – Spel 1) en électrophorèse à champ pulsé (ECP), profil ci-après dénommé "profil épidémique". 2 autres profils sont retrouvés pour les souches des cas E-b et E-d, isolées à l'hôpital E en avril 2004 et janvier 2005.

Le profil épidémique est retrouvé pour 21 (60 %) des 35 souches isolées de 35 boîtes de Pregestimil® : 5 souches isolées de 5 boîtes du lot S401026, 12 souches isolées de 12 boîtes du lot S402077, 1 souche isolée d'1 boîte du lot S401420 et 3 souches isolées de 3 boîtes du lot S402632.

Deux autres profils ECP sont retrouvés :

- Xbal 2 – Spel 2 chez 4 souches isolées de 4 boîtes du lot S401026 ;
- Xbal 3 – Spel 3 (ou Spel 3') chez 8 souches isolées de 8 boîtes du lot S401026, et 2 isolées de 2 boîtes du lot S402077.

Le profil épidémique n'est pas retrouvé chez 4 souches de la collection Institut Pasteur.

Au total, des souches de *E. sakazakii* de même pulsotype ont été mises en évidence dans les prélèvements cliniques

de 8 enfants et dans les échantillons de préparation en poudre appartenant aux 4 lots positifs produits entre le 2 avril et le 1^{er} septembre 2004 : S401026, S401420 et S402077 consommés par les cas, et lot S402632 non consommé par les cas (tableau 13) (annexe 12).

L'analyse en ECP est plus discriminante que l'analyse ribotypique : sur 25 souches qui présentaient le même profil ribotypique RIBO1 155-871-S-1, 21 présentent le profil ECP Xbal 1–Spel 1 ; 2 ont un profil Xbal 2–Spel 2 et 2 ont un profil Xbal 3–Spel 3 (tableau 13).

3.4 | Enquête dans l'unité de production des Pays-Bas

3.4.1 | Description des méthodes de production et des produits

Pregestimil® est un produit fabriqué pour la France dans une unité de production de Mead Johnson située à Nijmegen aux Pays-Bas. Cette usine produit une gamme étendue de préparations en poudre (plus de 40 produits dont Pregestimil®, Nutramigen®, Enfamil®, etc.). Ces produits sont distribués dans plus de 50 pays au monde.

L'usine de Nijmegen produit trois grands types de préparations en poudre pour nourrissons : hypoallergénique, standard et standard aromatisé. Ces produits contiennent des protéines, des sucres, un mélange d'huiles végétales et minérales, des sels minéraux, des vitamines et d'autres ingrédients complémentaires spécifiques à chaque produit.

Les lots sont fabriqués en début de chaque mois. Chaque cycle de fabrication, mensuel, débute par un lavage de l'équipement et de l'environnement de production pour éliminer toutes traces de protéines de lait, suivi d'une désinfection, d'un séchage approfondi et d'un rinçage avec une poudre inerte. La fabrication des préparations en poudre commence par les poudres hypoallergéniques et évolue successivement vers les poudres "standard" puis les poudres "standard aromatisée". Un nouveau cycle de production peut ensuite commencer.

Pour chaque préparation, le procédé de fabrication comporte une première phase de mélange en milieu liquide suivie d'une phase de pulvérisation – séchage pour transformer le produit liquide en "poudre base" alors stockée en silo. Les ingrédients thermo-sensibles comme les vitamines ou les sels minéraux sont ajoutés à cette "poudre base" par un système de transport sous vide. Le mélange est effectué à sec dans un mélangeur. La préparation en poudre "finale" est ensuite conditionnée en boîtes emballées en cartons de 24. Ces cartons sont ensuite préparés pour leur distribution dans les différents marchés.

Pregestimil® est distribué en boîtes de 425 g livrées ensuite à la filiale française qui se charge de leur distribution à l'hôpital et en officine. En 2004, 9 lots de Pregestimil® ont été distribués en France, dont 6 à partir du lot S401026, lot le plus ancien associé à un cas ; 4 de ces 6 lots étaient contaminés par *E. sakazakii*.

L'usine de Nijmegen est certifiée ISO 9002 et suit notamment les règles d'une procédure HACCP pour la maîtrise du risque microbiologique. Cette procédure est décrite en détail en annexe 13.

3.4.2 | Inspection de l'unité de production de Nijmegen par les autorités hollandaises

Les résultats de cette inspection ont fait l'objet d'une notification "RAPEX" qui mentionnait que les précautions sur les points critiques appliquées dans l'unité de production de Nijmegen étaient suffisantes.

Les résultats des analyses microbiologiques des 9 lots testés sont les suivants :

- absence de *E. sakazakii* dans 50 g de produit (en culture et PCR) ;
- absence de *Salmonella* dans 50 g de produit ;
- absence de *Enterobacteriaceae* dans 1 g de produit.

Les résultats détaillés de cette inspection figurent en annexe 15.

Gestion de l'alerte : mesures de contrôle mises en place

Les mesures de contrôle suivantes ont été prises par les autorités françaises (DGCCRF et DGS) en lien avec le producteur (Mead Johnson) :

- le 10/12/04 : retrait volontaire et rappel des lots de Pregestimil® S401420, S401719 et S402077 (message en annexe 1) ;
- le 17/12/04 : retrait volontaire et rappel des lots de Pregestimil® distribués en France, dont le lot S401026 (message en annexe 2).

Aucun nouveau cas d'infection ou colonisation à *E. sakazakii* relié aux précédents n'est survenu après ces deux retraits.

Ces mesures ont été complétées le 17/12/04 par la diffusion auprès des établissements de santé français hébergeant des service de pédiatrie, maternité ou néonatalogie

d'une note d'information DGS-DHOS-InVS incluant des recommandations pour la préparation des biberons et pour le signalement immédiat à l'InVS de tout nouveau cas d'infection à *E. sakazakii* (annexes 4 et 5).

Ultérieurement, un retrait de tous les lots de Pregestimil® distribués dans le monde (sauf aux États-Unis, au Canada et à Porto-Rico) a été décidé par le producteur en accord avec les autorités sanitaires de chaque pays. Un arrêt de la production du Pregestimil® poudre dans l'usine de Nijmegen (Hollande) a complété ces mesures.

Le détail des actions prises par le producteur (au 18 février 2005) figure en annexe 14.

La production de Pregestimil® poudre a redémarré en septembre 2005, et le produit a été réintroduit sur le marché français au cours du mois de novembre 2005.

5 Discussion

Il s'agit du premier épisode documenté en France de cas groupés d'infections à *E. sakazakii* associées à la consommation d'une même préparation en poudre pour nourrissons, et du premier épisode documentant cette association à partir de cas disséminés dans plusieurs établissements de santé d'un même pays.

Neuf cas ont été recensés entre les semaines 44 et 51 chez des nouveau-nés hospitalisés dans 5 hôpitaux. Plusieurs arguments sont en faveur de leur association avec la préparation initialement suspectée : la survenue rapprochée dans le temps, dans des hôpitaux distants géographiquement, de plusieurs cas d'une infection très rare chez des nouveau-nés ayant tous consommé cette préparation ; la mise en évidence de *E. sakazakii* dans 4 lots de la préparation consommés par les cas ; l'identité des souches isolées dans ces lots et de celles isolées chez les cas, confirmée par 2 méthodes de typages moléculaires ayant un très bon pouvoir discriminant [16] ; la mise en évidence dans les hôpitaux de délais parfois importants⁸ et de températures souvent non optimales pour la conservation des préparations reconstituées, deux éléments qui ont pu favoriser la multiplication d'une quantité initialement très faible de *E. sakazakii* dans la préparation en poudre ; enfin, l'absence de nouveaux cas identifiés après la mise en place des mesures de contrôle. Ces observations sont cohérentes avec les données de la littérature, pour laquelle l'association entre infections à *E. sakazakii* et consommation de préparation en poudre pour nourrissons est maintenant bien établie. Ces préparations pourraient être la source (directe ou indirecte) et le véhicule de 50 % à 80 % des infections à *E. sakazakii* chez les nourrissons [17]. Plusieurs investigations d'épidémies dans des unités de néonatalogie ont confirmé ce lien [5,6,8,9,18,19], par des études descriptives ou de cohorte [5,9] et par la mise en évidence de *E. sakazakii* dans des échantillons de préparations en poudre consommées [9] ou prélevées dans des boîtes fermées [5,6] ; les souches isolées des prélèvements cliniques et des préparations n'étaient pas différenciables par les différentes méthodes de typage alors utilisées.

Parmi les 4 nouveau-nés infectés, 3 étaient des enfants prématurés ou hypotrophes ; le quatrième était né à 37 semaines en bonne santé. Deux des 4 infections étaient des méningites, qui ont entraîné le décès rapide des

enfants. Ces caractéristiques cliniques sont celles habituellement décrites dans la littérature : les infections à *E. sakazakii* surviennent préférentiellement chez des enfants prématurés ou hypotrophes, s'expriment fréquemment sous forme de méningites, et ont une létalité élevée. Ainsi, parmi 48 cas d'infection chez des nourrissons recensés dans la littérature anglaise de 1961 à 2003, deux tiers survenaient chez des prématurés et la moitié chez des nouveau-nés de poids de naissance inférieur à 2000 g. En 2002, aux États-Unis, une étude du réseau Foodnet a estimé que l'incidence des infections invasives à *E. sakazakii* était de 1 pour 100 000 chez les nourrissons et de 8,7 pour 100 000 chez les enfants de faible poids de naissance [17] ; des infections invasives (méningites, bactériémies) ont cependant été aussi décrites chez des enfants nés en bonne santé [2,6] ou chez des nourrissons plus âgés non hospitalisés [17].

Cet épisode a aussi documenté 5 colonisations digestives, toutes chez des enfants prématurés ou hypotrophes. La coexistence chez des enfants ayant consommé la même préparation en poudre de colonisations digestives ou urinaires et d'infections par la même souche a déjà été décrite dans d'autres épidémies [5-7]. Ce portage dans les selles peut être prolongé (jusqu'à 18 semaines) et présente potentiellement un danger de contamination croisée d'autres nourrissons [7]. Quatre autres colonisations digestives (E-a à E-d) signalées tardivement n'ont pas été incluses dans notre analyse. Les cas E-b (avril 2004) et E-d (janvier 2005) présentaient un profil différent du profil épidémique ; ils n'avaient pas consommé de Pregestimil®. Le cas E-a (mars 2004), dont la souche n'a pas été conservée, n'avait pas consommé de Pregestimil®. Le cas E-c (août 2005) n'a pas été retenu car il était très antérieur au premier cas d'infection : il avait consommé du Pregestimil® mais la souche n'a pas été conservée.

Les différences d'expression clinique chez des nourrissons ayant consommé la préparation contaminée sont difficiles à expliquer. Elles ne semblent pas liées exclusivement à l'état de santé des nouveau-nés (prématurité ou hypotrophie) : tous les enfants colonisés étaient prématurés ou hypotrophes alors qu'un des enfants infectés était en bonne santé. Elles pourraient être liées à des niveaux variables de contamination des préparations consommées, en relation avec l'inoculum initial ou les conditions de

⁸ Mais conformes aux recommandations en vigueur.

préparation et conservation de chaque biberon administré. Enfin, l'âge d'introduction de la préparation en poudre pourrait jouer un rôle : les deux enfants ayant développé les formes les plus sévères (décès par méningite) avaient reçu du Pregestimil® dès leur naissance.

La reconnaissance de cet événement grave a été faite dans le cadre du signalement des infections nosocomiales [4]. Pour être précoce, cette reconnaissance nécessite cependant un signalement très rapide par les établissements. La centralisation des données à l'InVS permet ensuite de relier entre eux des cas apparemment sporadiques et d'évoquer très tôt une source commune. Dans cet épisode, les infections graves à *E. sakazakii* ont été spontanément signalées ; la recherche active d'autres cas, mise en place après l'alerte, a seulement identifié 2 autres infections (non invasives) et 4 colonisations ne relevant pas nécessairement du signalement. La réactivité du signalement aurait cependant pu être meilleure, puisque les 2 premiers signalements ont été reçus près de 6 semaines après la survenue des 2 décès par méningite, infections relevant d'un signalement immédiat. Ces délais étaient liés à un retard dans le signalement par l'hôpital à la Ddass et au CClin, puis à leur transmission à l'InVS par la Ddass. Entre 2001 (année de mise en place du signalement) et 2004, le délai médian entre le diagnostic d'une infection et son signalement externe est passé de 27 à 22 jours ; le délai médian entre un signalement externe et sa réception à l'InVS est passé de 33 à 11 jours (données InVS, non publiées). Ces délais peuvent être encore améliorés par des actions ciblées (sensibilisation des cliniciens, formation des médecins inspecteurs, informatisation des circuits, etc.).

Le faible nombre d'infections à *E. sakazakii* recensées lors de cet épisode conforte l'hypothèse d'une faible contamination de la préparation Pregestimil®, administrée à environ 3 500 nourrissons hospitalisés par mois sur cette période⁹ (entre 3 000 et 4 000 boîtes distribuées à l'hôpital par mois, annexe 13). La médiatisation de l'épisode a été importante et les professionnels de santé sollicités de façon répétée pour notifier tout nouveau cas. Le faible nombre de cas recensés est donc sans doute le reflet de la réalité. Cependant, la demande de notification ne ciblant pas les colonisations et la recherche de *E. sakazakii* dans les selles n'étant pas systématique dans les hôpitaux, le recensement était sans doute meilleur pour les infections. Un autre argument en faveur d'un bon recensement tient au fait que la notification de cas par les hôpitaux a été large : quelques infections à *E. cloacae* ont été signalées et secondairement exclues après confirmation de l'espèce.

Les infections à *Enterobacter* autres que *E. sakazakii* sont probablement considérées par les cliniciens comme relevant d'une contamination croisée et ne relevant pas d'un signalement lorsqu'elles surviennent de façon isolée. La transmission d'autres entérobactéries que *E. sakazakii* par des préparations en poudre contaminées doit pourtant être envisagée : elles ont été isolées dans plusieurs échantillons des 4 lots de Pregestimil® analysés à l'Institut Pasteur de Lille et plusieurs publications corroborent ces résultats [6,10]. Enfin, plusieurs épidémies de salmonelloses liées à la consommation de poudres de lait ont été rapportées, dont 2 en France depuis cet épisode [20-23]. Le signalement de tout cas d'infection néonatale à entérobactérie est donc à envisager, pour mieux les documenter et pour rechercher une éventuelle origine alimentaire.

L'enquête n'a pas permis de quantifier le risque lié à la consommation de la préparation en poudre incriminée, en rapportant le nombre de cas d'infections ou colonisations identifiés au nombre total d'enfants consommateurs de cette préparation sur la période épidémique (ou mieux, au nombre total de journées de consommation). Le recueil de ce dénominateur n'a pas été possible compte tenu de la charge de travail nécessaire pour l'investigation et la gestion de l'épisode, les régimes alimentaires des nouveau-nés n'étant pas documentés ou rapidement accessibles, et faute de moyens suffisants (l'alerte étant survenue juste avant Noël dans 5 établissements de santé différents). Pour les mêmes raisons, et compte tenu du fait que les données de l'épidémiologie descriptive et de l'expertise des souches isolées ont rapidement permis d'étayer le lien entre les infections ou colonisations et la consommation de la préparation en poudre ayant fait l'objet d'un retrait, la conduite d'une étude analytique n'a pas été jugée nécessaire. Par ailleurs, le nombre peu élevé de cas recensés aurait limité la puissance d'une telle étude.

Les analyses microbiologiques des lots de Pregestimil® ont montré une contamination par la même souche de *E. sakazakii* de 4 lots produits sur une période prolongée (6 mois). Cette contamination était hétérogène d'un lot à l'autre et à l'intérieur d'un même lot. Elle était très faible (entre 1 et 10 UFC pour 100 g pour les lots les plus fréquemment contaminés) et inférieure aux normes réglementaires [24]. Des contaminations similaires ont été observées par 2 études spécifiques et lors d'investigations d'épidémie. En 1988, Muytjens *et coll.* ont recherché la présence d'entérobactéries dans 141 préparations en poudre différentes distribuées dans 35 pays ; 53 % des échantillons étaient positifs. Les bactéries les plus

⁹ Source : Mead Johnson France.

fréquemment isolées étaient du genre *Enterobacter* : *E. agglomerans* (25 % des échantillons), *E. cloacae* (21 %) et *E. sakazakii* (14 %). Les niveaux de contamination étaient inférieurs à 1 CFU/g dans les échantillons testés, sans relation avec la date d'expiration ou le pays d'origine des échantillons [10]. En 1997, *E. sakazakii* a été isolé de 8 boîtes de laits sur 120 distribuées au Canada et issues de 5 producteurs différents ; le niveau de contamination étaient là aussi très faible (0,4 CFU/100 g) [11]. En 1998 en Belgique, lors d'une épidémie d'entérites nécosantes en néonatalogie, *E. sakazakii* a été isolé dans un lot de préparation en poudre et dans une préparation reconstituée ; des coliformes étaient aussi retrouvés dans 5 échantillons de la préparation ; ces résultats étaient conformes aux exigences du *Codex Alimentarius* mais non conformes à la réglementation belge [9]. En 1987 en Islande, *E. sakazakii* a été isolé dans 5 lots d'une préparation en poudre utilisée dans un hôpital ayant diagnostiqué 3 infections invasives au même germe [6]. En 1988 aux États-Unis [8], *E. sakazakii* et *E. cloacae* ont été isolés dans des échantillons prélevés d'une boîte ouverte ; les niveaux de contamination étaient faibles (8 CFU/100 g pour *E. sakazakii* et 48 CFU/100 g pour *E. cloacae*). Enfin, toujours aux États-Unis lors d'une autre épidémie, *E. sakazakii* a été isolé dans des échantillons de 100 g prélevés dans des boîtes de préparation en poudre utilisées dans le service touché ; l'enquête épidémiologique a confirmé l'association entre consommation de cette préparation et survenue des cas. Les types et marques des préparations en poudre à l'origine de ces épidémies ont été rapportés dans seulement 2 épisodes : Alfaré® (Nestlé) dans l'épisode belge [9] et Portagen® (Mead Johnson) dans l'épisode américain de 2001 [5].

La présence intermittente d'une même souche de *E. sakazakii* sur une période de cinq mois dans 4 lots de Pregestimil® suggère que celle-ci résidait dans l'environnement de production et qu'elle a pu contaminer la préparation à l'occasion d'incidents sur la chaîne de fabrication. Le fait que les échantillons testés aient été produits sur un laps de temps très court (entre 1 h 30 et 2 h 30) pourrait suggérer une contamination ponctuelle. La présence de 3 souches différentes dans un même lot (S401026) et la présence d'entérobactéries autres dans 4 lots suggèrent par ailleurs une contamination multiple. Les inspections réalisées par les autorités hollandaises ont cependant conclu à une bonne mise en œuvre des procédures HACCP dans l'usine. Ces procédures, bien que conformes à la réglementation, n'ont cependant pas permis d'éviter et de détecter les contaminations de l'environnement et des poudres de lait, en routine et lors

de tests additionnels effectués suite à un incident lors de la production du lot S401026 (annexe 13). Cette contamination de l'environnement de production est d'autant plus probable que *E. sakazakii* est un pathogène largement répandu dans l'environnement. Dans une étude publiée en 2004, *E. sakazakii* a ainsi été recherché dans l'environnement de 9 usines (4 produisant des préparations en poudre et 5 d'autres produits alimentaires) et 9 domiciles particuliers ; cette bactérie a été isolée dans 8 usines et 5 domiciles [25]. La prédominance de *E. sakazakii* dans l'environnement des usines pourrait être liée à sa thermorésistance élevée [26] et à son osmotolérance [27]. Le réservoir environnemental de *E. sakazakii* reste cependant mal connu : dans leur étude, Muytens *et al.* n'ont pas pu l'isoler de plusieurs prélèvements d'origine animale (déjections d'oiseaux, rongeurs, animaux domestiques, bovins, etc.) [19]. Son isolement récent dans l'intestin de larves de mouche suggère que les insectes pourraient constituer un réservoir [28].

L'origine exacte de cette contamination lors de la production reste inconnue. Le processus de fabrication utilisé par Mead Johnson dans l'usine de production du Pregestimil® est un *process* mixte associant une phase de production en milieu liquide pour produire une poudre base à laquelle sont ajoutés secondairement des ingrédients produits en phase sèche (annexe 13). *E. sakazakii* étant inactivé par le traitement thermique de la phase liquide, la contamination de cette préparation peut être due à une contamination des ingrédients ajoutés lors de la phase sèche. En effet, bien qu'ayant également subi un traitement thermique, ces ingrédients peuvent être contaminés secondairement lors des mélanges ultérieurs. Une étude non publiée sur la contamination par *Enterobacter* de ces ingrédients a montré la fréquence de cette contamination en particulier pour l'amidon [17]. La contamination de la préparation peut aussi être due à une contamination de l'environnement de production au cours de la phase sèche ou de la phase de conditionnement. Ces points critiques étaient pris en compte dans la démarche HACCP de l'usine, jugée adéquate par les autorités sanitaires hollandaises lors de leur inspection de l'usine. D'après les informations communiquées par Mead Johnson, les autocontrôles réalisés dans l'usine de Nijmegen n'ont pas mis en évidence *E. sakazakii* dans l'environnement. Cet épisode confirme que, malgré ces précautions, les méthodes actuelles de production et réglementations en vigueur ne permettent pas d'éliminer la possibilité d'une contamination et de produire des préparations en poudre stériles. Les spécifications microbiologiques du *Codex Alimentarius* pour les coliformes dans les préparations en poudre pour nourrissons¹⁰ ont été

¹⁰ Sur 5 échantillons, ≥ 4 échantillons avec < 3 coliformes/g et ≤ 1 échantillon avec > 3 mais ≤ 20 coliformes/g.

établies il y a plusieurs années et doivent être revues prochainement [29,30]. De plus, une méthode pour la recherche d'entérobactéries spécifiques comme *E. sakazakii* ou *E. cloacae* reste à développer et valider au niveau international. Même renforcées, ces spécifications ne permettraient cependant pas de détecter de très faibles contaminations comme celles observées dans cet épisode, ce qui rend nécessaire des mesures de réduction des risques à d'autres niveaux.

Des conditions imparfaites de préparation, conservation ou administration des préparations reconstituées ont pu contribuer au développement d'infections chez les nouveau-nés consommateurs d'une préparation en poudre très faiblement contaminée, en favorisant la multiplication des bactéries à partir d'un inoculum initial faible. La température minimale de survie de *E. sakazakii* varie entre 5,5 °C et 8 °C (pas de survie à 4 °C) et sa température maximale de survie varie entre 41 °C et 45 °C ; sa durée de reproduction moyenne est de 40 min à 23 °C et de 4,98 h à 10 °C [26]. Lors de l'investigation d'une épidémie, Simmons *et coll.* ont prolongé 7 jours à 35 °C l'incubation du bouillon dans lequel ils avaient mis en évidence une faible quantité de *E. sakazakii* (8 CFU/100 g) et *E. cloacae* (48 CFU/100 g) ; la quantité de *E. sakazakii* présente dans la culture après 7 jours était incalculable mais *E. cloacae* avait disparu, ce qui suggère une meilleure croissance et survie de *E. sakazakii*. Ces études indiquent qu'une réfrigération insuffisante et une conservation à température ambiante (voire à des températures inférieures si elle est prolongée) de préparations reconstituées permet d'atteindre des concentrations élevées de *E. sakazakii*, même lorsque l'inoculum initial est faible ; une conservation à des températures ≤ 4 °C permet d'éviter cette croissance. Dans un des 5 services de néonatalogie concernés par cet épisode, les conditions de préparation des biberons n'étaient pas conformes aux recommandations d'hygiène françaises alors en vigueur [14,15]. Cependant, dans cet hôpital et les autres, les conditions pouvant permettre la multiplication bactérienne se situaient surtout après cette phase de préparation. La durée de conservation des biberons (jusqu'à 24 h), bien que conforme à ces recommandations, peut en effet être considérée comme prolongée au regard des données de la littérature et des spécifications du producteur, qui recommandait une consommation immédiate du produit reconstitué (annexe 16). De plus, l'utilisation pour le stockage des biberons dans les unités de soins de réfrigérateurs non professionnels, parfois non dédiés, ne permettait pas de garantir des températures de conservation ≤ 4 °C. Des dysfonctionnements similaires ont été mis en évidence dans 2 épidémies antérieures [5,6].

La contamination extrinsèque des préparations reconstituées était une autre hypothèse, déjà évoquée lors d'épidémies antérieures. En 1988 au Tennessee, une concentration importante de *E. sakazakii* (et de 3 espèces de *Pseudomonas*) a été retrouvée dans un mélangeur [8]. En Israël, la souche de *E. sakazakii* isolée chez les cas avait aussi été isolée d'un mélangeur fissuré à sa base, lors de cultures répétées pendant au moins 5 mois ; les auteurs faisaient l'hypothèse d'une contamination initiale par contact avec une poudre contaminée, qui s'est prolongée par insuffisance de nettoyage [7]. Ces deux exemples montrent que *E. sakazakii* peut s'établir dans une niche environnementale et devenir une source de contamination pendant une période prolongée. Dans l'épisode français, une contamination extrinsèque est peu probable car une même souche de *E. sakazakii* a été retrouvée dans les 5 hôpitaux concernés. Un argument supplémentaire contre cette hypothèse est qu'aucune contamination de l'environnement n'a été mise en évidence dans les 3 hôpitaux ayant fait l'objet de prélèvements environnementaux multiples sur la chaîne de préparation des biberons. Enfin, l'hypothèse d'une transmission croisée d'enfant à enfant dans un même service, initialement évoquée par l'hôpital B, est peu probable. Aucun élément en faveur de cette hypothèse n'a pu être recueilli lors de l'enquête, et ce type de transmission n'a jamais été documenté dans la littérature. Enfin, les prélèvements d'environnement réalisés dans les unités de soins étaient négatifs, et les procédures d'hygiène de base observées par le CClin étaient conformes aux recommandations.

Le retrait immédiat en France de la préparation suspectée, décidé par les autorités sanitaires en lien avec le producteur, a probablement évité d'autres cas. Secondairement élargi à l'ensemble des lots distribués en France, il était justifié par l'hypothèse d'une contamination intrinsèque des lots de poudre prolongée sur plusieurs mois. Cette hypothèse a été faite sur la base d'une analyse de la littérature et des premiers éléments descriptifs des cas (survenue de plusieurs cas dans des hôpitaux distants géographiquement, même produit consommé par tous les enfants, plusieurs lots concernés produits sur plusieurs mois) ; elle a été confirmée ultérieurement par les résultats de l'analyse microbiologique des lots incriminés. Complété par la diffusion de recommandations pour la préparation et la conservation des biberons, ce retrait s'est révélé efficace puisque aucun nouveau cas lié au *cluster* initial n'a ensuite été signalé malgré le maintien d'une surveillance active. Un seul cas a été notifié, le 16/01/05 à l'hôpital E, mais n'avait pas consommé de Pregestimil® ; la souche de *E. sakazakii* correspondante présentait un profil différent du profil épidémique. Ce retrait massif a aussi fait craindre une rupture d'approvisionnement des établissements de santé

pour cette préparation aux indications très spécifiques et d'usage très répandu (le Pregestimil® couvrant plus de 50 % des indications de ce marché). La DGS et la DGCCRF ont particulièrement suivi cet aspect en vérifiant régulièrement la disponibilité de produits de substitution en France. Au final, de telles ruptures ne sont pas survenues. Le producteur a aussi décidé le retrait mondial de l'ensemble des lots de Pregestimil® produits par l'usine hollandaise de Nijmegen, en lien avec les autorités sanitaires de chaque pays. Cette décision était motivée par le fait que les mêmes chaînes de fabrication, probablement à l'origine de la contamination des 4 lots distribués en France, étaient concernées. Aucun cas n'a cependant été signalé dans d'autres pays que la France, y compris en Algérie où les mêmes lots que ceux retrouvés contaminés en France étaient distribués. Il est cependant possible que ceux-ci n'aient pas été rapportés, une épidémie composée de plusieurs cas disséminés dans plusieurs hôpitaux pouvant être difficile à détecter en l'absence de système national de surveillance ou d'alerte adapté.

Les mesures prises lors d'épisodes similaires dans d'autres pays étaient beaucoup plus limitées. En Islande en 1987 et en Israël en 1999, les mesures de contrôle avaient été exclusivement locales : elles ciblaient les conditions de préparation des aliments en poudre [6,7] ou la substitution des préparations en poudres par des produits prêts

à l'emploi [7]. Les mesures prises en 1998 en Belgique [9] ou au Tennessee en 2001 [5] ont été plus larges et incluaient le retrait volontaire du(des) lot(s) concerné(s). Après l'épisode belge, les installations de l'usine productrice ont été modernisées, les conditions d'hygiène ont été renforcées et des normes plus strictes de mise sur le marché ont été mises en place par Nestlé. À la suite de l'épisode du Tennessee, les professionnels de santé ont été informés par Mead Johnson du risque lié à l'utilisation des préparations en poudre pour nourrissons. Aux États-Unis, l'usage de formules liquides, stériles et prêtes à l'emploi est aujourd'hui recommandé dans les unités de soins intensifs, les préparations en poudre étant réservées à des besoins spécifiques. En Europe, ces formules liquides ne sont pas disponibles car elles contiennent des épaississants (carraghénanes) dont l'administration est interdite chez l'enfant âgé de moins de 4 mois par la réglementation européenne [31] ; l'effet nocif de cette substance serait lié à l'immaturité de la flore digestive des nouveau-nés. Les préparations en poudre sont donc les seules formules disponibles en Europe et il n'existe pas à ce jour de technologies capables de les stériliser. L'irradiation des boîtes de poudre semble être la seule solution, mais pose des problèmes d'acceptabilité pour les consommateurs et pourrait entraîner une détérioration organoleptique du produit. D'autres technologies candidates sont encore au stade de la recherche.

6 Conclusion

Cet épisode de cas groupés d'infections et colonisations à *E. sakazakii* documente une nouvelle fois le risque infectieux lié à la consommation de préparations en poudre pour nourrissons. Il s'agit du premier épisode de ce type documenté en France, et le premier au monde recensant des cas groupés bien que disséminés dans plusieurs hôpitaux sur un territoire national ; l'existence d'un dispositif de signalement des infections nosocomiales en France en a permis la reconnaissance.

L'investigation, qui a mobilisé de multiples acteurs et institutions, complète les résultats des investigations

précédentes, en documentant des conditions de conservation des préparations reconstituées non optimales dans les hôpitaux où ont été identifiés des cas, et des niveaux de contamination intrinsèque initiale très faibles de plusieurs lots de la préparation associée aux cas. Elle apporte des arguments en faveur de la présence prolongée d'une même souche dans l'environnement d'une usine de production. Elle contribue enfin aux travaux actuellement menés par les autorités sanitaires nationales et internationales afin de prévenir ces infections.

7.1 | Recommandations internationales existantes (avant l'épisode français)

Les recommandations internationales de prévention et de contrôle du risque infectieux lié à *E. sakazakii* et à d'autres micro-organismes présents dans les préparations en poudre pour nourrissons sont depuis quelques années le fruit d'un important travail des états membres de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et de la commission du *Codex Alimentarius* (CAC).

Lors de sa 26^e session en juin 2003, cette dernière a pris note de *"la nécessité de répondre aux préoccupations concernant les pathogènes potentiellement présents dans les préparations pour nourrissons et [a convenu] qu'une consultation d'experts sur les Enterobacter, notamment Enterobacter sakazakii et Clostridium botulinum, devrait être ajoutée à la liste des demandes d'avis scientifiques adressées à la FAO et à l'OMS"* [32].

Cette consultation d'experts a eu lieu en février 2004. Elle a conclu que les technologies actuellement disponibles n'étaient pas capables de produire des préparations en poudre stériles, et que l'inclusion d'une étape bactéricide au moment de la reconstitution des préparations et la réduction du temps de conservation ou d'administration des préparations reconstituées étaient les mesures les plus efficaces pour réduire les risques infectieux ; une combinaison de ces différentes mesures était la stratégie la plus efficace [17]. Cette réunion a permis de dresser une liste de recommandations pour la FAO, l'OMS, le *Codex*, les États membres, les organisations non gouvernementales et la communauté scientifique, résumées ci-après :

- lorsque les nourrissons ne sont pas allaités au sein, informer régulièrement les personnes qui en prennent soin, surtout si ces enfants sont à haut risque, du fait que les préparations en poudre pour nourrissons ne sont pas des produits stériles et qu'elles peuvent être contaminées par des pathogènes susceptibles de provoquer des maladies graves ; informer ces personnes des moyens de réduire ce risque ;
- lorsque les nourrissons ne sont pas allaités au sein, encourager les personnes qui prennent soin de nourrissons à haut risque à utiliser, si possible, des préparations commerciales liquides stériles, ou des préparations ayant subi une procédure de décontamination efficace une fois

reconstituées (en utilisant par exemple de l'eau bouillante pendant la reconstitution du lait ou en chauffant la préparation) ;

- développer des recommandations pour la préparation, l'utilisation et la manipulation des préparations en poudre pour nourrissons afin de réduire ces risques ;
- encourager l'industrie alimentaire infantile à développer une plus grande gamme de préparations commerciales stériles alternatives pour les groupes de nourrissons les plus à risque ;
- encourager l'industrie alimentaire infantile à réduire la prévalence et la concentration de *E. sakazakii* dans l'environnement des unités de production et dans les préparations en poudre ; à cette fin, cette industrie devrait considérer le fait de mettre en œuvre un programme de contrôle environnemental efficace, et d'utiliser les entérobactéries plutôt que les coliformes comme indicateur de contrôle de l'hygiène des chaînes de production ;
- pour le *Codex* lors de la révision de son code des pratiques, mieux prendre en compte les risques microbiologiques des préparations en poudre pour nourrissons, et si nécessaire établir des spécifications microbiologiques adaptées pour *E. sakazakii* dans les préparations en poudre pour nourrissons ;
- pour la FAO et l'OMS, mieux répondre aux besoins particuliers de certains pays en voie de développement en mettant en œuvre des mesures efficaces de réduction des risques lorsque des substituts à l'allaitement maternel sont utilisés dans des circonstances exceptionnelles et difficiles, par exemple chez des nourrissons de mères séropositives pour le VIH ou chez des nouveau-nés de faible poids de naissance ;
- promouvoir l'utilisation de méthodes de détection et de typage moléculaire validées pour *E. sakazakii* et autres micro-organismes apparentés ;
- encourager l'investigation des infections à *E. sakazakii* et à autres entérobactéries, et la communication des résultats de ces investigations concernant les sources et

véhicules identifiés (y compris les préparations en poudre) ; cela pourrait passer par la création d'un réseau de laboratoires ;

- promouvoir la recherche pour mieux connaître l'écologie, la taxonomie, les caractéristiques et la virulence de *E. sakazakii*, et les moyens de réduire les concentrations de *E. sakazakii* dans les préparations reconstituées.

Ces recommandations sont progressivement mises en œuvre. En mars 2004, lors de sa 36^e session, le comité du Codex sur l'hygiène alimentaire (CCFH) a convenu de procéder aussi rapidement que possible à la révision du code d'usage international recommandé en matière d'hygiène des aliments destinés aux nourrissons et aux enfants, qui comprendra, si besoin, des critères microbiologiques applicables à *E. sakazakii* et à d'autres microorganismes potentiellement dangereux [29]. Les spécifications actuelles (à caractère consultatif) de ce code autorisent environ 1 à 10 bactéries coliformes par g de préparation. Elles contribuent probablement à réduire le nombre d'épidémies mais ne garantissent pas un niveau de sécurité suffisant, comme l'atteste l'épisode français où les préparations en poudre présentaient des concentrations de *E. sakazakii* très faibles. Le CCFH envisage donc actuellement des limites spécifiques pour cette bactérie. Les spécifications de ce code révisé contiendront aussi des exigences spécifiques en matière d'hygiène de fabrication des préparations en poudre, liées aux différents procédés technologiques utilisés ou à l'environnement des unités de production. Ils fourniront enfin des recommandations sur les mentions devant figurer sur les étiquettes des produits à l'intention des consommateurs, concernant la manipulation et la conservation des préparations reconstituées. Une première version du code révisé a été examinée lors de la 37^e session du CCFH en mars 2005 [30] ; le texte proposé a fait l'objet de nombreuses

observations et sera à nouveau examiné en 2006. Ces nouvelles recommandations devront ensuite être intégrées dans les réglementations nationales.

En attendant la finalisation de cette démarche, le réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN) diffusait le 13 janvier 2005 une note d'information sur le risque infectieux lié à *E. sakazakii*, les mesures de prévention à prendre et les différentes activités normatives en cours. Cette note résume les recommandations précédemment citées et ajoute que, compte tenu des capacités limitées des systèmes de surveillance dans la plupart des pays et de l'utilisation très répandue des préparations pour nourrissons, la présence de *E. sakazakii* dans ces préparations et ses effets potentiels chez les nourrissons pourraient bien constituer un problème de santé publique important dans de nombreux pays. Cependant, la véritable ampleur de ce problème est encore inconnue. Pour renforcer encore davantage les options de gestion des risques, elle recommande aux pays de renforcer les systèmes de surveillance des maladies concernées afin d'améliorer leur signalement [33].

Enfin, en mai 2005, lors de la 58^e Assemblée mondiale de la santé, une résolution sur la nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant a été adoptée [34]. Le texte de cette résolution (annexe 18) prend acte et invite à poursuivre rapidement les travaux en cours concernant la réduction du risque infectieux lié aux préparations en poudre pour nourrissons, en insistant au préalable, conformément aux termes d'une résolution précédente [35,36], sur le fait de "continuer de protéger, promouvoir et soutenir l'allaitement maternel exclusif pendant 6 mois, en tant que recommandation mondiale de santé publique, (...), et à prévoir la poursuite de l'allaitement maternel jusqu'à l'âge de 2 ans ou au-delà".

7.2 | Recommandations issues de cette investigation

Notre épisode contribue à valider les recommandations précédentes et justifie qu'elles soient mises en œuvre sans délai en France afin de prévenir l'apparition de nouveaux cas.

Les mesures de prévention qui existaient en France jusqu'à fin 2004 étaient insuffisantes : elles se caractérisaient notamment par une absence de communication sur le

risque lié aux préparations en poudre pour nourrissons et une absence de recommandations nationales, officielles et validées, pour leur usage. Depuis cet épisode, les autorités sanitaires françaises ont fait en sorte que les recommandations qui relevaient de leur compétence soient mises en place en France.

Conformément aux recommandations internationales, aux résultats de cette investigation et afin de contrôler et prévenir la survenue de telles infections en France, à l'avenir :

1. des recommandations adaptées aux spécificités françaises pour la préparation, la conservation et l'administration des biberons en ville et à l'hôpital ont été élaborées et validées par les institutions compétentes, Afssa et Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins (CTINILS) [37] ;
2. l'information sur le risque lié aux préparations en poudre pour nourrissons et sur les moyens de le réduire nécessite le développement de messages adaptés et leur diffusion à toute personne prenant en charge des nourrissons, en ville ou à l'hôpital, en lien avec l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (Inpes) et les fabricants (révision de l'étiquetage des boîtes à envisager) ;
3. cette information doit se faire en lien avec la promotion de l'allaitement maternel en France, conformément à l'un des objectifs spécifiques du Programme national nutrition santé (PNNS) [38] et afin de permettre aux personnes prenant soin de nourrissons de faire un choix éclairé en termes d'alimentation ;
4. les spécifications françaises pour le contrôle bactériologique des préparations en poudre devront être révisées par les institutions compétentes (DGAL et Afssa) conformément aux développements en cours au niveau des différentes instances internationales ;
5. la mise à disposition sur le marché français de préparations liquides stériles (conformes aux réglementations européennes en vigueur) ou le développement de technologies de stérilisation des poudres devront être encouragés ;
6. le fonctionnement du dispositif de signalement des infections nosocomiales, qui a été efficace pour

détecter ces cas groupés, doit encore être amélioré particulièrement en termes de réactivité (transmission plus rapide des signalements à l'InVS) et d'exhaustivité (pour les autres entérobactéries responsables d'infections néonatales graves) ;

7. une expertise microbiologique spécifique du genre *Enterobacter* doit être identifiée dans un ou plusieurs laboratoires français. Elle permettrait de contribuer à la surveillance épidémiologique et à l'alerte (détection de cas groupés, participation à l'investigation d'épidémies, contribution aux réseaux européens et internationaux), mais aussi d'assurer des missions de support et d'expertise des souches isolées (confirmation du diagnostic, caractérisation et typage des souches) ; de développer, maintenir, évaluer et diffuser des techniques d'identification et de typage ; de participer à l'évaluation de procédures d'inactivation des agents pathogènes ; et de fournir des conseils aux professionnels de santé et aux pouvoirs publics. Une grande partie des recommandations du groupe de travail FAO/OMS serait ainsi mise en œuvre ;
8. enfin, une expertise en microbiologie alimentaire doit être aussi identifiée, afin de mieux répondre à l'avenir aux demandes de recherche d'une contamination de préparations en poudre.

Onze mois après la survenue de cet épisode, le Pregestimil® a été réintroduit en France par Mead Johnson. Suite à cette investigation, le producteur a ré-étiqueté les préparations en poudre pour nourrissons, en mettant dorénavant davantage l'accent sur leurs instructions de préparation, utilisation, manipulation et conservation (annexe 16).

Les recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons élaborées par un groupe de travail de l'Afssa en 2005 sont aujourd'hui disponibles. Elles serviront de référentiel et permettront aux établissements de santé français d'évaluer leurs pratiques.

- [1] Codex Committee on Food Hygiene. Risk profile of *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula [en ligne]. Rome : Codex Alimentarius Commission, 2003.
Disponible sur : <[ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh35/fh03_13e.pdf](http://ftp.fao.org/codex/ccfh35/fh03_13e.pdf)> (consulté le 20.12.2005).
- [2] Lai KK. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. Case reports and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2001;80:113-22.
- [3] Goulet V. Réseau Epibac – Résultats 1988-1990. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire, 2005 (données non publiées).
- [4] Ministère de l'Emploi et de la Solidarité. Décret n° 2001-671 du 26 juillet 2001 relatif à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'État). Journal officiel, n° 173 du 28 juillet 2001, pp. 12142-3.
- [5] Anonymous. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula-Tennessee, 2001. *MMWR* 2002;51:297-300.
- [6] Biering G, Karlsson S, Clark NC, Jonsdottir KE, Ludvigsson P, Steingrimsdottir O. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J Clin Microbiol* 1989;27:2054-6.
- [7] Block C, Peleg O, Minster N, Bar-Oz B, Simhon A, Arad I, et al. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:613-6.
- [8] Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989;10:398-401.
- [9] Van Acker J, de Smet F, Muyldermans G, Bougataf A, Naessens A, Lauwers S. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol* 2001;39:293-7.
- [10] Muytjens HL, Roelofs-Willems H, Jaspard GH. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 1988;26:743-6.
- [11] Nazarowec-White M, Farber JM. Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *J Food Prot* 1997;60:226-30.
- [12] Regnault B, Grimont F, Grimont PA. Universal ribotyping method using a chemically labelled oligonucleotide probe mixture. *Res Microbiol* 1997;148:649-59.
- [13] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
- [14] CCLIN Paris-Nord, InterCLIN pédiatrique. Alimentation du nourrisson en collectivité pédiatrique. Conditions de préparation et circuit des biberons. Guide de recommandations [en ligne]. Paris : CCLIN Paris-Nord, 1999. Disponible sur : <<http://www.ccr.jussieu.fr/cclin/Guides/alimenourrisson.pdf>> (consulté le 20.12.2005).
- [15] Société française d'hygiène hospitalière. Guide pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales en maternité, seconde édition [en ligne]. Brest : Société française d'hygiène hospitalière, 2003. Disponible sur : <http://www.sfh.net/telechargement/recommandations_guidematernite.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [16] Nazarowec-White M, Farber JM. Phenotypic and genotypic typing of food and clinical isolates of *Enterobacter sakazakii*. *J Med Microbiol* 1999;48:559-67.
- [17] Joint FAO/WHO Secretariat on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: meeting report, Microbiological Risk Assessment Series, No. 6 [en ligne]. Genève : World Health Organization, 2004.
Disponible sur : <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra6/en/index.html>> (consulté le 20.12.2005).
- [18] Muytjens HL, Zanen HC, Sonderkamp HJ, Kollee LA, Wachsmuth IK, Farmer JJ, III. Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due to *Enterobacter sakazakii*. *J Clin Microbiol* 1983;18:115-20.
- [19] Muytjens HL, Kollee LA. *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates: causative role of formula? *Pediatr Infect Dis J* 1990;9:372-3.
- [20] Espié E, Weill FX, Brouard C, Capek I, Delmas G, Forgues AM, et al. E-alert 9 March: Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants in France, linked to infant milk formula, investigations ongoing [en ligne]. *Eurosurveillance Weekly* 2005;10(3).
Disponible sur : <<http://www.eurosurveillance.org/ew/2005/050310.asp#1>> (consulté le 20.12.2005).

- [21] Institut de veille sanitaire (InVS) on behalf of the outbreak investigation group. Outbreak of Salmonella Worthington infection in elderly people due to contaminated milk powder, France, January-July 2005 [en ligne]. *Eurosurveillance Weekly* 2005;10(7). Disponible sur : <<http://www.eurosurveillance.org/ew/2005/050721.asp#3>> (consulté le 20.12.2005).
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] Codex Alimentarius Commission. Recommended international code of hygienic practice for foods for infants and children (CAC/RCP21-1979). Rome : Codex Alimentarius Commission, 1979.
- [25] Kandhai MC, Reij MW, Gorris LG, Guillaume-Gentil O, van Schothorst M. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet* 2004;363:39-40.
- [26] Nazarowec-White M, Farber JM. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Lett Appl Microbiol* 1997;24:9-13.
- [27] Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten HM. Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *J Appl Microbiol* 2003;95:967-73.
- [28] Hamilton JV, Lehane MJ, Braig HR. Isolation of *Enterobacter sakazakii* from midgut of *Stomoxys calcitrans*. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1355-6.
- [29] Codex Alimentarius Commission. Report of the 36th Session of the Codex Committee on Food Hygiene. Washington D.C., United States of America, 29 March – 03 April 2004 [en ligne]. Rome : Codex Alimentarius Commission, 2004. Disponible sur : <http://www.codexalimentarius.net/download/report/615/al04_13e.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [30] Codex Alimentarius Commission. Report of the 37th Session of the Codex Committee on Food Hygiene. Buenos Aires, Argentina, 14-19 March 2005 [en ligne]. Rome : Codex Alimentarius Commission, 2005. Disponible sur : <http://www.codexalimentarius.net/download/report/638/al28_13e.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [31] European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General. Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on Carrageenan (expressed on 5 March 2003) [en ligne]. Disponible sur : <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out164_en.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [32] Codex Alimentarius Commission. Report of the 26th session of the Codex Alimentarius Commission. FAO Headquarters, Rome, 30 June-7 July 2003 [en ligne]. Rome : Codex Alimentarius Commission, 2003. Disponible sur : <http://www.codexalimentarius.net/download/report/601/al03_41e.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [33] World Health Organization. INFOSAN Information Note No. 1/2005 – *Enterobacter sakazakii* in powdered infant formula [en ligne]. Genève : World Health Organization, 2005. Disponible sur : <http://www.who.int/entity/foodsafety/fs_management/No_01_Esakazakii_Jan05_en.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [34] World Health Organization. Résolution WHA58.32 – La nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant [en ligne]. Genève : World Health Organization, 2005. Disponible sur : <http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA58/WHA58_32-fr.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [35] World Health Organization. Résolution WHA55.25 – La nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant [en ligne]. Genève : World Health Organization, 2002. Disponible sur : <http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/fwha5525.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [36] World Health Organization. Stratégie mondiale pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant. Genève : World Health Organization, 2003. Disponible sur : <http://www.who.int/nut/documents/gs_infant_feeding_text_fre.pdf> (consulté le 20.12.2005).
- [37] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons [en ligne]. Maisons-Alfort : Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2005. Disponible sur : <<http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/32117-32118.pdf>> (consulté le 20.12.2005).
- [38] Ministère de l'Emploi et de la Solidarité. Programme national nutrition-santé (PNNS) [en ligne]. Paris : ministère de l'Emploi et de la Solidarité, 2001. Disponible sur : <http://www.sante.gouv.fr/htm/actu/34_010131.htm#nutrition> (consulté le 20.12.2005).

9 Annexes

Annexe 1 Communiqué de presse DGS/DHOS/InVS, 10/12/2004	p. 35
Annexe 2 Communiqué de presse DGS/DHOS/DGCCRF/InVS, 17/12/2004	p. 36
Annexe 3 Messages d'alerte européens	p. 37
Annexe 4 Bilan préliminaire de l'investigation nationale et recommandations de signalement, 21/12/2004	p. 38
Annexe 5 Rappel des bonnes pratiques pour la préparation, la manipulation et la conservation des biberons et seringues, 21/12/2004	p. 40
Annexe 6 Histoire clinique des cas recensés	p. 43
Annexe 7 Principales constatations lors des visites d'établissement par les CClin	p. 46
Annexe 8 Liste des prélèvements d'environnement réalisés et résultats	p. 51
Annexe 9 Résultats détaillés de l'analyse des lots de préparation en poudre Pregestimil®	p. 53
Annexe 10 Liste des souches de <i>E. sakazakii</i> isolées de préparations en poudre Pregestimil®	p. 56
Annexe 11 Images de la ribotypie automatisée des souches de <i>E. sakazakii</i>	p. 57
Annexe 12 Images de l'électrophorèse en champ pulsé des souches de <i>E. sakazakii</i>	p. 59
Annexe 13 Description des méthodes de production et des produits Mead Johnson	p. 62
Annexe 14 Actions prises par le producteur (en date du 18 février 2005)	p. 65
Annexe 15 Résultats de l'inspection de l'usine de Nijmegen par les autorités sanitaires hollandaises le 12 décembre 2004	p. 78
Annexe 16 Étiquette de boîte de Pregestimil® (avant l'alerte de 2004)	p. 79
Annexe 17 Questionnaire InVS de recueil d'information sur les cas	p. 81
Annexe 18 Résolution WHA 58.32 sur la nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant (Organisation mondiale de la santé, 25 mai 2005)	p. 82

Annexe 1 - Communiqué de presse DGS/DHOS/InVS, 10/12/2004



RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Ministère des Solidarités, de la Santé et de la Famille

Direction générale de la santé

Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins



Communiqué de presse – 10 décembre 2004
Retrait de lots de PREGESTIMIL,
préparation pour alimentation pour nourrissons et enfants en bas âge.

Quatre cas d'infections sévères par la bactérie *Enterobacter sakazakii* chez des nourrissons hospitalisés ont été observés ces dernières semaines. Deux d'entre eux sont décédés.

Les infections à *Enterobacter sakazakii* sont des infections rares survenant principalement chez des nouveaux nés ou prématurés fragilisés, le plus souvent à la suite d'ingestion de lait en poudre contaminé.

Sur les 4 cas d'infections, 3 ont en commun d'avoir consommé du PREGESTIMIL, préparation pour alimentation infantile du laboratoire Mead Johnson Nutritionals, le 4ème a été en contact étroit avec un des malades.

Cette préparation est indiquée principalement dans les cas d'allergie aux protéines du lait de vache, ainsi que lors d'intolérance au lactose ou saccharose, et lors de diarrhées aiguës du prématuré ou du nourrisson de moins de 3 mois. Elle est distribuée en pharmacie en ville et est également utilisée dans les établissements de santé.

A ce jour les résultats bactériologiques des lots incriminés ne sont pas encore connus.

Néanmoins, par mesure de précaution, le laboratoire procède au rappel des lots de PREGESTIMIL suivants :
n° S401719 fabriqué en mai 2004,
n° S401420 fabriqué en juin 2004,
n° S402077 fabriqué en juillet 2004.

Les boîtes correspondant à ces lots ne doivent pas être utilisées. Il est recommandé aux familles de consulter leur pédiatre ou médecin traitant qui leur conseillera soit la poursuite du même produit d'un lot maintenu sur le marché, soit un produit de remplacement (NUTRAMIGENE, ALFARE, GALLIAGENE, et PEPTIJUNIOR).

Il est rappelé que les biberons ne doivent pas être préparés à l'avance et doivent être nettoyés aussitôt après usage.

En cas de fièvre avec trouble digestif ou trouble de conscience chez un nourrisson consommant du PREGESTIMIL, il est nécessaire de consulter un médecin et de l'informer de l'utilisation de cette préparation.

Un numéro vert a été mis en place par le laboratoire au 0811.88.40.40

Annexe 2 - Communiqué de presse DGS/DHOS/DGCCRF/InVS, 17/12/2004

Ministère des Solidarités,
de la Santé et de la Famille

Direction générale de la Santé (DGS)

Direction de l'Hospitalisation
De l'Organisation des Soins (DHOS)

Institut de Veille Sanitaire (InVS)

Ministère de l'Economie, des
Finances et de l'Industrie

Direction Générale de la
Concurrence, de la Consommation
et de la Répression des Fraudes
(DGCCRF)

Paris, le 17/12/04

Communiqué Retrait de l'ensemble des lots de PREGESTIMIL, préparation pour alimentation pour nourrissons et enfants en bas âge

Le laboratoire Mead Johnson Nutritionals, en accord avec les autorités sanitaires, procède ce jour au retrait de l'ensemble des lots de PREGESTIMIL présents sur le marché national.

Aucune boîte de PREGESTIMIL ne doit être utilisée.

Cette décision fait suite au signalement à ce jour de 4 cas d'infection, dont deux décès, ainsi que de 5 cas de colonisation digestive par la bactérie *Enterobacter sakazakii*. Les résultats d'investigations épidémiologiques montrent qu'il s'agit de nouveau-nés prématurés tous hospitalisés en services de néonatalogie, dont 8 ont en commun d'avoir été alimentés par du PREGESTIMIL. Aucun nouveau décès n'a été signalé depuis le retrait des trois premiers lots en date du 10/12/04.

Les infections à *Enterobacter sakazakii* sont rares et surviennent principalement chez des nouveau-nés ou prématurés fragilisés, le plus souvent 72 heures après l'ingestion de lait en poudre contaminé.

Le PREGESTIMIL est indiqué principalement lors d'intolérance au lactose ou saccharose, et lors de diarrhées aiguës du prématuré ou du nourrisson de moins de 3 mois ou lors d'allergie aux protéines du lait de vache. Le PREGESTIMIL peut être remplacé par les préparations suivantes disponibles en pharmacie et selon les différentes indications par :

- ALFARE
- GALLIAGENE PROGRESS
- PEPTI-JUNIOR
- NUTRAMIGEN
- PREGOMINE
- NEOCATE (en cas d'allergie sévère)

Il est recommandé aux familles de consulter leur pédiatre ou médecin traitant qui les conseillera dans le choix de la substitution adéquate. Afin de faciliter dans l'immédiat le remplacement, la délivrance du lait de substitution pourra se faire sur le conseil de votre pharmacien, sans nouvelle prescription médicale.

En cas de fièvre avec troubles digestifs ou de conscience chez un nourrisson ayant consommé récemment du PREGESTIMIL, il est nécessaire de consulter un médecin et de l'informer de l'utilisation récente de cette préparation.

La Direction générale de la santé rappelle à cette occasion les principes d'hygiène générale lors de la préparation des biberons :

- Chaque manipulation de biberon doit être précédée d'un lavage simple des mains.
- Il est rappelé que les biberons ne doivent pas être préparés à l'avance et doivent être nettoyés aussitôt après usage.
- Les biberons ne doivent être réchauffés qu'immédiatement avant leur consommation par l'enfant. S'il y a eu réchauffement, il faut vérifier la température du lait avant sa consommation par l'enfant en versant quelques gouttes sur le dos de la main ou du poignet.
- Les biberons de lait ne doivent pas être conservés au chaud dans un chauffe-biberon ou un thermos.
- Tout biberon non terminé dans l'heure qui suit le début de sa consommation par l'enfant ne doit pas être réutilisé.

Un numéro vert a été mis en place par le laboratoire au 0805.40.20.20

Annexe 3 - Messages d'alerte européens

Name: Jean-Claude Desenclos

Institution: Institut de veille sanitaire

Date: 10/12/2004 at 18:30

Message Content: Early Warning - Level 1

Reporting Reason: g. Is any vulnerable population group at higher risk? (10)

Syndrome/Disease: Meningitis, Severe systemic infection due to *Enterobacter sakazakii*

Pathogen: Unlisted

Country of Occurrence: France

Date of onset/detection: 10/12/2004

Mail Sent to European Commission and Public Health Authorities

MESSAGE: We report 4 cases of neonatal infection with *Enterobacter sakazakii* that occurred in France between the end of October and early December 2004 in two distinct regions of France. Among the 4 cases 3 were severe (2 meningitis, 1 bacteremia) and one was a massive digestive colonisation. Two neonates died. Three of the cases consumed a specific formula milk (brand name: Pregestimil®) for neonates with intolerance to cow milk protein. Two lot numbers in common to the cases have been identified: F401719 made in May 2004 and Lot F 401420 made in June 2004).

An investigation is being done to identify the unit of production and assess the distribution of these lots in other country. A search for additional cases has been initiated today in France and the 2 lot numbers are being recalled. So far, we have no specific information whether the brand of lots were distributed outside France. *Enterobacter sakazakii*, a bacterium of the environment is a rare but known cause of severe infection among low birth weight neonates and the source is usually a low level contamination of an infant formula.

An alert message has been issued or is being issued through the rapex system.

We will keep you informed of future development

Name: Jean-Claude Desenclos

Institution: Institut de veille sanitaire

DATE: 20/12/2004 at 17:26

Message Content: Early Warning - Level 1

MESSAGE: This is an update of the earliest message of 10/12/04 on this alert. We have now identified 10 cases of infection or colonisation with *Enterobacter sakazakii* that occurred from 25/10/04 to 13/12/04 among premature or low birth weight neonates hospitalised in 5 different hospitals in France. *E. sakazakii*, a bacteria of the environment, is a rare but known cause of severe infection among neonates. Contamination of powder milk formula has been incriminated in several published outbreak investigation reports.

Notification of the 1st case prompted an investigation that led to a national alert on 10/12/04. Confirmed infection was defined as any *E. sakazakii*-positive culture from a normally sterile site. Suspected infection was defined as an *E. sakazakii*-positive culture from a nonsterile site with documented deterioration in clinical status (e.g., increased respiratory rate without other evident cause) in the 24 hours before collection of the specimen for culture. Colonisation was defined as an *E. sakazakii*-positive culture from a nonsterile site without documented deterioration in clinical status in the 24 hours before collection of the specimen for culture. Among 10 cases, 3 were confirmed infections (2 meningitis, 1 bacteraemia), 2 were suspected infections (1 enterocolitis, 1 conjunctivitis) and 5 were digestive colonisations. The 2 neonates with meningitis died. Nine of the 10 cases consumed a specific formula milk (brand name: Pregestimil®).

Four batch numbers administered to 9 cases have been identified: S401719 made in May 2004, S401420 made in June 2004, S402077 made in July 2004, and S401026 made in April 2004. According to the manufacturer (Mead Johnson Nutritional), these batches were exclusively distributed in France and Algeria. Batches S401719, S401020, S402077 were voluntarily recalled on 10/12/04; all other batches of Pregestimil® distributed in France, including S401026 but also S403458 and S402632, were voluntarily recalled on 17/12/04.

The search for additional cases is still ongoing. All clinical strains are currently analysed in a single laboratory: preliminary results showed that 4 strains isolated from 3 patients in 2 different hospitals share the same ribotyping profile; at least 2 different batches were administered to those 3 patients. Samples of incriminated powder milk batches are currently analysed in 3 different expert laboratories.

An alert message has been issued through the RAPEX system.

We will keep you informed of future development.

Annexe 4 - Bilan préliminaire de l'investigation nationale et recommandations de signalement, 21/12/2004

Infections à *Enterobacter sakazakii* chez des nouveau-nés ayant consommé du Pregestimil®, préparation pour alimentation pour nourrissons et enfants en bas âge, France, octobre à décembre 2004.

Bilan préliminaire de l'investigation nationale et recommandations de signalement.

Institut de veille sanitaire, 20/12/2004.

Entre le 25 octobre et le 13 décembre 2004, 5 infections, dont 2 décès, et 5 colonisations digestives à *Enterobacter sakazakii* ont été diagnostiquées chez des nouveau-nés prématurés ou hypotrophes hospitalisés en néonatalogie dans 5 hôpitaux différents ; 9 des 10 nouveau-nés avaient consommé du Pregestimil®, une préparation pour alimentation des nourrissons et enfants en bas âge.

Les infections à *E. sakazakii* chez les nouveau-nés sont rares et souvent graves, engageant le pronostic vital, *a fortiori* chez des nouveau-nés prématurés, hypotrophes ou immuno-déprimés. Des épidémies d'infections à *E. sakazakii* ont été associées dans plusieurs pays à la consommation de lait reconstitué à partir de préparations en poudre contaminées.^{1, 2, 3}

Recommandations de signalement

Dans le cadre de l'investigation actuellement en cours, l'Institut de veille sanitaire (InVS) demande aux établissements de santé hébergeant des services de maternité, de néonatalogie ou de pédiatrie de bien vouloir signaler sans délai tout cas d'infection à *E. sakazakii* chez un nouveau-né selon les modalités suivantes.

Définition de cas

- Infection certaine : isolement de *E. sakazakii* dans un prélèvement d'un site normalement stérile (LCR, hémoculture, ...) ;
- Infection probable : isolement de *E. sakazakii* dans un prélèvement d'un site normalement non stérile (coproculture, aspiration bronchique, ...) avec documentation d'une détérioration clinique dans les 24 heures précédant le prélèvement.

Conduite à tenir devant toute infection (certaine ou probable) à *E. sakazakii* chez un nouveau-né, diagnostiquée depuis le 1^{er} janvier 2004

1. Avertir immédiatement l'équipe opérationnelle d'hygiène pour investigation, documentation du cas et de son régime alimentaire ;
2. Procéder à un signalement externe à l'aide de la fiche de signalement des infections nosocomiales habituelle,⁴ en mentionnant notamment sur la fiche la notion ou non de consommation de Pregestimil® par le nouveau-né :
 - a. envoyer sans délai cette fiche à l'InVS, **par fax au 01 41 79 67 69** ;
 - b. envoyer cette fiche selon la procédure habituelle au CClin et à la Ddass.

3. S'assurer que la(les) souche(s) de *E. sakazakii* isolées sont conservées au laboratoire de bactériologie, et contacter le laboratoire en charge de centraliser les souches afin de la(les) lui transmettre :

Unité Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes

Pr P. Grimont / Dr Anne Le Fleche

Institut Pasteur

25-28 rue du Docteur Roux

75724 Paris cedex 15

Tél. : 01 45 68 83 36, Fax : 01 45 68 88 37

4. Consigner à la pharmacie toutes les boîtes de Pregestimil® potentiellement administrées au(x) cas, dans l'attente d'instructions spécifiques pour leur envoi au laboratoire adéquat. Ces boîtes ne doivent pas être retournées à leur producteur.

L'InVS contactera l'établissement pour confirmer chaque cas signalé et vérifiera certains éléments (caractéristiques du nouveau-né, régime alimentaire dont consommation ou non de Pregestimil®, n° de lot concernés, ...).

Si nécessaire, l'investigation complémentaire d'un cas confirmé sera faite par le CClin concerné, en lien avec l'équipe d'hygiène, le laboratoire de bactériologie et les services cliniques.

¹ Biering G, Karlsson S, Clark NC, Jonsdottir KE, Ludvigsson P, Steingrimsson O. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J Clin Microbiol* 1989; 27:2054-6.

² Van Acker J, De Smet F, Muyldermans G, Bougatef A, Naessens A, Lauwers S. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol* 2001; 39:293-7.

³ CDC. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula – Tennessee, 2001. *MMWR* 2002;51:298-300. <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm5114.pdf>

⁴ Décret n°2001-671 du 26/07/2001 et circulaire DGS/SD5C-DHOS/E2 n°21 du 22 janvier 2004.

Annexe 5 - Rappel des bonnes pratiques pour la préparation, la manipulation et la conservation des biberons et seringues, 21/12/2004

Rappel des bonnes pratiques pour la préparation, la manipulation et la conservation des biberons et seringues pour alimentation continue de lait¹ en établissement de santé

Lille, le 16 décembre 2004

Pr Guy Putet
Président de la Fédération des pédiatres néonatalogistes

Pr Dominique Turck
Président du CES Nutrition humaine de l'Afssa
Coordonnateur du Comité de nutrition de la société française de pédiatrie

1. Les laits en poudre ne sont pas des produits stériles. La préparation, la manipulation et la conservation des biberons et seringues d'alimentation à débit constant nécessitent donc le respect d'une hygiène rigoureuse. Les enfants les plus à risque d'infection par l'intermédiaire d'un biberon ou d'une seringue pour alimentation sont les nouveau-nés, pendant le 1^{er} mois de vie, en particulier les prématurés et les enfants de faible poids de naissance, et les enfants immuno-déprimés.

2. Des procédures écrites de préparation, de manipulation et de conservation des biberons et seringues d'alimentation à débit constant sont nécessaires dans chaque biberonnerie et chaque service hospitalier ou maternité accueillant des nouveau-nés et des nourrissons. Leur application doit faire l'objet de contrôles réguliers selon les principes de la méthode H.A.C.C.P. instituée en cuisine depuis 1997. Ils seront préparés dans un local distinct avec du personnel dédié et formé, équipés d'une tenue réservée à cet usage.

3. L'utilisation de laits liquides, stériles et prêts à l'emploi, est conseillée pour les nouveau-nés dans les maternités et, lorsque la situation clinique de l'enfant le permet, dans les services de néonatalogie. Elle est également conseillée pour les nourrissons hospitalisés dans les services de pédiatrie. Il convient de rappeler que l'allaitement maternel est le mode d'alimentation privilégié pour le nouveau-né et le nourrisson.

¹ LAIT : par lait, il convient d'entendre toute préparation liquide ou en poudre, qu'il s'agisse de préparations pour nourrissons (laits "1^{er} âge"), de préparations de suite (laits "2^{ème} âge"), de préparations pour enfants en bas âge (laits dits "de croissance") ou d'aliments diététiques destinés (et pas dessinés) à des fins médicales spéciales (laits pour prématurés et enfants de petit poids de naissance, hydrolysats de protéines, préparations pour enfants atteints de troubles héréditaires du métabolisme,...).

4. Chaque manipulation de biberon ou seringue doit être précédée d'une friction des mains avec une solution hydro-alcoolique.
5. Les biberons et seringues d'alimentation à débit constant peuvent être préparés quotidiennement dans les biberonneries et doivent dans ce cas être conservés à une température inférieure à 4°C pendant 24 heures au maximum (dans un réfrigérateur réservé à cet usage). Le réfrigérateur doit faire l'objet d'une vérification et d'un relevé des températures. Si la reconstitution du lait fait appel à des techniques de chauffage, il faut éviter d'utiliser de l'eau à une température élevée ($\geq 80^{\circ}\text{C}$) en raison du risque de dégradation de la qualité nutritionnelle du lait ainsi chauffé, notamment des vitamines. Il est rappelé que les eaux embouteillées ne sont pas stériles.
6. La chaîne du froid doit être respectée entre le lieu de préparation des biberons et seringues d'alimentation à débit constant, et leur stockage dans les services hospitaliers, c'est à dire une température de 4°C (comprise entre 3°C et 6°C maximum pendant le transport). Le contrôle et un relevé régulier de la température des réfrigérateurs utilisés pour le stockage dans les services d'hospitalisation sont indispensables, de même qu'une traçabilité des opérations de nettoyage et de désinfection des réfrigérateurs.
7. Les biberons ne doivent être réchauffés qu'immédiatement avant leur consommation par l'enfant, en proscrivant l'utilisation d'un four à micro-ondes. S'il y a eu réchauffement, il faut vérifier la température du lait avant sa consommation par l'enfant par contact sur le dos de la main ou du poignet.
8. Les biberons de lait ne doivent pas être conservés au chaud dans un chauffe-biberon ou un thermos.
9. Tout biberon non terminé dans l'heure qui suit le début de sa consommation par l'enfant doit être jeté.
10. En cas de nécessité d'utilisation prolongée à température ambiante (par exemple en cas de nutrition à débit constant), le contenu du biberon ou de la seringue ne doit pas être conservé plus de 4 heures.

Références bibliographiques

1. Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales de l'interrégion Paris-Nord. Alimentation du nourrisson en collectivité pédiatrique. Conditions de préparation et circuit des biberons. Guide de recommandations. Juin 1999. <http://www.ccr.jussieu.fr/clin>.
2. ESPGHAN Committee on Nutrition : Agostoni C, Axelsson I, Goulet O, Koletzko B, Michaelsen KF, Puntis JWL, Rigo J, Shamir R, Szajewska H, Turck D, Vandenplas Y, Weaver L. Preparation and handling of powdered infant formula : a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 ; 39 : 320-2.
3. FAO/WHO. Joint FAO/WHO Workshop on *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. Geneva, 2-5 February 2004. (<http://www.who.int/foodsafety/micro/meetings/feb2004/en/>).
4. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to the microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae. *The EFSA Journal* (2004) 113, 1-35.
5. Pediatric Nutrition Practice Group of the American Dietetic Association (http://www.eatright.org/Public/Nutrition/Information/92_17242.cfm);
6. Société française d'hygiène hospitalière. Avis concernant l'entretien des biberons et tétines en crèche de ville, Août 2004.
- 7 Guide pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales en maternité .Version 2, SFFF, 2003.04.
- 8 Guide technique du CCLIN Sud Est
[http:// www.cclin-sudest .univ-lyon1.fr](http://www.cclin-sudest.univ-lyon1.fr)

Annexe 6 - Histoire clinique des cas recensés

Hôpital A

Le **cas n° A-1** est un nouveau-né de sexe féminin, né en octobre 2004 par césarienne pour anomalie du rythme cardio-fœtal et hématome rétro-placentaire. Son âge gestationnel est de 35 semaines + 6 jours, elle pèse 1,995 kg et son score APGAR à la naissance est de 7-9-10. L'enfant, prématuré et hypotrophe, est en bon état général et les prélèvements à visée bactériologique réalisés à la naissance (hémoculture et prélèvements périphériques) sont négatifs. Le bilan infectieux réalisé chez la mère est négatif. L'enfant est hospitalisé en néonatalogie pour surveillance. Son état clinique se dégrade à J6 avec présence d'un syndrome infectieux (CRP à 46 mg/l, 10 740 éléments dont 87 % de polynucléaires neutrophiles dans le LCR) et isolement de *E. sakazakii* dans le LCR et le liquide gastrique qui font retenir le diagnostic de **méningite** bactérienne. L'enfant est mis sous antibiothérapie (association cefotaxime + amoxicilline + gentamicine) et transférée dans le service de réanimation du CHU de référence le jour même. À son arrivée, l'enfant est hyporéactif avec une hypotonie globale. Il est intubé et son antibiothérapie est modifiée (association cefotaxime + gentamicine + ciprofloxacine, puis cefotaxime seul). Des échographies mettent en évidence des abcès cérébraux multiples, et l'état clinique de l'enfant se détériore progressivement. L'enfant était alimenté au biberon par lait maternel et hydrolysate de protéines (Pregestimil®, lot S401420 ou S401719) de J0 à J6. *E. sakazakii* est isolé à J6 de l'introduction du Pregestimil®. L'enfant décède à J10 malgré une antibiothérapie adaptée.

Hôpital B

Le **cas n° B-1** est un nouveau-né de sexe féminin, né en octobre 2004 par césarienne. Son âge gestationnel est de 35 semaines + 4 jours et elle pèse 1,980 kg. L'enfant, né dans la maternité de l'établissement, est prématuré et hypotrophe et est muté en néonatalogie pour surveillance. Son état clinique se dégrade et elle est transférée en réanimation à J7. Le diagnostic de **méningite** bactérienne à *E. sakazakii* est posé après isolement du germe dans un prélèvement de LCR et une hémoculture à J8. L'enfant est mis sous antibiothérapie dès J7 (association cefotaxime + vancomycine + amikacine, complétée par adjonction de ciprofloxacine). L'enfant était alimenté par hydrolysate de protéines (Pregestimil®, lot S402077) dès J0, en nutrition entérale à débit alterné (NEDA) par sonde gastrique et au biberon exclusif à partir de J4, et par nutrition entérale exclusive à partir de J7 suite à son aggravation clinique. *E. sakazakii* est isolé à J8 de l'introduction du Pregestimil®. L'enfant décède à J19 malgré une antibiothérapie adaptée.

Le **cas n° B-2** est un nouveau-né de sexe féminin, né en octobre 2004. Son âge gestationnel est de 32 semaines + 6 jours et elle pèse 1,520 kg. L'enfant, né dans la maternité de l'établissement, est prématuré et hypotrophe et est muté en néonatalogie pour surveillance. Une entérocolite ulcéro-nécrosante est diagnostiquée à J4, avec isolement de *Staphylococcus aureus* et d'un streptocoque β -hémolytique ; l'enfant reçoit une antibiothérapie (association de céfotaxime et vancomycine, initialement associés à de l'amikacine) de J4 à J14. *E. sakazakii* (culture pure) est isolé d'une coproculture réalisée à J32 devant un ballonnement abdominal persistant : ce cas est considéré comme une **colonisation digestive** qui n'est pas traitée par antibiotiques ; une coproculture de contrôle est négative à J40. L'enfant était alimenté par lait de mère lyophilisé de J0 à J3, par nutrition parentérale exclusive (repos digestif) pour entéropathie de J4 à J19, et par hydrolysate de protéines (Pregestimil®, lot S402077) de J20 à J43. *E. sakazakii* est isolé à J11 de l'introduction du Pregestimil®. L'enfant retourne à domicile en bonne santé à J50.

Une recherche d'autres cas par coproculture systématique chez les 17 nouveau-nés présents dans le service les 07/12 et 08/12/04 ne retrouve aucun autre enfant infecté ou colonisé à *E. sakazakii*.

Hôpital C

Le **cas n° C-1** est un nouveau-né de sexe féminin, né en novembre 2004 d'une grossesse gémellaire. Son âge gestationnel est de 30 semaines et 4 jours et il pèse 1,420 kg. L'enfant, né dans une maternité périphérique, est prématuré et hypotrophe et transféré en réanimation dans le centre référent régional le jour de sa naissance. Son état clinique est satisfaisant et l'enfant est transféré en soins intensifs à J7, puis en soins courants à J31. Il présente un écoulement purulent de l'œil droit à J26 ; le prélèvement réalisé est positif à *E. sakazakii*. Cette **conjonctivite** est traitée par antibiothérapie locale seule (collyre de rifampicine). L'enfant était alimenté par lait maternel et hydrolysate de protéines (Pregestimil®, lot S402077), ce dernier ayant été administré à J10 et J11, puis de J18 à J44. *E. sakazakii* est isolé à J16 de l'introduction du Pregestimil®. L'enfant retourne à domicile en bonne santé à J59.

Hôpital D

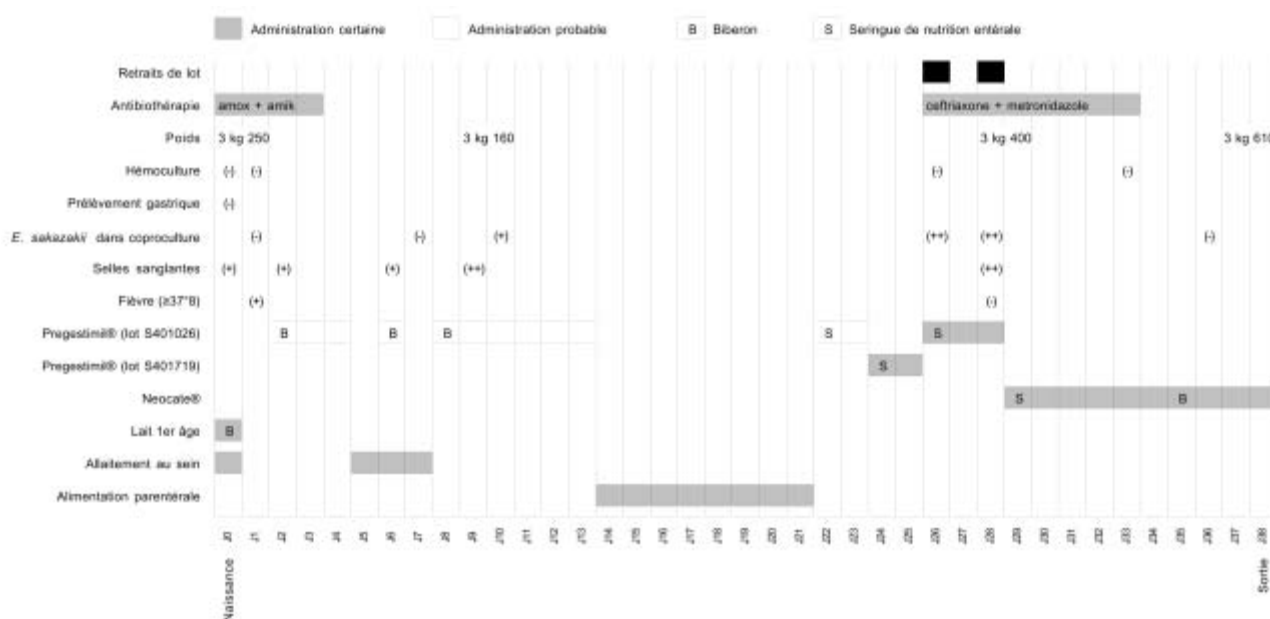
Le **cas n° D-1** est un nouveau-né de sexe féminin, né en novembre 2004 par césarienne pour liquide amniotique teinté et fièvre maternelle. Son âge gestationnel est de 37 semaines, elle pèse 3,250 kg et son score APGAR à la

naissance est de 8-9-10 ; un prélèvement gastrique réalisé le jour même est stérile. L'enfant, né dans la maternité de l'établissement, n'est pas prématuré ou hypotrophe mais est muté à J1 en néonatalogie pour émission de méconium sanglant ; elle reçoit une antibiothérapie flash (amoxicilline et amikacine), prolongée 48 h pour pic thermique à 38,2 °C. Hémoculture et coproculture de J1 sont stériles. L'état clinique de l'enfant s'améliore et elle retourne à la maternité à J5, avant d'être transférée à nouveau en néonatalogie à J6 pour nouvelle émission de selles sanglantes. Une rectoscopie pratiquée à J8 retrouve une zone congestive évoquant la fin d'évolution d'une colite hémorragique. Un retard pondéral avec émission de nombreuses selles sanglantes est noté de J9 à J28. Une coproculture réalisée à J10 est positive à *Pseudomonas aeruginosa* (majoritaire) et *E. sakazakii* (quelques colonies seulement) ; 2 coprocultures réalisées à J26 et J28 sont positives à *E. sakazakii* (culture pure) ; 2 hémocultures pratiquées à J26 et J33 restent stériles. Le diagnostic de **colite hémorragique** est posé et l'enfant est mis sous traitement antibiotique à J26 (association ceftriaxone et metronidazole pendant 7 jours). L'état de l'enfant s'améliore progressivement à partir de J29 : disparition des selles sanglantes à J29 et reprise de la courbe de croissance. Le

régime nutritionnel de l'enfant pendant sa période d'hospitalisation est détaillé ci-dessous (Figure 2). L'identification des lots est probable entre J0 et J23, en l'absence de traçabilité et compte tenu des habitudes de mise en circulation des lots dans l'établissement ; elle est certaine à partir de J24, suite à l'enquête faite par l'établissement en réaction à l'alerte nationale du 10/12. *E. sakazakii* est isolé à J24 de l'introduction du lot S401026 et à J2 de celle du lot S401719. L'enfant retourne à domicile à J38 en bon état général et pèse alors 3,610 kg.

L'enquête ne retrouve pas d'autres nouveau-nés hospitalisés en même temps que le cas dans le service et ayant consommé du Pregestimil® – lot S401719 ; elle retrouve un nouveau-né ayant consommé du Pregestimil® – lot S401026, sorti du service en bonne santé le 08/12. La recherche active d'autres cas ne retrouve aucun isolat à *E. sakazakii* au laboratoire depuis le 01/01/04. Une revue des dossiers retrouve 4 nourrissons ayant présenté des diarrhées sanglantes d'octobre à décembre 2004, dont 3 avaient consommé du Pregestimil® ; la recherche *a posteriori* de *E. sakazakii* dans leurs coprocultures n'a pas été possible, car ces prélèvements ne sont conservés que 15 jours. Aucun autre cas n'a été signalé par l'établissement depuis le retrait total du Pregestimil®.

Figure 2 - Histoire clinique et régime nutritionnel du cas D-1. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



Hôpital E

Le **cas n° E-1** est un nouveau-né de sexe masculin, né en novembre 2004. Son âge gestationnel est de 28 semaines et il pèse 1,370 kg. Il est alimenté par lait maternel et Pregestimil® (lots S401026, S401719 ou S402077 ; date d'introduction exacte non précisée). *E. sakazakii* (culture pure) est isolé d'une coproculture systématique réalisée à J20 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable.

Le **cas n° E-2** est un nouveau-né de sexe féminin, né en octobre 2004. Son âge gestationnel est de 26 semaines et elle pèse 1,100 kg. Elle est alimentée par lait maternel et Pregestimil® (lots S401026, S401719 ou S402077 ; date d'introduction exacte non précisée). *E. sakazakii* (culture pure) est isolé d'une coproculture systématique réalisée à J45 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable.

Le **cas n° E-3** est un nouveau-né de sexe féminin, né en novembre 2004. Son âge gestationnel est de 28 semaines et elle pèse 0,900 kg. Elle est alimentée par lait maternel et Pregestimil® (lots S401026, S401719 ou S402077 ; date d'introduction exacte non précisée). *E. sakazakii* (culture pure) est isolé d'une coproculture systématique réalisée à J36 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable.

Le **cas n° E-4** est un nouveau-né de sexe féminin, né en novembre 2004. Son âge gestationnel est de 32 semaines et elle pèse 1,400 kg. Elle est alimentée par lait maternel et Pregestimil® (lots S401026, S401719 ou S402077) à partir de J15. *E. sakazakii* (culture pure) est isolé d'une coproculture systématique réalisée à J26 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable. *E. sakazakii* est isolé à J11 de l'introduction du Pregestimil®.

Un dépistage par coproculture systématique des nouveau-nés présents dans le service les 12 et 13/12/04 ne retrouve aucun autre enfant infecté ou colonisé à *E. sakazakii*.

Les cas **E-a à E-c** sont identifiés lors d'une recherche rétrospective au laboratoire :

- le **cas n° E-a** est un nouveau-né de sexe féminin, né en mars 2004. Son âge gestationnel est de 30 semaines et elle pèse 1,580 kg. Elle est alimentée par lait maternel et lait de mère lyophilisé. *E. sakazakii* est isolé de 3 coprocultures réalisées à J12, J18 et J21 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable ;
- le **cas n° E-b** est un nouveau-né de sexe féminin, né en mars 2004. Son âge gestationnel est de 25 semaines et elle pèse 0,710 kg. Les informations sur son alimentation sont discordantes : elle aurait été alimentée par Preaptamil® selon la fiche de prescription, ou par Pregestimil® selon les feuilles d'alimentation (lots S400584, S302919 ou S303348). *E. sakazakii* est isolé de 2 coprocultures à J43 et J46 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable ;
- le **cas n° E-c** est un nouveau-né de sexe féminin, né en juillet 2004. Son âge gestationnel est de 33 semaines et elle pèse 1,490 kg. Elle est alimentée par Pregestimil® (lots S401719, S401026 ou S400584). *E. sakazakii* est isolé d'une coproculture réalisée à J28 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable ;
- le **cas E-d** est identifié après l'alerte : c'est un nouveau-né de sexe masculin, né en novembre 2004. Son âge gestationnel est de 27 semaines et il pèse 0,720 kg. Il est alimenté par lait de mère et Galliagène®. *E. sakazakii* est isolé d'une coproculture réalisée à J47 : il s'agit d'une **colonisation digestive** non traitée par antibiotiques et d'évolution favorable.

Annexe 7 - Principales constatations lors des visites d'établissement par les CClin

Hôpital A

La visite a lieu le 15/12/04 de 10 h 45 à 18 h 00 et est effectuée par le CClin sud-est et la Ddass de l'Allier. Les pratiques décrites ci-dessous sont celles observées lors de la visite.

L'hôpital A est un établissement d'environ 400 lits de court séjour ; il existe une équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) qui s'appuie sur 1 infirmière hygiéniste (1 équivalent temps-plein – ETP), 1 médecin hygiéniste (0,5 ETP) et un réseau de 70 correspondants paramédicaux (dont 1 en néonatalogie). L'hôpital participe à 5 réseaux de surveillance des infections nosocomiales animés par le CClin (maternité, bactériémies, réanimation, bactéries multirésistantes et accidents d'exposition au sang) et est accrédité depuis 2002. Quatre ETP pédiatres exercent dans le service de pédiatrie, qui inclut une unité de néonatalogie (niveau IIa) de 6 lits (1 chambre à 2 lits et 4 chambres individuelles). En néonatalogie, chaque équipe de jour comprend 1 puéricultrice ou 1 infirmière diplômée d'état (IDE) ayant une compétence en néonatalogie, et 1 auxiliaire puéricultrice ; l'équipe de nuit comprend 1 puéricultrice et 1 auxiliaire puéricultrice sous la responsabilité d'une surveillante de nuit. L'unité de néonatalogie accueille environ 200 nouveau-nés par an.

La biberonnerie est gérée par une auxiliaire puéricultrice dédiée à ce poste depuis plusieurs dizaines d'années, mais non encadrée par une personne qualifiée dans le domaine de la diététique et de l'hygiène. En dehors du lavage des mains, son activité ne fait l'objet d'aucun protocole spécifique formalisé. Elle est contiguë au service de néonatalogie et comprend 2 pièces communiquant par une ouverture (ancien emplacement de l'autoclave) : une dédiée à la préparation et l'autre à l'entretien des accessoires ; une 3^e pièce en face de ces locaux sert au stockage des laits et préparations en poudre. Les surfaces (sols, murs, paillasse) sont intègres ; leur entretien fait appel à des produits multiples, parfois non adaptés à l'activité en milieu de soins, mal étiquetés et souvent déconditionnés. Les paillasses sont nettoyées et désinfectées avant et après chaque séance de préparation, les sols en fin de séance, les placards et le réfrigérateur chaque semaine. La traçabilité de ces actions est incomplète : lors de la visite, la date de dernière désinfection du réfrigérateur notée est le 30/11/04. La température relevée sur le thermomètre du réfrigérateur de la biberonnerie dédié à la néonatalogie n'est pas tracée non plus et était $\geq 6^{\circ}\text{C}$ le jour de la visite. Le matériel est stocké dans 2 placards en bois fixés au mur. Le placard inférieur renferme un bol à mixer et un fouet

utilisé pour la préparation de certains biberons, disposition non adaptée aux règles d'hygiène de base.

Les biberons utilisés ne sont pas à usage unique : ils sont vidés après usage, dégraissés, rincés, et laissés à sécher entre 2 torchons sur la paillasse, avant d'être adressés secondairement en stérilisation centrale. Au retour de la stérilisation, les biberons sont délivrés en sachets. Au regard de la distribution des pièces et de l'organisation générale, il n'existe pas de circuit particulier pour la préparation des laits : le principe de la marche en avant n'est pas respecté. La préparation des biberons a lieu une fois par jour le matin. La reconstitution des laits à partir des préparations en poudre utilise de l'eau d'Évian (date d'ouverture indiquée, conservation 24 h) et différentes préparations (date d'ouverture indiquée, conservation 1 mois). L'auxiliaire puéricultrice revêt une blouse en coton, un masque et une charlotte et se lave les mains au savon doux. La quantité de poudre mesurée est placée dans le bol à mixer, mélangée avec le fouet, puis le lait reconstitué est versé dans un biberon étiqueté avec le n° du lit de l'enfant. Le biberon est déposé dans un panier métallique, puis stocké dans le réfrigérateur de la biberonnerie une fois la série de l'ensemble des biberons préparée : cette organisation entraîne un stockage des biberons à température ambiante pendant environ 30 min. Pour leur dispensation, les biberons sont sortis du réfrigérateur 30 min puis placés dans un chauffe-biberon à réservoir d'eau ; l'eau est renouvelée toutes les 24 h sans traçabilité systématique (date du dernier changement noté lors de la visite : 14/12/04). Tout biberon non consommé est jeté après 24 h maximum.

En néonatalogie, les locaux sont d'apparence propre et rangés. Certains matériels de soins (chariots) sont vétustes et non adaptés à l'entretien attendu ; leur nettoyage fait l'objet d'une traçabilité imparfaite. Les parois des baignoires et la robinetterie dans la chambre du cas ne sont pas intègres ; le matelas à langer dans une autre chambre présente une perforation. L'entretien des incubateurs est assuré chaque matin après le bain (protocole en cours de validation). L'entretien des surfaces, paillasse et baignoire est quotidien ; un nettoyage des paillasse et des poignées de porte 3 fois par jour (après chaque poste) complète cette procédure. Le nettoyage humide des sols est quotidien. Lors de la visite, l'usage de solutions hydro-alcooliques pour le lavage des mains n'a pas été observé.

Suite à cette visite, les principales recommandations du CClin étaient de revoir l'organisation de la biberonnerie, afin

de garantir le respect des règles d'hygiène reconnues pour la préparation, la conservation (dont le respect des températures de stockage des biberons reconstitués) et l'utilisation des laits pour nourrissons. Cette mise aux normes doit notamment passer par la mise des auxiliaires puéricultrices dédiées à cette activité sous la responsabilité d'une personne qualifiée dans le domaine de la diététique et de l'hygiène, et par la restructuration du service de néonatalogie, planifiée par la direction en 2005.

Hôpital B

La visite a lieu le 15/12/04 et est effectuée par le CClin Paris-Nord et la Ddass du Val-d'Oise. Les pratiques décrites ci-dessous sont celles déclarées lors d'entretiens.

L'hôpital B est un établissement d'environ 500 lits de court séjour. 3 ETP pédiatres exercent dans le service de néonatalogie (niveau IIb), qui dispose de 19 lits (dont 4 de soins intensifs). En néonatalogie, chaque équipe de jour comprend 3 infirmières diplômées d'état (IDE) et 4 auxiliaires puéricultrices ; l'équipe de nuit comprend 2 IDE et 3 auxiliaires puéricultrices. Le personnel paramédical est sectorisé de jour ; cette sectorisation est moins respectée la nuit. Ce service de néonatalogie accueille environ 600 nouveau-nés par an. Des travaux récents ont nécessité le déplacement du service et de la biberonnerie, qui ont réoccupé des locaux rénovés en octobre et novembre 2004.

La biberonnerie est gérée par des auxiliaires puéricultrices formées et dédiées à cette tâche. Elle est située dans le service des nourrissons, au 6^e étage. Les boîtes de préparation en poudre sont livrées par le magasin dans des cartons, déconditionnés en dehors de la biberonnerie ; les boîtes de poudre, briques de lait et bouteilles d'eau entreposées en biberonnerie sont nettoyées et désinfectées avec une chiffonnette imprégnée de Bactilysine® (triamine et chlorure de didécyldiméthyl ammonium) et stockées dans une armoire non réfrigérée. Les biberons et seringues de nutrition entérale sont préparés une fois par jour selon les prescriptions médicales. La séance de préparation commence par le vidage, le nettoyage et la désinfection du réfrigérateur de la biberonnerie, puis celles des paillasses et de la balance ; ce nettoyage est fait à l'aide d'un désinfectant agréé pour l'alimentation (Actisene®). Le personnel effectue un lavage antiseptique des mains à l'Hibiscrub® ou une friction avec une solution hydro-alcoolique (Sterilium®) et porte une surblouse à usage unique et un masque. Le matériel (broc, fouet, set de préparation) est stérilisé en stérilisation centrale et stocké sous sachet dans la biberonnerie. Les boîtes de préparation en poudre sont conservées fermées dans un placard à température ambiante. Le lait est préparé enfant par enfant, en seringues ou en biberons (à usage unique). Il est reconstitué avec de

l'eau d'Évian en bouteilles plastiques. Quand la série d'un enfant est prête (8 repas par jour en néonatalogie), elle est placée dans le réfrigérateur et le personnel passe à l'enfant suivant ; la préparation d'une série dure environ 10 min. Les biberons sont disposés dans des paniers de 24 et les seringues dans des sachets individuels stériles ; une étiquette précise l'identité de l'enfant sur chaque biberon ou seringue. Le réfrigérateur est un matériel professionnel avec traçabilité des températures : la température des derniers jours est comprise entre 0 et 5 °C. Il est nettoyé tous les 2 jours à l'Actisene®. Ce qui n'a pas été consommé le lendemain est détruit (conservation maximale de 24 h). Les biberons de néonatalogie sont préparés avant ceux des nourrissons ; la durée totale de préparation pour la néonatalogie est d'environ 1 h 30 à 2 h 00. Quand les séries de la néonatalogie sont prêtes, elles sont descendues dans le service de néonatalogie (au 5^e étage) à l'aide d'une armoire de transport refroidie avec des pains de glacière, puis stockées dans un réfrigérateur dédié du service. L'armoire de transport ne pénètre pas la biberonnerie et est désinfectée chaque matin.

En néonatalogie, le réfrigérateur utilisé est un modèle à usage domestique (non professionnel), non dédié à la biberonnerie et partagé avec des médicaments du service. Sa température n'est pas tracée ; elle était comprise entre 7 et 10 °C lors de la visite. Les seringues de NEDC sont changées toutes les 3 h et branchées directement à la sortie du réfrigérateur ; les prolongateurs sont changés toutes les 24 h. En fin de repas, la sonde gastrique est aspirée à la recherche d'un résidu (ce qui rend peu probable une stagnation alimentaire dans la sonde après le repas). Les biberons sont réchauffés au chauffe-biberon ou au micro-ondes. Tout biberon non consommé est jeté après 24 h maximum. Le matériel de proximité (stéthoscope, etc.) est dédié à l'enfant. Les incubateurs sont humidifiés avec de l'eau stérile distribuée par volume d'un litre (utilisé en entier à chaque fois). Ils sont nettoyés 4 fois par jour par les auxiliaires puéricultrices avec une chiffonnette imprégnée de Bactilysine® et changés tous les 8 jours pour subir une désinfection terminale.

Suite à cette visite, les principales recommandations du CClin étaient de remplacer le réfrigérateur de néonatalogie par un modèle professionnel avec traçabilité des températures, dédié aux biberons, si possible doté de compartiments pour éviter une hausse de température liée à des ouvertures fréquentes (jusqu'à 200 par jour).

Hôpital C

Les informations suivantes ont été communiquées par courrier à l'InVS le 7 février 2005.

L'unité de diététique et de nutrition pédiatrique de l'hôpital prépare environ 450 biberons, poches d'alimentation ou seringues de nutrition entérale par jour, à base de

préparations en poudre, de lait maternel ou de produits de nutrition adulte et ajout éventuel d'additifs selon les prescriptions. Elle fonctionne sous la responsabilité de 2 médecins et d'une cadre de santé diététicienne. L'entretien des locaux de l'unité, le descriptif de chaque poste de travail, le lavage des mains, la tenue du personnel, les prescriptions de préparations lactées diététiques, leur reconstitution et leur transport vers les unités de soins font l'objet de protocoles écrits depuis avril 2004.

Les préparations ont lieu une fois par jour et sont distribuées pour 24 h ; elles sont conservées dans les réfrigérateurs des unités de soins desservies. Cette unité fournit exclusivement les services de pédiatrie, la maternité utilisant des "nouettes" prêtes à l'emploi. Les préparations des services de réanimation et de néonatalogie sont réalisées en milieu de journée (de 11 h 00 à 12 h 00 puis de 12 h 40 à 14 h 00) ; les modifications ou ajouts de prescriptions sont pris en compte jusqu'à 12 h 00. En dehors de ces périodes et en cas d'urgence, les unités de soins pédiatriques peuvent réaliser des préparations selon une procédure spécifique dite de "préparation d'un biberon standard en unités de soins". Les prescriptions, nominatives et réceptionnées par fax, sont vérifiées systématiquement et servent de support pour la traçabilité des opérations (chaque opérateur apposant sa signature lors des différentes étapes de la préparation) ; elles sont conservées 5 jours après la date de réalisation puis détruites. Toutes les préparations sont comptabilisées et reportées chaque jour sur le document qui recense le nombre de préparations pour chaque unité de soins.

Le protocole de reconstitution définit les différentes étapes de la réalisation d'une préparation lactée diététique pour garantir une sécurité alimentaire optimale : respect des règles d'hygiène, des prescriptions alimentaires, d'un ordre défini de reconstitution des préparations et du maintien de la chaîne du froid. Les référentiels utilisés sont l'arrêté du 29/09/1997 fixant les conditions d'hygiène applicables dans les établissements de restauration collective à caractère social, le guide de recommandations du CClin Paris-Nord sur l'alimentation du nourrisson en collectivité pédiatrique et l'article L25 du code de la santé publique pour le choix de l'eau embouteillée. Toutes les préparations sont réalisées sur un plan de travail propre recouvert d'un champ stérile. Tout le matériel utilisé est stérile (pots, fouets, éprouvettes, cuillères, flacons...). L'eau utilisée pour reconstituer les biberons est une eau faiblement minéralisée conforme à l'alimentation des nourrissons. L'eau utilisée pour le rinçage des ustensiles provient de robinets munis de filtres terminaux. Les préparations sont faites par des auxiliaires puéricultrices formées et dédiées, après lavage des mains et habillage réglementaire. Les prescriptions sont regroupées par

nature du lait prescrit, pourcentage de reconstitution et additifs éventuels. Cet hôpital utilise des biberons à usage unique ; une fois déconditionnés, ils sont utilisés dans les 24 h. Chaque biberon est muni d'une étiquette adhésive mentionnant le nom de l'enfant et dotée d'un code couleur identifiant l'unité de pédiatrie concernée. Une fois préparés, les biberons sont placés dans des paniers correspondant aux unités puis mis en cellule de refroidissement pendant 30 min. Ils sont ensuite répartis dans des armoires isothermes ou des glacières. La préparation des seringues et des poches de nutrition obéit aux mêmes règles d'hygiène. Seringues et poches sont conditionnées dans des pochettes individuelles thermosoudées avant mise en cellule de refroidissement.

Le transport des préparations vers les unités de soins se fait dans des conditions définies pour limiter la multiplication des micro-organismes principalement liée aux facteurs temps et température. L'hôpital étant multisite, le transport utilise des camions réfrigérés pour les unités de soins distantes de l'unité de diététique. Les points critiques identifiés comme étant à maîtriser sont : le maintien d'une température à + 6 °C maximum, la sensibilisation du personnel à l'hygiène alimentaire, une adaptation des horaires de livraison à l'organisation du service receveur, et le maintien de conditions d'hygiène et de propreté adéquates dans les véhicules, chariots alimentaires et glacières utilisées pour le transport. Dès l'arrivée dans le service, les préparations doivent être entreposées dans un réfrigérateur spécifique à l'alimentation hospitalière dont la température est comprise entre 1 et 6 °C ; des relevés de températures sont réalisés tous les jours sur ces réfrigérateurs et notés dans des documents archivés. Le personnel de l'unité de diététique et de nutrition pédiatrique évalue chaque trimestre les conditions de réception et de stockage des préparations dans les unités de soins ; les résultats de ces contrôles, transmis pour chaque unité sur la période septembre – décembre 2004, étaient conformes (≤ 4 °C).

Hôpital D

La visite a lieu le 15/12/04 et est effectuée par le CClin Sud-Est. Les pratiques décrites ci-dessous sont celles observées lors de la visite.

L'hôpital D est un établissement d'environ 300 lits de court séjour ; il existe une équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) qui s'appuie sur 1 infirmière hygiéniste (1 ETP), 1 médecin hygiéniste (0,8 ETP), 1 secrétariat (0,5 ETP) et un réseau de correspondants paramédicaux dans les services, dont un binôme infirmière – auxiliaire puéricultrice en néonatalogie. L'unité de néonatalogie est récente (travaux en 2002) et comprend 8 lits de niveau IIb. Elle est séparée du service de pédiatrie par un sas d'accès et

dispose d'un traitement d'air permettant d'obtenir une zone en classe ISO 8.

La biberonnerie est située au même niveau que le service de néonatalogie dans des locaux distincts. L'équipe d'hygiène y est particulièrement active depuis la survenue en juin 2004 de 3 cas groupés d'infections à *Serratia marcescens* en néonatalogie. La biberonnerie est gérée par 2 auxiliaires puéricultrices formées et dédiées, encadrées par une diététicienne à temps plein depuis 2002 et la cadre de santé du service de néonatalogie ; elles ont suivi une formation en hygiène alimentaire. La biberonnerie comprend un ensemble de 5 pièces dédiées : une pièce de préparation, un sas d'entrée, un bureau, un local de désinfection et une salle de stockage des produits d'entretien. La salle de sas sert également de réserve de matières premières (préparations en poudre et biberons à usage unique) ; elle présente un poste de lavage des mains équipé de savon doux et de solutions hydro-alcooliques. Les préparations en poudre sont livrées, déconditionnées et rangées par ordre d'arrivée dans le sas ; elles sont rentrées au fur et à mesure dans les placards de la salle de préparation après désinfection extérieure de la boîte. La salle de préparation est séparée du sas par une porte automatique à ouverture commandée, ventilée et climatisée. Elle comporte un point d'eau filtrée situé sur la paillasse de préparation. Les revêtements des murs, sols et paillasse sont intègres. Toutes les surfaces sont décontaminées chaque matin à l'aide d'un détergent – désinfectant agréé au contact alimentaire et bactéricide de spectre 4 (SUMA D10). L'entretien des sols est assuré 5 jours sur 7 par un prestataire externe (sans traçabilité).

Les préparations sont faites une fois par jour. En début de séance, l'auxiliaire puéricultrice effectue un lavage des mains au savon doux et une friction hydro-alcoolique dans le sas, puis revêt masque, surblouse et charlotte avant d'entrer dans la salle de préparation. Les bols, cuillères, fouet et brocs utilisés lors des préparations sont stériles au départ, puis rincés à l'eau filtrée et réutilisés, si besoin, pour les préparations suivantes. La zone propre de préparation est protégée par un champ stérile. Les dates d'ouverture sont notées sur les boîtes de préparation en poudre (conservation 1 mois) et les bouteilles d'eau d'Évian (conservation 24 h). Les préparations sont faites par séries (1 enfant = 1 série), celles des seringues de nutrition entérale précédant celles des biberons. En fin de série, les seringues et biberons sont placés dans la cellule de refroidissement ; les seringues restent environ 10 min à température ambiante (22 °C) et les biberons 30 min. Toutes les préparations sont étiquetées avec le nom du patient et jetées après 24 h si non administrées. La cellule de refroidissement est sous alarme et dispose d'une traçabilité des températures : au cours des 3 derniers

mois, celle-ci était correcte, entre 0 et 3 °C. Nettoyage, entretien des surfaces et matériels, et qualité de l'eau filtrée sont également tracés.

En néonatalogie, le transport des préparations se fait dans des paniers (biberons) ou plateaux (seringues), qui sont stockés dans le réfrigérateur du service. Son entretien et sa température ne sont pas tracés mais la température était correcte le jour de la visite (entre 0 et 4 °C). Les seringues sont sorties 15 min avant administration et passées en 2 ou 3 h maximum ; en fin d'administration, la sonde gastrique n'est pas rincée et la tubulure reste en place jusqu'au prochain gavage. Les biberons sont réchauffés au chauffe-biberon (bain-marie).

Suite à cette visite, les principales recommandations du CClin étaient de mettre en place une traçabilité de l'entretien et des températures du réfrigérateur de néonatalogie, d'améliorer les procédures de préparation (agencement, gestion des brocs stériles) afin de supprimer l'étape de rinçage à l'eau filtrée, et de revoir le protocole de nutrition entérale au regard d'éventuelles recommandations nationales (notamment l'étape de rinçage des sondes qui ne fait pas l'objet d'un consensus).

Hôpital E

La visite a lieu le 08/02/05 et est effectuée par le CClin Paris-Nord en présence de la Ddass et de l'InVS. Les pratiques résumées ci-après sont celles décrites par entretien.

L'hôpital E est un établissement d'environ 450 lits de court séjour ; il existe une équipe opérationnelle d'hygiène. L'unité de néonatalogie de niveau III est récente et comprend 10 lits en unité de réanimation, 9 lits en soins intensifs, 18 lits en soins courants et 5 lits pour petits nourrissons (anciens prématurés suivis jusqu'à 3 mois environ) ; elle est distincte du service de pédiatrie. L'unité de réanimation admet environ 300 nouveau-nés par an, l'unité de soins intensifs environ 300 et l'unité de soins courants environ 500. En réanimation, des coprocultures quantitatives hebdomadaires sont réalisées de manière systématique chez les nouveau-nés afin de surveiller leur flore digestive ; cette pratique permet aux pédiatres d'adapter les antibiothérapies éventuellement prescrites en cas d'altération de l'état clinique de l'enfant.

Si les poches de nutrition entérale sont préparées de manière centralisée à la pharmacie, il n'existe pas de biberonnerie. Les biberons ou seringues de nutrition entérale sont préparés dans le service de néonatalogie sous la responsabilité des 3 cadres de santé. La rédaction de protocoles spécifiques à cette activité était en cours le jour de la visite. L'alimentation des nouveau-nés fait appel de préférence au lait de mère (environ 8 nouveau-nés sur 10) ; les hydrolysats de protéines (tels que le

Pregestimil®) sont prescrits en complément du lait de mère, en cas de troubles digestifs sévères ou en cas d'intolérance aux protéines du lait de vache. Pour les laits 1^{er} âge et les laits pour prématurés, les formes liquides sont privilégiées quand elles sont disponibles. Les seules préparations en poudre utilisées sont donc celles pour lesquelles il n'existe pas d'équivalent en forme liquide. Toutes formes et préparations confondues, le service de néonatalogie prépare 250 à 300 biberons par jour.

La préparation des biberons est faite dans 2 zones dédiées des salles de soins (une en réanimation, une en soins courants) par des auxiliaires de puériculture formées mais non dédiées. La zone de préparation des biberons en réanimation est adjacente au poste central de surveillance (sans séparation) ; celle en soins intensifs est dans une pièce à part servant également au stockage des médicaments. Les préparations sont faites 3 fois par jour : la personne en charge des préparations s'habille au préalable (charlotte + blouse) et se lave les mains au savon doux. Le matériel utilisé pour la préparation est stérile. Les biberons utilisés dans le service sont à usage unique. L'eau minérale utilisée (Évian ou autre, selon les marchés) est conservée 24 h au maximum après ouverture ; les boîtes de poudre sont conservées 8 jours maximum. Les stocks de préparations en poudre dans les unités sont réduits (quelques boîtes), le service passant commande à la pharmacie 3 fois par semaine. Depuis début janvier 2005, une traçabilité de toutes les préparations administrées à chaque nouveau-né, mentionnant le nom du produit utilisé et son n° de lot, a été mise en place.

Les biberons et seringues sont conservés 8 h au maximum et stockés dans des réfrigérateurs réservés à l'usage alimentaire ; il s'agit de réfrigérateurs "courants" (usage domestique) sans affichage ni enregistrement des températures. Une traçabilité des températures des réfrigérateurs a été mise en place en janvier 2005. Lors de la visite, seules les températures de janvier étaient affichées : elles variaient le plus souvent autour de 5 °C, avec des extrêmes allant de 2,5 et 7 °C pour un réfrigérateur situé en réanimation, et de 0 et 11 °C pour un autre situé en soins intensifs. Ces températures sont généralement plus basses quand elles sont relevées le matin (vers 8 h 00), et plus hautes quand les relevés sont plus tardifs (13 h 30 le jour où la température relevée était de 11 °C). Par manque de place, ces réfrigérateurs sont installés dans différents locaux de stockage des 3 unités. Les biberons sont réchauffés avant administration aux nouveau-nés dans un chauffe-biberon avec réservoir d'eau (changée une fois par jour).

Suite à cette visite, les principales recommandations du CClin étaient de renforcer la traçabilité des températures des réfrigérateurs dans les unités de soins, si nécessaire en les remplaçant par des matériels professionnels avec enregistreurs de température, et de réorganiser certaines zones de préparation (notamment celle de réanimation) en les individualisant mieux par rapport aux zones de soins. Cette dernière recommandation avait été anticipée par l'équipe soignante qui travaille actuellement à un projet de biberonnerie centralisée dans une pièce indépendante. Le fonctionnement de cette biberonnerie sera adapté aux recommandations nationales actuellement en cours de rédaction.

Annexe 8 - Liste des prélèvements d'environnement réalisés et résultats

Hôpital	Jour	Nature du prélèvement	<i>E. sakazakii</i>
A	15/12/04	Biberonnerie – scotch brit paillasse	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – tétines en cours de séchage	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – intérieur biberon après lave-vaisselle	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – dosette lait bleue	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – fouet	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – eau minérale, bouteille ouverte le 15/12	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – placard gauche, étagère basse	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – placard face, étagère moyenne	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – placard 1 stock biberons étagère 5 gauche	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – placard 1 stock biberons étagère 5 droite	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – seau (sec de réception bague et chapeau biberons)	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – paillasse préparation biberons	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – plateau balance	Absence
A	15/12/04	Biberonnerie – intérieur bol mixer	Absence
A	15/12/04	Néonatalogie – chauffe-biberon, emplacement 1 à droite	Absence
A	15/12/04	Néonatalogie – baignoire box 704	Absence
A	15/12/04	Néonatalogie – réfrigérateur biberons, paroi gauche interne haute	Absence
A	15/12/04	Néonatalogie – baignoire box 704	Absence
A	15/12/04	Néonatalogie – placard inférieur D, étagère supérieure, box 704	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – réfrigérateur	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – paillasse humide	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – placard de stockage des préparations en poudre	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – kit de préparation stérile	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – kit de préparation utilisé	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – broc de préparation	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – tiroir du matériel de préparation	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – armoire de stockage des matériels à usage unique	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – paillasse de préparation	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – évier	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – paillasse sèche	Absence
B	15/12/04	Biberonnerie – fouet	Absence
B	15/12/04	Néonatalogie – réfrigérateur, étagère	Absence
B	15/12/04	Néonatalogie – réfrigérateur, niveau 2	Absence
B	15/12/04	Armoire de transport – étagère supérieure	Absence
B	15/12/04	Armoire de transport – étagère niveau 2	Absence

Hôpital	Jour	Nature du prélèvement	<i>E. sakazakii</i>
D	15/12/04	Biberonnerie – paillasse centrale côté gauche	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – paillasse centrale côté droit	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – réfrigérateur, poignée de porte	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – interphone et téléphone	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – congélateur, poignée	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – placard réserve biberons	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – réfrigérateur, intérieur (panier + biberon)	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – évier sur paillasse centrale	Absence
D	15/12/04	Biberonnerie – placard réserve de lait	Absence
D	15/12/04	Seringue de gavage	Absence

Annexe 9 - Résultats détaillés de l'analyse des lots de préparation en poudre Pregestimil®

Le lot **S401026** est retrouvé très fréquemment contaminé par *E. sakazakii* (32 % des boîtes analysées au total ; 43 % à l'IP Lille et 20 % à la DGCCRF). Sur les 12 boîtes positives pour *E. sakazakii* à l'IP Lille, 2 étaient positives à la fois en culture et en PCR, 8 en culture seule et 2 en PCR seule. La distribution horaire des boîtes prélevées et positives pour ce lot montre que ces boîtes positives ont été produites sur une période de 90 min dans la nuit du 02/04/2004 (figure 3). Par ailleurs, 3 autres boîtes de ce lot étaient positives pour la présence d'entérobactéries autres que *E. sakazakii*. *E. sakazakii* a été notamment mis en évidence dans la boîte entamée qui avait pu être utilisée pour préparer les biberons du cas D-1 (colite hémorragique). Il explique très probablement ce cas et pourrait également être à l'origine des cas E-1, E-2, E-3 et E-4.

Pour le lot **S401420**, une seule des 67 boîtes analysées au total, par les différents laboratoires, a été retrouvée positive pour *E. sakazakii*. Cette boîte, prélevée dans un centre hospitalier, était une boîte entamée qui a pu être utilisée pour préparer les biberons d'un cas certain (méningite). D'après les informations communiquées par Mead Johnson, ce lot n'aurait pas été "dévignetté" en vue d'une distribution directe à l'hôpital ; il a néanmoins été consommé dans 2 hôpitaux, dont les circuits d'approvisionnement restent à préciser (achat en officine ?). La distribution horaire des boîtes prélevées et positives pour ce lot est présentée ci-après (figure 4). Par ailleurs, 3 autres boîtes de ce lot testées à l'IP Lille étaient positives pour la présence d'entérobactéries autres que *E. sakazakii*.

Pour le lot **S401719**, *E. sakazakii* n'a été mis en évidence dans aucune des 77 boîtes analysées. Aucun enfant infecté ou colonisé n'avait consommé ce lot exclusivement. La distribution horaire des boîtes prélevées pour ce lot est présentée ci-après (figure 5). A noter que 8 boîtes de ce lot testées à l'IP Lille étaient cependant positives pour la présence d'entérobactéries autre que *E. sakazakii*.

Le lot **S402077** est retrouvé très fréquemment contaminé par *E. sakazakii* (22 % des boîtes analysées au total ; 38 % à l'IP Lille et 10 % à la DGCCRF). Sur les 12 boîtes positives pour *E. sakazakii* à l'IP Lille, 7 étaient positives à la fois en culture et en PCR, 4 en culture seule et 1 en PCR seule. La distribution horaire des boîtes prélevées et positives pour ce lot montre que ces boîtes positives ont été produites sur une période de 15 min dans la soirée du 02/07/2004. A noter que les boîtes testées par l'Afssaps sur cette même période avec une prise d'échantillon inférieure (50 g) et une méthode différente sont négatifs (figure 6). Par ailleurs, 4 autres boîtes de ce lot testées à l'IP Lille étaient positives pour la présence d'entérobactéries autre que *E. sakazakii*. Le lot S402077 est très probablement à l'origine des cas B-1, C-1 et B-2 et pourraient être à l'origine des cas E-1, E-2, E-3 et E-4.

Pour le lot **S402632**, *E. sakazakii* a été mis en évidence dans 3 des 65 boîtes analysées. Ce lot n'a été consommé par aucun des cas recensés. D'après les informations communiquées par Mead Johnson, ce lot n'aurait pas été "dévignetté" en vue d'une distribution directe à l'hôpital et n'aurait été distribué qu'en officine.

Figure 3 - Lot S401026, boîtes testées et positives pour *E. sakazakii* selon l'heure de production.
Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

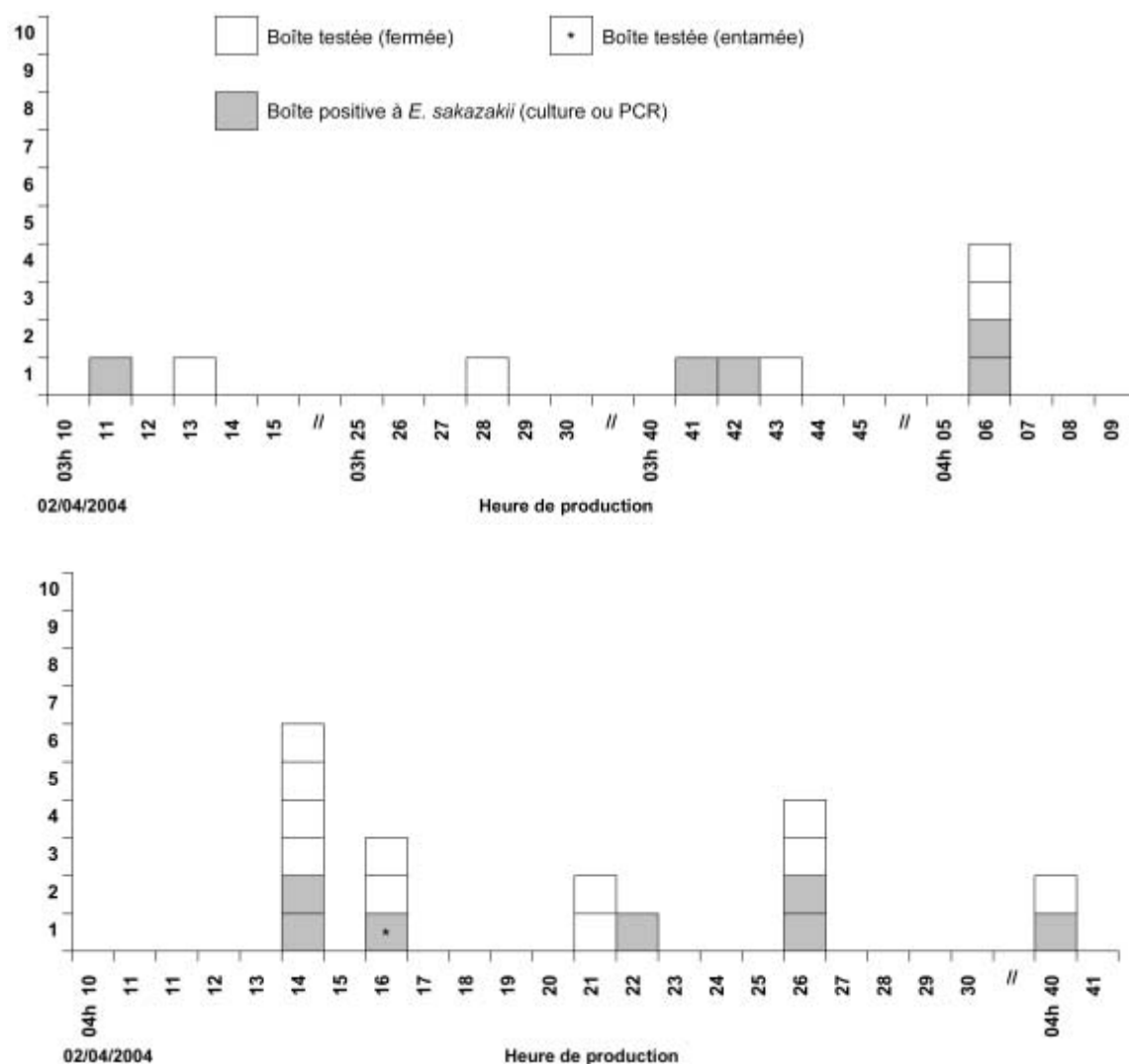


Figure 4 - Lot S401420, boîtes testées et positives pour *E. sakazakii* selon l'heure de production.
Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

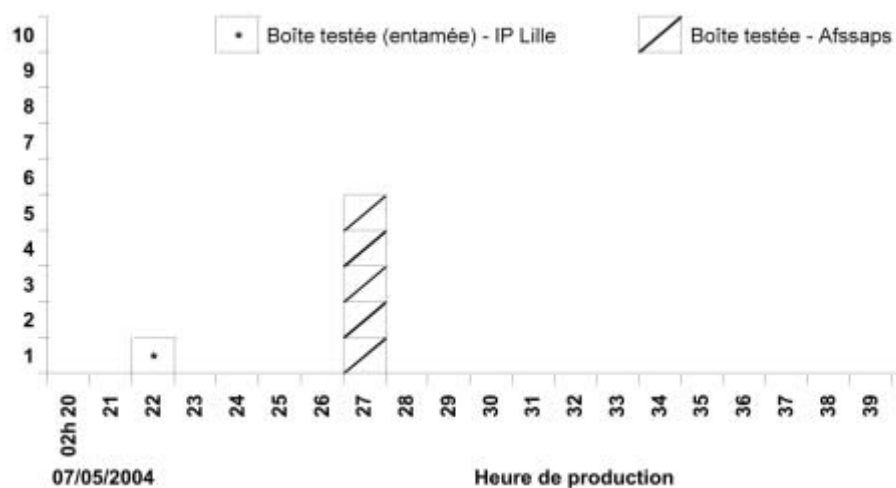


Figure 5 - Lot S401719, boîtes testées et positives pour *E. sakazakii* selon l'heure de production.
Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

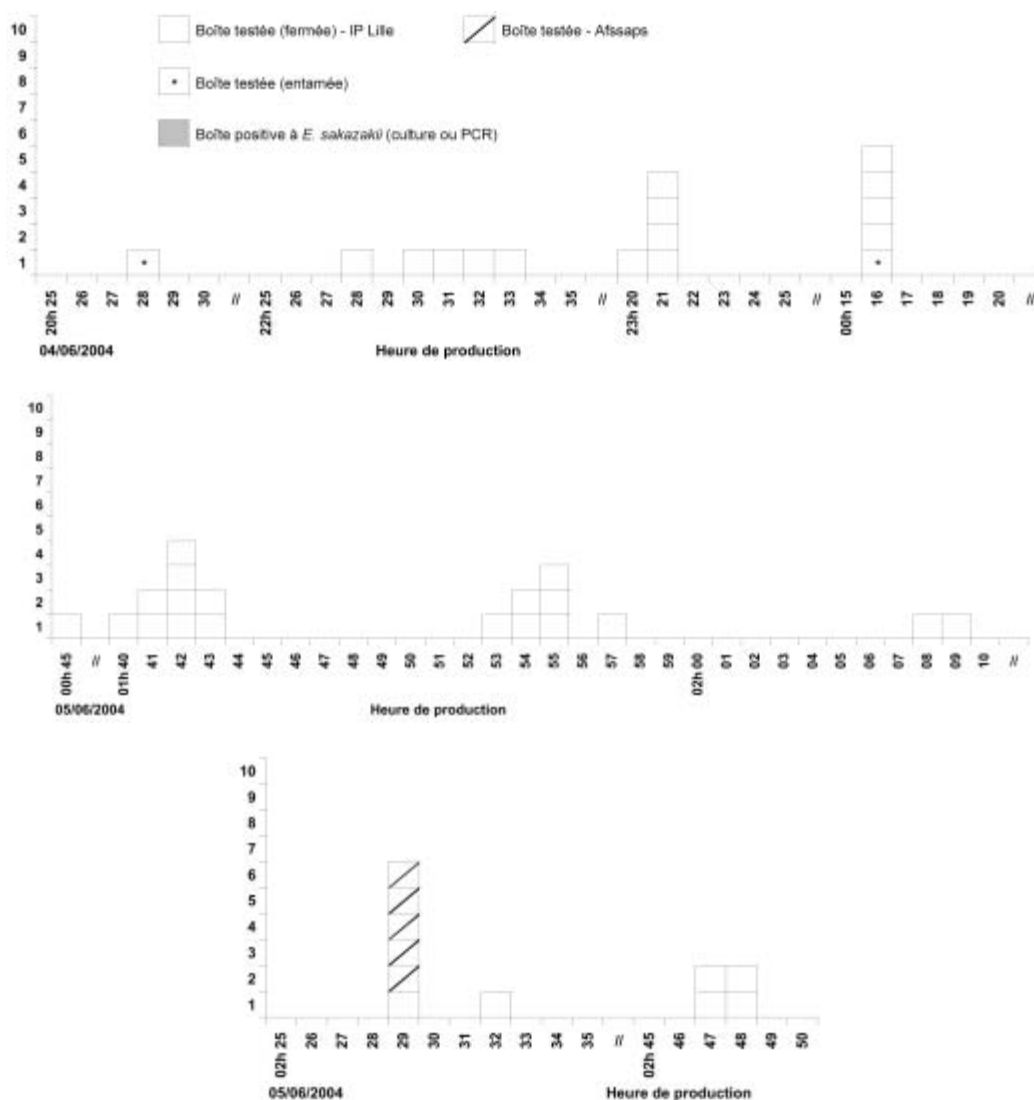
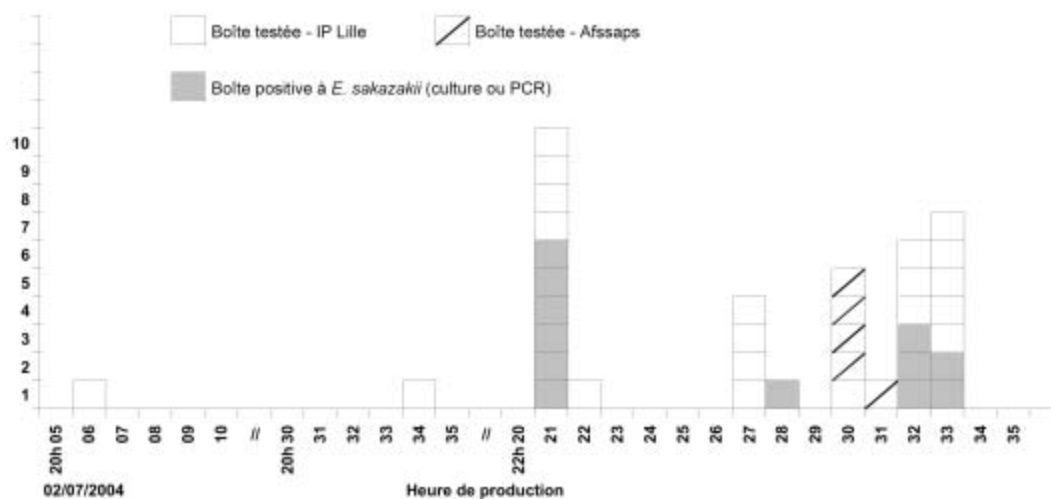


Figure 6 - Lot S402077, boîtes testées et positives pour *E. sakazakii* selon l'heure de production.
Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

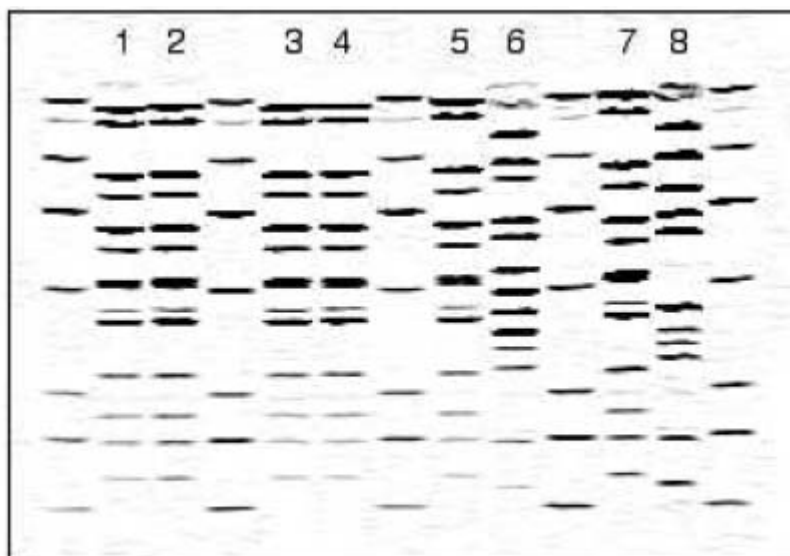


Annexe 10 - Liste des souches de *E. sakazakii* isolées de préparations en poudre Pregestimil®

Souche	Cas	Origine	Type	Séquençage
L-1	S401420	Hôpital A	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-2	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-3	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-4	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-5	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-6	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-7	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-8	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-9	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-10	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-11	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-12	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-13	S401026	Hôpital D	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-14	S402632	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-15	S402632	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-16	S402632	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-17	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-18	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-19	S402077	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-20	S402095	Mead Johnson	Nutramigen	<i>E. hormaechei</i>
L-21	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-22	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-23	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-24	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-25	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-26	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-27	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-28	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-29	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-30	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-31	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-32	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-33	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-34	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-35	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>
L-36	S401026	Mead Johnson	Pregestimil®	<i>E. sakazakii</i>

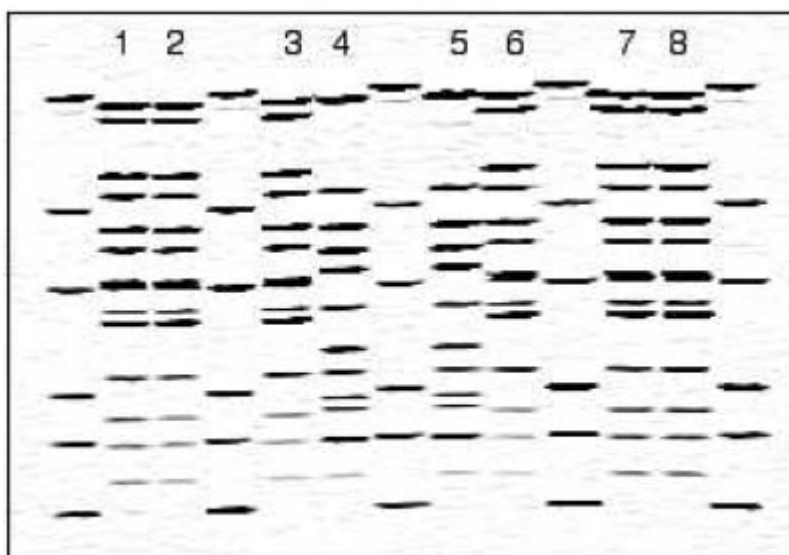
Annexe 11 - Images de la ribotypie automatisée des souches de *E. sakazakii*

Figure 7 - Ribotypie automatisée de 7 souches en étude (enzyme EcoRI). Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



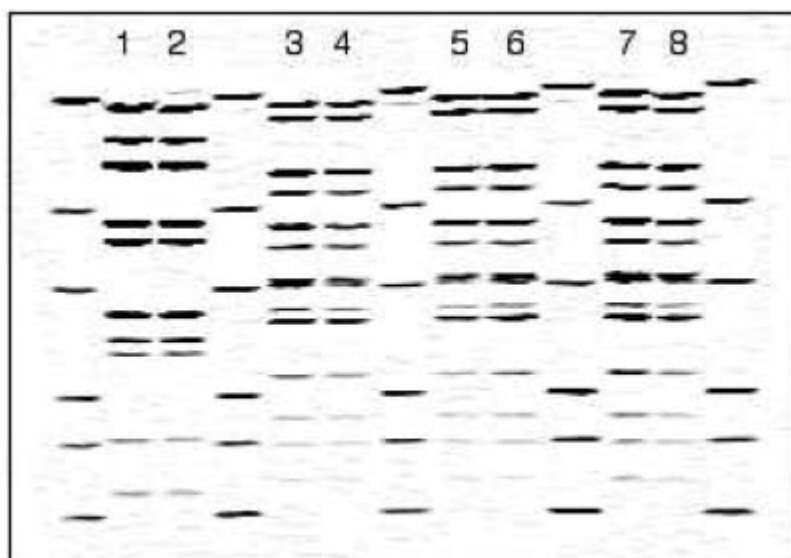
1: E-3, 2: E-2, 3: E-4, 4: E-1, 5: L-1, 6: B-3, 7: C-1, 8: hors étude

Figure 8 - Ribotypie automatisée de 7 souches en étude (enzyme EcoRI). Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



1: L-14, 2: L-15, 3: L-16, 4: L-17, 5: L-18, 6: L-19, 7: E-3, 8: C-1

Figure 9 - Ribotypie automatisée de souches en étude (enzyme *EcoRI*). Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre-décembre 2004



1: L-20, 2: L-20, 3: L-9, 4: L-10, 5: L-11, 6: L-12, 7: L-13, 8 : C-1

Annexe 12 - Images de l'électrophorèse en champ pulsé des souches de *E. sakazakii*

Figure 10 - Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 9 souches cliniques, d'une souche "poudre" et de 3 souches de référence. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

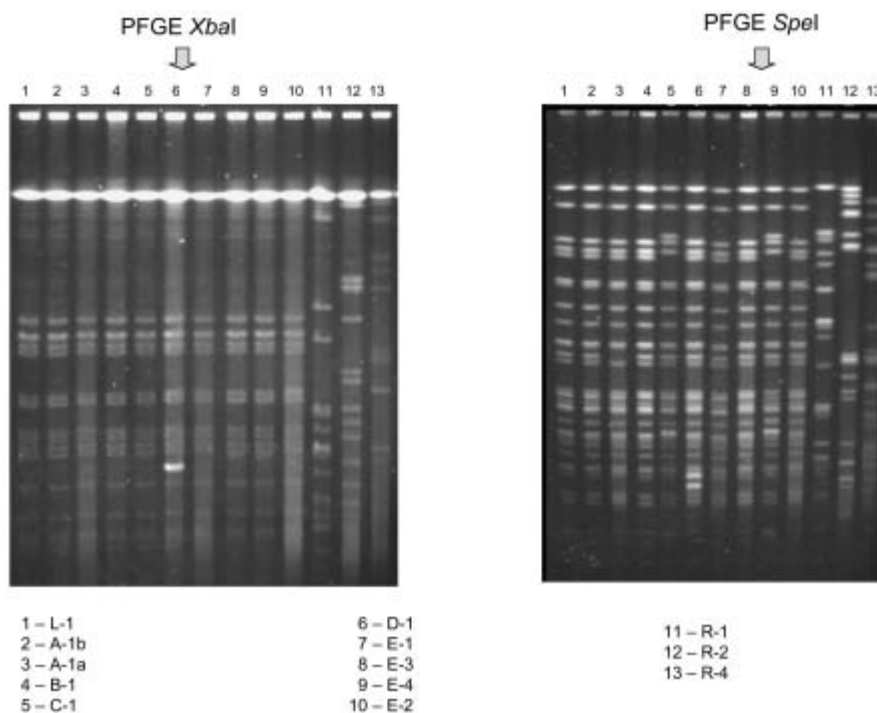


Figure 11 - Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 19 souches "poudre". Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

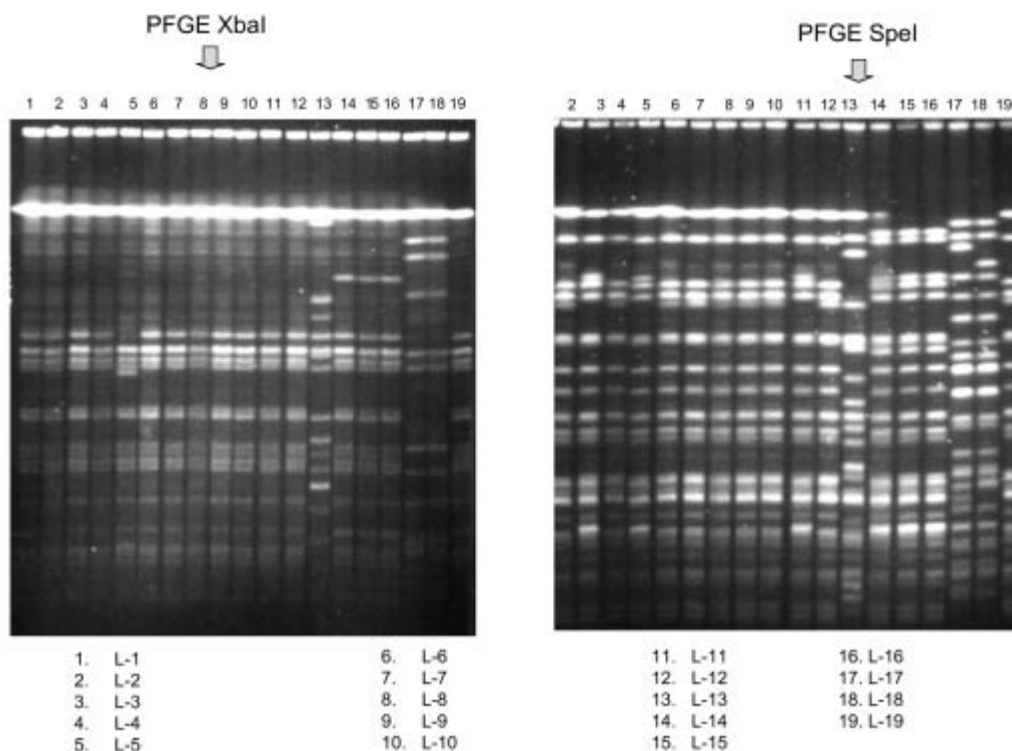


Figure 12 - Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 16 souches "poudre". Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

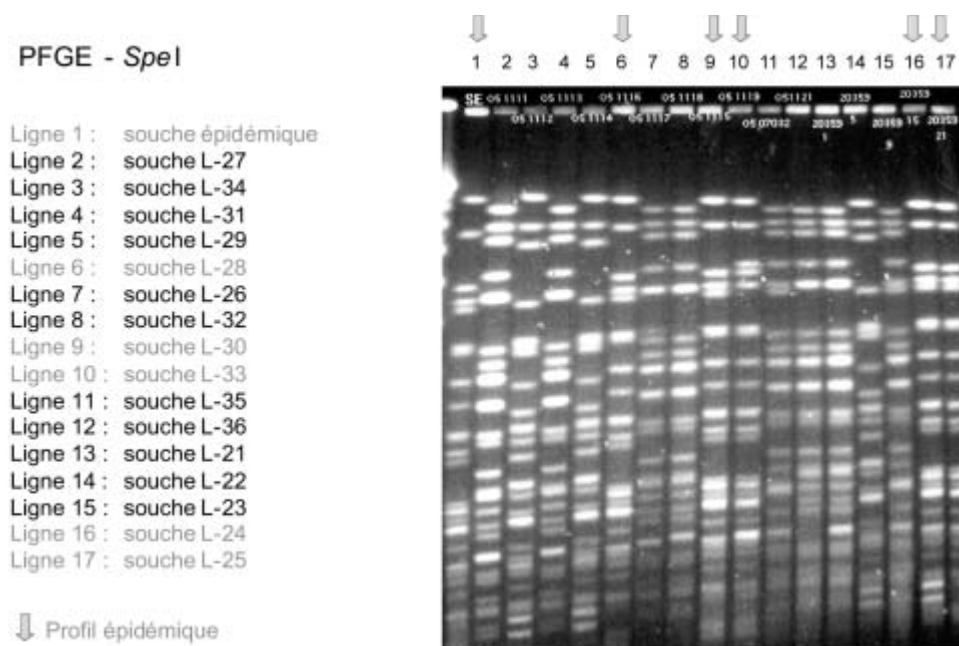


Figure 13 - Comparaison par électrophorèse en champ pulsé de 15 souches "poudre". Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

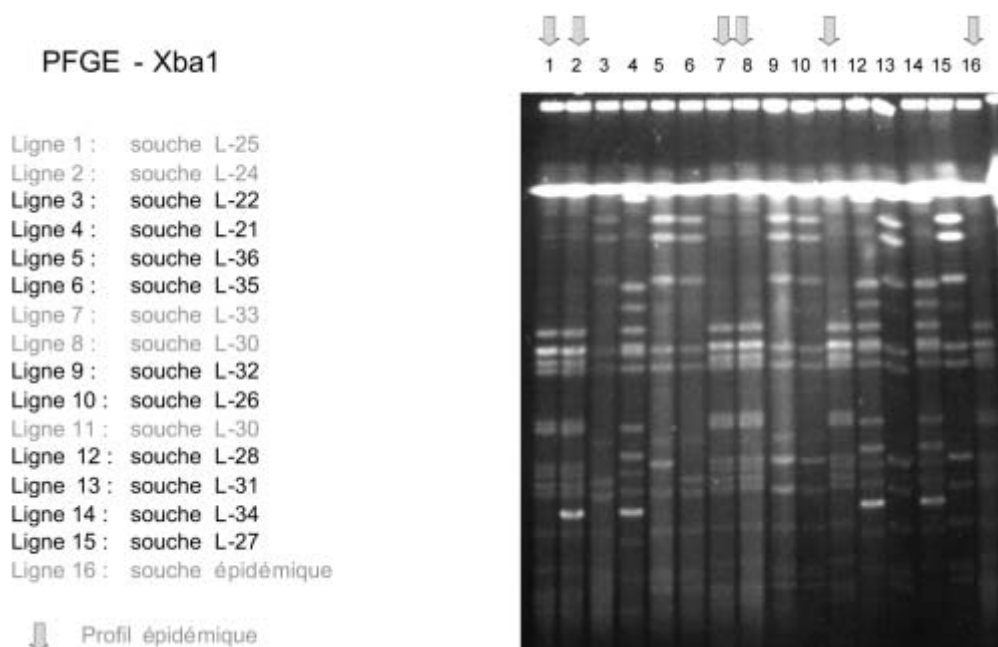
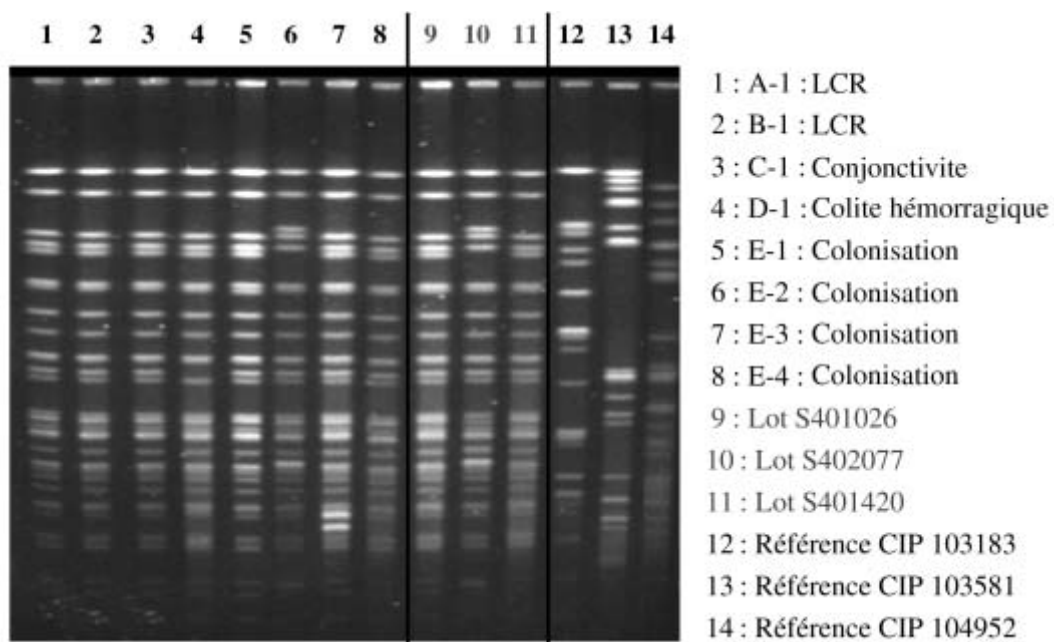


Figure 14 - Comparaison par électrophorèse en champ pulsé des 8 souches "cas", de 3 souches "poudre" et de 3 souches de référence. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



Annexe 13 - Description des méthodes de production et des produits Mead Johnson

Les informations ci-après ont été fournies par Mead Johnson France.

Généralités sur les produits

Le Pregestimil® est un produit de la société Mead Johnson qui, pour la France, est fabriqué dans une usine située à Nijmegen aux Pays-Bas. Cette usine produit une gamme étendue de préparations en poudre qui comprend plus de 40 types de produits dont Pregestimil®, Nutramigen®, Enfamil®, Portagen®, Enfalac®, Enfagrow®, Enfapro®. La taille d'un lot de produit fini, déterminée en fonction de la commande du client, est variable. Un numéro est attribué à chaque lot à des fins de traçabilité. Tous ces produits sont distribués dans plus de 50 pays au monde. Par pays, le nombre de produits distribués varie d'un seul produit à l'ensemble de la gamme.

En France, la gamme distribuée comprend 43 références de préparations en poudre différentes correspondant à

différentes formulations et conditionnements des poudres Nutramigen®, Enfamil®, Portagen®, Enfalac®, Prosobee®, O-lac Powder® (une seule référence) et Pregestimil® (une seule référence).

En 2004, 9 lots de Pregestimil® ont été distribués en France ; 6 de ces lots ont été distribués après le lot S401026, lot le plus ancien associé à un cas. Tous les lots distribués après ce lot étaient présents dans au moins un des hôpitaux au moment de la survenue des cas. *E. sakazakii* a été mis en évidence dans 4 de ces 6 lots. Les lots sont fabriqués au début de chaque mois. Le Pregestimil® est distribué en boîtes de 425 g qui sont livrées "vignettées" en cartons de 24 à la filiale française de Mead Johnson. Les boîtes livrées directement aux hôpitaux sont "dévignettées". Certains hôpitaux se fournissent aussi auprès des grossistes-répartiteurs. Les dates de fabrication et la quantité distribuée en France à l'hôpital et en officine sont présentées ci-dessous (tableau 14).

Tableau 14 - Caractéristiques des lots de Pregestimil® distribués en France en 2004. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Numéro de lot	S304254	S400233	S400584	S401026	S401420	S401719	S402077	S402632	S403458
Date de fabrication	06/01/04	03/02/04	03/03/04	02/04/04	06/05/04	04/06/04	02/07/04	01/09/04	09/11/04
Date de réception	20/01/04	23/02/04	15/02/04	14/04/04	10/05/04	08/06/04	21/07/04	20/09/04	18/11/04
Quantité reçue*	20 064	12 024	11 640	11 520	71 328	63 312	64 896	58 176	81 912
Distribution*									
Hôpital	-	-	-	2 303	-	4 030	5 757		
Officine	20 064	12 024	11 640	9 217	71 328	57 026	49 131	56 832	73 272
Exportation vers l'Algérie									
						2 256	10 008	1 344	8 640

* Nombre de boîtes de 425 g

En italique : lots non testés, non distribués dans les hôpitaux des cas au moment de leur survenue.

En gras : lot positif pour *E. sakazakii*.

(Source : Mead Johnson France).

Processus de fabrication

L'usine de Nijmegen produit 3 grands types de préparations en poudre pour nourrissons : hypoallergénique, "standard", "standard aromatisé". Ces produits contiennent des protéines, des sucres, un mélange d'huiles végétales et minérales, des sels minéraux, des vitamines et d'autres ingrédients complémentaires spécifiques de chaque produit.

Le procédé de fabrication comporte une première phase de mélange en milieu liquide suivie d'une phase de pulvérisation – séchage pour transformer le produit liquide

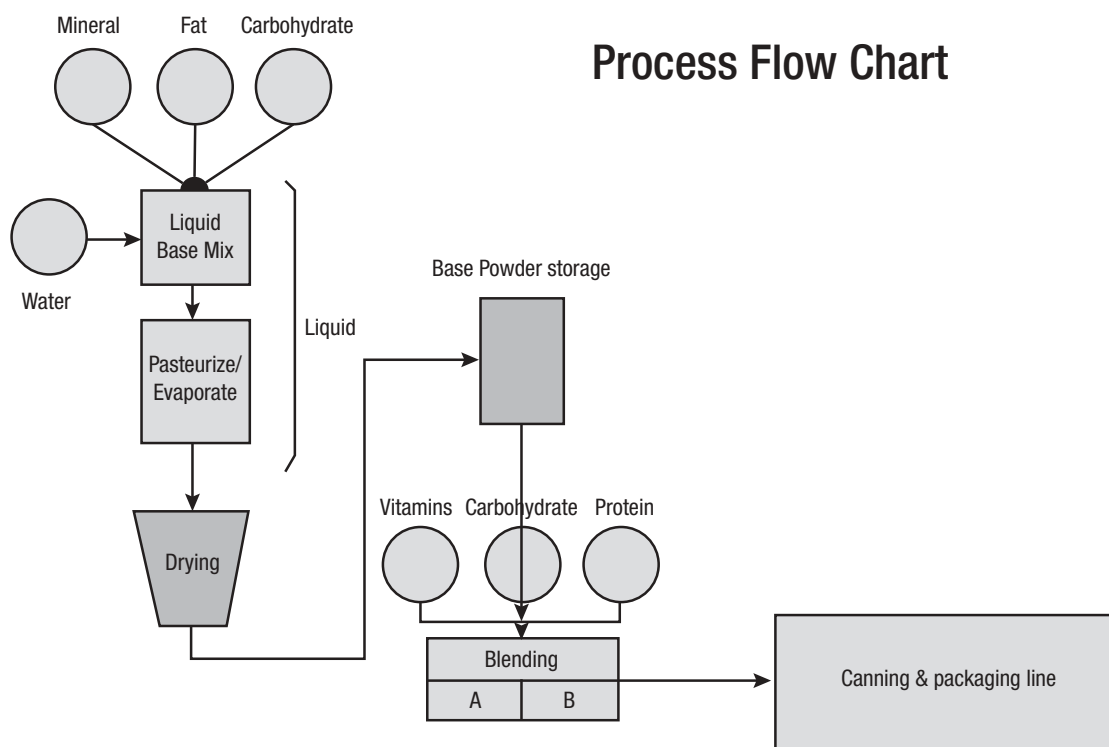
en "poudre base" alors stockée en silo. Les ingrédients thermosensibles comme les vitamines ou les sels minéraux sont ajoutés à cette "poudre base" par un système de transport sous vide. Le mélange est effectué à sec dans un mélangeur. La préparation en poudre "finale" est ensuite conditionnée en boîtes emballées en cartons de 24. Ces cartons sont ensuite préparés pour leur distribution dans les différents marchés (figure 15).

Chaque cycle de fabrication mensuel débute par un lavage de l'équipement et de l'environnement de production pour

éliminer toutes traces de protéines de lait, suivi d'une désinfection, d'un séchage approfondi et d'un rinçage avec une poudre inerte. La fabrication des préparations en poudre commence par les poudres hypoallergéniques et

évolue successivement vers les poudres "standard" puis les poudres "standard aromatisées". Un nouveau cycle de production peut ensuite commencer.

Figure 15 - Processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons dans l'usine des Pays-Bas. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



(Source : Mead Johnson France)

Spécificité de Pregestimil®

Pregestimil® est une poudre hypoallergénique qui nécessite l'absence de protéine de lait intacte. Ce produit est fabriqué en début de cycle après la phase de "lavage-séchage". Au cours de la phase de mélange en milieu liquide, des huiles MCT spécifiquement utilisées pour les indications de malabsorption sont ajoutées aux autres ingrédients communs à toutes les poudres. D'autres ingrédients, dont les protéines hydrolysées, sont ajoutés au cours de la phase de mélange à sec.

Contrôle de qualité

L'usine de Nijmegen est certifiée ISO 9002 : la procédure d'assurance qualité appliquée à cette usine comprend une validation des *process*, des audits internes, des contrôles de l'environnement, des contrôles et évaluations des fournisseurs de matières premières, des inspections du matériel, une procédure HACCP, une traçabilité, des contrôles sur les produits en cours de fabrication et les produits finis, et un contrôle de la stabilité de leurs qualités physiques et nutritionnelles.

La procédure HACCP mise en place pour la maîtrise du risque microbiologique comporte les points critiques suivants :

- une classification des produits selon l'âge du nourrisson auquel ils sont destinés et de spécifications particulières ; Pregestimil® est classé dans le groupe 1 pour nourrissons de 0 à 4 mois ;
- une analyse des risques microbiologiques, chimiques, physiques et allergéniques lors de la fabrication. L'analyse des risques microbiologiques pour les entérobactéries et *E. sakazakii* a identifié comme point critique de contamination les opérations faisant intervenir du personnel, les poussières et de l'air, les matières premières mélangées à sec avec la poudre et l'eau (utilisée pour le lavage ou la phase de mélange en milieu liquide).

Conformément à cette analyse, des mesures ont été mises en œuvre pour contrôler les risques suivants :

- interventions et manipulations humaines pouvant entraîner une contamination microbiologique : mise en

place de mesures d'hygiène et zonage de l'usine. Dans les zones les plus critiques, dites zones rouges, comme les zones de contacts directs entre les employés et les poudres, l'équipement est conçu afin de limiter au maximum les contacts, l'air est filtré, et les employés portent des vêtements adaptés ;

- risques liés aux poussières et aux particules de poudre : mise en place d'un programme de nettoyage et de contrôle de l'environnement. Le programme de contrôle décrit une stratégie d'échantillonnage adaptée aux différentes zones. Une recherche de *Salmonella* et d'entérobactéries est effectuée sur les surfaces, dans des prélèvements d'air et des prélèvements d'eau ;
- risque de contamination par voie aérienne pour les bactéries comme les entérobactéries, qui peuvent être transportées par les poussières : filtrage de l'air selon les recommandations européennes ;
- risque lié aux matières premières mélangées à sec : analyse microbiologique dont les résultats conditionnent leur utilisation en production ;
- risque lié à l'eau indispensable à la survie des bactéries : usage de l'eau interdit dans les zones de fabrication des poudres sèches lors du cycle de production. Des procédures validées (basées sur des critères de température et d'humidité) sont appliquées lors des étapes de lavage, rinçage, désinfection et séchage.

Enfin, des autocontrôles microbiologiques sont réalisés autant sur les produits finis que sur les produits

intermédiaires à différentes étapes du cycle de fabrication : lors de la phase de mélange en milieu liquide, sur la poudre base après la phase de pulvérisation-séchage, etc. Les échantillons sont analysés par la méthode G8119 avec recherche d'entérobactéries sur 5 échantillons de 5 g à chaque fois.

Incident lors de la production du lot S401026

En décembre 2004, Mead Johnson signalait à la DGS que la moitié du lot S401026 (produit en avril 2004) avait été rejeté pour non-conformité bactériologique. Les précisions suivantes ont été apportées par le producteur concernant cet incident.

La qualité microbiologique du lot S401026 a été testée lors de sa production de la manière suivante. Le lot a été divisé en 2 fractions successives ; chacune a été testée selon les procédures habituelles utilisées par Mead Johnson pour la recherche d'entérobactéries (5 échantillons de 5 g). La fraction 1 ne répondait pas aux critères de conformité et a été rejetée ; la fraction 2 ne présentait pas de problème de qualité microbiologique mais a été bloquée le temps de procéder à une analyse des causes du rejet de la fraction 1.

Des tests supplémentaires ont été effectués sur la fraction 1 pour mieux évaluer sa qualité : elle a été divisée en 4 parts successives selon l'heure de leur production. Chacune a été prélevée et testée spécifiquement à la recherche de *E. sakazakii* et de coliformes fécaux (sur 25 échantillons de 10 g). Les résultats de ces tests sont résumés dans le tableau ci-après (tableau 15).

Tableau 15 - Résultats des tests effectués lors de la production du lot S401026, fraction 1. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

Recherche de...	Part 1	Part 2	Part 3	Part 4
<i>E. sakazakii</i>	Négative	Positive	Négative	Négative
Coliformes fécaux	Négative	Négative	Négative	Négative

Comme indiqué ci-dessus, la part 2 était positive pour *E. sakazakii*. Les parts 3 et 4, qui précédaient immédiatement la fraction 2, ne présentaient aucune évidence d'une contamination par *E. sakazakii* ou de coliformes fécaux sur 25 échantillons de 10 g. Cette séquence fournissait des

arguments supplémentaires en faveur de la qualité microbiologique de la fraction 2, qui a été mise sur le marché. La totalité de la fraction 1 a été placée en quarantaine dans les entrepôts de Mead Johnson et ultérieurement détruite.

Annexe 14 - Actions prises par le producteur (en date du 18 février 2005)

Mead Johnson a accepté de coopérer avec les autorités sanitaires qui suggéraient un retrait volontaire du marché français de cet aliment diététique pour nourrissons destiné à des fins médicales spéciales. Les actions ultérieures prises, telles qu'elles ont été communiquées par Mead Johnson, sont listées ci-après.

Une fois informé de la situation, Mead Johnson a dépêché en France une équipe d'experts scientifiques, médicaux, de la sécurité alimentaire et de la fabrication pour mettre en route une investigation interne.

Les actions clés entreprises par Mead Johnson ont inclus, outre le retrait volontaire :

- une revue complète de l'ensemble des procédures de fabrication et des documents de contrôle qualité du produit en question. Ont été vérifiés :
 - l'ensemble des données et résultats de tests des matières premières utilisées dans la production de la préparation Pregestimil® en question,
 - les points de contrôle critiques, afin de s'assurer que des contrôles appropriés du processus de fabrication étaient bien en place,
 - l'ensemble des documents concernant les lots de fabrication, afin de vérifier l'absence de dérives ;
- la mise en place d'un centre d'appel du 11 décembre au 17 janvier, au travers duquel Mead Johnson a répondu à près de 11 000 appels de parents et de professionnels de santé inquiets (figure 16) :
 - sur la base d'un échantillon de 653 appels, Mead Johnson a déterminé que 81 % des appels émanaient de parents, et 17 % de pharmaciens,
 - les questions le plus souvent posées étaient : "Que s'est-il passé ?", "Quels sont les symptômes chez les enfants, la durée d'incubation et les symptômes des infections à *E. sakazakii*?",
 - pour les parents, les questions les plus cruciales étaient : "Que dois-je faire ?", "Mon bébé a pris du Pregestimil® durant 5 mois, quel est le risque ?",
 - pour les pharmaciens, les questions concernaient davantage les procédures de remboursement des boîtes rapportées par les parents ;
- [l'envoi d'un] courrier [...] adressé à l'ensemble des services de néonatalogie, des hôpitaux, des professionnels de santé et des pharmacies, sur la situation

et la nécessité de suivre les instructions de préparation stipulées sur la boîte du produit ; et [rappelant les] mesures importantes pour réduire le risque d'infection à *E. sakazakii* chez les nouveau-nés prématurés et immunodéprimés (encadré 1) ;

- un retrait mondial [de la préparation en poudre Pregestimil®], à l'exception des pays dans lesquels une préparation liquide stérile prête à l'emploi était disponible pour les situations à haut risque ; bien que la préparation liquide prête à l'emploi de Pregestimil® soit disponible dans d'autres marchés, elle n'est pas présente sur le marché français en raison de restrictions de l'Union européenne concernant certains stabilisateurs.

La revue du procédé de fabrication a montré que :

- les normes de qualité et les protocoles de tests Mead Johnson [étaient] conformes à la réglementation française et internationale ;
- l'ensemble des lots en question [avait] été testé avant libération et aux points de contrôle critiques au cours du processus de fabrication. La totalité des produits libérés répondaient aux normes Mead Johnson de qualité et de fabrication ;
- le COKZ (Institution néerlandaise de contrôle des produits laitiers) inspecte toutes les 2 semaines l'usine de fabrication et a confirmé que l'ensemble des systèmes de fabrication, de qualité et de sécurité alimentaire étaient adéquats et opérationnels selon les attentes ;
- après notification par Mead Johnson du retrait du produit en France, une inspection complète a été menée en décembre 2004 par la VWA (Autorité de la Sécurité des Aliments et des Produits de Consommation), avec de nouvelles analyses microbiologiques du Pregestimil® sur 8 lots de produits séparés. L'inspection de l'usine et ces nouvelles analyses du produit ont confirmé que l'ensemble des lots avait été produit et libéré conformément aux protocoles de contrôles de Mead Johnson et aux normes néerlandaises de qualité microbiologique (annexe 16) ;
- sur la base des informations publiées à ce jour relatives à la dose infectieuse, le protocole de test microbiologique de Mead Johnson pour la recherche [de] *E. sakazakii* dans Pregestimil® en poudre garantit que les taux de *E. sakazakii* retrouvés dans les poudres non stériles sont bien en deçà de la norme admise. En outre, les produits peuvent être utilisés en toute confiance pour tous les

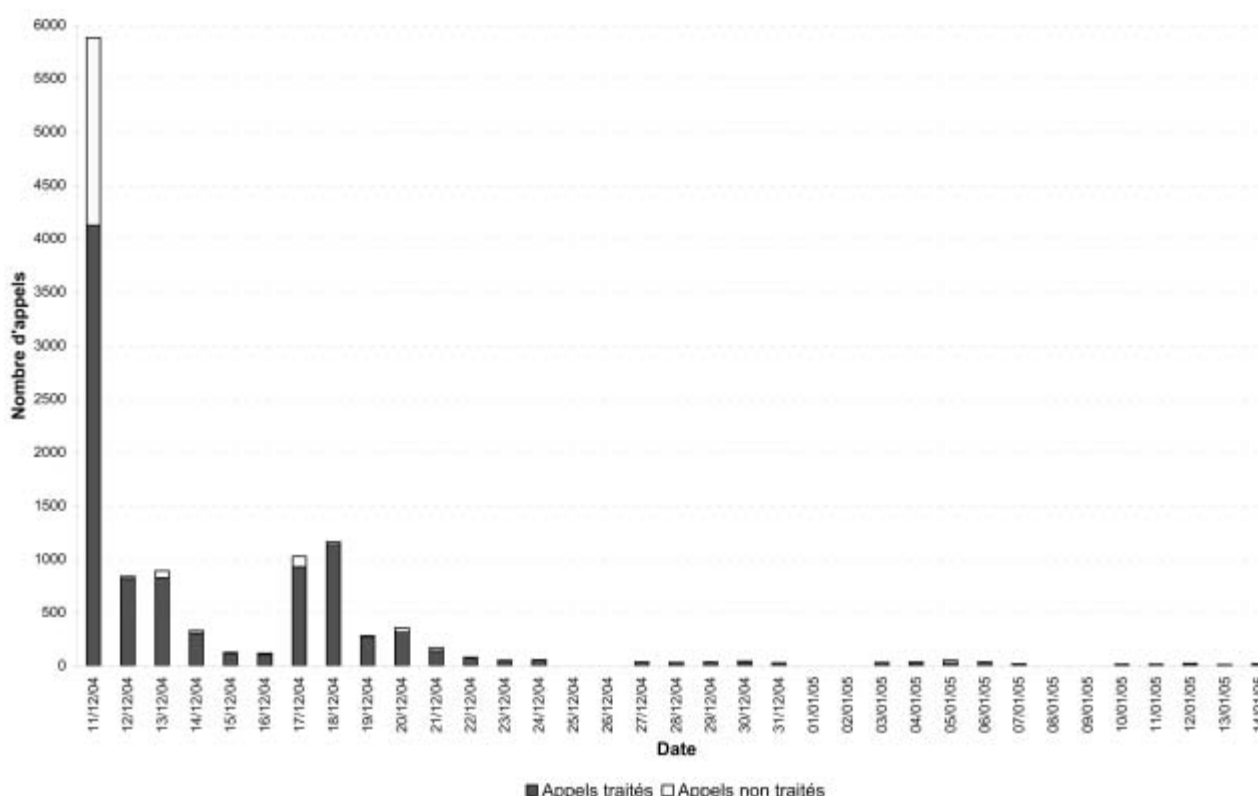
bébés lorsqu'ils sont préparés selon les directives fournies par Mead Johnson ;

- les résultats microbiologiques connus à ce jour confirment la notion scientifique admise selon laquelle la bactérie *E. sakazakii* est présente dans de nombreux aliments non stériles et soulignent la nécessité impérieuse de préparer, conserver et manipuler toutes les poudres de

préparation alimentaire infantile selon les directives spécifiques fournies par le fabricant ;

- des tests microbiologiques similaires ont été mis en œuvre par les autorités sanitaires italiennes et finlandaises, et les résultats de ces tests étaient négatifs en termes de présence de *E. sakazakii* ou de tout autre micro-organisme (encadré 2).

Figure 16 - Nombre total d'appels traités par les numéros verts mis en place par Mead Johnson en décembre 2004 et janvier 2005. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



Encadré 1 - Courrier adressé par Mead Johnson aux professionnels de santé. Infections et colonisations
à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004



Rueil Malmaison, le 24 Décembre 2004

Chèr(e) Docteur, Chèr(e) Confrère

Le Ministère de la Santé Français a émis une Alerte Rapide concernant quatre nourrissons prématurés nés entre octobre et décembre 2004 tombés malades suite à une infection avec *Enterobacter sakazakii*.

Quatre autres nourrissons ont été testés positifs à l'*E. sakazakii*, mais les informations reçues du Ministère de la Santé Français nous font comprendre qu'ils sont en bonne santé. Huit de ces neuf nourrissons ont été nourris avec Pregestimil (poudre).

Enterobacter sakazakii est un agent pathogène opportuniste qui présente peu de risques pour les nourrissons nés à terme en bonne santé. Cependant, chez certains nourrissons hautement vulnérables, ce microorganisme peut causer une infection grave et des états sérieux potentiellement létaux, comme une méningite. De manière spécifique, les nourrissons présentant le plus grand risque vis-à-vis de *E. sakazakii* sont les nourrissons nés avant terme, les nourrissons ayant un faible poids de naissance, et les nourrissons immunocompromis. Deux des nourrissons infectés sont décédés et les deux autres nourrissons demeurent malades. Mead Johnson & Company coopère étroitement avec les autorités françaises dans le cadre de l'enquête en cours sur la situation présente mais aucune cause directe n'a été déterminée. Les résultats des analyses microbiologiques effectuées par Mead Johnson et par les autorités internationales sur le produit préalablement à sa mise sur le marché, se sont révélés négatifs concernant *Enterobacter sakazakii*. En conséquence, la poudre Pregestimil a alors été considérée comme conforme à toutes les normes établies, qu'elles soient internationales ou propres à l'entreprise. En outre, les autorités internationales ont pu inspecter notre unité de production et ont conclu que tous les systèmes de fabrication, de qualité et de sécurité alimentaire sont appropriés et pleinement fonctionnels. Les autorités françaises procèdent également à l'investigation des méthodes et des pratiques de préparation, de conservation et d'utilisation des laits infantiles dans les hôpitaux où les infections se sont produites.

Au titre de mesure de précaution et en conformité avec notre engagement à fournir des produits nutritionnels sains et sûrs, nous rappelons volontairement tous les aliments diététiques en poudre Pregestimil® de France et des autres pays.

Mead Johnson étudie les méthodes nécessaires, le cas échéant, pour renforcer à nouveau l'importance d'une préparation, d'une conservation et d'une utilisation appropriées de l'aliment en poudre Pregestimil. Mead Johnson étudie également s'il y a lieu de mettre en place un avertissement complémentaire sur notre étiquetage dans certains pays .

Aucun lait infantile en poudre, produit aujourd'hui, n'est commercialement stérile. En conséquence, les organisations qui font autorité en matière de nutrition infantile (par ex. la FAO/OMS, l'American Dietetics Association [Association Américaine de Diététique], la Commission Nutrition de l'ESPHGAN) ne recommandent pas l'utilisation de laits infantiles en poudre pour les nourrissons hospitalisés en unités de soins néonataux intensifs, à moins qu'aucune autre alternative ne soit disponible. Mead Johnson & Company soutient cette recommandation. La présente lettre fournit des informations relatives à la qualité d'un lait infantile en poudre ainsi que des recommandations pour sa préparation, sa manipulation et sa conservation dans le cadre d'une utilisation en milieu hospitalier ou en unité néonatale de soins intensifs.

Tous les laits maternisés en poudre de Mead Johnson & Company sont fabriqués en observant strictement les règles de Bonnes Pratiques de Fabrication. Le processus de fabrication des laits infantiles en poudre et des laits infantiles sous forme liquide est différent. Les laits infantiles liquides sont exposés et peuvent résister à des températures élevées suffisamment longtemps pour les rendre commercialement stériles. Les laits infantiles en poudre sont certes soumis à des traitements thermiques au cours de leur processus de fabrication mais peuvent, comme l'eau du robinet et de nombreux aliments de consommation courante, contenir de faibles taux de bactéries. Les bactéries qui sont généralement non-pathogènes peuvent causer des maladies chez des patients ayant un système immunitaire affaibli. La simple existence de faibles taux de *E. sakazakii* dans un lait infantile en poudre doit être considérée comme un facteur de risque, étant donné son potentiel de multiplication pendant le temps de préparation et d'attente qui précède la consommation du lait infantile reconstitué. C'est pour cette raison, que l'utilisation de laits infantiles en poudre n'est pas recommandée pour les nourrissons en unité de soins néonataux intensifs ainsi que pour les nourrissons nés avant terme ou immunocompromis hospitalisés à moins qu'aucune alternative ne soit disponible.

La qualité du lait infantile en poudre reconstitué dépend du préparateur et des techniques utilisées. Des consignes détaillées de reconstitution et de conservation sont fournies sur l'étiquette. Les consignes de préparation, de conservation et d'utilisation doivent être suivies avec le plus grand soin. Un mélange ou une manipulation inappropriée de ces produits peut entraîner une contamination bactérienne, une maladie grave, et le décès des nourrissons à risques. Les recommandations suivantes doivent être observées afin de réduire le risque de contamination par *E. sakazakii* chez les nourrissons à risque :

- Les laits infantiles en poudre doivent être sélectionnés sur la base des besoins nutritionnels; des solutions alternatives au lait infantile en poudre devraient être choisies lorsque cela est possible.
- Le lait infantile en poudre doit être préparé par du personnel qualifié, en utilisant des techniques sanitaires appropriées dans une pièce de préparation désignée à cet effet. Le lait infantile en poudre ne doit pas être préparé au chevet du patient.
- Les instructions du fabricant doivent être suivies.
- Seule de l'eau commercialement stérile est recommandée pour la préparation du lait infantile en poudre. Les eaux distillées, déionisées ou embouteillées qui ne sont pas commercialement stériles doivent être préalablement stérilisées.

- Si le lait infantile en poudre doit être conservé pour une utilisation ultérieure, il doit être reconstitué avec de l'eau froide stérile, réfrigéré immédiatement à 4° C ou en dessous et utilisé dans les 24 heures suivant sa préparation. Tout lait infantile reconstitué à base de poudre et non utilisé doit être jeté.
- Les mixeurs ne sont pas recommandés pour la préparation du lait infantile en poudre.
- Le lait reconstitué à partir de poudre doit être consommé dans l'heure suivant sa préparation. Le lait restant après la tétée doit être jeté.
- En milieu hospitalier, l'administration ou le temps « d'accrochage » en cas d'alimentation entérale continue ne doit pas dépasser 4 heures.

L'observation de ces consignes spécifiques de reconstitution et de manipulation devrait permettre aux nourrissons de recevoir des repas d'une qualité microbiologique satisfaisante. Nous espérons que vous trouverez utiles les présentes informations et qu'elles vous aideront à apporter les meilleurs soins possibles aux nourrissons nés avant terme ou immunocompromis.

Nous vous remercions de partager la présente lettre avec vos collègues de travail et les autres personnes qui prennent des décisions en rapport avec ce sujet.

Veuillez agréer, Chèr(e) Docteur, Cher Confrère, l'expression de nos salutations distinguées,



Jon Vanderhoof, M.D.
Vice President, Global Medical Affairs
Mead Johnson & Company

Boris Auguste
Directeur Général
Mead Johnson France
Belgique/UK/Irlande

Encadré 2 - Résultats des analyses des autorités sanitaires italiennes et finlandaises. Infections et colonisations à *E. sakazakii*, France, octobre à décembre 2004

07 Feb 05 18:57 +390650396576 p. 2



SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE
REGIONE PIEMONTE
A.S.L. 1 TORINO
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE
 S.C. SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE
 via della Consolata, 10 - 10122 TORINO
 tel. 011/5663134 - Fax 011/5663016
 dipprevenzione@asl1.to.it

Prot. 01338 Torino li, 27 GEN. 2005

OGGETTO:
 Registro Campioni N 293

Spett. Mead Jonhson Nutritional
 Via V. Maroso, 50
 00142 ROMA

Spett. Superm. IPERBIMBO
 CAGI srl.
 C.so Bramante, 14
 10134 Torino

Si comunica che i campioni di
ALIMENTO DIETETICO IN POLVERE A FINI MEDICI SPECIALI PER LATTANTI E
BAMBINI del 16/12/2004

sono stati sottoposti ad analisi presso il Laboratorio del Dipartimento Subprovinciale
 dell'Agenzia Regionale Protezione Ambiente di Torino e sono risultati:
 REGOLAMENTARI



Il Dirigente Medico
 (Dr. Filippo De Naro, Papa)

L:\CURT1\2005\esitiregol.doc

07 Feb 05 18:57

+390650396576

p. 3



SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE
REGIONE PIEMONTE
A.S.L. 1 TORINO
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE
S.C. SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE
via della Consolata, 10 - 10122 TORINO
tel. 011/5663134 - Fax 011/5663016
dipprevenzione@asl1.to.it

RACCOMANDATA

29 DIC. 2004

Prot.

23683

Torino li,

Spett.le MEAD Jonhson Nutritional
Via V. Maroso, 50
00142 ROMA

Campione n. 293

OGGETTO: Prelevamento campione di **Alimento dietetico in polvere a fini medici speciali per lattanti e bambini**

effettuato il 16/12/2004 presso l'esercizio commerciale IperBimbo - CAGI srl. - sito in Torino - C.so Bramante, 14

Ai sensi dell'art. 15, del D.P.R. 26/3/80, n. 327, si trasmette copia del verbale di prelevamento del prodotto citato in oggetto;
Si comunica nel contempo che:

☒ potrà ritirare un campione di cui all'oggetto, tenuto a disposizione per gg. 60 dalla data di prelevamento, direttamente presso il Dipartimento Subprovinciale A.R.P.A. di Torino via San Domenico, 22/B - 2° piano - Segreteria accettazione campioni, anche a mezzo di persona munita di delega scritta ed autorizzata a rilasciare ricevuta di scarico.

☐ non è a disposizione l'aliquota specifica in considerazione del tipo di analisi sul campione di cui all'oggetto.

Allegati n. 1



P. IL DIRETTORE
S.C. SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE

Il Dirigente Medico
(Dr. Filippo De Naro Papa)

L:\CURTI\2004\2004\SUNDA YAVPR293\2004.doc

07 Feb 05 18:57

+390650396576

p. 4

SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE
REGIONE PIEMONTE - AZIENDA U.S.L. 1 - TORINO
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE

PROT. N. 29310

VERBALE DI PRELEVAMENTO CAMPIONI N. 829.BV

L'anno 2004 addì dodici del mese di dicembre alle ore 10³⁰
i sottoscritti Ispettori d'Igiene VARELLA, G. e BOCHICCIARI, VITO
Ufficiali di P.G. si sono presentati presso L. R. 333 R. INACC. 10 10000 BINGO sito
in Torino ES 3000000 16 della Ditta SAGI SRL
in persona del Sig. GIORDANO Salvatore quale Legale rappresentante
nato a Trino il 01.05.1974 e domiciliato in Trino ES 3000000 16

ove hanno proceduto al prelievo di campioni di ALIMENTO DIETETICO IN POLVERE A FINI MEDICI
SERBIALI PER LATTANTI E BAMBINI in confezioni sigillate
senza data di scadenza e di scadenza, sigillate in vetro e in alluminio
in due confezioni sigillate alla scappatoia industriale: 400g e 22.28" sulla confezione apparente di un campione, che
alla data di scadenza è stata - ha altre - riferita la sigla
imprescindibile "BIOLOGICO" - Prodotto da Head Johnson BV NL - Sigla imprescindibile
Distribuita da Head Johnson Nutritional Division della Breda-Falgers
Squibb SpA Via V. Marco 52 00142 ROMA consegnata al Sig. Dr.
il 13.7.2002 con CB 1494/21 del 23.02.1999 - ESARE EMILIO R. 08.05.02
LOTTO N° 5350001 - 400g e"

In presenza del Sig. GIORDANO Salvatore in qualità di Legale rappresentante
nato a Trino il 01.05.74 domiciliato in
prelevavano il quantitativo di Legge nei modi regolamentari a cinque confezioni di campione
scelte a rotazione n° 15 esposte in vetrina

che dividevano in n. cinque aliquote composte ciascuna da una confezione sigillata
che venivano conservate in sacchetti di carta

suggerite regolarmente con i sigilli metallici d'Ufficio siglati ASL 1 TO
e muniti di cartellini contrassegnati con A B-C-D-E firmati dagli intervenuti.
Non si è proceduto al sequestro del prodotto

Un campione con relativo verbale viene rilasciato al Sig. GIORDANO Salvatore
Gli altri campioni saranno consegnati al Laboratorio A.R.P.A. per le relative analisi microbiologiche

il trasporto verrà effettuato mediante
le analisi saranno effettuate il alle ore presso

il Sig. GIORDANO Salvatore presente all'operazione ha dichiarato: tutto

Di quanto precede si è redatto il presente verbale che i Sig. GIORDANO Salvatore
ha firmato dopo fargliene lettura.

Firma del presente al prelievo

Firma dei Verbalizzanti

07 Feb 05 18:57

+390650396576

p. 5



SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE
REGIONE PIEMONTE
A.S.L. 1 TORINO
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE
S.C. SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE
via della Consolata, 10 - 10122 TORINO
tel. 011/5663134 - Fax 011/5663016
dipprevenzione@asl1.to.it

27 GEN. 2005

Prot.

01337

Torino li,

OGGETTO:

Registro Campioni N 292

Spett. Mead Jonhson Nutritional
Via V. Maroso, 50
00142 ROMA

Spett. Superm. BUBE srl.
C.so Racconigi, 141b
10141 Torino

Si comunica che i campioni di

ALIMENTO DIETETICO IN POLVERE A FINI MEDICI SPECIALI PER LATTANTI E
BAMBINI (PREGESTIMIL) del 16/12/2004

sono stati sottoposti ad analisi presso il Laboratorio del Dipartimento Subprovinciale
dell'Agenzia Regionale Protezione Ambiente di Torino e sono risultati:
REGOLAMENTARI


Il Dirigente Medico
(Dr. Filippo De Naro Papa)

L:\CURTI\2005\esitiregol.doc

07 Feb 05 18:58

+390650396576

p. 6



SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE
REGIONE PIEMONTE
A.S.L. 1 TORINO
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE
S.C. SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE
via della Consolata, 10 - 10122 TORINO
tel. 011/5663134 - Fax 011/5663016
dipprevenzione@asl1.to.it

RACCOMANDATA

20 DIC. 2004

Prot.

Torino IL

-23684-

Spett.le MEAD-Johnson Nutritional
Via V. Maroso, 50
00142 ROMA

Campione n. 292

OGGETTO: Prelevamento campione di **Alimento dietetico in polvere a fini medici speciali per lattanti e bambini "pregestimil"**

effettuato il 16/12/2004 presso il SUPERMERCATO Alim. per l'infanzia - BUBE, Universo Bimbo srl. - sito in Torino - C.so Racconigi, 141B.

Ai sensi dell'art. 15, del D.P.R. 26/3/80, n. 327, si trasmette copia del verbale di prelevamento del prodotto citato in oggetto.
Si comunica nel contempo che:

☒ potrà ritirare un campione di cui all'oggetto, tenuto a disposizione per gg. 60 dalla data di prelevamento, direttamente presso il Dipartimento Subprovinciale A.R.P.A. di Torino via San Domenico, 22/B - 2° piano - Segreteria accettazione campioni, anche a mezzo di persona munita di delega scritta ed autorizzata a rilasciare ricevuta di scarico.

☐ non è a disposizione l'aliquota specifica in considerazione del tipo di analisi sul campione di cui all'oggetto.

Allegati n. 1.



P. IL DIRETTORE
SERVIZIO IGIENE ALIMENTI E NUTRIZIONE

Il Dirigente Medico
(Dr. Filippo De Naro Papa)

I:\CURTI\2004\2004\SUNDAY\avpr292.2004.doc

P. 7

PROT. N. 29

VERBALE DI PRELEVAMENTO CAMPIONI N. 694 PV

L'anno 2004 addì 16 del mese di DICEMBRE alle ore 10 30
 sottoscritti ispettori d'Igione Ferdinando Sargone Vaccaro
 Ufficiali di P.G. si sono presentati presso BUBE SRL - UNIVERSO BUBB
 in Torino CARRONATI 141 B della Ditta BUBE SRL
 in persona del Sig. BUSCA ANDREA
 nato a TORINO il 06-06-1966 quale leg. zeppe
ma Duca degli Azzurri 6 e domiciliato in via Bialle Torino

[illegible]

che dividevano in n. 5 aliquote ^{chiave} costanti da 1 all'anno del peso di 11.600
sacchini in sacchetti di carta

Suggerite regolarmente con i sigilli metallici d'Ufficio siglati ASL TO 1
e muniti di cartellini contrassegnati con A - B - C - D - E
Non si è proceduto al sequestro del prodotto _____ firmati dagli intervenuti _____

Un campione con relativo verbale viene rilasciato al Sig. La Spella
Gli altri campioni saranno consegnati al Laboratorio A.R.P.A. per le relative analisi Microbiologiche
(FRANCESCO ENRIKO BACER)
Il trasporto verrà effettuato mediante
le analisi saranno effettuate il

Il Sig. La Stella presente all'operazione ha dichiarato di aver
ricevuto il prodotto oggetto di compravendita direttamente da BRUNO RYAN
IOABB srl con la lettura allegata in copia.

Di quanto precede si è redatto il presente verbale che il Sig. La Stella invece
ha firmato dopo fattagliene lettura.

Firma del presente al prelievo

RUBE s. r. l.

Firma del Verbalizzante

Sede Legale: 10128 TORINO
C.so Duca degli Abruzzi, 6 bis
Punto Vendita: C.so Racconigi, 14
10141 TORINO - Tel. 011/3825127
C.F. e P.I.V.A. 07345020015
Cap. Sociale € 10.400

100-389314A

10/02/2005 18:16 004687048950

MEAD JOHNSON

SPAR L02/03



**EELA NATIONAL VETERINARY AND FOOD
RESEARCH INSTITUTE**

Department of Bacteriology

PL 45 (Hämeentie 57), 00581 Helsinki

Phone: 3589 393 101 Telefax: 3589 393 1811

REPORT

1(2)

HELSINKI 28.1.2005
DN:r 15.12.2004/121, 2
E1 6997-7006

Mead Johnson Nutritionals c/o
Bristol-Myers Squibb
Orland Lena
Box 15 200
SE-167 15 Bromma
SVERIGE

Customer: Elintarvikevirasto Terveystieteiden tutkimuskeskus, Päättäväinen, PL
28. 00581 HELSINKI

Owner: Bristol-Myers Squibb Finland, Muhonen Timo, Metsäneidonkuja 8,
02130 ESPOO

Sample: Infant milk formula, 10 pcs
Pregestimil

Date of arrival: 15.12.2004 Date of sampling: 15.12.2004
Testing started on: 11.1.2005

Reason for study: microbiological quality

Studied for/method: Detection of *Enterobacter sakazakii* / ISO/PDTS, 2004-09-10 (EELA 3518)

Person in charge: Ph.D. Microbiologist-Tuula Johansson, 09-- 3931 844

Result:

E1 6997, Pregestimil, S301149, 450 g, date of manufacture 11.4.2003, used by 10.4.2005

Enterobacter sakazakii not detected

El 6998, Pregestimil, S301149, date of manufacture 11.4.2003, used by 10.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected

El 6999, Pregestimil, S301149, 450 g, date of manufacture 11.4.2003, used by 10.4.2005

Enterobacter sakazakii not detected

El 7000, Pregestimil, S301149, date of manufacture 11.4.2003, used by 10.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected

El 7001, Pregestimil, 5301149, date of manufacture 11.4.2003, used by 10.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected

E1 7002, Pregestimil, S302273, 450 g, date of manufacture 15.7.2003, used by 17.4.2005

Enterobacter sakazakii not detected

E1 7003, Pregestimil, S302273, date of manufacture 15.7.2003, used by 17.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected

E1 7004, Pregestimil, S302273, 450 g, date of manufacture 15.7.2003, used by 17.4.2005

The results presented above apply only to the samples examined. This report can only be photocopied in its entirety. No part of this report may be otherwise reproduced, or published, without the prior written permission of the National Veterinary and Food Research Institute and investigator-in-charge.



10/02/2005 18:16 004687048950

MEAD JOHNSON

SPAR L03/03



**EELA NATIONAL VETERINARY AND FOOD
RESEARCH INSTITUTE**
Department of Bacteriology

2 (2)
DN:r 15.12.2004/121, 2
E1 6997-7006

Enterobacter sakazakii not detected

E1 7005, Pregestimil, S302273, date of manufacture 15.7.2003, used by 17.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected

E1 7006, Pregestimil, S302273, date of manufacture 15.7.2003, used by 17.4.2005
Enterobacter sakazakii not detected



The results presented above apply only to the samples examined. This report can only be photocopied in its entirety. No part of this report may be otherwise reproduced, or published, without the prior written permission of the National Veterinary and Food Research Institute and investigator-in-charge.

Annexe 15 - Résultats de l'inspection de l'usine de Nijmegen par les autorités sanitaires hollandaises le 12 décembre 2004



<http://www.vwa.nl/>

Microbiological analysis of Pregestimel and Nutramigen

Samples

The following samples were taken on Sunday 12th December 2004 at the production plant of Mead Johnson, Nijmegen, The Netherlands:

- Lot no 401725 Pregestimel
- Lot no 401719 Pregestimel (recalled out)
- Lot no 401726 Nutramigen
- Lot no 401419 Pregestimel
- Lot no 401420 Pregestimel (recalled out)
- Lot no 401421 Pregestimel
- Lot no 402076 Pregestimel
- Lot no 402077 Pregestimel (recalled out)
- Lot no 402078 Nutramigen

The samples were analysed for the presence of *Enterobacter sakazakii* (in 50 g), *Salmonella* (in 50 g) and *Enterobacteriaceae* (in 1 g).

Methods

Methods used for the detection of *Salmonella* and *Enterobacteriaceae* were equivalent to ISO methods.

For the detection of *Enterobacter sakazakii* a method developed by Nestlé (Lausanne) (Journal of Food Protection, in press) was used. The method is based on a non-selective enrichment in Buffered Peptone Water (16-20 h, 37°C), followed by selective enrichment in Lauryl Sulfate Tryptose broth supplemented with 0.5 M salt and 10 mg/L vancomycin (22-24h, 45°C) and plating on Tryptone Soy Agar (18-24h, 37°C). Confirmation of typical yellow pigmented colonies with α-glucosidase and the API20E system. The method applied is the basis for the new ISO method for *Enterobacter sakazakii*, which is in the drafting phase at the moment.

Besides the cultural method the detection of *Enterobacter sakazakii* in the non-selective enrichment broth and in the selective enrichment broth was also analysed using a Polymerase Chain Reaction (PCR) method with specific primer combinations for *Enterobacter sakazakii*.

Results

For the 9 tested samples the results were as following:

- *Enterobacter sakazakii* not present in 50 g of product (both with cultural and PCR method)
- *Salmonella* not present in 50 g of product
- *Enterobacteriaceae* not present in 1 g of product

Annexe 16 - Étiquette de boîte de Pregestimil®

Version utilisée en France avant l'alerte de décembre 2004

Pregestimil®

Important : À utiliser que sous contrôle médical. Cet aliment complet et équilibré peut être utilisé comme seule source de nutrition jusqu'à 6 mois. **Pregestimil®** est un aliment de régime spécialement conçu pour répondre aux besoins nutritionnels des nourrissons en cas d'allergie alimentaire, de ses manifestations digestives et cutanées ainsi que dans les diarrhées chroniques et les troubles de l'absorption des graisses, des glucides et des protéines.

Consulter votre médecin lors de l'introduction de nouveaux aliments dans le régime de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge/semaines	Biberons/24 heures	Eau (ml)	Nb de mesurettes
0 - 2	6-7	90	3
2 - 4	6	120	4
4 - 8	5-6	150	5
8 - 12	5	180	6
12 et +	4-5	210	7

Préparation du biberon : Il est essentiel pour la santé de votre bébé de suivre attentivement les instructions de préparation et de conservation mentionnées ci-dessous. **Mise en garde :** Si la poudre est trop diluée (pas assez de poudre ou trop d'eau), ou trop concentrée (trop de poudre ou pas assez d'eau), votre bébé n'aura pas une alimentation équilibrée.

Conservation : Refermer la boîte après chaque utilisation et la conserver dans un endroit frais et sec. Utiliser le contenu de la boîte sous un mois.

Aliment diététique destiné à des fins médicales spéciales. À consommer de préférence avant la date indiquée sur le fond de la boîte.

Traitement diététique des allergies aux protéines de lait de vache et des malabsorptions digestives

Hydrolysat de protéines pour nourrissons et enfants en bas âge

425g e

Mead Johnson

Pregestimil®

Important : À utiliser que sous contrôle médical. Cet aliment complet et équilibré peut être utilisé comme seule source de nutrition jusqu'à 6 mois. **Pregestimil®** est un aliment de régime spécialement conçu pour répondre aux besoins nutritionnels des nourrissons en cas d'allergie alimentaire, de ses manifestations digestives et cutanées ainsi que dans les diarrhées chroniques et les troubles de l'absorption des graisses, des glucides et des protéines.

Consulter votre médecin lors de l'introduction de nouveaux aliments dans le régime de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge/semaines	Biberons/24 heures	Eau (ml)	Nb de mesurettes
0 - 2	6-7	90	3
2 - 4	6	120	4
4 - 8	5-6	150	5
8 - 12	5	180	6
12 et +	4-5	210	7

Préparation du biberon : Il est essentiel pour la santé de votre bébé de suivre attentivement les instructions de préparation et de conservation mentionnées ci-dessous. **Mise en garde :** Si la poudre est trop diluée (pas assez de poudre ou trop d'eau), ou trop concentrée (trop de poudre ou pas assez d'eau), votre bébé n'aura pas une alimentation équilibrée.

Conservation : Refermer la boîte après chaque utilisation et la conserver dans un endroit frais et sec. Utiliser le contenu de la boîte sous un mois.

Aliment diététique destiné à des fins médicales spéciales. À consommer de préférence avant la date indiquée sur le fond de la boîte.

Pregestimil®

Important : À utiliser que sous contrôle médical. Cet aliment complet et équilibré peut être utilisé comme seule source de nutrition jusqu'à 6 mois. **Pregestimil®** est un aliment de régime spécialement conçu pour répondre aux besoins nutritionnels des nourrissons en cas d'allergie alimentaire, de ses manifestations digestives et cutanées ainsi que dans les diarrhées chroniques et les troubles de l'absorption des graisses, des glucides et des protéines.

Consulter votre médecin lors de l'introduction de nouveaux aliments dans le régime de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge/semaines	Biberons/24 heures	Eau (ml)	Nb de mesurettes
0 - 2	6-7	90	3
2 - 4	6	120	4
4 - 8	5-6	150	5
8 - 12	5	180	6
12 et +	4-5	210	7

Préparation du biberon : Il est essentiel pour la santé de votre bébé de suivre attentivement les instructions de préparation et de conservation mentionnées ci-dessous. **Mise en garde :** Si la poudre est trop diluée (pas assez de poudre ou trop d'eau), ou trop concentrée (trop de poudre ou pas assez d'eau), votre bébé n'aura pas une alimentation équilibrée.

1. Nettoyer et stériliser biberons, tétines et bouchons avant utilisation.

2. Utiliser une eau minérale recommandée pour les nourrissons ou de l'eau bouillie pendant 5 minutes puis refroidie.

3. Verser dans le biberon stérilisé la quantité d'eau nécessaire.

4. Ajouter le nombre correspondant de mesurettes rases de Pregestimil® suivant le tableau ci-dessus. Ne pas tasser la poudre dans la mesurette. Toujours ajouter la poudre à l'eau.

5. Fermer le biberon et agiter. Vérifier la température sur le dos de la main. Consommer le contenu du biberon immédiatement. Après la tétée, jeter le produit restant.

Conservation : Refermer la boîte après chaque utilisation et la conserver dans un endroit frais et sec. Utiliser le contenu de la boîte sous un mois.

Aliment diététique destiné à des fins médicales spéciales. À consommer de préférence avant la date indiquée sur le fond de la boîte.

Version utilisée lors de la réintroduction sur le marché français en novembre 2005
(noter l'avertissement dans l'encadré rouge et les précautions d'emploi)

Pregestimil® Poudre

Important : L'alimentation maternelle constitue la meilleure alimentation pour les nourrissons. Pregestimil est destiné aux nourrissons dès la naissance, et non allaités. Il répond à leurs besoins nutritionnels en cas de troubles de l'absorption/de la digestion, de l'allergie aux protéines de lait de vache et peut être utilisé comme seule source de nutrition. À n'utiliser que sous contrôle médical.

Instructions de préparation et d'utilisation

ATTENTION : Pour la santé de votre bébé nous vous conseillons de suivre rigoureusement les instructions ci-dessous en suivant les conseils donnés par le corps médical. Une mauvaise hygiène ou une préparation, dilution, utilisation ou conservation inadéquate peut avoir de graves conséquences sur sa santé. Les préparations en poudre destinées aux nourrissons ne sont pas stériles et ne doivent pas être utilisées pour l'alimentation des prématurés ou immunodéprimés sans conseil ni contrôle médical. Toujours demander conseil à votre médecin sur la formule la plus adaptée à votre bébé.

Tableau indicatif d'alimentation

Le tableau ci-dessous vous indique les quantités exactes de poudre et d'eau bouillie selon l'âge de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge	Nombre de biberons / 24h	Eau (ml)	Mesurettes*	Volume moyen de lait (ml)
0 - 2 semaines	6	90	3	100
2 - 4 semaines	5 - 6	120	4	130
1 - 2 mois	5	150	5	170
2 - 4 mois	4 - 5	180	6	200
> 4 mois	4	210	7	230

*Utiliser uniquement la mesurette contenue dans la boîte. Après chaque utilisation, assurez-vous qu'elle soit bien sèche et remplacez-la dans sa boîte. 1 mesurette (4,5 g) pour 30 ml d'eau. Ne pas tasser la poudre dans la mesurette et tasser à l'aide d'un couteau propre et sec.

Précautions d'emploi

Ne pas suivre ces instructions peut nuire à la santé de votre enfant. Une fois reconstitué, le biberon peut devenir rapidement impropre à la consommation ; aussi donnez-le immédiatement après sa préparation, ou conservez-le au réfrigérateur entre 2°C et 4°C pour une durée maximum de 24 heures. N'utilisez pas le contenu du biberon s'il est resté plus de 2 heures hors du réfrigérateur. Utilisez-le dans l'heure suivant le début de la tétée et ne remplacez jamais au réfrigérateur un biberon entamé. Après la tétée, jetez le produit restant et nettoyez le biberon et ses accessoires. Ne pas congeler la préparation.

Vérifiez la température en versant quelques gouttes de lait sur l'intérieur de votre poignet.
Attention : Évitez l'utilisation d'un four à micro-ondes pour chauffer la préparation, car cela peut entraîner de graves brûlures.

Conservation de la poudre : Conservez la boîte dans un endroit frais et sec. Après chaque utilisation, veillez à la refermer soigneusement avec son couvercle plastique et à la maintenir dans un endroit sec. Utilisez son contenu sous 1 mois. Ne pas congeler la poudre et éviter les expositions à de fortes chaleurs.

A consommer avant : voir le fond de la boîte



Pregestimil®

Hydrolysat poussé de protéines avec triglycérides à chaîne moyenne

Pour les besoins nutritionnels en cas de :

- Malabsorptions/malabsorptions
- Diarrhées chroniques/sévères
- Allergie aux protéines de lait de vache
- Diarrhées aiguës de nourrissons de moins de 1 mois

Dès la naissance

425g e

Mead Johnson Nutritionals

Pregestimil®

Important : L'alimentation maternelle constitue la meilleure alimentation pour les nourrissons. Pregestimil est destiné aux nourrissons dès la naissance, et non allaités. Il répond à leurs besoins nutritionnels en cas de troubles de l'absorption/de la digestion, de l'allergie aux protéines de lait de vache et peut être utilisé comme seule source de nutrition. À n'utiliser que sous contrôle médical.

Instructions de préparation et d'utilisation

ATTENTION : Pour la santé de votre bébé nous vous conseillons de suivre rigoureusement les instructions ci-dessous en suivant les conseils donnés par le corps médical. Une mauvaise hygiène ou une préparation, dilution, utilisation ou conservation inadéquate peut avoir de graves conséquences sur sa santé. Les préparations en poudre destinées aux nourrissons ne sont pas stériles et ne doivent pas être utilisées pour l'alimentation des prématurés ou immunodéprimés sans conseil ni contrôle médical. Toujours demander conseil à votre médecin sur la formule la plus adaptée à votre bébé.

Tableau indicatif d'alimentation

Le tableau ci-dessous vous indique les quantités exactes de poudre et d'eau bouillie selon l'âge de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge	Nombre de biberons / 24h	Eau (ml)	Mesurettes*	Volume moyen de lait (ml)
0 - 2 semaines	6	90	3	100
2 - 4 semaines	5 - 6	120	4	130
1 - 2 mois	5	150	5	170
2 - 4 mois	4 - 5	180	6	200
> 4 mois	4	210	7	230

*Utiliser uniquement la mesurette contenue dans la boîte. Après chaque utilisation, assurez-vous qu'elle soit bien sèche et remplacez-la dans sa boîte. 1 mesurette (4,5 g) pour 30 ml d'eau. Ne pas tasser la poudre dans la mesurette et tasser à l'aide d'un couteau propre et sec.

Précautions d'emploi

Ne pas suivre ces instructions peut nuire à la santé de votre enfant. Une fois reconstitué, le biberon peut devenir rapidement impropre à la consommation ; aussi donnez-le immédiatement après sa préparation, ou conservez-le au réfrigérateur entre 2°C et 4°C pour une durée maximum de 24 heures. N'utilisez pas le contenu du biberon s'il est resté plus de 2 heures hors du réfrigérateur. Utilisez-le dans l'heure suivant le début de la tétée et ne remplacez jamais au réfrigérateur un biberon entamé. Après la tétée, jetez le produit restant et nettoyez le biberon et ses accessoires. Ne pas congeler la préparation.

Vérifiez la température en versant quelques gouttes de lait sur l'intérieur de votre poignet.
Attention : Évitez l'utilisation d'un four à micro-ondes pour chauffer la préparation, car cela peut entraîner de graves brûlures.

Conservation de la poudre : Conservez la boîte dans un endroit frais et sec. Après chaque utilisation, veillez à la refermer soigneusement avec son couvercle plastique et à la maintenir dans un endroit sec. Utilisez son contenu sous 1 mois. Ne pas congeler la poudre et éviter les expositions à de fortes chaleurs.

A consommer avant : voir le fond de la boîte

Pregestimil® Poudre

Aliment diététique destiné à des fins médicales spéciales

Important : L'alimentation maternelle constitue la meilleure alimentation pour les nourrissons. Pregestimil est destiné aux nourrissons dès la naissance, et non allaités. Il répond à leurs besoins nutritionnels en cas de troubles de l'absorption/de la digestion, de l'allergie aux protéines de lait de vache et peut être utilisé comme seule source de nutrition. À n'utiliser que sous contrôle médical.

Instructions de préparation et d'utilisation

ATTENTION : Pour la santé de votre bébé nous vous conseillons de suivre rigoureusement les instructions ci-dessous en suivant les conseils donnés par le corps médical. Une mauvaise hygiène ou une préparation, dilution, utilisation ou conservation inadéquate peut avoir de graves conséquences sur sa santé. Les préparations en poudre destinées aux nourrissons ne sont pas stériles et ne doivent pas être utilisées pour l'alimentation des prématurés ou immunodéprimés sans conseil ni contrôle médical. Toujours demander conseil à votre médecin sur la formule la plus adaptée à votre bébé.

Tableau indicatif d'alimentation

Le tableau ci-dessous vous indique les quantités exactes de poudre et d'eau bouillie selon l'âge de votre bébé. Le volume et le nombre de repas pourront être adaptés aux besoins de votre nourrisson, selon les conseils de votre médecin.

Âge	Nombre de biberons / 24h	Eau (ml)	Mesurettes*	Volume moyen de lait (ml)
0 - 2 semaines	6	90	3	100
2 - 4 semaines	5 - 6	120	4	130
1 - 2 mois	5	150	5	170
2 - 4 mois	4 - 5	180	6	200
> 4 mois	4	210	7	230

*Utiliser uniquement la mesurette contenue dans la boîte. Après chaque utilisation, assurez-vous qu'elle soit bien sèche et remplacez-la dans sa boîte. 1 mesurette (4,5 g) pour 30 ml d'eau. Ne pas tasser la poudre dans la mesurette et tasser à l'aide d'un couteau propre et sec.

Précautions d'emploi

Ne pas suivre ces instructions peut nuire à la santé de votre enfant. Une fois reconstitué, le biberon peut devenir rapidement impropre à la consommation ; aussi donnez-le immédiatement après sa préparation, ou conservez-le au réfrigérateur entre 2°C et 4°C pour une durée maximum de 24 heures. N'utilisez pas le contenu du biberon s'il est resté plus de 2 heures hors du réfrigérateur. Utilisez-le dans l'heure suivant le début de la tétée et ne remplacez jamais au réfrigérateur un biberon entamé. Après la tétée, jetez le produit restant et nettoyez le biberon et ses accessoires. Ne pas congeler la préparation.



1. Lavez-vous soigneusement les mains avec de l'eau et du savon avant chaque préparation de biberon.



2. Lavez et stérilisez biberons, tétines, bouchons ainsi que les ustensiles dans de l'eau (1 minute à l'eau bouillante).



3. Amenez à ébullition de l'eau fraîche et faites-la bouillir pendant 1 minute. Laissez refroidir jusqu'à température ambiante avant de reconstituer le mélange.



4. Versez la quantité d'eau refroidie désirée dans le biberon. Toujours ajouter la poudre à l'eau.



5. Fermez le biberon. Roulez-le tout d'abord entre vos mains, puis secouez-le énergiquement jusqu'à complète dissolution de la poudre.

Vérifiez la température en versant quelques gouttes de lait sur l'intérieur de votre poignet.

Attention : Évitez l'utilisation d'un four à micro-ondes pour chauffer la préparation, car cela peut entraîner de graves brûlures.

Conservation de la poudre : Conservez la boîte dans un endroit frais et sec. Après chaque utilisation, veillez à la refermer soigneusement avec son couvercle plastique et à la maintenir dans un endroit sec. Utilisez son contenu sous 1 mois. Ne pas congeler la poudre et éviter les expositions à de fortes chaleurs.

A consommer avant :
voir le fond de la boîte

(Étiquettes reproduites avec l'accord du fabricant – © Mead Johnson Nutritionals)

Annexe 17 - Questionnaire InVS de recueil d'information sur les cas

INFECTIONS A *E. SAKAZAKII* CHEZ DES NOUVEAUX-NÉS – FICHE DE RECUEIL

Appelant

Date et heure d'appel :

Nom :

Téléphone :

Fax :

E-mail :

Hôpital

Nom hôpital :

Département :

Intitulé Service :

Type de service (préciser le niveau si néonatalogie) :

Nombre de lits du service (préciser nb de lits SI) :

Activité (nombre de nouveaux-nés admis par an) :

Enfant

Nom (attention aux changements de nom !) :

Prénom :

Sexe :

Date de naissance :

Terme :

Poids de naissance :

Motif d'hospitalisation :

Autres antécédents :

Type de cas :

☐ certain

☐ probable

☐ colonisation

Type de prélèvement :

Date de prélèvement :

Circonstances de prélèvement (systématique ou pas) :

Date des premiers signes cliniques d'infection :

Type de symptômes :

Evolution :

Date de sortie :

Décès : O / N

Si oui, date de décès

Régime alimentaire

Preigestimil® : O / N

Si oui, n° de lot(s) :

Date d'introduction :

Motifs de prescription :

Autres laits (maternel, maternel lyophilisé, etc...) :

Mode d'administration (biberon, sein, sonde de nutrition, ...) :

Signalement des infections nosocomiales: O / N Si oui, date :

Envoi CNR : O / N

Consignation des laits à la pharmacie : O / N

Annexe 18 - Résolution WHA 58.32 sur la nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant (Organisation mondiale de la santé, 25 mai 2005)

CINQUANTE-HUITIÈME ASSEMBLÉE MONDIALE DE LA SANTÉ

WHA58.32

Point 13.11 de l'ordre du jour

25 mai 2005

La nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant

La Cinquante-Huitième Assemblée mondiale de la Santé,

Rappelant l'adoption par l'Assemblée de la Santé du Code international de commercialisation des substituts du lait maternel (résolution WHA34.22), ainsi que les résolutions WHA39.28, WHA41.11, WHA46.7, WHA47.5, WHA49.15, WHA54.2 sur la nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant, les modes d'alimentation appropriés et les questions connexes, et en particulier la résolution WHA55.25 dans laquelle est approuvée la stratégie mondiale pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant ;

Ayant examiné le rapport sur la nutrition chez le nourrisson et le jeune enfant ;

Constatant qu'à la réunion conjointe d'experts FAO/OMS tenue en 2004 sur *Enterobacter sakazakii* et les autres micro-organismes présents dans les préparations en poudre pour nourrissons, il a été conclu que la contamination intrinsèque des préparations en poudre pour nourrissons par *E. sakazakii* et *Salmonella* avait provoqué des épisodes infectieux et morbides chez les nourrissons, y compris des maladies graves susceptibles d'entraîner des conséquences sérieuses sur le développement et des décès, en particulier en cas de naissance avant terme, d'insuffisance pondérale à la naissance ou d'immunodéficience ;¹

Notant que ces épisodes sévères sont particulièrement graves chez les nourrissons nés avant terme, d'un faible poids à la naissance et immunodéprimés, et sont donc préoccupants pour tous les Etats Membres ;

Gardant à l'esprit le fait que la Commission du Codex Alimentarius révisé actuellement ses recommandations en matière d'hygiène pour la fabrication des aliments pour nourrissons et jeunes enfants ;

Reconnaissant que les parents et les personnes ayant la garde d'enfants doivent être pleinement informés des risques fondés sur des bases factuelles que présente pour la santé publique la contamination intrinsèque des préparations en poudre pour nourrissons et des possibilités de contamination extrinsèque, ainsi que de la nécessité de préparer, manipuler et entreposer les préparations pour nourrissons dans de bonnes conditions d'hygiène ;

¹ FAO/WHO Expert Meeting on *E. sakazakii* and other Microorganisms in Powdered Infant Formula: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series N° 6, 2004, p. 37.

WHA58.32

Préoccupée par le fait que des allégations concernant la valeur nutritionnelle et les bienfaits pour la santé peuvent être utilisées pour promouvoir les substituts du lait maternel comme supérieurs à l'allaitement maternel ;

Reconnaissant que la Commission du Codex Alimentarius joue un rôle déterminant en fournissant des lignes directrices aux Etats Membres concernant la réglementation judicieuse des aliments, y compris les aliments pour nourrissons et jeunes enfants ;

Consciente qu'en plusieurs occasions l'Assemblée de la Santé a appelé la Commission à prendre pleinement en considération, dans le cadre de son mandat opérationnel, les mesures fondées sur des données factuelles qu'elle pourrait prendre pour améliorer les normes sanitaires applicables aux aliments, conformément aux buts et aux objectifs des stratégies pertinentes de santé publique, et en particulier la stratégie mondiale de l'OMS pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant (résolution WHA55.25) et sa stratégie mondiale pour l'alimentation, l'exercice physique et la santé (résolution WHA57.17) ;

Reconnaissant que ces mesures exigent une bonne compréhension des rôles respectifs de l'Assemblée de la Santé et de la Commission du Codex Alimentarius, ainsi que de la réglementation des denrées alimentaires dans le contexte plus général des politiques de santé publique ;

Tenant compte de la résolution WHA56.23 sur l'évaluation conjointe FAO/OMS des travaux de la Commission du Codex Alimentarius, dans laquelle l'Assemblée de la Santé approuvait la participation directe accrue de l'OMS aux travaux de la Commission et priait le Directeur général de renforcer le rôle de l'OMS dans la conduite d'autres activités pertinentes dans les domaines de la salubrité des aliments et de la nutrition pour compléter les travaux de la Commission, en accordant une attention particulière aux tâches qui sont assignées à l'OMS dans les résolutions de l'Assemblée de la Santé ;

1. INVITE INSTAMMENT les Etats Membres :

1) à continuer de protéger, promouvoir et soutenir l'allaitement maternel exclusif pendant six mois, en tant que recommandation mondiale de santé publique, compte tenu des conclusions de la consultation d'experts de l'OMS sur la durée optimale de l'alimentation au sein exclusive,¹ et à prévoir la poursuite de l'allaitement maternel jusqu'à l'âge de deux ans ou au-delà, par l'application intégrale de la stratégie mondiale de l'OMS pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant qui encourage l'élaboration d'une politique nationale complète comprenant, le cas échéant, un cadre juridique visant à promouvoir le congé de maternité et des mesures d'appui propres à favoriser l'allaitement maternel exclusif pendant six mois, un plan d'action détaillé pour la mise en oeuvre, le suivi et l'évaluation de la politique, et l'allocation de ressources adéquates pour ce processus ;

¹ Telles qu'elles sont énoncées dans les conclusions et recommandations de la consultation d'experts (Genève, 28-30 mars 2001) qui a procédé à un examen systématique de la durée optimale de l'alimentation au sein exclusive (voir le document A54/INF.DOC./4).

2) à veiller à ce que les allégations concernant la valeur nutritionnelle et les bienfaits pour la santé ne soient pas autorisées pour les substituts du lait maternel sauf si la législation nationale en dispose autrement ;¹

3) à s'assurer que les cliniciens et autres soignants, ainsi que les agents de santé communautaire, les familles, les parents et les autres personnes ayant la garde d'enfants, et en particulier de nourrissons à haut risque, reçoivent de la part des dispensateurs de soins des informations suffisantes et une formation en temps utile pour la préparation, l'utilisation et la manipulation des préparations en poudre pour nourrissons afin de ramener à un minimum les risques pour la santé et sont informés, le cas échéant par une mise en garde explicite sur l'emballage, que les préparations en poudre pour nourrissons peuvent contenir des micro-organismes pathogènes et doivent être préparées et utilisées de manière appropriée ;

4) à veiller à ce que le soutien financier et d'autres incitations dont bénéficient les programmes et les professionnels de la santé du nourrisson et du jeune enfant ne donnent pas lieu à des conflits d'intérêts ;

5) à veiller à ce que les travaux de recherche sur l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant sur lesquels peuvent se baser les politiques suivies en la matière soient toujours assortis d'une déclaration relative aux conflits d'intérêts et fassent l'objet d'examen collégiaux indépendants ;

6) à travailler en étroite collaboration avec les entités concernées, notamment les fabricants, pour continuer à réduire la concentration et la prévalence des agents pathogènes, dont *Enterobacter sakazakii*, dans les préparations en poudre pour nourrissons ;

7) à continuer de veiller à ce que les fabricants respectent les normes et réglementations alimentaires nationales ou celles du Codex Alimentarius ;

8) à assurer la cohérence des politiques au niveau national en favorisant la collaboration entre les autorités sanitaires, les organismes de réglementation des denrées alimentaires et les organismes chargés de fixer les normes alimentaires ;

9) à participer activement et de façon constructive aux travaux de la Commission du Codex Alimentarius ;

10) à veiller à ce que tous les organismes nationaux appelés à définir des positions nationales sur des questions de santé publique destinées à être utilisées dans toutes les instances internationales compétentes, y compris la Commission du Codex Alimentarius, reflètent une compréhension commune et cohérente des politiques de santé adoptées par l'Assemblée de la Santé et s'attachent à les promouvoir ;

2. PRIE la Commission du Codex Alimentarius :

1) de continuer à tenir dûment compte, lors de l'élaboration de normes, de lignes directrices et de recommandations, des résolutions de l'Assemblée de la Santé pertinentes dans le cadre de son mandat opérationnel ;

¹ La référence à la législation nationale s'applique aussi aux organisations d'intégration économique régionale.

WHA58.32

- 2) d'élaborer des normes, des lignes directrices et des recommandations concernant les aliments pour nourrissons et jeunes enfants formulées de façon à garantir la mise au point de produits sans danger, correctement étiquetés et répondant sur le plan de la nutrition et de la sécurité aux besoins connus de ceux auxquels ils sont destinés, tenant ainsi compte de la politique de l'OMS et, en particulier, de sa stratégie mondiale pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant et du Code international de commercialisation des substituts du lait maternel, ainsi que d'autres résolutions pertinentes adoptées par l'Assemblée de la Santé ;
 - 3) de mener à bien d'urgence les travaux en cours visant à réduire le risque de contamination microbiologique des préparations en poudre pour nourrissons et d'établir des critères ou des normes microbiologiques appropriés relatifs à *E. sakazakii* et aux autres micro-organismes présents dans les préparations en poudre pour nourrissons ; et de fournir des conseils sur la manipulation sans danger et les mises en garde sur les emballages ;
3. PRIE le Directeur général :
- 1) en collaboration avec la FAO et compte tenu des travaux entrepris par la Commission du Codex Alimentarius, d'élaborer des lignes directrices destinées aux cliniciens et autres soignants ainsi qu'aux agents de santé communautaires, aux familles, aux parents et aux autres personnes ayant la garde d'enfants concernant la préparation, l'utilisation, la manipulation et l'entreposage des préparations pour nourrissons afin de ramener au minimum les risques pour la santé et de répondre aux besoins particuliers des Etats Membres en mettant en place des mesures efficaces pour réduire les risques dans les situations où le nourrisson ne peut être ou n'est pas nourri par le lait maternel ;
 - 2) de prendre l'initiative d'appuyer des travaux de recherche faisant l'objet d'un examen indépendant, notamment en recueillant des éléments dans différentes parties du monde, afin de mieux connaître l'écologie, la taxonomie, la virulence et autres caractéristiques de *E. sakazakii*, conformément aux recommandations de la réunion d'experts FAO/OMS sur *E. sakazakii* et les autres micro-organismes présents dans les préparations en poudre pour nourrissons, et d'étudier les moyens de réduire la teneur en micro-organismes des préparations en poudre une fois reconstituées ;
 - 3) de fournir des informations afin de promouvoir et de faciliter la contribution de la Commission du Codex Alimentarius, dans le cadre de son mandat opérationnel, à la pleine mise en oeuvre des politiques internationales de santé publique ;
 - 4) de faire rapport à l'Assemblée de la Santé chaque année paire, parallèlement à la présentation du rapport sur l'état de la mise en oeuvre du Code international de commercialisation des substituts du lait maternel et des résolutions pertinentes de l'Assemblée de la Santé, sur les progrès de l'examen des questions renvoyées à la Commission du Codex Alimentarius pour qu'elle y donne suite.

Neuvième séance plénière, 25 mai 2005
A58/VR/9

= = =

Enterobacter sakazakii (ES) est responsable d'infections invasives chez le nouveau-né, rares mais à létalité élevée. Début décembre 2004, l'Institut de veille sanitaire était informé de la survenue d'infections invasives à ES chez 3 nouveau-nés dans 2 hôpitaux ; tous avaient consommé la même préparation en poudre pour nourrissons (Pregestimil®). L'investigation a eu pour objectifs d'évaluer l'ampleur de l'épidémie, de confirmer sa source et de mettre en place des mesures de contrôle.

La recherche de cas a ciblé les maternités, les services de néonatalogie et de pédiatrie. Un cas était défini comme tout nouveau-né hospitalisé chez lequel était isolé *E. sakazakii* depuis le 01/01/04, d'un site stérile (infection invasive) ou d'un site non stérile (infection non invasive ou colonisation, selon les signes cliniques associés). Ont été réalisées une étude descriptive des cas, une enquête alimentaire, la recherche d'ES dans des échantillons de Pregestimil® et la comparaison des souches d'ES isolées.

Quatre infections (2 méningites avec décès, 1 colite hémorragique, 1 conjonctivite) et 5 colonisations sont survenues dans 5 hôpitaux entre les semaines 44 et 51 ; 8 nouveau-nés étaient prématurés ou de faible poids de naissance. Tous recevaient du Pregestimil®. ES a été isolé de 31 boîtes non ouvertes issues des lots de Pregestimil® consommés par les cas. Les souches isolées chez les cas ou dans les lots n'étaient pas différenciables par électrophorèse en champ pulsé. Un seul des 5 hôpitaux présentait des manquements majeurs aux procédures d'hygiène en biberonnerie. Dans tous les hôpitaux, les préparations reconstituées étaient utilisées dans les 24 h mais souvent stockées dans des réfrigérateurs à température non contrôlée ou > 4 °C. Les prélèvements d'environnement hospitaliers étaient négatifs pour ES. Aucun autre cas n'a été notifié par les pays européens, informés via l'Early Warning and Response System (EWRS).

Il s'agit des premiers cas groupés en France d'infections à ES associées à une préparation en poudre pour nourrissons contaminée et ayant entraîné le rappel du produit. Les professionnels de santé doivent savoir que ces préparations en poudre ne sont pas stériles et qu'elles doivent être utilisées et manipulées avec précaution. En France, des recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons ont été élaborées depuis cet épisode par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa).

Enterobacter sakazakii (ES) is a rare cause of invasive infections with high fatality rates in neonates. In early December 2004, the Institut de veille sanitaire was notified of invasive ES infections in 3 neonates from 2 hospitals; all were fed with the same powdered infant formula (Pregestimil®). An investigation was conducted to assess the extent of the outbreak, confirm its source and develop control measures.

French obstetrical wards, neonatal and paediatric units were contacted to identify additional cases. We defined a case-patient as a neonate hospitalised since 01/01/04 in France with ES isolated from a normally sterile site (invasive infection) or from a nonsterile site (non invasive infection or colonisation, according to clinical status). A descriptive study was conducted, feeding practices in hospitals reviewed, and samples of Pregestimil® analysed for the presence of ES.

Four infections (2 fatal meningitis, 1 hemorrhagic colitis, 1 conjunctivitis) and 5 colonisations occurred in 5 hospitals from week 44 to week 51; 8 neonates were premature or low birthweight. All were fed with Pregestimil®. ES was isolated from 31 unopened cans of Pregestimil® batches consumed by cases. Strains isolated from formula or patients were indistinguishable by pulsed-field gel electrophoresis. Major breaches in infection control when preparing baby bottles only were detected in 1 of 5 hospitals. In all hospitals, milk preparations were used within 24 hours but often stored in refrigerators at temperatures not monitored or >4°C. All hospital environment samples were negative. No similar cases were notified from other European countries informed through the EC Early Warning and Response System (EWRS).

This is the first report of ES infections associated with a powdered infant formula prompting a recall of this commercial product in France. Healthcare professionals should be informed that such formulas are not sterile products and that they should be handled and used properly. In France, recommendations for the preparation and conservation of baby bottles were written since that cluster by the French Food Safety Agency (Afssa).



INSTITUT DE
VEILLE SANITAIRE

Département des maladies infectieuses

12, rue du Val d'Osne - 94415 Saint-Maurice cedex
Tél. : 33(0) 1 41 79 67 00 - Fax : 33(0) 1 41 79 67 67
<http://www.invs.sante.fr>

ISBN : 2-11-095892-8
Tirage : 600 exemplaires
Dépôt légal : Mars 2006
Réalisation : Labrador