



SALMONELLA ET LAIT INFANTILE : UN CONCENTRE DE DONNEES

FRANCOIS-XAVIER WEILL

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE *SALMONELLA*

INSTITUT PASTEUR

NATHALIE JOURDAN-DA SILVA

DIRECTION DES MALADIES INFECTIEUSES

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE



CETTE INTERVENTION EST FAITE EN TANT QUE PERSONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR.

JE N'AI PAS DE LIEN D'INTÉRÊTS AVEC LE SUJET TRAITÉ.

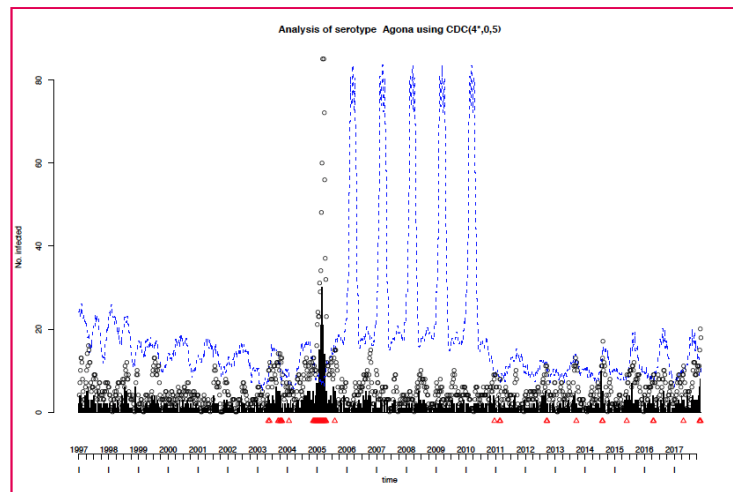


CETTE INTERVENTION EST FAITE EN TANT QUE PERSONNEL DE SANTÉ PUBLIQUE FRANCE, ORGANISATEUR DE LA MANIFESTATION.

JE N'AI PAS DE LIEN D'INTÉRÊTS AVEC LE SUJET TRAITÉ.

Surveillance de laboratoire des salmonelloses

- CNR reçoit \approx 9000 souches/an isolées par \approx 1200 laboratoires de biologie médicale et hospitaliers bénévoles
- Réalisation d'un (séro)typage
- Algorithmes de détection utilisés hebdomadairement à la recherche d'une augmentation inhabituelle de souches d'un sérotype donné parmi les souches reçues au CNR.



- Si le nombre de cas de salmonellose observé est supérieur à celui attendu pour cette période de l'année :
 - un 'signal' apparaît sur le relevé hebdomadaire.
 - SpF analyse ce signal et lance des investigations si le signal est validé
 - Le CNR lance le sous-typage

Le sérotypage

1930

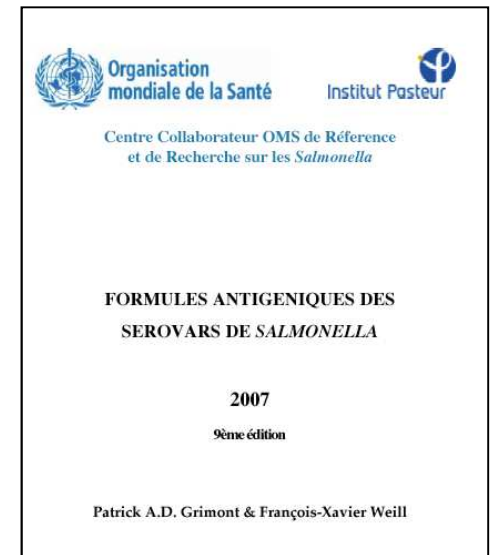
Avantages

- Méthodologie simple et robuste
- Résultats en trois à quatre jours
- > 2700 sérotypes décrits



Inconvénients

- Argument économique ++++ (coût des sérums et nombreux sérums nécessaires, date de péremption,) avec accréditation ISO15189
- 2 sérotypes (Typhimurium et son variant monophasique et Enteritidis) représentent 70 % des isolements



Le sous-typage

- Marche sur tout sérotype
- Protocole standardisé PulseNet

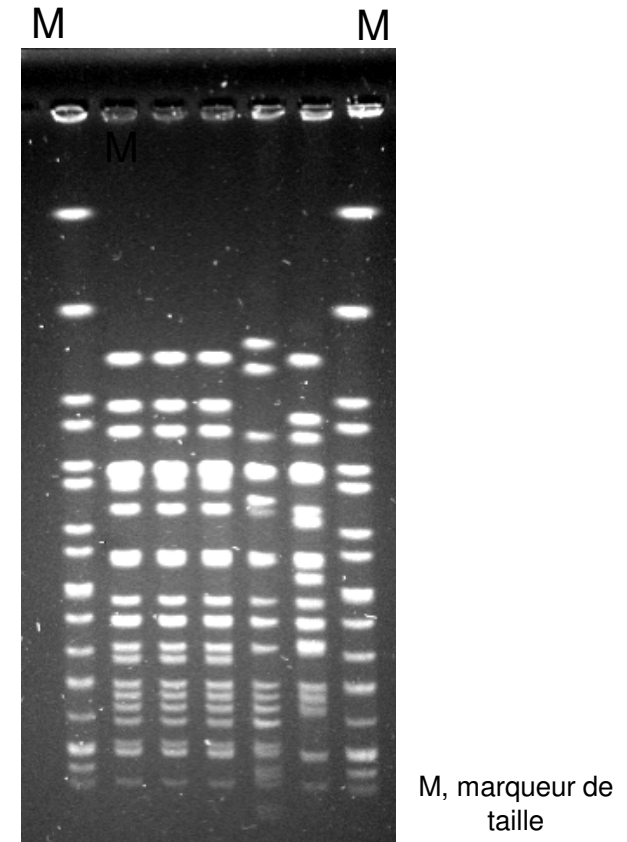
2005

- **Inconvénients:**

- techniquement lourd (pas plus de 18 souches/technicien/j)
- distance génétique entre les souches difficilement évaluable

Utilisation lors de l'investigation
d'épidémies (pas en surveillance)

1992



Souches épidémiques
Souches non reliées

Whole-genome sequencing

2017

Avantages

Une seule méthode remplaçant toutes les autres

avec **maintien du lien avec sérotype** (grâce aux travaux antérieurs MLST7, sérotypage moléculaire, ..)

et **analyse de la parenté génétique** entre les souches

Automatisable et **résultats échangeables facilement** entre laboratoires

Surveillance des populations génétiquement homogènes

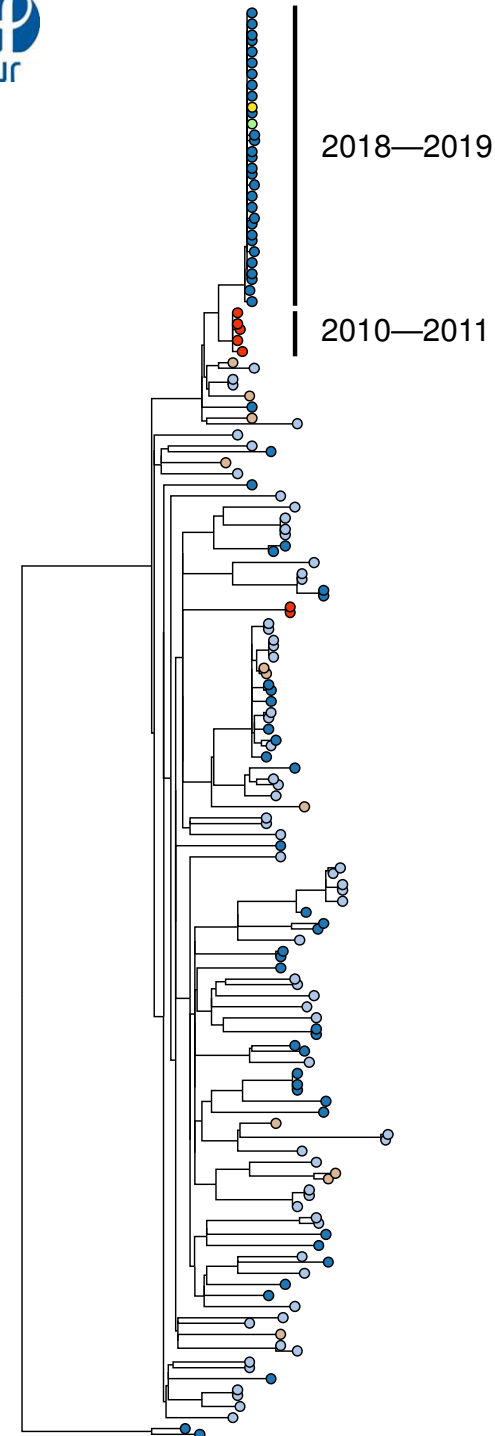
(Typhimurium monophasique ST34 CT1 et Enteritidis ST11)

Inconvénients

- délai (minimum 8-10 jours),
- accès à une plateforme génomique,
- expertise en bioinformatique,
- coûts (72 € par génome plus personnel),
- formation du personnel,
- définition d'une souche bactérienne

Passage au WGS en avril 2017

En 2018, 6942 séquences (76% des souches de *Salmonella*)



Rappels sur la maladie et le sérotype Agona



INFECTIONS À *SALMONELLA*

- dans les 3 jours suivant l'ingestion
- Gastro-entérite avec vomissements, diarrhée +/-sanglante, et fébrile
- L'apparition de ces signes chez un nourrisson doit conduire les familles à consulter un médecin sans attendre.

SALMONELLA AGONA

- De 2012 à 2016, le Centre National de Référence (CNR) des Salmonella a identifié ≈ 65 souches de S. Agona/an tout âge confondu.
- Retrouvé en France dans divers réservoirs animaux (volailles, bovins, porcs et aliments pour animaux).

ÉPIDÉMIES PASSÉES DE SALMONELLOSE À S.AGONA

- En France, 1 épidémie attribuée à la consommation de lait en poudre chez des nourrissons en 2005 avec plus de 140 nourrissons contaminés, usine en Mayenne
- En Allemagne, 1 épidémie attribuée à la consommation de tisanes à base de fenouil et d'anis
- Des épidémies attribuées à la consommation de goûters à la cacahuète, de céréales à base d'avoine, de charcuterie

ALERTE ET INVESTIGATIONS (1)



Jeudi 30/11/2017: 8 cas de S.Agona chez des nourrissons (<1 an) sur 8 jours vs 65 souches/par an tout âge

- Population sensible touchée : bébé < 1 an, impact médiatique potentiel

→ **Déclenchement de l'alerte et des investigations épidémiologiques dès le 1^{er}/12 auprès des parents des bébés:**

Questionnaire exploratoire par téléphone:

- Survenue de la maladie (début des signes, signes cliniques, prise en charge...)
- Aliments consommés les 3 jours avant le début des signes.

Vendredi 01/12 matin :

- 8 parents de bébé interrogés : identification de 3 mêmes noms de lait produits par L consommés par les BB avant DDS
- Demande à la DGS d'organiser une réunion téléphonique avec la DGCCRF, l'ANSES, le CNR, la DGAL.

Samedi 02/12 : 14 cas, les épidémiologistes de SpF ayant continué à interroger les parents le WE : toujours les 3 mêmes laits

→ **02/12 : 1ères mesures de contrôle : retrait rappel de ces 3 laits**

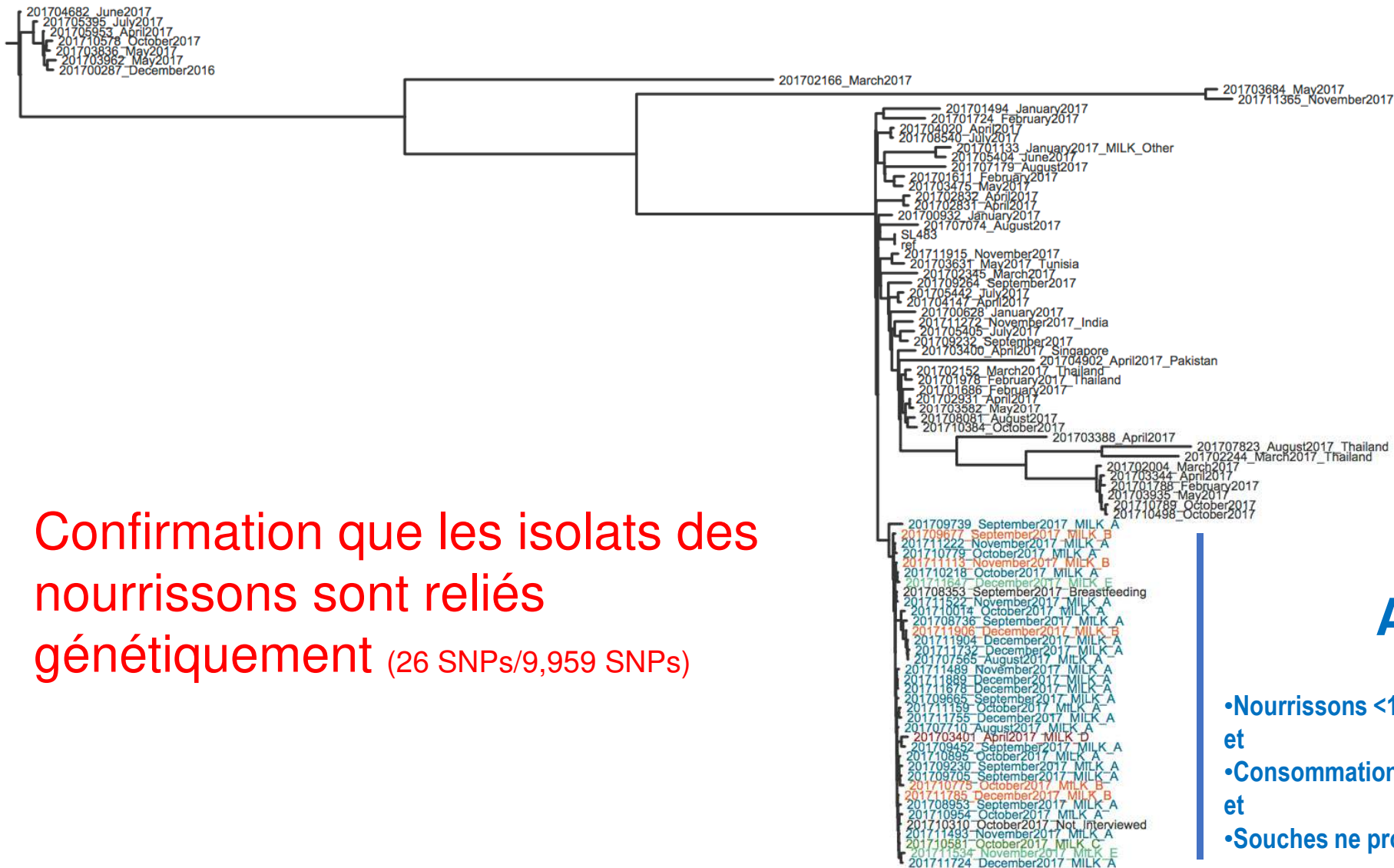
- 4ème lait consommé par un bébé contaminé identifié la semaine suivante
- SpF informe ses partenaires dont la DGCCRF pour que le retrait soit étendu à cette marque de lait aussi

ALERTE ET INVESTIGATIONS (2)

- Informations des Cire et ARS
- Information des professionnels de santé et laboratoires
- Multiples réunions téléphoniques (SpF, DGS, CNR, DGCCRF, Dgal, DDPP53, ANSES...)
- **Au fur et à mesure de l'avancée des interrogatoires des parents, SpF informe ses partenaires sur:**
 - Les dates de survenue des symptômes des bébés, pour estimer périodes de contamination et d'achat des laits
 - Les noms des laits consommés par les bébés
 - Les numéros de lots et les dates de fabrication des boites de lait détenues par les familles
 - Les cartes de fidélité pour les achats des laits en grande surface.
 - Les coordonnées des familles détenant encore des boites de lait au domicile pour prélèvements éventuels

Analyses microbiologiques I

Phylogenetic tree of *Salmonella* Agona strains received at the National Reference Centre, France, 2017 (n = 88)



Confirmation que les isolats des nourrissons sont reliés génétiquement (26 SNPs/9,959 SNPs)

Ago4

- Nourrissons <1an et
- Consommation de laits en poudre (usine A) et
- Souches ne produisant pas de gaz ou H2S

Analyses microbiologiques II

- Identification des souches épidémiques de *S. Agona* par WGS
 - ↳ Confirmation des nouveaux cas par sérotypage du fait du délai pour obtenir WGS, caractéristiques phénotypiques évocatrices (H₂S-, Gaz-)
- Analyse de souches étrangères contemporaines (Espagne, Grèce)

Analyses microbiologiques III

- Analyse rétrospective de souches historiques de l'épidémie de 2004-2005

Souches sous-typées en 2005

WGS en 2018

Strains (n° CNR)	Origin	Milk	PFGE
04-3162	Human (infant)	Picot	X1
04-4547	Human (infant)	Picot	X1
04-5972	Human (infant)	Picot	X1
04-7326	Human (infant)	Picot	X1
04-8279	Human (infant)	Picot	X1
04-9457	Human (infant)	Picot	X1
05-0509	Human (infant)	Picot	X1
05-0829	Human (infant)	Picot	X1
05-0834	Human (children)	Picot	X1
05-0948	Human (infant)	Picot	X1
05-1385	Human (infant)	Picot	X1
05-1504 SOUCHE AFSSA	Powdered milk formula Picot factory		X1
05-1623	Human (infant)	Blédilait	X1
05-1632	Human (infant)	Blédilait	X1
05-1678	Human (infant)	Blédilait	X1
05-1804	Human (infant)	Blédilait	X1
05-1823	Human (infant)	Blédilait	X1
04-4722	Human (infant)	Picot	X2
04-8738*	Human (infant)	Not linked	X4
05-0428*	Human (children)	Not linked	X5
05-0507*	Human (adult)	Not linked	X6
05-0611*	Human (children)	Not linked	X7
05-0960*	Human (adult)	Not linked	X8
05-1599	Human (infant)	Blédilait	X9
05-1600	Human (infant)	Blédilait	X10

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

Ago4

autre

autre

Ago4

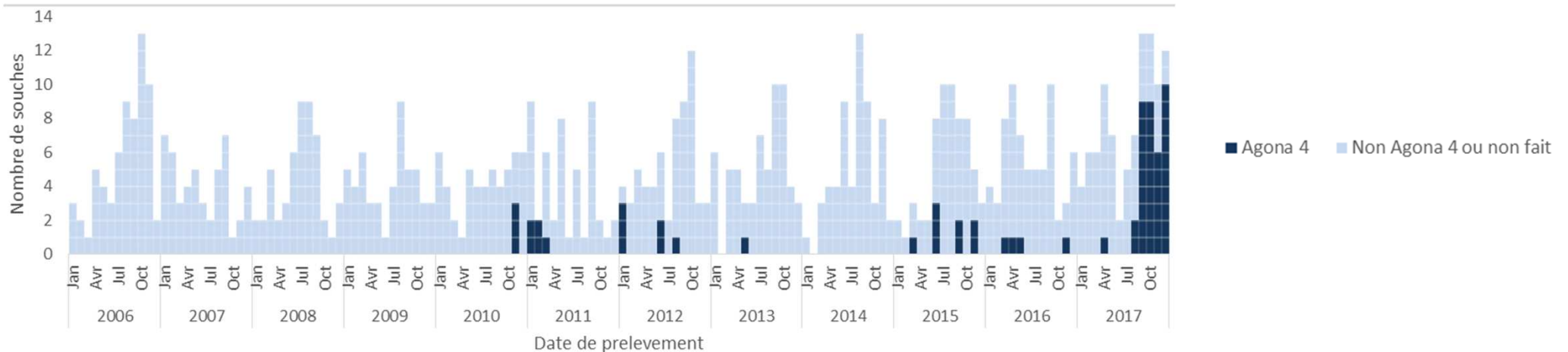
Two Consecutive Large Outbreaks of *Salmonella enterica* Serotype Agona Infections in Infants Linked to the Consumption of Powdered Infant Formula

Cécile Brouard, MPH,*† Emmanuelle Espié, DVM, MPH,* Francois-Xavier Weill, MD,‡
 Annaëlle Kérouanton, PhD,§ Anne Brisabois, PhD,§ Anna-Maria Forgue, RN,||
 Véronique Vaillant, MD, MPH,* and Henriette de Valk, MD, MPH*

Même profil (Ago4) retrouvé pour les 10 souches de 2004-2005
 Même usine de Mayenne

Analyses microbiologiques IV

- Analyse de souches historiques de *S. Agona* en dehors des épidémies, 2000-2016
 - 143 souches sélectionnées (issues de tous les nourrissons et d'une sélection d'adultes et d'enfants >1 an)
 - Une seule souche Ago4 entre 2000 et 2004 (novembre 2003, nourrisson)



- Identification **de 27 souches Ago4 sur la période inter-épidémique 2006-2016**
 - **exclusivement chez des nourrissons** (aucune souche Ago4 isolée d'enfants plus âgés ou d'adultes pour lesquelles le séquençage du génome a été réalisé)
 - 27 cas étalés sur plusieurs années et régions

- 38 nourrissons (16 M, 22 F), parents interrogés entre le 01/12/17 et le 19/01/18
- Médiane d'âge 4 mois (min : 2.5 sem, max : 9 mois)
- 10 régions
- Début des symptômes entre fin avril et le 2 décembre 2017 (un des cas identifié rétrospectivement par le CNR)

Figure 1 : Distribution des cas d'infection par S. Agona (clone épidémique) par semaine de diagnostic au CNR, France, Avril – Décembre 2017 (n=38)

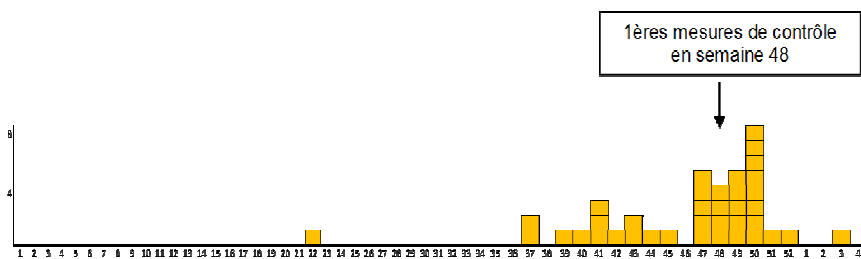
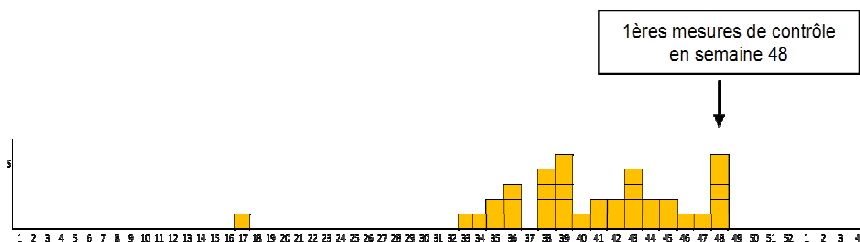


Figure 2 : Distribution des cas d'infection par S. Agona (clone épidémique) par semaine de début des symptômes, France, Avril – Décembre 2017 (n=37)



- 18 hospitalisés en raison de leur salmonellose, tous sortis de l'hôpital.
- Consommations de laits tous élaborés sur un même site de production:

Pepti Junior de Picot (27 nourrissons)

Milumel Bio 1 sans huile de palme (5 nourrissons)

Picot Riz (2 nourrissons)

Picot SL (1 nourrisson)

Picot anti-colique (1 nourrisson)

Santé publique France a alerté, le 6 décembre 2017 :

- Ses homologues dans les agences et instituts nationaux de santé publique
- Les microbiologistes des CNR de la communauté Européenne
- Via le system d'information d'intelligence épidémique (EPIS) de l'ECDC

L'OMS a transmis l'alerte via son réseau Infosan, aux points focaux nationaux de l'ensemble des pays potentiellement concernés.

Les informations sur les produits à retirer de la vente ont été diffusées internationalement via le System européen d'alerte rapide des aliments (European Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), et le réseau Infosan de l'OMS.

3 cas d'infection à *S.Agona* chez des nourrissons ayant consommé du lait de la liste identifiés hors France : **deux enfants en Espagne et un en Grèce**

L'ECDC et l'Agence Européenne de sécurité Alimentaire (EFSA), en lien étroit avec les autorités sanitaires françaises et Santé publique France, ont conduit une analyse rapide du risque de cet événement.

INVESTIGATIONS DE TRAÇABILITÉ (1)

- **Vendredi 1^{er} décembre 2017**, DGCCRF alertée par SpF contacte la DDCSPP53 (dpt de l'usine)
→ **Les 3 références citées par les 1ers parents interrogés sont fabriquées sur un même site.**
- **Samedi 2 décembre** , investigations complémentaires sur site.
→ L. retire de la commercialisation et rappelle 12 lots de produits de nutrition infantile : lots des 3 références mis sur le marché à partir de la mi-juillet.
→ Information relayée par un CP des ministères de l'économie et de la santé.
- **À partir du lundi 4 décembre**, investigations complémentaires sur site par la DDCSPP 53 puis par le service national des enquêtes (SNE) de la DGCCRF:
- **Vendredi 8 décembre**, DGCCRF informée par SpF de l'identification d'un **4^{ème} lait** produit dans l'usine.
- **Samedi 9 décembre** Suspension de commercialisation, exportation, retrait et rappel des fabrications ayant transité par la tour de séchage n°1 du site depuis le 15 février 2017 (**soit plus 600 lots de produits de nutrition infantile représentant 11 000 t de produits dont environ 7 000 t destinées au marché national**).

INVESTIGATIONS DE TRAÇABILITÉ (2)

- **Dimanche 10 décembre**, les ministères de la santé et de l'économie publient un CP pour:
 - Informer les consommateurs sur la liste des lots rappelés et conseils de substitution
 - **Numéro vert** mis en place par le **Ministère de la santé**, en **plus du numéro vert de Lactalis**.
 - **Mercredi 13 décembre**, **5 nouveaux lots** issus de la tour de séchage n°1 rappelés par le fabricant (« oubli »).
 - **Jeudi 21 décembre**, L. annonce étendre le retrait-rappel à d'autres produits fabriqués ou conditionnés sur le site depuis le 15 février 2017 (720 lots). (laits et céréales infantiles...)
 - **Le 12 janvier 2018**, Bruno Le Maire reçoit Emmanuel Besnier : extension du retrait des laits infantiles à **l'ensemble des laits infantiles fabriqués sur le site de Craon sans considération de leur date de fabrication**.
- **Dizaines de millions de boîtes de produits infantiles commercialisés dans des dizaines de milliers de points de vente en France et dans plus de 85 pays, sont rappelés.**

RAPPEL DES CONSEILS À L'ATTENTION DES PARENTS – RECOMMANDATIONS DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE PÉDIATRIE

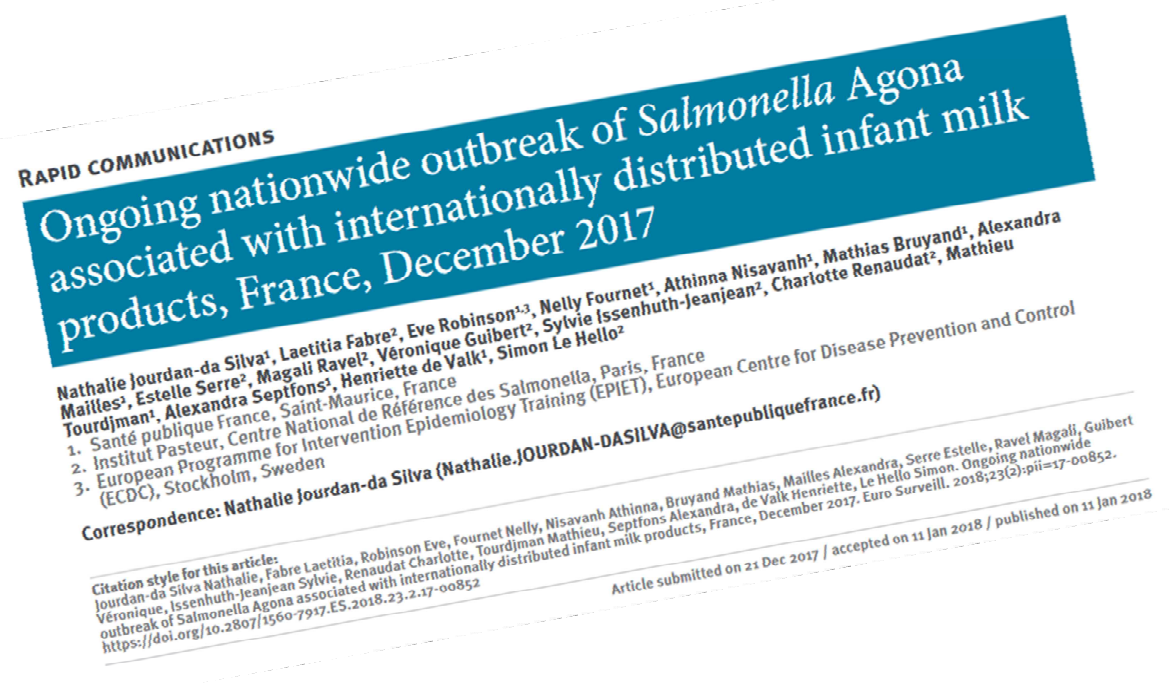


- **Changer immédiatement de lait.**
- **Substitutions possibles +faire bouillir le lait si pas d'alternative**
- **Recommandations transmises** aux médecins généralistes, pédiatres, sages-femmes, pharmaciens.
- **SpF sur son site** rappelle les principes d'hygiène à respecter lors de la préparation des biberons :
 - chaque manipulation doit être précédée d'un lavage soigneux des mains à l'eau et au savon ;
 - les biberons ne doivent pas être préparés à l'avance ;
 - les biberons doivent être nettoyés aussitôt après usage.

INFORMATION DE LA POPULATION PAR SPF

Concerne le bilan sanitaire

- Via notre site Web : points du 05/12, 20/12, 09/01, 12/01, 24/01, 07/02
- Réponses aux journalistes
- Communication aux professionnels de santé via Eurosurveillance



AU FINAL

- Fermeture définitive de la tour de séchage N°1 incriminée dans la production de la poudre contaminée
 - Reprise de l'activité de production sur la tour N°2 avec consigne des lots à partir de fin Mai 2018
 - Échantillonnage renforcé des produits selon l'avis 2018-SA-0077 de l'Anses
 - Reprise de la commercialisation des produits en Septembre 2018
 - Pas de confirmation des hypothèses de sources de contamination
- **Persistance d'une souche au sein d'une usine de production de lait en poudre pendant au moins 8 ans: cf épidémie S.Poona 2018**
- **Limites de détection *Salmonella* dans laits en poudre**

CONCLUSIONS

- Le séquençage est une révolution en microbiologie de Santé publique. Travail nécessaire sur les coûts et délai de rendu de résultats
- Technologie permettant notamment le suivi à long terme de souches « sensibles » (Agona 2017, Poona 2018) via un screening par hierarchical clustering de cgMLST (schéma d'Enterobase)
- En France, accumulation de données génomiques sur plus de 20000 génomes de *Salmonella*. Pour l'instant que des souches humaines. Vers une surveillance One Health ?
- Accès aux données génomiques d'autres pays via Enterobase: aide aux investigations

REMERCIEMENTS



- PARENTS QUI ONT ACCEPTÉ DE RÉPONDRE AUX QUESTIONS DES ÉPIDÉMIOLOGISTES
- ÉPIDÉMIOLOGISTES DE SPF QUI ONT INTERROGÉ LES PARENTS DES BÉBÉS
- CNR *SALMONELLA*
- DGCCRF
- DGS
- DGAL
- ANSES