

Réunion de l'ADLF, Bordeaux 27-28 juin 2019

Bacillus cereus et surgélation du lait de femme



V Rigourd, E Bille, L Marini, E Keraudren, Y Barhi

Virginie.rigourd@nck.aphp.fr

0171196048



Etat des lieux

“ Human Milk Bank should be available in appropriate situations”

WHO /Unicef

INTRODUCTION

Pénurie de lait

↑ ECUN de 6 à 10 fois (Sisk 2007, Cristofalo 1013) infections secondaires (Arslanoglu 2010), séquelles neurologiques (Vohr 2007), ROP, pathologies du programming (Biassini 2012, Arslanoglu 2013, Vohr 2018)

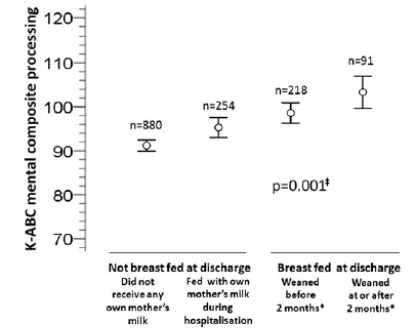


Figure 2 The Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC) Mental Processing Composite score (mean, SD) at 5 years as a function of breastfeeding status at time of discharge and corrected age (*) at which infants were weaned off breast feeding, in EPIPAGE cohort. *p adjusted for propensity score.

Sécurisation bactériologique/virologique par pasteurisation (Arslanoglu 2010)

Infections bactériennes secondaires à l'utilisation de lait cru: Streptocoque B, staphylocoque epiderminis, staphylocoque aureus, E coli K1, Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae (Youssef 2012)

10% du lait de femme contient du bacillus cereus (Rigourd 2018), 10% Palma de Mallorca², 0% Marmande ,30% Quebec

Cartographie des risques

GRAVITE	Catastrophique	Majeure	Significatif	Mineure	Impossible à improbable	Très peu probable	Peu probable	Probable	Très probable à certain
	<i>Bacillus cereus</i>		15	20	25				
	Critique	4	8	12	16	20			
	Majeure	3	6	9	12	15			
	Significatif	2	4	6	8	10			
	Mineure	1	2	3	4	5			
FREQUENCE									
SCORE DE CRITICITE INITIALE									
Criticité	Valeur	Classe	Mesures à prendre						
C1	1 à 7	acceptable	Aucune action à entreprendre						
C2	8 à 10	Tolérable sous contrôle	Organisation d'un suivi de risques						
C3	11 à 25	inacceptable	Nécessité de mesures de réduction à prendre rapidement						

Balance bénéfice risque étroite: qualification bactériologique / rejet pour non conformité

FLASH BACK

Après deux décès suspects, le lactarium de Paris suspend sa délivrance de lait

© 03/09/2016 à 16h42

"Il a été décidé de suspendre la délivrance de lait de ce lactarium, avec rappel des lots. Aucun nouveau-né n'est donc actuellement exposé au lait suspecté de pouvoir être à l'origine de la contamination des trois cas identifiés"

- Assistance publique-hôpitaux de Paris



Cette analyse ainsi que celle des profils toxiques par PCR montre qu'aucune des souches isolées des laits produits par le lactarium de Necker n'a le même profil que les souches isolées chez les 4 enfants.

A priori, et dans l'attente de confirmation par le séquençage du génome bactérien des souches isolées dans le lait reçu par le cas de Necker, il est très probable que les souches du lactarium ne soient pas similaires à celles des cas.

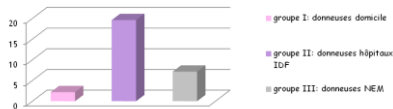
Par ailleurs, le séquençage complet de la souche d'un des cas de Pontoise est identique à celui de la souche commune à 2 des premiers cas (1 d'Antoine Beclere et celui de Cochin) ; d'après la CIBU, il s'agit d'un profil fréquent, ce qui ne permet pas de conclure à un lien entre ces cas.

Les données recueillies et les observations réalisées au cours de cette inspection ne révèlent pas d'élément démontrant que le lactarium est à l'origine d'une contamination du lait maternel qu'il produit qui aurait pu contaminer des nouveau-nés. Néanmoins, un plan d'actions correctives devra être proposé pour répondre aux écarts majeurs et gérer ainsi efficacement les contaminations de lots de lait détectées par le lactarium et éviter ainsi un taux important de destruction. Comme l'indique le rapport, ces actions devront permettre de supprimer les sources de contaminations potentielles, garantir la continuité de la chaîne du froid, améliorer la maîtrise de l'environnement et renforcer le système qualité et les ressources humaines qui doivent permettre de convenablement gérer les données de surveillance. La prise en compte effective et pérenne de ces observations par la direction de l'hôpital Necker devrait conduire dans les meilleurs délais à l'émission d'un avis favorable à la reprise de l'activité de délivrance et distribution du lactarium régionale d'Île-de-France.

Prévenir le risque bactériologique

- Lavage des mains et des seins
- Matériel nettoyé et décontaminé (à chaud ou à froid) au à usage unique

% de sous lots non conformes pour raison bactériologique



Hygiène du recueil du lait



- Stockage
- Transport
- Traitement
- surveillance continue
- température alarmes

Chaîne du froid



- 62°C 30min
- agitation
- pasteurisateur qualifié

Pasteurisation



Conforme Si	Sous lot -Donneuse unique -Don Personnalisé	Lot Plusieurs donneuses
Avant Pasteurisation	< 10 ⁶ germes totaux < 10 ⁴ SCP /ml	< 10 ⁵ germes totaux < 10 ⁴ SCP /ml
Après Pasteurisation	<2UFC/ml	<2UFC/ml

Bactériologie



- Bionettoyage oxyfloor
- Décontamination des biberons
- Surveillance environnementale hors et en activité

Contrôle environnemental



Bactéricidie

56 ° C 15min détruit jusqu' à 1,7.10⁶ SA, 0,8.10⁶ strepto B, 4.10⁶/ml E Coli.
62,5 ° C 5min détruit jusqu' à 33.10⁶/ml

62,5 ° C 30min probablement excessif / formes végétayives retrouvés dans lait de femme



**Processing of Donor Human Milk:
Update and Recommendations From
the European Milk Bank Association
(EMBA)**

Guido E. Moro^{1*}, Claudio Billeaud², Buffin Rachel³, Javier Calvo⁴, Laura Cavallarin⁵, Lukas Christen⁶, Diana Escudé-Viaco⁷, Antoni Gaya⁸, David Lembo⁹, Aleksandra Wasolowska¹⁰, Soraci Arslanoglu¹¹, Debbie Barnett¹², Enrico Bartino¹³, Clait-Yves Boquien¹⁴, Corinna Gebauer¹⁵, Anne Grosjean¹⁶, Gillian A. Weaver¹⁷ and Jean-Charles Picaud^{18*}

les limites de la méthode de référence : historique

Méthode de référence

Méthode renforcée

Lait P91 reçu par EWE provenance de Necker
Lait P49 reçu par AUG provenance du CHIC
Septembre 2016

Négatifs par la méthode de référence

p49
Culture aérobie
Culture - Identification

< 2 UFC/mL
Étude non poursuivie



Positifs (*Bacillus cereus*) après pré-incubation

20 mL de lait pré-incubé à 37°C au moins 18h:
favorise la rentrée en cycle végétatif des spores
possiblement présentes dans le lait



NF EN ISO 7982



Mise en place d'une méthode renforcée pour le
contrôle bactériologique post pasteurisation

Objectifs de méthode renforcée

— Isoler germes pouvant occasionner EI indirecte chez prématuré

[Emerg Infect Dis](#). 2017 May; 23(5): 845–848.
doi: [10.3201/eid2305.161788](#)

PMCID: PMC5403044

Virulence Analysis of *Bacillus cereus* Isolated after Death of Preterm Neonates, Nice, France, 2013

[Romain Lotte](#), [Anne-Laure Hérissey](#), [Yasmina Berrouane](#), [Laurène Lotte](#), [Florence Casagrande](#), [Luce Landraud](#), [Sabine Herbin](#), [Nalini Ramarao](#), [Laurent Boyer](#)[✉] and [Raymond Ruimy](#)[✉]

TABLE IV—Theoretical undesirable effects of bacterial products in banked human milk

Organism	Product	Hypothetical effect
Gram-negative non-faecal bacilli (especially <i>Pseudomonas</i>), <i>Staph aureus</i>	Lipases	Release of free fatty acids may lead to neonatal jaundice
<i>Bacillus spp.</i> , Gram-negative non-faecal bacilli	Proteases	Possible damage to protective components such as immunoglobulins
Faecal streptococci, <i>E coli</i>	Decarboxylases	Convert free amino-acids to amines such as tyramine and tryptamine. Possibly toxic to neonate

— Sensibiliser vis-à-vis du *Bacillus cereus*

- pour lequel les lactariums doivent montrer «*pattes blanches* »
- Mésophile tps optimal:
 - De croissance 5-20°C
 - D'entrée en cycle végétatif 30-37°C
- Car Spores résistent à la pasteurisation de Holder

(Walker-York-Moore 2017)

M Société

SOCIÉTÉ Français, Français Police et justice Éducation Santé Logement Immigration

ARTICLE SÉLECTIONNÉ DANS LA MATRIALE DU 03/07/2016 > Découvrir l'application

La délivrance de lait maternel par le lactarium d'Ile-de-France suspendue après deux décès suspects

Depuis le 6 août, trois cas de contamination de grands prématurés par la bactérie *Bacillus Cereus* ont été détectés.

Le Monde.fr avec AFP | 03.09.2016 à 17h31 • Mis à jour le 03.09.2016 à 12h08



Food Microbiology

Volume 64, June 2017, Pages 195–201



Heat-resistance of psychrotolerant *Bacillus cereus* vegetative cells

Alizée Guérin, Claire Dargaignaratz, Thierry Clavel, Véronique Broussolle, Christophe Nguyen-the

ANSM 2018 « Afin de tirer parti des progrès scientifiques et techniques et des connaissances, il est possible d'appliquer d'autres procédés que ceux décrits dans ces bonnes pratiques (pasteurisation, Tests bactériologique...). Cependant, toute modification d'un processus critique ne peut Être opérée sans une validation préalable du nouveau procédé. La validation consiste à recueillir de façon formelle, la preuve que le nouveau procédé maintienne ou améliore la qualité et la sécurité du produit de façon répétable, reproductible et robuste. »

Evaluation des actions pour limiter les pertes bactériologiques

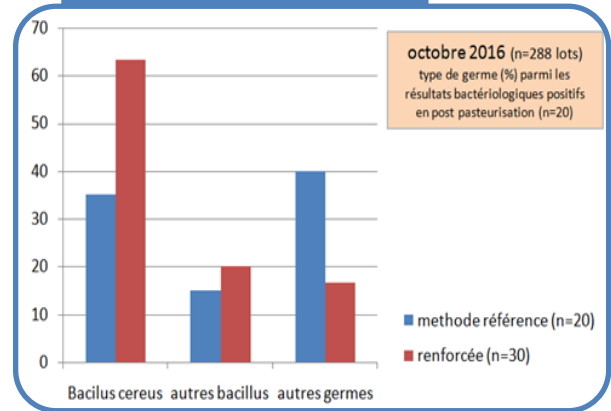
Décontamination oxyfloor® des biberons



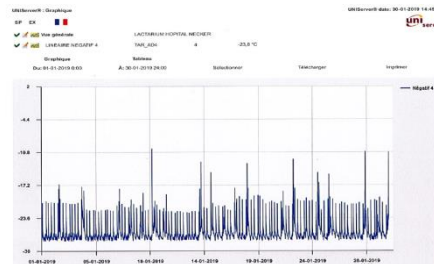
Renforcement chaîne du froid



méthode analyse bactério post pasteurisation renforcée: limite faux positif, sensibilise vis à vis des germes thermorésistants



Donc sur une plaque eutectique - 21° avec un biberon de 130ml de "boisson à l'avoine" à 5° et dans une pièce à 18° voici les résultats:
Après 15 mns : Haut du biberon 6° Fond du biberon 4°
Après 30 mns : Haut du biberon 6° Fond du biberon 4°
Après 45 mns : Haut du biberon 6° Fond du biberon 3.8°
Après 60 mns : Haut du biberon 6° Fond du biberon 3.8° : Biberon mélangé = 4°6

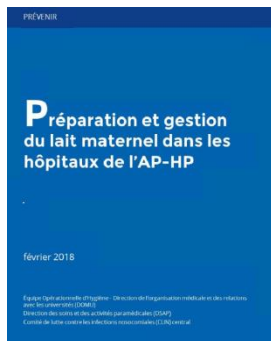
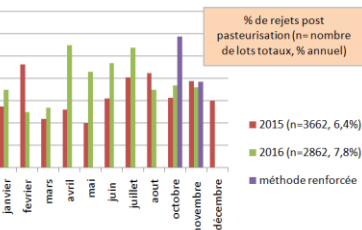


European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases
July 2018, Volume 37, Issue 7, pp 1297-1303 | Cite as

Recent actuality about *Bacillus cereus* and human milk bank: a new sensitive method for microbiological analysis of pasteurized milk

Authors Authors and affiliations

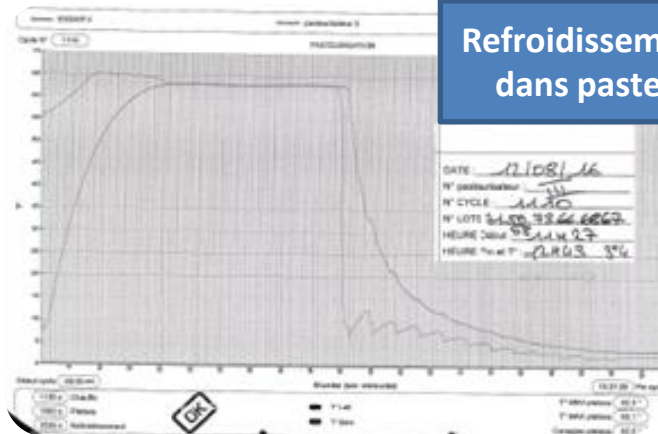
V. Rigoud, J. P. Barnier, A. Ferroni, M. Nicloux, T. Hachem, J. F. Magny, A. Lapillonnerie, P. Frange, X. Nassif, E. Bille



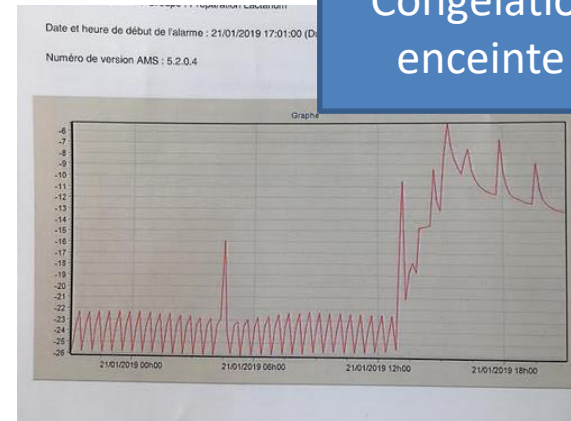
Etape de congélation du lait

• Ancienne prodécure

- Descente en température en conformité avec guide de bonnes pratiques pour atteindre +4°C puis lente jusqu'à -18°C (durée ?)



Refroidissement à +4°C
dans pasteurisateur



Congélation dans
enceinte -18°C

– mais:

- génère alarmes avec difficulté adaptation temps temporisation et seuil -18°C
- Problème de contamination de l'eau de refroidissement des pasteurisateurs malgré
 - Décontamination hebdomadaire Sanosyl®
 - Décontamination chimique et thermique multiples
 - Vidange et maintien à +4°C de la cuve de refroidissement

SURVEILLANCE DE L'ENVIRONNEMENT				
Eau Bactériologiquement maîtrisée				
Eau de Pasteurisateur				
N° d'enregistrement du laboratoire :	LABORATOIRE LAENNEC			
Service :	Eau du Pasteurisateur n°3 : eau de refroidissement			
Point d'eau prélevé :	21/01/2019			
Date de prélèvement :	Non indiquée			
Heure de prélèvement :	Laurence MARIN			
Prélèvements effectués par :	Contrôle du réseau d'eau après réalisation d'une désinfection chimique et thermique le 11/07/2018 sur l'ensemble du réseau d'alimentation, et maintenance de désinfection des pasteurisateurs par HSC les 17.18 et 19.07			
Contexte du prélèvement :	Prélèvement réalisé dans la cuve du pasteurisateur, au moment du refroidissement des biberons			
Remarque :	Technique de référence : Méthode de 100 ml d'eau sur membrane de culture de paille 0.45µm - Enrichissement sur gélose Cerveau 48h à 42°C, TSA 48h à 37°C et TSA 120h à 25°C			
ANALYSE D'EAU BACTÉRIOLOGIQUE MAÎTRISÉE				
Référence eau contrôlée	Flora aérobie reinfusée à 22°C UFC/100 ml	Flora aérobie reinfusée à 37°C UFC/100 ml	P. aeruginosa UFC/100 ml	Interprétation
Eau du Pasteurisateur n°3 : eau de refroidissement	<1000	600	200	Non Conforme
Absence de culture de Bacillus sp				
Recommandation de la norme ISO 15926-1 : 2018 (Annexe A) : Eau de refroidissement contrôlée (Eau de refroidissement)				
Bactériologie	Eau reinfusée à 22°C	Eau reinfusée à 37°C	P. aeruginosa	Non Conforme
	< 1 000 UFC/100 ml	< 1 000 UFC/100 ml	< 100 UFC/100 ml	
	< 1 000 UFC/100 ml	< 1 000 UFC/100 ml	< 100 UFC/100 ml	
	< 1 000 UFC/100 ml	< 1 000 UFC/100 ml	< 100 UFC/100 ml	

*Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé - Air, eau et surface, DDCS/DS/CS, CTIN 2002

Procédure de surgélation

pasteurisation avec PAS1002 programme surgélation

- temps de chauffe
- plateau 60°C 30min
- refroidissement par entrée d'eau de réseau à 50°C
- signal lumineux indiquant la sortie des paniers
- enregistrement datatrace /océasoft de le courbe de température

surgélation

- cellule de surgélation ACFRI
- paniers placés successivement dans cellule à -18°C
- dernière charge contient le biberon d'eau avec sonde placée au milieu de la cellule
- programme surgélation lancé
- enregistrement de la courbe de température clé USB / océasoft / GTC

quarantaine: deux options

- lait conservé dans cellule de surgélation à -18°C
- lait transféré dans meuble -18°C zone de quarantaine
- un cycle de décongélation doit être lancé après chaque surgélation
- enregistrement de la courbe de température océasoft / GTC



Mise en tension Cellule ACFRI

Sortie des biberons à 50°C du pasteurisateur

Chargement des paniers dans cellule

Mise en place de la sonde piquée démarrage du cycle

Fin du cycle Lait à -22°C

- Mode sonde piquée



Qualification

Critères de qualification /
refroidissement
Exposition de 62°5 à +6°C ≤60min
(Buffin 2017, Picaud 2017)

N° du cycle: 2522
Fichier informatique associé: PAS13_2522 - QLg053a2o0kw.txt

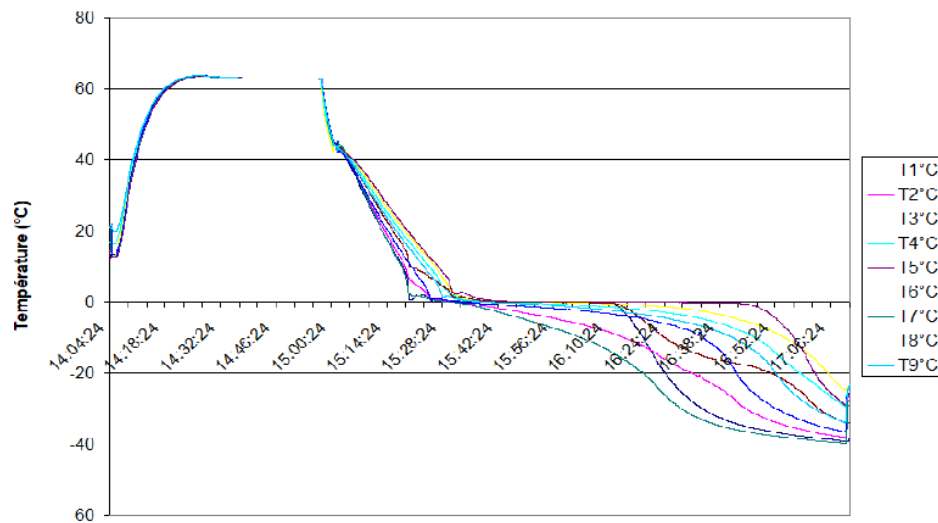


tal Necker
: (75)

Pasteurisateur n°2
HSC PAS 10002 N°361005

Requ
du jeudi 17 jai

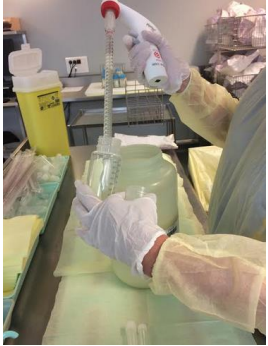
Cycle de Pasteurisation Essai 1/3



Num. Ev	Nom de l'évènement	Heure	Timing	T(°C)
	Début de cycle	14:05:24	0 s	14°C
Evt. N°1	Tous biberons > 58°C	14:17:26	12 m 2 s	58.8°C
Evt. N°2	Tous biberons > 62.5°C, début de paste	14:22:44	17 m 20 s	62.8°C
Evt. N°3	Fin de pasteurisation	14:57:38	52 m 14 s	62.7°C
Evt. N°4	Tous biberons < 58°C	14:58:36	53 m 12 s	56.6°C
Evt. N°5	Passage en cellule de surgélation	15:01:34	56 m 10 s	44.1°C
Evt. N°6	Tous biberons < 4°C	15:30:38	1 h 25 m 14 s	1.4°C
Evt. N°7	Tous biberons < -20°C	17:05:38	3 h 0 m 14 s	-31.7°C
	Fin de cycle	17:10:10	3 h 4 m 46 s	-33.8°C

- 25,7min pour passer charges de 3 pasteurisateurs (189 biberons=37,8litres) de 62°5°C à +4°C
- 95min de +4°C à -18°C

Etude impact sur résultats bactério “post pasteurisation” ou comparaison bactério post pasteurisation vs post surgélation



① Laboratoire de bactériologie pour méthode renforcée en vigueur

② Surgélation puis envoi au Laboratoire de bactériologie pour méthode renforcée de tous les lots non conformes en ①



- Comparaison des deux résultats de bactériologie post pasteurisation de janvier à juin 2019
- Estimation du nombre d'échantillons
 - ① 1920 lots post
 - ② environ 192 lots non conformes (cad 10% de notre production et en raison de la présence de bacillus dans 95% des cas) finalement inclusion de février à mai sur 1/3 de notre activité de pasteurisation soit 42 lots

Au final n=34

Résultats (1)

Numero	date	culture post en vigueur	Culture lait après pasteurisation/surgélation
10	21-févr	Bacillus cereus	Négatif
8	16-avr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
14	28-mai	Bacillus cereus	Négatif
11	11-avr	Bacillus cereus	Streptococcus thermophilus
14	29-mai	Bacillus cereus	Bacillus cereus
15	05-avr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
1	13-mai	Bacillus cereus	Négatif
4	29-mars	Bacillus cereus	Négatif
4	10-avr	Bacillus cereus	Négatif
13	05-avr	Bacillus cereus	Négatif
7	07-mars	Bacillus cereus	Bacillus cereus
11	04-mars	Bacillus cereus	Négatif
14	12-mars	Bacillus cereus	Bacillus cereus
19	21-mars	Bacillus cereus	Bacillus cereus
6	18-mars	Bacillus cereus	Bacillus cereus
18	16-avr	Bacillus cereus	Négatif
6	03-juin	Bacillus cereus	Bacillus cereus
4	28-févr	Bacillus cereus	Enterococcus faecalis
13	20-févr	Bacillus cereus	Négatif
10	14-mai	Bacillus cereus	Bacillus cereus
8	22-mai	Bacillus cereus	Négatif
9	27-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
8	27-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
11	04-févr	Bacillus cereus	Négatif
26	08-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
5	05-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
7	15-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
17	27-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
11	06-mai	Bacillus cereus	Bacillus cereus
7	12-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
3	27-févr	Bacillus cer	Bacillus sp
5	07-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
8	12-févr	Bacillus cereus	Bacillus cereus
1	01-mars	Bacillus cereus	Bacillus cereus

	Non conformes Après surgélation	Conformes après surgélation
Lots non conformes avec bactério post en vigueur	23 (67,6%)	11 (32,4%)
34	34	

Hypothèses

- Efficacité sur les spores
- Ou problème d'échantillonnage



Reprise de un biberon sugelé de chaque lot devenu négatif et prélevé 4 X 20ml /200ml pour nouvelle méthode renforcée = seuil de détection 1 spore (UFC)/20ml

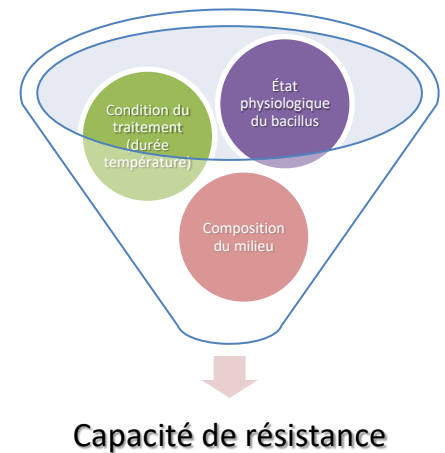
Résultat (2)

- 3 lots non gardés → au final 8 lots analysés

Numero	date	Culture lait après pasteurisation	echA	ech B	echC	ech D
14	28-mai	Négatif	Négatif	Négatif	Bacillus cereus	Négatif
1	13-mai	Négatif	Bacillus cereus	Négatif	Négatif	Bacillus cereus
13	05-avr	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
4	10-avr	Négatif	Bacillus cereus	Négatif	Négatif	Bacillus cereus
11	04-mars	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
18	16-avr	Négatif	Bacillus cereus	Négatif	Bacillus cereus	Négatif
4	29-mars	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
13	20-févr	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

- Au total:** à un seuil de détection descendu très bas 50 % restent conformes
- Questions**
 - A- Que faire des 50% “redevenu positif” avec un méthode beaucoup plus sensible que celle recommandée par le guide de bonne pratique : méthode renforcée + abaissement du seuil de détection
 - B- Peut –on émettre des hypothèses sur rôle de la surgélation?

Discussion (1)



- Certainement un rôle bénéfique à limiter la durée du temps où température du lait entre
 - 30 et 37° / risque entrée en cycle végétatif
 - +10° et +4°C et même 5° à 55°C (15% des souches psychrotropes) / risque croissance (Euzeby 2002)
- Mais (Madi 2012)
 - hétérogénéité des souches *Bacillus cereus*: psychrotrope → thermorésistance variable
 - Effet inoculum
 - Hétérogénéité des laits
 - Bactérie lactiques produisent des bactériocines comme la pédiocine qui limitent le développement des spores de certains *Bacillus cereus* mais peuvent aussi activer la germination des spores: « *le lait de lactarium reste bien vivant* » (Meghrouh 1999)
 - Teneur en graisse

graisse du lait a un effet protecteur pour le bacillus



International Journal of Food Microbiology
Volume 181, 2 July 2014, Pages 10-18



The combined effect of pasteurization intensity, water activity, pH and incubation temperature on the survival and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus pumilus* in artificial media and food products

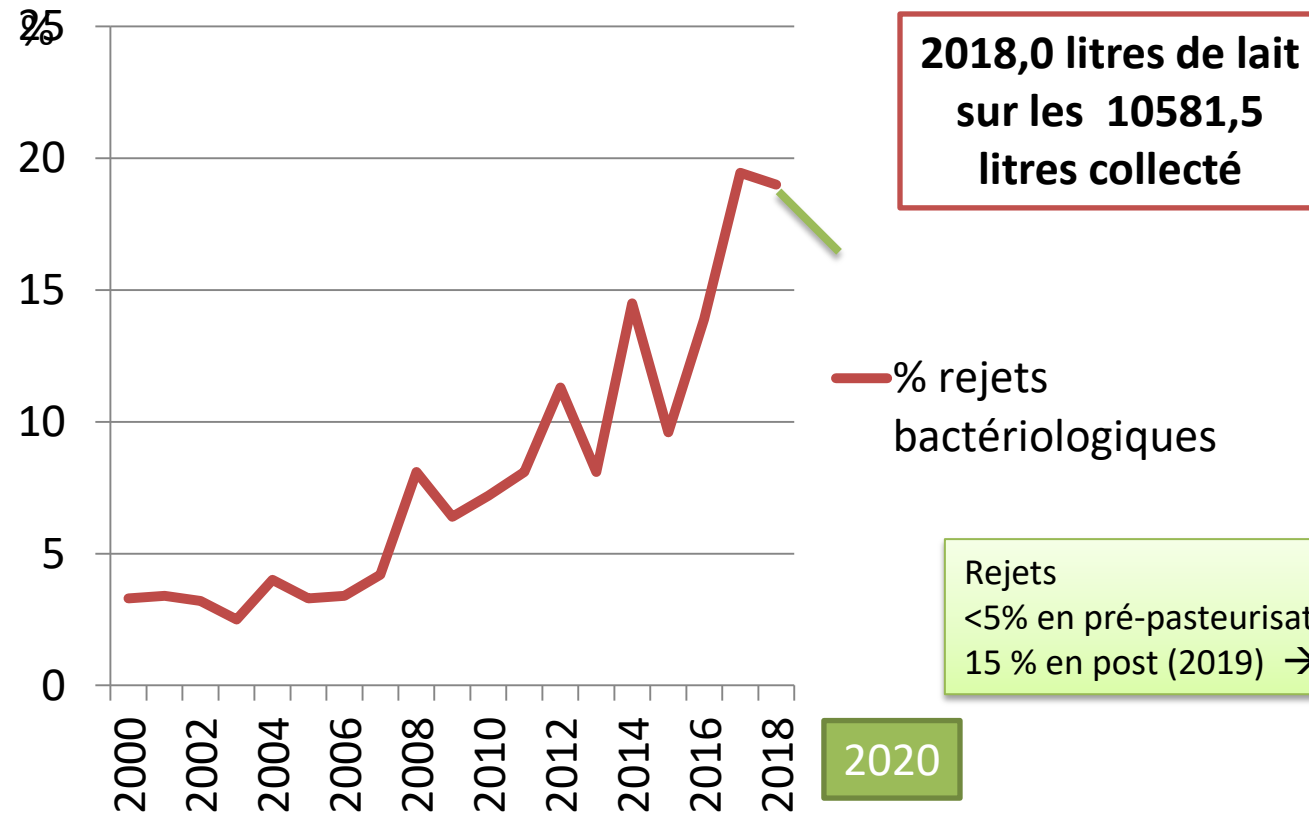
S. Samapundo^{a,*}, M. Heyndrickx^b, R. Xhaferi^a, I. de Baenst^a, F. Devlieghere^a

Discussion (2)



- Au final quelque soit mode de surgélation **tous les lots sont surgelés après pasteurisation et sont le reflet du lait consommé**: *quelques soit le mode de congélation mortalité des cellules de l'ordre de 1 log* (Tauveron 2006)
 - peut être pour cela que sur les 10% de lots qui sont libérés par les lactariums (sauf par Marmande et Necker) alors qu'ils seraient positifs avec méthode renforcée, 50% sont réellement conformes
 - et ce sont les lots où le nombre de spore est le plus bas en dessous du seuil de détection de méthode actuellement recommandée par guide de bonne pratique: donc y a-t-il réellement un intérêt à les éliminer?

20 ans de qualification bactériologique



ANSM 2018 « Afin de tirer parti des progrès scientifiques et techniques et des connaissances, il est possible d'appliquer d'autres procédés que ceux décrits dans ces bonnes pratiques (pasteurisation, Tests bactériologique...). Cependant, toute modification d'un processus critique ne peut Être opérée sans une validation préalable du nouveau procédé. La validation consiste à recueillir de façon formelle, la preuve que le nouveau procédé maintienne ou améliore la qualité et la sécurité du produit de façon répétable, reproductible et robuste. »

Conclusion



- En réduisant la temps de congélation on modifie la réponse de certains composant thermo-sensibles
 - Diminution des pertes bactériologiques:
 - réduction du risque de pénurie
 - Meilleure disponibilité pour tous les moins de 34SA

Il est donc particulièrement important de **tout mettre en œuvre pour que les mères puissent allaiter leur enfant et lorsqu'elles n'ont pas (ou pas assez de lait), de proposer du lait de don, collecté et traité par un lactarium.**



Si les lactariums ne sont pas encore en mesure de couvrir la totalité de ces besoins, il apparaît actuellement judicieux de prolonger l'utilisation de lait de don lorsque la mère n'a pas (ou pas assez) de lait, **jusqu'à 1700-1800 g (environ 34 SA) au moins.**

Les services de Néonatalogie (type III et type II) peuvent **se rapprocher du lactarium le plus proche** (www.lactariums-de-france.fr), qui pourra leur préciser l'état de ses stocks et dans quelle mesure il peut leur fournir tout le lait maternel dont ils ont besoin. Cela peut varier selon les périodes et seul **votre lactarium de proximité pourra vous informer.**

Association Des Lactariums de France

- Optimisation de la qualité du lait (Arslanoglu 2013, Moro 2012):
 - Bactériologique: En limitant contamination post pasteurisation: choc thermique prévient multiplication des spores aerobies (Moro 2019)
 - Limite altération qualité nutritionnelle (Moro 2019): % rétention BSSL?

Perspectives

- En attendant de nouvelles méthodes de sécurisation du lait:

- Hautes pressions ($\downarrow 6,18\text{-log}_{10}$) (Demazeau 2018)
- UV ($\downarrow 5\text{-log } 10$) (Gabriel 2017)

TABLE 4 | Average values of the resulting microbial safety using *Staphylococcus aureus* (Gram-Positive Bacterium) and *Bacillus cereus* (Sporulated Bacterium) as contamination references.

	Inactivation efficiency (IE)		
	LTLT ^a	HTST ^b	New HHP ^c
<i>S. aureus</i>	~4	~4	~6
<i>B. cereus</i> spores	No effect	No effect	~5

^aHigher contamination accepted for the Holder treatment (10^4 CFU/mL) due to toxin production by *S. aureus*.

^bGiribaldi et al. (45).

^cThis paper.

- Est –il justifié de maintenir la méthode renforcée?

- Un constat:

- seul 2 lactariums Marmande et Ile de France (Necker) font une méthode renforcée
- 10% des lots distribués par autres lactariums contiennent du bacillus cereus, aucun cas d'infection à bacillus attribuée au lait de lactarium



- Nouvelle recommandations: CTTS ANSM



Conclusion

Combien d'ECUN et d'infections secondaires prévenues?

Combien de pronostics neurologiques améliorés?

Pour combien d'infections à bacillus prévenues?