

Euro surveillance

BULLETIN EUROPÉEN SUR LES MALADIES TRANSMISSIBLES / EUROPEAN COMMUNICABLE DISEASE BULLETIN

FINANCÉ PAR LA DG SANTÉ ET PROTECTION DU CONSOMMATEUR
DE LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNESFUNDED BY DG HEALTH AND CONSUMER PROTECTION OF THE COMMISSION
OF THE EUROPEAN COMMUNITIES

SALMONELLES /SALMONELLA

Salmonella : un « vieux » pathogène qui gêne encore

S.J. O'Brien¹, H. de Valk²

¹ Unité des maladies gastro-intestinales, Centre de surveillance des maladies infectieuses, PHLS, Londres, Royaume-Uni
² Unité Maladies Entériques Alimentaires et Zoonoses, Département Maladies Infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Les événements du 11 septembre 2001 ont engendré le spectre du bioterrorisme et des moyens considérables ont été depuis mobilisés pour préparer l'impensable (1). Ce numéro d'*Eurosurveillance* nous rappelle que certains pathogènes bien connus constituent encore des menaces pour la santé publique, et qu'ils sont parfois à tort considérés sous contrôle. Ainsi, depuis peu, l'incidence de la salmonellose a considérablement diminué au sein de l'Union européenne, le nombre de cas déclarés à Enternet (2) passant du pic de 100 267 en 1997, à 73 006 en 2001 (I.S.T. Fisher – communication personnelle). Pourtant, les événements récents et les articles publiés dans ce numéro illustrent les défis continus de la lutte contre cette infection.

Les défis de la lutte contre les salmonelles

Le premier réside en la large distribution des aliments. Des aliments contaminés produits dans un pays peuvent causer des maladies dans d'autres, d'où l'importance d'avoir des programmes solides de contrôle ➤

Salmonella – “old” organism, continued challenges!

S.J. O'Brien¹, H. de Valk²

¹ Gastrointestinal Diseases Division, PHLS Communicable Disease Surveillance Centre, London, United Kingdom
² Foodborne and Enteric Diseases Division, Infections Dis. Dpt, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Following the events of 11 September 2001, the ensuing spectre of bioterrorism and considerable efforts planning for the unthinkable (1), this *Eurosurveillance* issue reminds us of the continuing threat to public health from well-recognised pathogens, sometimes mistakenly judged to be controlled. Recently the incidence of salmonellosis has decreased substantially across the European Union, the number of cases reported to Enternet (2) declining from 100 267 in the peak year of 1997 to 73 006 in 2001 (I.S.T. Fisher – personal communication). However, recent events and the following articles illustrate continued challenges in salmonella control.

Challenges in salmonella control

The first is the widespread distribution of food. Contaminated food produced in one country may cause illness far away, ➤

S O M M A I R E

Éditorial	Salmonella : un « vieux » pathogène qui gêne encore
Rapports de surveillance	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation explosive de <i>Salmonella</i> Java dans la volaille aux Pays-Bas : conséquences pour la santé publique • Investigation d'infections humaines à <i>Salmonella enterica</i> sérotype Java en Ecosse, association possible avec de la volaille importée
Eurosynthèses	<ul style="list-style-type: none"> • Résistance aux antibiotiques d'isolats de <i>Salmonella enterica</i> issus de cas de salmonellose humaine en Europe en 2000 : résultats d'une surveillance multicentrique internationale • Le projet Salm-gene – une collaboration européenne pour les empreintes génétiques des salmonelloses liées à l'alimentation
Rapport de surveillance	<ul style="list-style-type: none"> • Les infections entériques à <i>Salmonella</i> à Guipúzcoa, en Espagne de 1983 à 2000.

"Ni la Commission européenne, ni aucune personne agissant en son nom n'est responsable de l'usage qui pourrait être fait des informations ci-après."

C O N T E N T S

Éditorial	Salmonella: "old" organism, continued challenges !
Surveillance reports	<ul style="list-style-type: none"> • Explosive increase of <i>Salmonella</i> Java in poultry in the Netherlands. • Investigation of human infections with <i>Salmonella enterica</i> serovar Java in Scotland and possible association with imported poultry.
Euroroundups	<ul style="list-style-type: none"> • Antimicrobial drug resistance in isolates of <i>Salmonella enterica</i> from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multicentre surveillance. • The Salm-gene project – a European collaboration for DNA fingerprinting for food-related salmonellosis.
Surveillance report	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella enteric</i> infections in Gipuzkoa, Spain, 1983-2000.

"Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for the use which might be made of the following information"

► au niveau national. Aux Pays-Bas, l'augmentation importante de l'infection à *Salmonella enterica* sérovar Java dans la filière avicole n'a eu aucun impact en santé humaine (3), mais ses répercussions sont probablement apparues en Ecosse (4), où des isolats cliniques ont montré des profils de PFGE indifférenciables d'isolats de volaille d'origine allemande et hollandaise. En Angleterre et au Pays de Galles, *S. Enteritidis* a chuté de plus de 50% entre 1997 et 2000, probablement en raison de la vaccination des élevages de volailles (5). Néanmoins, lors de plusieurs investigations récentes d'épidémies de *S. Enteritidis* touchant près de 1000 personnes, des œufs en provenance d'Espagne ont été mis en cause (6). Ce sérotype prédomine largement selon une étude de cas cliniques de salmonellose dans la région du nord de l'Espagne (7). Dans ce pays, les taux rapportés de salmonellose sont restés élevés, alors que la tendance générale était récemment à la baisse (7).

Le second défi concerne la traçabilité. La complexité des chaînes de distribution et/ou l'absence de marqueurs identifiants peuvent rendre extrêmement difficile la détermination de l'origine des aliments. Et pourtant, les alertes sur les risques alimentaires et le retrait des marchandises dépendent de l'identification précise des produits suspects. Dans l'investigation de *S. Java* en Ecosse, seul un des 14 isolats de volaille importée a pu être identifié avec certitude comme provenant des Pays-Bas (4).

Le troisième défi correspond à la résistance aux antibiotiques. Au cours de la dernière décennie, des souches multirésistantes de *S. enterica* se sont largement disséminées dans de nombreux pays européens, en particulier *S. Typhimurium* DT104 et 204b. En 2000, 40% des 27 059 isolats cliniques de *Salmonella* analysés étaient résistants à au moins un antibiotique, 18% montraient une résistance multiple (à quatre antibiotiques ou plus) (8).

De nouvelles menaces se profilent. Aux Etats-Unis, l'émergence d'une souche de *S. Newport* multirésistante dans le bétail et chez l'homme a des conséquences majeures en santé publique (9). Pour contrôler ce pathogène, il est essentiel de maintenir une vigilance permanente, incluant l'identification rapide de souches similaires et, si elles devaient émerger en Europe, le partage immédiat des informations au niveau des partenaires de santé publique. Des programmes efficaces de surveillance au niveau national et la coopération avec Enter-net constituent des moyens solides pour atteindre ces objectifs.

Le quatrième défi consiste à développer une masse critique de compétences. Un des objectifs du projet Salm-gene est d'améliorer la détection des épidémies par le typage en routine de certaines souches de salmonelles avec des méthodes moléculaires (10). Ceci pose quelques questions. Quelle est la signification épidémiologique de ces clusters ? L'expérience tirée du réseau PulseNet aux Etats-Unis a illustré le besoin croissant d'évaluer la valeur épidémiologique des clusters moléculaires (11). Y a-t-il actuellement dans chacun des pays européens assez de capacité et de compétences pour typer un nombre significatif de souches et réaliser le suivi de tels clusters, en menant les investigations nécessaires pour identifier les véhicules alimentaires et les sources ? Le succès de cette stratégie dépendra de l'engagement de chacun des pays membres à investir dans les méthodes moléculaires et à les utiliser en les associant à l'épidémiologie de terrain au niveau local, ainsi que des collaborations avec des projets internationaux comme Salm-gene.

Les réponses

Que faut-il donc pour résoudre les problèmes permanents soulevés par l'infection à *Salmonella* ? Tout d'abord, continuer à développer les mécanismes existants de surveillance. Sans la surveillance nationale et européenne, qui exige l'harmonisation des méthodes microbiologiques et de très bonnes investigations épidémiologiques, les difficultés pour déterminer les sources, les voies de dissémination et l'impact de la salmonellose en Europe resteraient insurmontables.

► demonstrating the importance of robust national control programmes. In The Netherlands, a substantial increase in *Salmonella enterica* serovar Java infection in poultry (3) had no impact on human health, the consequences probably being felt in Scotland instead (4), where clinical isolates exhibited pulsed field gelelectrophoresis (PFGE) profiles indistinguishable from poultry isolates from Germany and the Netherlands. In England and Wales, *S. Enteritidis* fell by over 50% between 1997 and 2000, probably partly due to vaccination of poultry flocks (5). However, during several recent investigations of outbreaks of *S. Enteritidis*, affecting nearly 1000 people, contaminated Spanish eggs were found (6). In a study of clinical cases of salmonellosis in northern Spain, *S. Enteritidis* overwhelmingly predominated (7). Spain has continued to report high rates of salmonella infection, bucking the recent overall downward trend (7).

The second challenge is traceability. The complexity of the food supply chains and/or the lack of identifying markers on foods can make it extremely difficult to trace back to their origin. Yet food hazard warnings and product withdrawal depend on accurate identification of suspect products. In the Scottish investigation of *S. Java*, only one of 14 imported poultry isolates could definitely be identified as having originated in poultry meat imported from the Netherlands (4).

The third is antimicrobial resistance. Over the last decade, strains of *S. enterica* with multiple drug resistance have been distributed widely in many European countries, in particular multi-resistant clones of *S. Typhimurium* DT104 and 204b. In 2000, 40% of 27 059 clinical isolates of *Salmonella* tested were resistant to at least one antimicrobial, with 18% exhibiting multiple resistance (to four or more antimicrobial agents) (8).

New threats are appearing. The emergence of multi-resistant *S. Newport* infection in north America in both cattle and humans is having major public health consequences (9). To contain this organism, it is essential to maintain continued vigilance, including rapid identification of similar strains and, should they emerge in Europe, immediate sharing of information within the public health community. Sound national surveillance programmes and cooperation with Enter-net provide robust mechanisms for doing so.

The fourth is capacity building. One objective of the Salm-gene project is to enhance outbreak detection through routinely subtyping certain salmonellas using molecular methods (10). This in itself poses questions. What is the epidemiological significance of these clusters? One lesson from PulseNet in the United States has been the expanding need for epidemiological assessment of molecular clusters (11). Is there currently sufficient capacity within each European country to subtype a significant number of strains, and to follow up such clusters with the necessary epidemiological investigations to identify food vehicles and sources? The success of this strategy will depend on the commitment of individual Member States to invest in and apply molecular methods combined with field epidemiology, and on the collaboration with international projects such as Salm-gene.

What is needed

So what is required to combat the continuing challenges posed by *Salmonella*? The first is the continuous development of existing surveillance mechanisms. Without national and European surveillance, including harmonisation of microbiological methods and high quality epidemiological enquiry, the intricacies of the sources, spread and impact of salmonellosis in Europe would remain elusive.

Ensuite, il faut s'assurer que l'expertise épidémiologique soit suffisante pour exploiter les progrès en microbiologie moléculaire, et qu'elle reste associée à ce domaine en pleine expansion. Ceci implique d'investir au niveau national dans des programmes de formation à l'épidémiologie de terrain, et de maintenir en Europe le Programme européen de formation à l'épidémiologie d'intervention (European Programme for Intervention Epidemiology Training, EPIET) (12). Sans la possibilité d'évaluer rapidement les clusters moléculaires au niveau épidémiologique, les opportunités de prévention seront perdues.

La dernière option –et non des moindres– repose sur l'approche intégrée en la santé publique. L'avancée réalisée par Enter-net en réunissant microbiologistes et épidémiologistes travaillant sur les mêmes maladies chez l'homme est la bienvenue. Il reste maintenant à intégrer l'expertise de ces scientifiques à ceux des vétérinaires pour améliorer l'identification des nouveaux risques alimentaires et leurs solutions.

S'assurer qu'une attention particulière a été portée pour faire comprendre ces principes constitue également une assurance contre le bioterrorisme. ■

The second is ensuring that sufficient epidemiological expertise is available to make use of advances in molecular microbiology and keep pace with a rapidly developing field. This requires national investment in field epidemiology training programmes as well as retaining within Europe the cadre of field epidemiologists being trained through the European Programme for Intervention Epidemiology Training (EPIET) (12). Without the ability for rapid epidemiological assessments of molecular clusters, opportunities for prevention might be lost.

Last but not least is a fully integrated public health approach. The progress made by Enter-net in bringing together microbiologists and epidemiologists working on human disease is very welcome. Integration of expertise from food scientists and veterinarians is now needed to improve the identification of, and response to, new problems.

Ensuring that we have paid close attention in getting these basic principles right is also our insurance policy against bioterrorism. ■

References

1. Byrne D. Bioterrorism: Crime and opportunity. *Eurosurveillance* 2001; **6**:157-8.
2. Fisher IST. The Enter-net international surveillance network – how it works. *Eurosurveillance* 1999; **4**:52-5.
3. Van Pelt W, Van der Zee H, Wannet WJB et al. Explosive increase of *Salmonella* Java in poultry in the Netherlands: consequences for public health. *Eurosurveillance* 2003; **8**:31-5.
4. Brown DJ, Mather H, Browning LM, Coia JE. Investigation of human infections with *Salmonella enterica* serovar Java in Scotland and possible association with imported poultry. *Eurosurveillance* 2003; **8**:35-40.
5. Ward LR, Threlfall J, Smith HR, O'Brien SJ. *Salmonella enteritidis* epidemic. *Science* 2000; **287**: 1753-4.
6. O'Brien S, Mitchell M, Ward L. Upsurge in *Salmonella* Enteritidis outbreaks in England and Wales, September to November 2002. *Eurosurveillance Weekly* 2002; **6**:021205 (www.eurosurveillance.org/ew/2002/021205.asp).
7. Marimon JM, Perez-Trallero E, Gomariz M, Rodriguez-Andres C, Lopez-Lopategui C. *Salmonella enterica* infections in Gipuzkoa, Spain: an 18 year study. *Eurosurveillance* 2003; **8**:50-54.
8. Threlfall EJ, Fisher IST, Berghold C et al. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe 2000: results of international multi-centre surveillance. *Eurosurveillance* 2003; **8**:41-5.
9. Zansky S, Wallace B, Schoonmaker-Bopp D, Smith P, Ramsey F, Painter J, Gupta A, Kalluri P, Noviello S. From the Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of multi-drug resistant *Salmonella* Newport—United States, January-April 2002. *JAMA* 2002; **288**:951-3.
10. Peters TM, Maguire C, Threlfall EJ, Fisher IST, Gill N, Gatto AJ. The Salm-gene project – a European collaboration for DNA fingerprinting for food-related salmonellosis. *Eurosurveillance* 2003; **8**:46-50.
11. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV, and the PulseNet Task Force. PulseNet: The molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**:382-9.
12. Van Loock F, Rowland M, Grein T, Moren A. Intervention epidemiology training: a European perspective. *Eurosurveillance* 2001; **6**:37-43.

RAPPORT DE SURVEILLANCE

Augmentation explosive de *Salmonella* Java dans la volaille aux Pays-Bas : conséquences pour la santé publique

W. van Pelt¹, H. van der Zee², W.J.B. Wannet³, A.W. van de Giessen⁴, D.J. Mevius⁵, N.M. Bolder⁶, R.E. Komijn⁷, Y.T.H.P. van Duynhoven¹

1. Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie (Centre d'épidémiologie des maladies infectieuses), RIVM, Pays-Bas
2. Keuringsdienst van Waren Oost (Département d'inspection des aliments de l'Est), Zutphen, Pays-Bas
3. Laboratorium voor Infectieziekten-diagnostiek en Screening (Laboratoire de diagnostic et de dépistage des maladies infectieuses), RIVM, Pays-Bas
4. Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming (Laboratoire de microbiologie pour la protection de la santé), RIVM, Pays-Bas
5. Institut de lutte contre les zoonoses, CIDC-Lelystad, Pays-Bas
6. Institut des sciences vétérinaires et de la santé, ID-Lelystad, Pays-Bas
7. Rijksdienst voor de keuring van Vee en Vlees (RVV, Service national d'inspection vétérinaire et alimentaire), Pays-Bas

Aux Pays-Bas, l'infection à *Salmonella* Paratyphi B variant Java dans la volaille a augmenté de moins de 2% de tous les isolats avant 1996, à environ 60% en 2002. En dépit d'une exposition importante à la viande contaminée, les cas humains présentant une infection à Java sont rares (0,3% de tous les isolats), mais 50% des isolats humains montrent des profils en PFGE identiques au clone de volaille. Par ailleurs, la résistance de *S. Java* à la fluméquine a augmenté de 3% entre 1996-2000 à 19% en 2001 et 39% en 2002, alors que celle des autres sérotypes s'est maintenue à environ 7%. *S. Java* devient également moins sensible à la ciprofloxacine. ►

SURVEILLANCE REPORT

Explosive increase of *Salmonella* Java in poultry in the Netherlands: Consequences for public health

W. van Pelt¹, H. van der Zee², W.J.B. Wannet³, A.W. van de Giessen⁴, D.J. Mevius⁵, N.M. Bolder⁶, R.E. Komijn⁷, Y.T.H.P. van Duynhoven¹

1. Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie (CIE, Centre for Infectious Diseases Epidemiology), RIVM, The Netherlands
2. Keuringsdienst van Waren Oost (KvW, Food Inspection Department East), Zutphen, The Netherlands
3. Laboratorium voor Infectieziekten-diagnostiek en Screening (LIS, Laboratory for Infectious Diseases Diagnostics and Screening), RIVM, The Netherlands
4. Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming (MGB, Microbiology Laboratory for Health Protection), RIVM, The Netherlands
5. Central Institute for Animal Disease Control, CIDC-Lelystad, The Netherlands
6. Institute for Animal Science and Health, ID-Lelystad, The Netherlands
7. Rijksdienst voor de keuring van Vee en Vlees (RVV, National Inspection Service for Livestock and Meat), The Netherlands

In the Netherlands *Salmonella* Paratyphi B variant Java increased in poultry from less than 2% of all isolates before 1996 to 60% in 2002. Despite exposure to contaminated meat is high, human patients with Java infection are rare (0.3% of all isolates). However, 50% of the human isolates showed PFGE profiles identical to the poultry clone. Resistance to flumequin in *S. Java* increased from 3% between 1996-2000 to 19% in 2001, and 39% in 2002, while that of other serotypes in poultry remained at about 7%. *S. Java* is also fast becoming less sensitive to ciprofloxacin. ►

Introduction

Salmonella enterica Paratyphi B de sérotype Java, ou simplement Java, a commencé à augmenter de manière inquiétante chez les poulets et produits dérivés en 2000 aux Pays-Bas. Ce sérovar provoque des gastro-entérites chez l'homme après ingestion d'aliments contaminés, mais peut également se manifester de manière invasive par des symptômes cliniques proches du typhus, ou provoquer des épidémies (1–4). Dans cet article, nous tentons d'évaluer la menace potentielle de santé publique liée à l'augmentation de Java dans la volaille aux Pays-Bas.

Matériels et méthodes

Le Centre national des salmonelles (NSC) et le Laboratoire national et européen de référence pour les Salmonelles (NRL) au RIVM identifient tous les isolats issus de prélèvements réalisés chez l'homme (principalement envoyés par les laboratoires de santé publique régionaux couvrant 64% de la population néerlandaise), chez l'animal, dans des aliments, les aliments pour animaux, et dans l'environnement. Le Service d'inspection alimentaire de l'Est (KvW, Zutphen) analyse les produits dérivés du poulet chez les bouchers, dans les supermarchés et chez les éleveurs de volaille. L'échantillonnage est réalisé de manière représentative et statistiquement pertinente (produits, points de vente, régions et saisons) (5). Les antibiogrammes étaient effectués au NSC jusqu'en 2001 en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé (tablettes ROSCO®). Depuis 1999, la sensibilité des isolats à plusieurs antibiotiques est quantitativement déterminée par la concentration minimum inhibitrice (CMI) au CIDC-Lelystad. Le typage par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) a été réalisé selon le protocole de Salm-gene sur 27 isolats provenant de volaille et 22 isolats humains (lire article pp46-50).

Tendances de *S. Java* aux Pays-Bas et ailleurs

Les données de surveillance du KvW sur les produits dérivés du poulet montrent que les prélèvements positifs pour Java ont augmenté de façon considérable, même si le pourcentage total des prélèvements positifs pour *Salmonella* a diminué de plus de 50% depuis 1995 (tableau 1). Dans la volaille, la proportion de Java est passée de 3% de tous les isolats en 1995, à 15% en 1997, 33% en 2000 et 61% en 2002 (figure). Le NSC a également noté une augmentation similaire

Introduction

Salmonella enterica Paratyphi B variation Java, or simply Java, began to increase alarmingly among chickens and in chicken products in the Netherlands in 2000. This serovar causes gastro-enteritis in humans through the consumption of contaminated food, but it can also be invasive, producing typhus-like clinical symptoms, and lead to outbreaks (1–4). In this article, we try to assess the potential threat to public health associated with the increase of Java among poultry in the Netherlands.

Materials and methods

The National Salmonella Centre (NSC) and the National and European Reference Laboratory (NRL) for Salmonella at RIVM identify all the isolates taken from humans (mostly sent by regional public health laboratories covering 64% of the Dutch population) and animals, from food, animal food, and from the environment. The Food Inspection Department East (KvW, Zutphen) analyses chicken products from butchers, supermarkets, and poultry farmers. Sampling is done in a representative and statistically sound manner (regarding products, points of sale, regions, and seasons) (5). Antibiograms were carried out at NSC until 2001, using the agar diffusion method (ROSCO® tablets). Since 1999, the sensitivity of isolates to various antibiotics has been quantitatively determined by the minimal inhibitory concentration (MIC) at CIDC-Lelystad. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) typing was performed on 27 isolates derived from poultry, and 22 from humans, collected between 1998 and 2002, following the Salm-gene scheme (see article pp46-50).

Trends in *S. Java* in The Netherlands and abroad

Results from the monitoring of chicken products by the KvW show that positive Java samples increased drastically, even though the total percentage of salmonella-positive samples more than

Figure

Résultats positifs pour *S. Java* en proportion de tous les isolats de *Salmonella* dans les produits à base de poulet (KvW) et en nombre absolu d'isolats reçus par le LNR-Berlin / Positive results for *S. Java* as a proportion of all *Salmonella* isolates from chicken products and as absolute number of isolates received by the NRL-Berlin.

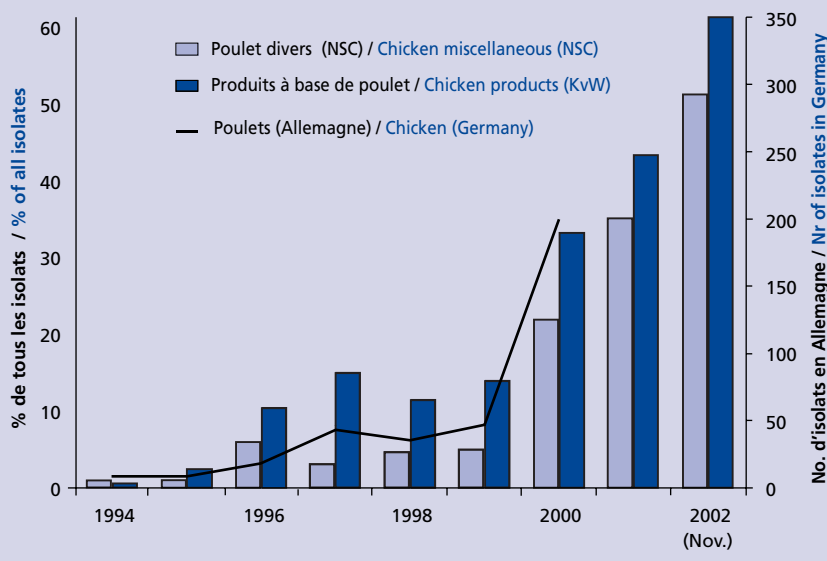


Tableau 1 / Table 1

Résultats de la surveillance des produits dérivés du poulet par le Département d'inspection alimentaire, 1995–2002* / Results of the monitoring of chicken products by the Food Inspection Department, 1995–2002*

	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002*
Prélèvements analysés Samples tested	1359	1325	1314	1077	859	1454	1578	1196
<i>Salmonella</i> spp. positive (%)	34.2	32.6	29,1	20.2	17.6	21	16.3	13.2
Hadar positive (%)	10	5.2	2.9	1.2	0.8	0.7	0.7	0.1
Enteritidis positive (%)	6.8	12.1	8,8	nd	4.8	1.4	1.4	0.5
Paratyphi B var. Java positive (%)	0.8	3.4	4,4	2.3	2.4	7.0	7.0	8.1

* résultats préliminaires au mois d'octobre / *preliminary results up through October

dans les produits dérivés du poulet. Bien que rare, l'infection par Java est possible chez l'homme sans intoxication alimentaire : 51 isolats ont été reçus au NSC entre 1996 et 2002 (soit 0,3% de tous les isolats humains).

En 1998 et 2000, des informations via Enter-net (le réseau européen de surveillance des infections humaines à *Salmonella* et à *E. coli* vérotoxigènes) ont également révélé un faible taux de salmonellose Java chez l'homme dans les autres pays européens. En 1999 et 2000, au cours de réunions des laboratoires nationaux de référence (LRF), ceux de Berlin et des Pays-Bas ont rapporté une augmentation similaire de Java dans la volaille depuis 1995, avec une progression explosive en 2000 (figure). Les LNR des autres pays avaient alors considéré qu'il ne s'agissait là que d'un problème germano-hollandais. Et pourtant, en décembre 2002, l'Ecosse a transmis via le réseau Enter-net une demande d'informations sur l'infection à Java multirésistante, qui semble devenir un problème émergent chez l'homme (lire article pp35-40).

Résistance aux antimicrobiens

C'est en 1996 que la filière avicole aux Pays-Bas a rencontré pour la première fois des problèmes liés à Java, dans cinq fermes d'élevage. Actuellement, 50 à 100 fermes luttent contre l'infection. La présence des souches Java persiste alors que les scores de contrôle qualité sont corrects, tandis que *S. Enteritidis*, Hadar, Infantis, Virchow etc. sont éliminés par les procédures standards de nettoyage et de désinfection. Et pourtant, le sérotype Java n'était pas plus résistant aux désinfectants que les autres sérotypes identifiés dans les fermes durant la même période.

Les isolats de Java retrouvés dans la volaille aux Pays-Bas sont en général multirésistants, contrairement aux autres sérotypes (tableau 2). D'après les profils de résistance, les clones isolés chez l'homme des années 1980 à 1990 semblent proches du groupe génétiquement diversifié et sensible aux antibiotiques qui prédominait dans les années 1960 à 1990 (9-11). Les isolats de volaille détectés jusqu'en 1995 appartiennent probablement à un groupe dérivant de certains clones multirésistants au chloramphénicol, au sulphonamide, à la tétracycline, au triméthoprime, et souvent à la kanamycine, à la néomycine et à l'acide nalidixique (9). Les souches isolées à partir de 1996 proviennent probablement d'un clone apparu récemment et qui a pratiquement remplacé tous les autres sérotypes

dans la volaille. Il montre une résistance au triméthoprime en association, au sulphonamide, à la streptomycine, à l'acide nalidixique et à l'ampicilline (9). Ce clone a également été retrouvé en Allemagne par typage moléculaire, pour deux isolats de volaille envoyés au centre national de référence de Berlin et, en Décembre 2002 aux Pays-Bas, pour la totalité des 27 isolats Java de poulet mis en évidence en 1998-2000. ➤

halved since 1995 (table 1). In poultry, the proportion of isolates with Java rose from 3% in 1995 to 15% in 1997, and then to 33% in 2000 and 61% in 2002 (figure). The NSC also noted the same increase in products derived from chickens. Although rarely, Java has also been isolated from humans : 51 isolates were received at the NSC between 1996 and 2002 (0.3% of all human isolates).

In 1998 and 2000, information via Enter-net (the European surveillance network for human infections involving salmonella and Verocytotoxin-producing *E. coli*) revealed a similar low level of salmonellosis due to Java in humans in other European countries. At meetings of the European NRLs in 1999 and 2000, NRL-Berlin and NRL-The Netherlands reported the same development of Java in poultry since 1995, and the explosive increase in 2000 (figure). The NRLs from other European countries considered that this was uniquely a German and Dutch problem. In December 2002, however, Scotland sent out a request for information via Enter-net regarding what seems to be an emerging problem in humans: the infection with multiresistant Java (see article pp35-40).

Antimicrobial resistance

The poultry sector in the Netherlands first encountered problems with Java in five chicken farms in 1996. Currently 50-100 farms are battling this infection. Java clones persist despite perfectly adequate quality control scores (8), whereas *S. Enteritidis*, Hadar, Infantis, Virchow etc, can be successfully eliminated with the standard cleaning and disinfection procedures. Still, Java was no more resistant to disinfectants than other serotypes found in the farms at the same time.

Java isolates found in poultry in the Netherlands are generally multiresistant, in contrast to the other serotypes (table 2). According to the resistance pattern, the human clones isolated from the 1980s until the mid-1990s most closely resemble the genetically diverse and antibiotic-sensitive strains prevalent in 1960-90s (9-11). The poultry isolates until 1995 most likely belong to a group deriving from a few clones multiresistant to chloramphenicol, sulphonamide, tetracycline, trimethoprim and often also kanamycin, neomycin and nalidixic acid (9). The isolates from 1996 onwards most likely derive from

a recent clone, which had practically replaced all the others in poultry, and is resistant to trimethoprim in combination, to sulphonamide, streptomycin, nalidixic acid and ampicillin (9). This clone was also found in Germany by molecular typing for two isolates from poultry sent to the NRL-Berlin and, in December 2002 in the Netherlands, for all the 27 preserved Java poultry isolates in 1998-2002. ➤

Tableau 2 / Table 2						
Différences de résistance entre les isolats de <i>Salmonella</i> Paratyphi B var. Java chez l'homme et dans le poulet pour 1984-1995 et 1996-2001.						
Resistance patterns of <i>S. Java</i> isolates from humans and chickens, in 1984-1995 and 1996-2001.						
	Poulet / Chicken				Homme / Human	
	Tous les sérotypes à l'exclusion de Java / All serotypes excluding Java		S. Java		S. Java	
	1984-1995	1996-2001	1984-1995	1996-2001	1984-1995	1996-2001
	N	N	N	N	N	N
Isolé / Isolated	38506	3718	52	1351	51	44
Testé pour la résistance / Resistance tested	30418	991	37	517	43	13
	%	%	%	%	%	%
Tétracycline	7	8	49	7	0	8
Chloramphenicol	1	2	27	1	0	8
Neomycine	1	0	30	0	0	0
Ampicilline	6	9	8	43	0	44
Cotrimoxazole*	2	2(16)	49	64(91)	0	30(54)
Furazolidone	9	10	27	99	0	44
Flumequine	0	7	0	17	0	18

*Pour le cotrimoxazole le niveau de résistance déterminé par la CMI est précisé entre parenthèses.
*For cotrimoxazole, the level of resistance as determined by MIC is detailed between brackets.

► La dissémination rapide du clone de Java résistant aux quinolones est inquiétante. Entre 1996 et 2000, seulement 3% était résistants à la fluméquine, contre 19% en 2001 et 39% en 2002 (tableaux 2 et 3). Le tableau 3 montre l'augmentation au cours des quatre dernières années des CMI pour la fluméquine et la ciprofloxacine. La résistance clinique à la ciprofloxacine n'est pas encore démontrée, mais une sensibilité réduite a clairement été constatée.

Selon des chercheurs allemands, le développement de la résistance serait lié à la pression de sélection consécutive à la vaccination et au traitement antibiotique dans les élevages avicoles, par exemple, pour résoudre la crise antérieure liée à *S. Enteritidis* (9). En 2000–01, 13% des élevages ont ainsi été traités avec une quinolone, principalement la fluméquine. Cette résistance s'est plus rapidement développée chez Java comparé aux autres sérotypes (tableau 2). La dissémination rapide des clones résistants dans la volaille, et la persistance dans l'environnement lorsqu'une ferme est contaminée, expliquent probablement le développement accéléré de la résistance. Par ailleurs, les pourcentages élevés de résistance pourraient aussi résulter des traitements thérapeutiques avec le cotrimoxazole (tableau 2). Pourtant les nitrofuranes (furazolidone dans le tableau 2) ont été interdits sur plus de 10 ans. Il semble que la clonalité des souches intervienne dans le taux de résistance élevé à la furazolidone (déterminée au niveau chromosomique).

Transmission à l'homme

Les raisons pour lesquelles Java semble (jusqu'à présent) inoffensif chez l'homme restent inconnues. Cependant, les récents résultats de typage en PFGE montrent clairement qu'un clone de volaille multirésistant se transmet à l'homme, ce qui concorde avec les modifications des profils de résistance de Java chez l'homme (tableau 2). Onze des 22 isolats prélevés en 1998–2002 avaient un profil PFGE identique au clone de Java de volaille, et deux isolats non apparentés ont été associés à des voyages à l'étranger.

Conclusions et recommandations

Jusqu'à la fin de l'année 2002, on considérait que la circulation d'un clone résistant n'était qu'un problème local. Mais en décembre 2002, la demande d'information de l'Écosse à propos de l'infection à Java émergente chez l'homme a révélé que les origines du clone incriminé pouvaient être retrouvées dans de la volaille importée d'Allemagne et des Pays-Bas (lire article pp35-40). Ceci peut constituer une menace en santé publique, notamment en raison de la résistance aux fluoroquinolones, premiers antibiotiques de choix dans le traitement des salmonelloses graves, et pose le problème dans une perspective internationale.

► A worrying development is the rapid increase in resistance of the Java clone against quinolones. Between 1996 and 2000, only 3% was flumequine-resistant, 19% in 2001 and 39% in 2002 (tables 2 and 3). Table 3 shows the shift occurring in the past four years towards higher MIC values for flumequine and ciprofloxacin. No evidence yet exists for clinical resistance to ciprofloxacin, but reduced sensitivity has been demonstrated.

According to German searchers, the development of resistance could be related to the high selection pressure due to vaccination and the intensive use of antibiotics in poultry farming, for example, to control the previous *S. Enteritidis* crisis (9). In 2000–01, 13% of flocks were treated with a quinolone, mainly flumequine. This resistance has developed much faster in Java than in other serotypes (table 2). The easy spreading of this resistant clones in chickens, and the persistence in the environment once a farm is infected are the likely reasons for the accelerated development of resistance. Besides, the high percentages of resistance (table 2) could be explained by therapeutic treatments of cotrimoxazole. The use of nitrofurans (furazolidone in table 2) has, however, been forbidden for more than 10 years. It seems that clonality of the strains is the determining factor for the (chromosomally determined) high level of resistance to furazolidone.

Transmission to humans

It is unclear why Java (up to now) seems innocuous to humans. However, recent PFGE-typing results show that the multiresistant poultry clone definitely crosses over to humans, which is consistent with the changed resistance pattern of Java among humans (table 2). Eleven out of 22 isolates preserved from the period 1998–2002 had a PFGE pattern identical to that of the Java poultry clone, and two unrelated isolates were associated to foreign travel.

Transmission to humans

Conclusions and recommendations

Until the end of 2002, the spreading of a resistant clone was considered as a local problem. However, in December 2002, a request for information from Scotland about an emerging Java problem in humans, revealed the clone involved could be traced back to isolates from poultry imported from Germany and Holland (see article pp35-40). This may cause a serious public health threat, especially given that fluoroquinolones are the first antibiotics of choice to treat a serious salmonellosis, and puts the problem into an international perspective.

Tableau 3 / Table 3															
Progression de la résistance de <i>Salmonella Paratyphi B</i> var. Java isolée de divers produits de volaille.															
Resistance development of <i>Salmonella Paratyphi B</i> var. Java isolated from poultry materials															
Valeur de la CMI MIC value (µg/ml)		0.015	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	Res %
Ciprofloxacine	1999–2000	15	33	11	1	1									0
	2001		47	10	3	6	7	1							0
	Nov 2002		39	23	4	14	21	6							0
Flumequine	1999–2000						36	11	13	1					0
	2001						40	10	9	1	8	3	3		19
	Nov 2002						38	21	5	2	11	15	15	1	39

Les souches ont été isolées de divers produits dérivés du poulet (fécès, viande, peau du cou, caeca, etc.) d'après la distribution de la fréquence des valeurs de la CMI des isolats pour la ciprofloxacine et la fluméquine, analysés pour 1999–2000, 2001 et 2002 (jusqu'en novembre). Une résistance clinique pertinente apparaît dans les zones grisées, le taux de résistance est noté dans la dernière colonne.

The strains were isolated from various materials derived from chicken (faeces, meat, neck skin, caeca, etc.), based on the frequency distribution of MIC values of isolates for ciprofloxacin and flumequine, tested in the periods 1999–2000, 2001 and 2002 (up through November). Clinical relevant resistance starts to be noted in the shaded areas, the resistance percentage is given in the last column.

Aux Pays-Bas, les services de santé publique et les services vétérinaires, les instituts de recherches (RIVM, ID-Lelystad, le service de santé animale, et le KvW), ainsi que l'industrie avicole ont lancé des initiatives coordonnées pour traiter ce problème émergent. ■

In the Netherlands, public health and veterinary services, research institutes (RIVM, ID Lelystad, the Animal Health Service and KvW), and the poultry industry have initiated coordinated initiatives to address this emerging issue. ■

References

1. Hartung M. Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 1996. (in German) *BgVV-Hefte* 9/1998 (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, <http://www.bgvv.de/>)
2. Breitenfeld V, Aleraj D. Klinische und bakteriologische Eigenschaften der durch *Salmonella* Java verursachten Salmonellose. (in German). *Zentralbl Bakteriol [Orig]* 1967; **204**: 89–99.
3. Brusin S. An infectious hazard of playing soldiers: outbreak of *Salmonella* Java infection associated with a paintball event. *Eurosurveillance Weekly* 1998; **2**(27): 980702. (<http://www.eurosurveillance.org/ew/1998/980702.asp>)
4. Serjbadam E. Outbreak of *Salmonella* Paratyphi B Var. Java in Mongolia. WHO Global Salm Surv List Server Message #2000-18. 15 May 2000. (http://www.who.int/emc/diseases/zoo/SALM-SURV/server_messages/message18.html)
5. Van der Zee H, B Wit, de Boer E. Keuringsdienst van Waren Oost, Afdeling signalering, Zutphen. (in Dutch). www.keuringsdienstvanwaren.nl
6. Van Pelt W, Min J, De Wit MAS, Wannet WJB, Van de Giessen AW, van Duynhoven YTHP. Een explosieve toename in Nederland van multiresistente *Salmonella* Typhimurium DT104 in 2001. (in Dutch). *Infectieziekten Bulletin* 2001; **12**(10): 356–62. (<http://www.rivm.nl/infectieziektenbulletin/bul1210/salmonella.html>)
7. Dorn C, Schroeter A, Miko A, Protz D, Helmuth R. [Increasing number of *Salmonella* paratyphi B isolates from slaughtered poultry sent in to the national *Salmonella* reference laboratory.] (in German). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2001; **114**: 179–83.
8. Bolder NM. *Salmonella* Java in poultry: can it not be controlled? Intervention study in the framework of the Action Plan 2000+ *Salmonella* and *Campylobacter* in poultry farming (in Dutch). Institute for Animal Science and Health, ID-Lelystad. By order of the production board (PVE) and the Ministry of Agriculture (LNV), March, 2002.
9. Miko A, Guerra B, Schroeter A, Dorn C, Helmuth R. Molecular characterization of multiresistant d-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar paratyphi B isolates. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 3184–91.
10. Ezquerro E, Burnens C, Jones C, Stanley J. Genotypic typing and phylogenetic analysis of *Salmonella* Paratyphi B and S. Java with IS200. *J Gen Microbiol* 1993; **139**: 2409–14.
11. Selander RK, Beltran P, Smith NH, Barker RM, Crichton PB, Old DC, et al. Genetic population structure, clonal phylogeny and pathogenicity of *Salmonella* Paratyphi B. *Infect Immun* 1990; **58**: 1891–901.

RAPPORT DE SURVEILLANCE

Investigation d'infections humaines à *Salmonella enterica* sérotype Java en Ecosse : association possible avec de la volaille importée

DJ Brown¹, H Mather¹, LM Browning², JE Coia¹.

¹Laboratoire de référence des salmonelles pour l'Ecosse (SSRL), Glasgow, Ecosse

²Centre écossais des maladies infectieuses et de santé environnementale (SCIEH), Glasgow, Ecosse

La comparaison des profils de PFGE de souches de *Salmonella enterica* Java issues de cas d'infection humaine (29) et de viande de volaille (30) en Ecosse a mis en évidence deux clusters. Tous les isolats de volaille importée des Pays-Bas appartenaient au cluster A, qui incluait également 10 isolats humains. Trente-et-un des 37 isolats de ce cluster avaient une empreinte identique JavX1, similaire au profil X8 d'une souche particulière de S. Java prédominante dans la filière avicole dans plusieurs pays européens. Le cluster B incluait 19 isolats humains et deux de volailles d'origine inconnue. Ces résultats combinés aux données épidémiologiques et sur les origines de la viande de volaille suggèrent fortement que la volaille importée constitue une source importante d'infections humaines à S. Java en Ecosse.

Introduction

La volaille et les produits dérivés, dont la viande et les œufs, sont connus depuis longtemps comme une source d'infections alimentaires à *Salmonella enterica* (1,2). L'accroissement général des infections dues au sérotype Enteritidis observé à la fin des années 1980 et au début des années 1990 (3) peut être attribué, dans sa presque totalité, à la dissémination de cet organisme dans l'industrie avicole dans le monde. Néanmoins, la mise en place de programmes nationaux de surveillance et de mesures de lutte incluant la vaccination, a abouti à une réduction des cas de salmonellose humaine associés à la consommation de produits à base d'œufs et de volaille au Royaume-Uni (4).

Le Laboratoire de référence des salmonelles pour l'Ecosse (Scottish Salmonella Reference Laboratory, SSRL) reçoit toutes les souches de S. enterica isolées chez des cas humains par les laboratoires hospitaliers. Les laboratoires vétérinaires régionaux, les laboratoires d'analyses du secteur public et les services des eaux envoient les isolats ➤

SURVEILLANCE REPORT

Investigation of human infections with *Salmonella enterica* serovar Java in Scotland and possible association with imported poultry

DJ Brown¹, H Mather¹, LM Browning², JE Coia¹.

¹Scottish Salmonella Reference Laboratory (SSRL), Glasgow, Scotland

²Scottish Centre for Infection & Environmental Health (SCIEH), Glasgow, Scotland

PFGE analysis of S. Java strains (29 from humans, 30 from poultry meat) showed two major clusters. All isolates from poultry imported from the Netherlands belonged to Cluster A, which also comprised 10 human isolates. Thirty-one of the 37 isolates in this cluster had an identical JavX1 pattern, similar to the X8 profile of a particular S. Java clone predominant in poultry production in several European countries. Cluster B comprised 19 human isolates and two poultry isolates of unknown origin. These results combined with epidemiological data and information on the origins of poultry meat strongly suggested that imported poultry meat is an important source of Java infections in humans in Scotland.

Introduction

Poultry and poultry products, including meat and eggs, have long been recognised as an important source of food-borne infections caused by *Salmonella enterica* (1,2). The global increase in human infections with serovar Enteritidis observed in the late 1980's and early 1990's (3) was almost entirely attributable to the presence of this organism within the poultry production industry worldwide. However, the implementation of national monitoring programmes, together with control measures including vaccination, has resulted in recent years in a reduction in cases of human salmonellosis associated with the consumption of poultry and egg products in the UK (4).

The Scottish Salmonella Reference Laboratory (SSRL) receives all strains of S. enterica isolated from cases of human infection from hospital laboratories. Regional veterinary laboratories, public analysts and water authorities submit isolates of animal, food and environmental origin. All isolates are fully serotyped, phage typed (where applicable), and tested for resistance to 15 anti- ➤

► d'origine animale, alimentaire ou environnementale. Le sérotype et le lysotype (si besoin) de tous les isolats sont identifiés, et leur résistance à 15 agents antimicrobiens est évaluée. De plus, une sélection d'isolats est caractérisée par analyse des profils plasmidiques et électrophorèse sur gel en champ pulsé. Les résultats sont transmis au Scottish Centre for Infection & Environmental Health (SCIEH, Centre des maladies infectieuses et santé environnementale pour l'Ecosse).

Au début de l'été 2002, un certain nombre d'isolats de *S. enterica* sérotype Java (*S. Java*) ont été analysés dans le cadre d'un exercice pour construire une base de données des profils plasmidiques et des électrophorèses en champ pulsé (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) pour les dix premiers sérotypes isolés chez l'homme en Ecosse à cette période (tableau 1). Une légère augmentation a été notée malgré le nombre relativement faible d'isolats de ce sérotype (figure 1). On a observé une grande diversité dans les profils plasmidiques, les antibiogrammes et les empreintes génétiques par PFGE, mais certains isolats provenant de cas humains sporadiques possédaient un profil génétique en PFGE indifférenciable de celui de certaines souches de Java isolées de la viande de volaille. Sur la base de cette observation, une étude approfondie a été initiée sur les autres isolats de *S. Java* humains et de volaille dans la collection de cultures du SSRL, ainsi que la surveillance de toutes les nouvelles souches appartenant à ce sérotype.

Les études de laboratoire

Au total, 59 souches de *S. Java* ont été incluses dans l'étude. Trente isolats avaient été prélevés chez 29 cas humains entre juin 1994 et novembre 2002. Tous les isolats humains de 2001 et 2002 ont été analysés, alors que ceux isolés antérieurement ont été sélectionnés sur la base de leur résistance aux antibiotiques. Les 29 autres isolats avaient été tous obtenus à partir de la viande ou de la peau de volaille. Des isolats de volaille ont été envoyés au SSRL par des producteurs lors de contrôles sanitaires internes de routine. Bien que les informations sur ces isolats soient incomplètes, il semble que 13 d'entre eux aient été prélevés sur des volailles provenant des Pays-Bas, lors de six échantillonnages différents réalisés entre juillet 1997 et septembre 2002.

Les profils plasmidiques ont été déterminés selon une méthode précédemment décrite (2). Les empreintes génétiques en PFGE ont été obtenues suivant le protocole standard instauré dans certains laboratoires de référence européens sous l'égide du projet Salm-gene financé par l'Union Européenne (lire article pp46-50). Ainsi, la comparaison avec d'autres pays devenait plus aisée. En bref, les culots d'ADN chromosomique ont été soumis à une digestion par l'endonucléase de restriction *Xba*I et à une électrophorèse sur un appareil CHEF DR-II® (BioRad, USA). Les électrophorèses ont été réalisées sur gel d'agarose 1% dans du TBE 0,5x, à 6 V/cm pendant 22 heures, avec une pulsation initiale de 2 secondes et une pulsation finale de 64 secondes. L'analyse des profils de PFGE a été faite avec le logiciel Phoretix 1-D Advanced® (v

►icrobial agents. A selection of isolates is further typed by plasmid profile analysis and pulsed-field gel electrophoresis. Results are reported to the Scottish Centre for Infection & Environmental Health (SCIEH).

In the early summer 2002, a number of isolates of *S. enterica*

serotype Java (*S. Java*) were examined as part of an exercise to build up a database of plasmid profile and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) data for the top ten serotypes isolated from humans in Scotland at that time (see table 1). Although numbers of isolations of this serotype were relatively small, a small increase was apparent (figure 1). Considerable diversity was observed in plasmid profile, antibiogram, and PFGE pattern, but some isolates from sporadic human cases were found to possess a PFGE pattern indistinguishable from that in some

strains of Java isolated from poultry meat. This observation prompted further investigation of other human and poultry isolates of *S. Java* held in the culture collection at SSRL, and monitoring of all new isolations of this serovar.

Laboratory studies

A total of 59 strains of *S. Java* were included in the study. Thirty isolates originated from 29 human cases between June 1994 and November 2002. All human isolates from 2001 and 2002 were examined while clones isolated previously were selected based on resistance to antibiotics. The remaining 29 isolates were all isolated from poultry meat or poultry skin. Poultry isolates were submitted to SSRL by commercial poultry companies after recovery during routine in-house sampling. Although information on these isolates is incomplete, it is thought that thirteen of them had been recovered from poultry meat originating in the Netherlands, and sampled on 6 different occasions between July 1997 and September 2002.

Plasmid profiling was carried out as previously described (2). PFGE was carried out using a standardised protocol which has been implemented in a number of European reference laboratories under the European Union funded Salm-gene project (see article pp46-50). This was done to allow ease of comparison with other countries. Briefly, chromosomal DNA plugs were digested with the restriction endonuclease *Xba*I, and subjected to electrophoresis using a CHEF DR-II® apparatus (BioRad, USA). Running conditions were 1% agarose in 0.5x TBE, 6 V/cm for 22 hours, initial pulse 2 seconds, final pulse 64 seconds. Analysis of PFGE patterns was carried out using Phoretix 1-D Advanced® (v 5.0) software (Nonlinear Dynamics, England). Antimicrobial resistance was determined by growth on solid media containing antibiotics at breakpoint concentrations (ampicillin 50 µg/ml, cefotaxime

Tableau 1 / Table 1				
Les dix premiers sérotypes de <i>S. enterica</i> isolés chez l'homme en Ecosse en 2001-02 / The top ten ranking serotypes of <i>S. enterica</i> isolated from human infections in Scotland in 2001-02				
Rank	Serotype	2001 total (%)	Serotype	2002* total (%)
1	<i>S. Enteritidis</i>	992 (63.1)	<i>S. Enteritidis</i>	616 (54.7)
2	<i>S. Typhimurium</i>	255 (16.2)	<i>S. Typhimurium</i>	217 (19.3)
3	<i>S. Virchow</i>	41 (2.6)	<i>S. Virchow</i>	37 (3.3)
4	<i>S. Hadar</i>	22 (1.4)	<i>S. Hadar</i>	23 (2.0)
5	<i>S. Braenderup</i>	15 (1.0)	<i>S. Agona</i>	22 (2.0)
6	<i>S. Montevideo</i>	15 (1.0)	<i>S. Stanley</i>	17 (1.5)
7	<i>S. Agona</i>	14 (0.9)	<i>S. Java</i>	14 (1.2)
8	<i>S. Java</i>	14 (0.9)	<i>S. Montevideo</i>	11 (1.0)
9	<i>S. Stanley</i>	14 (0.9)	<i>S. Infantis</i>	10 (0.9)
10	<i>S. Infantis</i>	12 (0.8)	Blockley, Derby, Newport, Saint-Paul	8 (0.7)
	Autres / Others (62 serotypes)	177 (11.3)	Autres / Others	128 (11.4)
	Total	1571	Total	1127

* jusqu'à semaine 50 / To week 50

5.0) (Nonlinear Dynamics, Angleterre). La résistance aux antibiotiques a été déterminée par culture en milieu solide contenant des antibiotiques à des concentrations critiques : ampicilline 50 µg/ml, céfotaxime 1 µg/ml, chloramphénicol 20 µg/ml, ciprofloxacine (niveau élevé) 0,5 µg/ml, ciprofloxacine (niveau faible) 0,125 µg/ml, furazolidone 20 µg/ml, gentamicine 20 µg/ml, kanamycine 20 µg/ml, acide nalidixique 40 µg/ml, nétilmicine 20 µg/ml, spectinomycine 100 µg/ml, streptomycine 20 µg/ml, sulphaméthoxazole 100 µg/ml, tétracycline 10 µg/ml, triméthoprime 2 µg/ml.

Résultats et discussion

La comparaison des données de typage des isolats de *S. Java* donne initialement l'impression qu'il s'agit d'un sérotype très diversifié (voir tableau 2). Hormis 13 isolats, tous contenaient au moins un plasmide et jusqu'à cinq plasmides différents. On a pu noter également que des souches isolées au même moment à partir de viande de volaille ne possédaient pas toutes le même profil plasmidique, mais pouvaient avoir entre trois et cinq associations différentes de plasmides. Au premier abord, ces différences semblaient compliquer les analyses, mais il faut noter que des variations de profils plasmidiques ont été déjà décrites auparavant entre des salmonelles ayant des liens épidémiologiques étroits (2,5).

Les tests d'antibiogrammes ont également donné des résultats très variables. Tous les isolats provenant de produits dérivés de volailles étaient multirésistants (résistance à trois antibiotiques au moins), alors que parmi les isolats humains, 11 étaient totalement sensibles, un était résistant à deux antibiotiques et 18 multirésistants. Les informations extraites de la base de données du SSRL sur la résistance bactérienne de tous les isolats humains de *S. Java* ont confirmé que le nombre de souches multirésistantes augmente depuis le milieu des années 1990 (figure 1).

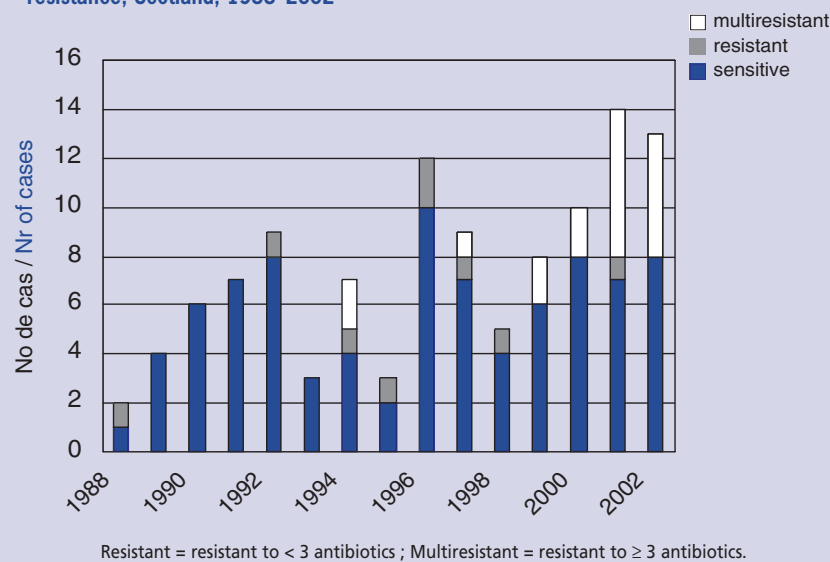
Il est prouvé que l'électrophorèse en champ pulsé constitue un outil précieux pour investiguer les épidémies de salmonelloses et identifier les sources d'infection. La digestion de l'ADN chromosomique par *Xba*I a produit une gamme adéquate de fragments et de profils aisément identifiables dans ces conditions d'électrophorèse (figure 2). La corrélation entre les bandes a été étudiée en utilisant le coefficient de Dice et la méthode UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages, méthode des paires non ajustées utilisant les moyennes arithmétiques), et a permis de regrouper deux types principaux d'empreintes génétiques (figure 3). Le groupe A incluait 10 des 29 isolats humains analysés, les premiers datant de 1999, et 28 isolats de volaille sur 30. Tous les isolats issus de la volaille importée des Pays-Bas appartenaient à ce groupe. Les profils de PFGE y étaient relativement homogènes, 30 isolats présentant un profil de bandes identiques (dénommé JavX1), les autres variants ne se différenciant que par un petit nombre de bandes. Le groupe B comprenait 19 isolats humains et deux isolats de volaille d'origine inconnue. Ce groupe était beaucoup plus hétérogène, trois profils seulement ayant été retrouvés pour plus d'un seul isolat. ➤

1 µg/ml, chloramphénicol 20 µg/ml, ciprofloxacine (high level) 0.5 µg/ml, ciprofloxacine (low level) 0.12 µg/ml, furazolidone 20 µg/ml, gentamicin 20 µg/ml, kanamycin 20 µg/ml, nalidixic acid 40 µg/ml, netilmicin 20 µg/ml, spectinomycin 100 µg/ml, streptomycin 20 µg/ml, sulphamethoxazole 100 µg/ml, tetracycline 10 µg/ml, trimethoprim 2 µg/ml).

Figure 1

Nombre de cas d'infections humaines à *S. Java* et incidence de la résistance aux antibiotiques, Ecosse, 1988-2002

Number of cases of human *S. Java* infections and incidence of antimicrobial resistance, Scotland, 1988-2002



Results and discussion

When comparing typing data for isolates of *S. Java*, the initial impression was that we were dealing with a highly diverse organism (see table 2). All but 13 of the isolates examined for plasmid content contained at least one plasmid and up to five different plasmids. It was also noted that isolates recovered from poultry meat sampled at the same time did not all possess the same plasmid profile. These isolates contained between 3 and 5

plasmids in different combinations. While these differences may at first seem to complicate matters, it should be noted that variation in plasmid profile in salmonellae with close epidemiological connections has been reported previously (2,5).

The results from antibiotic resistance screening also revealed wide variability. All isolates from poultry products were multiresistant (resistant to 3 or more antibiotics) while 11 human isolates were fully sensitive, one was resistant to two antibiotics and 18 were multiresistant. Antimicrobial resistance data from the SSRL database on all human isolates of *S. Java* confirmed that the number of multiresistant strains has been on the increase since the mid-1990s (figure 1).

Pulsed-field gel electrophoresis has been demonstrated to be a valuable tool in the investigation of outbreaks of salmonellosis, and in the identification of sources of infection. Digestion of chromosomal DNA with *Xba*I provided a good range of fragment sizes and easily discernible patterns under these running conditions (figure 2). Comparison of fragment patterns by the Dice coefficient and using UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages) clustering generated two major clusters (Figure 3). Cluster A comprised 10 of the 29 human isolates examined, the earliest from 1999, and 28 of the 30 poultry isolates. All isolates from poultry imported from Holland belonged to this cluster. PFGE patterns within this cluster were relatively homogeneous, 30 isolates had an identical fragment pattern (designated JavX1) with the remaining variants differing by a small number of bands. Cluster B comprised 19 human isolates and 2 poultry isolates of undetermined origin. This cluster was much more heterogeneous with only 3 patterns being represented by more than a single isolate.

It has recently been reported that a particular clone of *S. Java* has become predominant in poultry production in ➤

Tableau 2 / Table 2

Résumé des résultats de typage des isolats de *S. enterica* Java d'origine humaine ou de produits de volaille en Ecosse / Summary of typing results for isolates of *S. enterica* Java recovered from humans and poultry products in Scotland

Ref. #	Origin	PFGE cluster	Plasmid profile (kbp)	Antibiotic resistance ¹	Comments
942590	Human, 1994	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
970652	Human, 1997	B	110; 3.6	ApSuTm	
973591	Chicken fillet 1997	A	110	ApNaStTcCpL	Imported Holland
982035	Chicken fillet 1998	A	105; 2.1	FuKmSpStSuTcTm	Unknown origin
992264	Human, 1999	A	110	ApFuSpStSuTm	
995029	Human, 1999	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
003337	Human, 2000	A	160; 6.5	CmFuSpStSuTcTm	
004082	Human, 2000	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
004250	Chicken fillet, 2000	A	110	ApSpStSuTm	Unknown origin
010300	Human, 2001	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
011304	Human, 2001	B	4.4; 3.7	Sensitive	
011405	Human, 2001	A	200; 110; 4.5; 2.2	ApFuSpStSuTm	
011589	Human, 2001	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
011667	Human, 2001	B	Plasmid free	Sensitive	Travel associated
012082	Human, 2001	B	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
012388	Chicken skin, 2001	A	100; 4.4	ApSpStSuTm	Unknown origin
012551	Human, 2001	A	150; 6.7	CmSpStSuTcTm	
012737	Human, 2001	B	Plasmid free	Sensitive	Travel associated
013612	Human, 2001	B	Plasmid free	Sensitive	
013944	Human, 2001	B	80	Sensitive	Travel associated
014536	Human, 2001	B	90; 4.4 ;3.7	ApCmSpStSuTc	
014602	Chicken fillet, 2001	A	100	NaSpStTcTmCpL	Unknown origin
014749	Human, 2001	B	100	ApSu	
020036	Human, 2002	A	100; 4.2	ApSpStSuTm	
020593	Human, 2002	B	90	Sensitive	
020898	Chicken joint, 2002	B	90	NaSpStSuTmCpH	Unknown origin
020947	Chicken joint, 2002	B	100	ApFuNaSpStSuTmCpH	Unknown origin
020969	Human, 2002	A	Plasmid free	ApCmSpStSuTc	
021169	Chicken joint, 2002	A	100	ApNaSpStSuTmCpH	Imported Holland
021175	Human, 2002	A	100	ApCmSpStSuTc	
021274	Human, 2002	B	Plasmid free	Sensitive	
021481	Chicken meat, 2002	A	110; 5.4; 5.1; 5.0; 2.1	ApSpStSuTm	Imported Holland
021485	Chicken joint, 2002	A	110; 6.5	FuKmNaSpStSuTcTmCpL	Imported Holland
021626	Human, 2002	B	100	Sensitive	Travel associated
021637	Chicken joint, 2002	A	110	ApSpStSuTm	Unknown origin
021715	Chicken meat	A	110	SpStTm	Unknown origin
021790	Human, 2002	B	ND	Sensitive	Travel associated
021816	Chicken joint, 2002	A	ND	ApSpSuTm	Unknown origin
021857	Human, 2002	B	ND	Sensitive	
022432	Human, 2002	ND	Plasmid free	Sensitive	
022528	Chicken joint, 2002	A	110; 6.0	SpStSuTm	Unknown origin
022634	Human, 2002	A	110	ApSpStSuTm	
2 x Isolates	Chicken joint, 05/09/2002	A	110; 5.4; 5.1; 5.0; 2.1	ApSpStSuTm	Imported Holland
9 x isolates	Chicken joint 10/09/2002	A	Various combinations	ApSpStSuTm	5 confirmed imported Holland
4 x isolates	Chicken joint 13/09/02	A	Various combinations	ApSpStSuTm	1 confirmed imported Holland
023030	Human, 09/2002	A	100	ApFuNaSpStSuTcTmCpH	See 023338
023338	Human, 10/2002	A	100	ApNaSpStSuTmCpH	Repeated isolate from patient

ND – Not Done

Ap ampicillin; Cm chloramphenicol; CpH ciprofloxacin (high level); CpL ciprofloxacin (low level); Fu furazolidone; Km kanamycin; Na nalidixic acid; Sp spectinomycin; St streptomycin; Su sulphonamide; Tc tetracycline; Tm trimethoprim

Il a été récemment rapporté qu'une souche particulière de salmonelle de sérotype Java était devenue prédominante dans la production avicole en Allemagne, au cours de la seconde moitié des années 1990 (6), et qu'elle se distinguait par son profil d'électrophorèse PFGE après digestion par *Xba*I (X8). Une comparaison préliminaire a suggéré que cette empreinte était identique au profil *JavX1* décrit dans notre étude. De plus, l'étude allemande décrivait un même degré de variabilité des profils plasmidiques et des antibiogrammes, et les auteurs avaient identifié des isolats appartenant à la même souche provenant de la Belgique et des Pays-Bas.

Dix-sept isolats sur 30 issus de la volaille provenaient de viande d'origine inconnue. Le dernier rapport disponible sur l'isolement de salmonelles dans le bétail au Royaume-Uni ne mentionne qu'un seul isolat de *S. Java* identifié chez les bovins, ovins, porcs ou volaille, y compris selon les comptes-rendus de surveillance réglementaire des élevages en troupeaux et en batteries, dans la période de 1997 à 2001 (7). L'isolat mentionné a été prélevé sur un canard ou une oie en 2000. Selon le même rapport, aucun isolat de *S. Java* n'a été identifié dans l'alimentation animale en 2000 ou 2001. Il n'est donc pas vraisemblable que la viande de volaille contaminée par *S. Java* provienne du Royaume-Uni.

L'éventualité que la viande de volaille puisse servir de véhicule aux souches multirésistantes pose un problème sérieux de santé publique. Ces dernières années, le nombre de cas d'infection humaine due à des souches Java multirésistantes présentant un profil PFGE de type A est en augmentation en Ecosse (une en 1999, une en 2000, deux en 2001 et cinq en 2002). L'apparition d'une résistance plus ou moins grande aux quinolones est particulièrement préoccupante. Les antibiotiques dérivés de la fluoroquinolone, comme la ciprofloxacine, représentent les médicaments de première intention pour traiter les salmonelloses invasives chez l'homme. La résistance croisée aux quinolones et aux fluoroquinolones est bien connue (8). Une étude danoise récente a montré qu'en présence d'une souche résistante aux quinolones, une salmonellose à *S. Typhimurium* était associée à une augmentation du taux de mortalité au cours des deux années suivant l'infection (9). Aux Pays-Bas, la proportion de *S. Java* dans les volailles infectées est passée de 2% de tous les isolats avant 1996 à 40% en 2001, et le clone incriminé s'est avéré être du type X8/*JavX1* en PFGE (10). En Hollande, le taux de résistance de *S. Java* à la fluméquine, un antibiotique de la famille des quinolones actuellement indiqué dans l'Union européenne pour le traitement du bétail, y est passé de 3% entre 1996–99 à 20% entre 2000–02.

Le profil plasmidique et les antibiogrammes ont fourni dans le passé des informations fiables sur la source des infections à salmonelles. ➤

➤ Germany in the latter half of the 1990s (6), and this can be distinguished by its *Xba*I PFGE profile (X8). Preliminary comparison strongly suggested that this pattern was the same as the *JavX1* pattern reported in this study. Moreover, a similar degree of variability in plasmid profile and antibiogram was described in the German study, and the authors had identified isolates from

Belgium and Holland as belonging to the same clone.

Seventeen of the thirty isolates recovered from poultry were recovered from meat of unknown origin. The latest available report on the isolation of salmonella from livestock in the United Kingdom records only a single isolation of *S. Java* from cattle, sheep, pigs or poultry, including the statutory monitoring of breeding flocks and hatcheries, in the period from the beginning of 1997 to the end of 2001 (7). This isolation was made from ducks or geese in 2000. From the same report, no isolations of *S. Java*

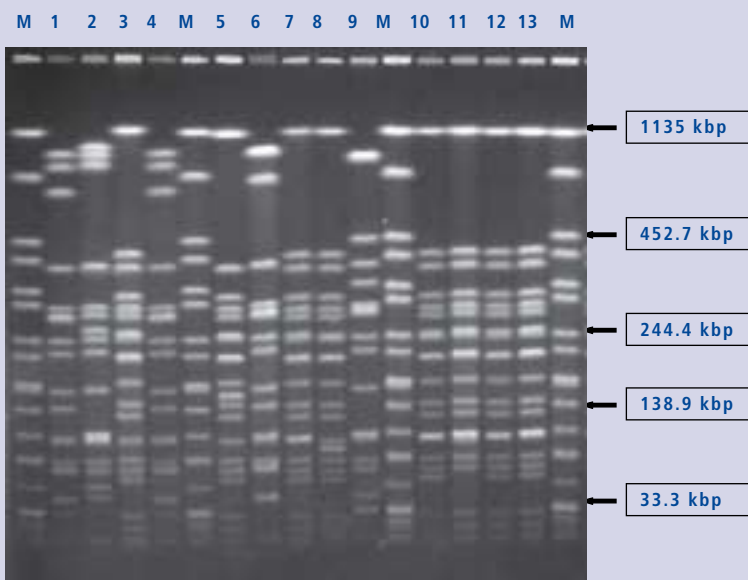
were made from animal feedstuffs during 2000 or 2001. It would therefore seem unlikely that the poultry meat infected with *S. Java* originated in the United Kingdom.

The potential for poultry meat to act as a vehicle for multiresistant strains is a matter of concern for public health. In recent years, the number of cases of human infection caused by multiresistant Java strains with the type A PFGE profile has increased in Scotland (one in 1999, one in 2000, two in 2001 and five in 2002). In particular, the presence of resistance to quinolone antimicrobials, at high as well as low levels of resistance, is important. Fluoroquinolone antibiotics such as ciprofloxacin are the drugs of choice in cases of invasive salmonellosis in humans. Cross-resistance between quinolones and fluoroquinolones is well documented (8). In a recent Danish study, an increased mortality rate was observed in patients in a two-year period following infection with *S. Typhimurium* when the infecting strain was resistant to quinolones (9). From the Netherlands, it has been reported that levels of infection with *S. Java* have increased in poultry from 2% of all isolates prior to 1996 to 40% in 2001, and the clone responsible has been demonstrated as the X8/*JavX1* PFGE type (10). Resistance to flumequin, a quinolone antibiotic currently licensed for use in livestock in the EU, has increased in *S. Java* in Holland from 3% between 1996–99 to 20% between 2000–02.

Plasmid profiling and antibiogram typing have previously given valuable information on the source of salmonella infections. ➤

Figure 2

Analyse des empreintes PFGE (après digestion par *Xba*I) des isolats de *S. Java* PFGE pattern analysis (*Xba*I digestion) of *S. Java* isolates



M = souche marqueur / marker strain, *Salmonella* Braenderup 267

Piste / Lane 1–6: isolats humains / human isolates, 1994–2000

Piste / Lane 7: volaille importée de Hollande / poultry imported from Holland, 1997

Piste / Lane 8: volaille d'origine indéterminée / poultry, undetermined origin 1998

Piste / Lane 9: isolat humain / human isolate 2002

Piste / Lane 10: volaille d'origine indéterminée / poultry, undetermined origin, 2000

Piste / Lane 11–13: volaille importée de Hollande / poultry imported from Holland, 2002

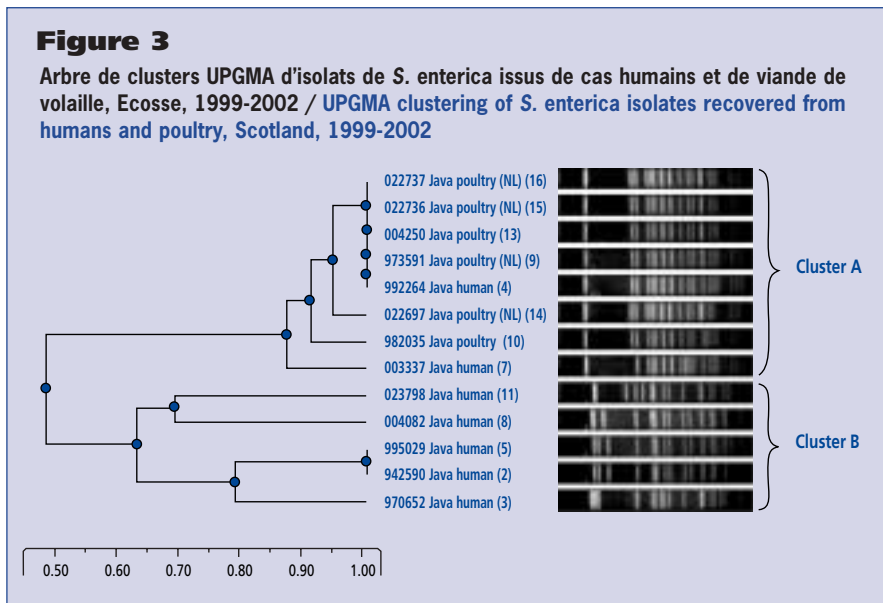
► Dans ce cas cependant, la PFGE a apporté une aide inestimable en montrant l'association entre des cas humains d'infection et des isolats issus de viande de volaille. Les preuves apportées par les résultats de PFGE, associées aux informations épidémiologiques sur les infections humaines et sur les origines de la viande de volaille, mettent clairement en cause la viande de volaille importée comme source importante d'infections humaines à Java en Ecosse. Malgré la notification récente de taux élevés d'infections à *S. Java* dans la filière avicole en Allemagne et aux Pays-Bas (6-10), aucune augmentation de cas humains n'a été rapportée et il a été suggéré que le clone de volaille pourrait être moins virulent chez l'homme. Cette étude montre que les cas humains, bien que rares, peuvent néanmoins apparaître. En effet, le même clone multirésistant isolé de la volaille en Allemagne et aux Pays-Bas a été retrouvé dans une proportion significative de cas humains d'infection à *S. Java* en Ecosse depuis 2000. Tous les nouveaux cas humains de *S. Java* continueront à faire l'objet d'une surveillance dans ce pays.

L'application de protocoles standardisés pour faciliter l'investigation d'épidémies internationales a déjà été recommandée (11). Cette approche s'est révélée précieuse en nous permettant de comparer directement nos résultats de typage moléculaire par PFGE avec ceux de nos collègues allemands et néerlandais. ■

► However, in this case PFGE proved to be invaluable in building an association between cases of human infection and isolates from poultry meat. The evidence from PFGE analysis, together with the epidemiological information available for human infections, and the origins of poultry meat, strongly implicate imported poultry meat as an important source of *S. Java* infections in humans in Scotland. Despite the recent reports on the high levels of *S. Java* infections in poultry flocks in Germany and the Netherlands (6,10), no reports of a similar increase in human cases have appeared and there have been suggestions that the

current poultry associated clone may be of reduced virulence in man. In this study, we demonstrate that infection in humans, although relatively rare, does occur. The same multiresistant clone found in poultry in Germany and the Netherlands has been responsible for a significant proportion of human cases of *S. Java* infection in Scotland, particularly since 2000. All new cases of *S. Java* in the human population in Scotland will continue to be monitored.

The application of standardised protocols to facilitate the investigation of international outbreaks has previously been advocated (11). This approach was invaluable in allowing the direct comparison of PFGE typing results with those of colleagues in Germany and the Netherlands. ■



Remerciements / Acknowledgements

Cette étude a été financée en partie par la Commission Européenne (projet Salm-gene QLK2-CT-2001-01940).
 This work was supported in part by grants from the European Commission (Salm-gene project QLK2-CT-2001-01940).

References

1. Baggesen DL, Wegener HC. Phage types of *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium isolated from production animals and humans in Denmark. *Acta Vet Scand* 1994; **35**:349-354.
2. Olsen JE, Sørensen M, Brown DJ, Gaarslev K, Bisgaard M. Plasmid profiles as an epidemiological marker in *Salmonella enterica* serovar bertea infections. Comparison of isolates obtained from humans and poultry. *APMIS* 1992; **100**:221-228.
3. Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? *Epidemiol Infect* 1990; **105**:21-27.
4. Kessel AS, Gillespie IA, O'Brien SJ, Adak GK, Humphrey TJ, Ward LR. General outbreaks of infectious intestinal disease linked with poultry, England and Wales, 1992-1999. *Commun Dis Public Health* 2001; **4**:171-177.
5. Brown DJ, Threlfall EJ, Rowe B. Instability of multiple drug resistance plasmids in *Salmonella typhimurium* isolated from poultry. *Epidemiol Infect* 1991; **106**:247-257.
6. Miko A, Guerra B, Schroeter A, Dorn C, Helmuth R. Molecular characterization of multiresistant *d*-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates. *J Clin Microbiol* 2002; **40**:3184-3191.
7. Anon. *Salmonella* in Livestock Production in GB, 2001. 2002; Weybridge, Surrey, UK: Veterinary Laboratory Agency.
8. Piddock LJ. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiol Rev* 2002; **26**:3-16.
9. Helms M, Vastrup P, Gerner-Smith P, Molbak K. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella typhimurium*. *Emerg Infect Dis* 2002; **8**:490-495.
10. van Pelt W, van der Zee H, Wannet WJB, van der Giessen AW, Mevius DJ, Bolter NM, et al. An explosive increase of *Salmonella Java* in poultry in the Netherlands: Is it a public health threat? *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**:260-265.
11. Lindsay EA, Lawson AJ, Walker RA, Ward LR, Smith HR, Scott FW, et al. Molecular characterization of a multiresistant strain of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT204b responsible for an international outbreak of salmonellosis: importance of electronic exchange of gel data for outbreak investigations. *Emerg Infect Dis* 2002; **8**:732-734.

Résistance aux antibiotiques d'isolats de *Salmonella enterica* issus de cas de salmonellose humaine en Europe en 2000 : résultats d'une surveillance multicentrique internationale

EJ Threlfall¹, IST. Fisher², C. Berghold³, P. Gerner-Smidt⁴, H.Tschäpe⁵, M. Cormican⁶, I. Luzzi⁷, F. Schnieder⁸, W. Wannet⁹, J. Machado¹⁰, G. Edwards¹¹

¹ Public Health Laboratory Service, Laboratory of Enteric Pathogens, London, Royaume-Uni

² Enter-net Hub, Gastrointestinal Diseases Division, PHLS-CDSC, London, Royaume-Uni

³ National Salmonella reference laboratory, Graz, Autriche

⁴ Dept of Gastrointestinal Infections, Statens Serum Institut, Copenhagen, Danemark

⁵ Robert Koch-Institut, Wernigerode, Allemagne

⁶ University College Hospital, Galway, Irlande

⁷ Istituto Superiore di Sanita, Laboratory of Medical Bacteriology & Mycology, Roma, Italie

⁸ Laboratoire National de Santé, Luxembourg

⁹ National Institute of Public Health and the Environment, Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal Screening, Bilthoven, Pays-Bas

¹⁰ Instituto Nacional de Saude, Lisbon, Portugal

¹¹ Scottish Salmonella Reference Laboratory, Stobhill Hospital, Glasgow, Royaume-Uni

En 2000, le réseau Enter-net a collecté les résultats d'antibiogrammes pour des isolats issus de plus de 27 000 cas de salmonellose humaine, répartis dans dix pays européens. Près de 40% étaient résistants à un antibiotique au moins, 18% étaient multirésistants. La résistance à l'ampicilline, à la streptomycine, aux sulphonamides et aux tétracyclines était fréquente, avec plus de 20% de résistance à au moins un de ces antibiotiques. La résistance clinique à la ciprofloxacine était rare, avec seulement 0,5% de résistance (CMI >1,0 mg/l). La résistance à l'acide nalidixique couplée à une sensibilité réduite de la ciprofloxacine (CMI 0,25–1,0 mg/l) était plus fréquente, présente chez 14% des isolats. La résistance aux céphalosporines de troisième génération était rare, avec un taux de résistance de 0,6% seulement à la céfotaxime. Dans tous les pays, le taux de multirésistance était le plus élevé chez *Salmonella enterica* Typhimurium, avec 51% d'isolats multirésistants au total. En Angleterre et au Pays de Galles, la multirésistance était également prévalente chez *S. Virchow* et *S. Hadar*, alors que dans d'autres pays elle était courante pour les sérotypes tels que *S. Blockley*.

Introduction

Enter-net est un réseau de surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines couvrant les 15 pays de l'Union européenne (UE), plus l'Australie, le Japon, la Norvège, l'Afrique du Sud, la Nouvelle Zélande et la Suisse (1). Le réseau effectue la surveillance des salmonelles et des souches de *Escherichia coli* vérotoxigènes. Financé par la Commission européenne, Enter-net poursuit et étend les activités du réseau Salm-net (1994–1997), qui portaient sur l'harmonisation du lysotypage des salmonelles et la création d'une base de données internationale en vue d'identifier rapidement les épidémies au sein de l'UE.

L'un des objectifs d'Enter-net est la surveillance internationale de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* spp. isolées chez l'homme. Pour qu'une telle surveillance soit efficace, il faut utiliser les mêmes tests d'antibiogrammes ou s'accorder sur les définitions de la résistance et de la sensibilité évaluées avec différentes méthodes. Suite à une étude internationale impliquant 17 laboratoires nationaux de référence des salmonelles (2), la seconde option a été choisie en Europe, avec des interprétations communes des résultats tels que les concentrations critiques (breakpoints), les diamètres de la zone d'inhibition (DD) ou les concentrations minimales inhibitrices (CMI). Cet article présente les résultats de la surveillance de la résistance aux antibiotiques des isolats provenant de cas de salmonellose humaine non typiques dans 10 pays de l'UE en 2000. ➤

Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multi-centre surveillance

EJ Threlfall¹, IST. Fisher², C. Berghold³, P. Gerner-Smidt⁴, H.Tschäpe⁵, M. Cormican⁶, I. Luzzi⁷, F. Schnieder⁸, W. Wannet⁹, J. Machado¹⁰, G. Edwards¹¹

¹ Public Health Laboratory Service, Laboratory of Enteric Pathogens, London, United-Kingdom

² Enter-net Hub, Gastrointestinal Diseases Division, PHLS-CDSC, London, United-Kingdom

³ National Salmonella Reference Laboratory, Graz, Austria

⁴ Dept of Gastrointestinal Infections, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark

⁵ Robert Koch-Institut, Wernigerode, Germany

⁶ National University of Ireland, Galway, Ireland

⁷ Istituto Superiore di Sanita, Laboratory of Medical Bacteriology & Mycology, Roma, Italy

⁸ Laboratoire National de Santé, Luxembourg

⁹ National Institute of Public Health and the Environment, Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal Screening, Bilthoven, the Netherlands

¹⁰ Instituto Nacional de Saude, Lisbon, Portugal

¹¹ Scottish Salmonella Reference Laboratory, Stobhill Hospital, Glasgow, United-Kingdom

The Enter-net surveillance system received results of antimicrobial sensitivity tests for isolates from over 27 000 cases of human salmonellosis in 2000 in 10 European countries. Almost 40% of isolates were resistant to at least one antimicrobial, with 18% multiresistant. Resistance to ampicillin, streptomycin, sulphonamides and tetracyclines was common, with over 20% of isolates resistant to at least one of these antimicrobials. Clinical resistance to ciprofloxacin was rare, with only 0.5% of isolates exhibiting such resistance (MIC >1.0 mg/l). Resistance to nalidixic acid coupled with a decreased susceptibility to ciprofloxacin (MIC 0.25–1.0 mg/l) was more common, with 14% of isolates showing these properties. Resistance to third-generation cephalosporins was rare with only 0.6% of isolates resistant to cefotaxime. In all countries multiple resistance was most common in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium, with 51% of isolates multiresistant in total. In England and Wales multiple resistance was also prevalent in *S. Virchow* and *S. Hadar*, whereas in other countries multiple resistance was common in serotypes such as *S. Blockley*.

Introduction

Enter-net is an international surveillance network for human gastrointestinal infections that involves all 15 European Union (EU) countries, plus Australia, Japan, New Zealand, Norway, South Africa and Switzerland (1). The network conducts surveillance of salmonellas and Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Funded by the European Commission, Enter-net is a continuation and extension of the Salm-net surveillance network (1994–1997), which concentrated upon the harmonisation of *Salmonella* phage-typing and the establishment of an international database for the rapid identification of outbreaks within the EU.

One of the objectives of Enter-net is the international surveillance of antimicrobial drug resistance in human isolates of *Salmonella* spp. For such surveillance to be successful, it is necessary to either have a common susceptibility testing method, or alternatively, to have international agreement on the definitions of resistance or susceptibility assessed by using different methods. Following an international trial involving 17 national *Salmonella* reference laboratories (2), the latter approach has been preferred within Europe, with agreement on the interpretation of results such as breakpoints (BP), disk diffusion diameters (DD), or minimum inhibitory concentration. The results of antimicrobial resistance surveillance of isolates from cases of non-typhoidal human salmonellosis in 10 EU countries in 2000 are reported in this article. ➤

Méthodes

Transfert des données

Les résultats des tests d'antibiogrammes des isolats de *Salmonella* spp. provenant de cas d'infections humaines en 2000 des 10 pays participant à Enter-net ont été transmis par courrier au centre de coordination d'Enter-net, basé au Centre de surveillance des maladies transmissibles du PHLS à Londres (Royaume-Uni). Les pays participants à cette étude étaient ceux qui incluaient en routine les tests de sensibilité bactérienne aux antibiotiques dans leurs procédures d'identification. Tous les isolats humains envoyés aux laboratoires en 2000 ont été inclus dans l'étude.

Tests de sensibilité

Sept des 10 laboratoires ont utilisé la méthode des disques (DD), deux les concentrations critiques (BP), et un, une méthode basée sur la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide. Les antibiotiques sélectionnés et les valeurs utilisées pour évaluer la résistance ou la sensibilité par les concentrations critiques étaient les suivants : ampicilline (8 mg/l) ; céfotaxime (1 mg/l) ; chloramphénicol (8 mg/l) ; gentamicine (4 mg/l) ; kanamycine (16 mg/l) ; streptomycine (16 mg/l) ; sulphonamides (64 mg/l) ; tétracyclines (8 mg/l) ; triméthoprim (2 mg/l) ; acide nalidixique (16 mg/l) ; ciprofloxacine (0,125 mg/l: sensibilité réduite ; 1,0 mg/l: résistance clinique).

Critères d'interprétation

Pour les concentrations critiques, les concentrations utilisées dans les gels d'agar sont telles que listées plus haut. Pour la méthode des disques, les concentrations d'antibiotiques, le milieu de culture et l'inoculum bactérien suivent les protocoles standards, et l'interprétation de la sensibilité ou de la résistance en fonction de la zone d'inhibition était conforme aux critères agréés antérieurement (2). Pour simplifier les analyses, seules les souches entièrement résistantes ou sensibles aux antibiotiques testés ont été répertoriées. Ainsi, pour évaluer la résistance à la ciprofloxacine par les concentrations critiques, seuls les isolats résistants à au moins 1,0 mg/l ont été recensés. De même, pour l'analyse avec la méthode des disques, seuls les isolats interprétés comme « résistants » par le laboratoire ont été enregistrés comme tels.

Résultats

Résistance des salmonelles aux antibiotiques

Les résultats des antibiogrammes pour des isolats provenant de 27 059 cas de salmonellose dans 10 pays européens en 2000 ont été transmis au réseau de surveillance Enter-net. Ils concernaient 255 sérotypes. Toutefois, comme tous les laboratoires n'ont pas évalué la résistance à l'ensemble des antibiotiques du panel, le nombre de souches testées pour chaque antibiotique est inférieur au total. Par exemple, la résistance à l'ampicilline et la ciprofloxacine a été déterminée pour plus de 25 000 souches, mais le nombre de souches testées est inférieur pour d'autres antibiotiques (tableau 1).

Les résistances aux sulphonamides, aux tétracyclines, à la streptomycine et à l'ampicilline étaient les plus fréquentes, avec plus de 20% de résistance à ces anti-

Methods

Transfer of data

Results of susceptibility testing of non-typhoidal *Salmonella* spp. isolates from cases of human infection in 2000 from 10 of the participating Enter-net countries were transferred electronically to the Enter-net surveillance hub at the PHLS Communicable Disease Surveillance Centre, London, United Kingdom. The participating countries were those which routinely include antimicrobial susceptibility testing in their identification procedures. All human isolates referred to the respective laboratories during 2000 were included in the study.

Susceptibility testing

Seven of the 10 laboratories used disk diffusion susceptibility testing (DD), two breakpoints (BP), and one, an MIC-based method in liquid culture. The antimicrobials chosen and the levels used for the assessment of resistance or sensitivity by BP were as follows: ampicillin (8 mg/l); cefotaxime (1 mg/l); chloramphenicol (8 mg/l); gentamicin (4 mg/l); kanamycin (16 mg/l); streptomycin (16 mg/l); sulphonamides (64 mg/l); tetracyclines (8 mg/l); trimethoprim (2 mg/l); nalidixic acid (16 mg/l); ciprofloxacin (0.125 mg/l: decreased susceptibility; 1.0 mg/l: clinical resistance).

Interpretive criteria

For BP the levels incorporated into the agar plates are as shown above. For DD the antimicrobials content, culture medium and inoculum were in accordance with the performance standards for the specific method and the interpretation of susceptibility or resistance by zone size was in accordance with previously agreed criteria (2). For simplification of analyses the recording of resistance or susceptibility is based on full resistance or full susceptibility to the respective antimicrobials. Thus, for resistance to ciprofloxacin by BP only isolates resistant at 1.0 mg/l are included; similarly, when tested by DD only isolates interpreted as 'resistant' by the laboratory have been recorded as such.

Results

Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*

Results of sensitivity tests for isolates from 27 059 cases of salmonellosis in 10 European countries in 2000 were sent to the Enter-net surveillance hub. These concerned 255 serotypes. However, as not all the laboratories assessed the resistance to all antimicrobials in the panel, the number of strains tested for each antimicrobial was less than the overall total number of strains. For example over 25 000 strains were tested for resistance to ampicillin and ciprofloxacin, whereas lower numbers were tested for resistance to other antimicrobials (table 1).

The most common resistances detected were to sulphonamides, tetracyclines, streptomycin and ampicillin, with over 20 percent of isolates showing

Tableau 1 / Table 1 Résistance aux antibiotiques des salmonelles isolées chez l'homme en Europe, 2000 / Antimicrobial drug resistance in salmonella isolated from humans in Europe, 2000		
Antibiotique / Antimicrobial	Nr testés / No tested	% de résistance % resistant
Ampicillin	25 116	22
Chloramphenicol	24 545	14
Gentamicin	24 154	2
Kanamycin	23 178	2
Streptomycin	22 324	21
Sulphonamides	22 995	30
Tétracyclines	24 290	26
Triméthoprim	24 937	7
Nalidixic acid	22 917	14
Ciprofloxacine	25 319	0.5
Céfotaxime	24 413	0.6

biotiques (tableau 1). En revanche, la résistance à la ciprofloxacine était rare avec un taux d'isolats résistants inférieur à 1,0%. Treize pour cent des souches étaient résistantes au chloramphénicol et 7% au triméthoprime. Quatorze pour cent des souches étaient résistantes à l'acide nalidixique.

Résistance aux antibiotiques par sérotype

Les 10 sérotypes de salmonelles non typhiques les plus fréquemment isolés en Europe en 2000 sont présentés dans le tableau 2. Globalement, 43% des isolats étaient résistants, dont 18% multirésistants (à quatre antibiotiques non associés ou plus). La multirésistance était observée principalement dans quatre sérotypes : *S. Typhimurium* (51% des isolats), *S. Hadar* (37%), *S. Virchow* (36%) et *S. Blockley* (25%). La résistance clinique à la ciprofloxacine était plus fréquente pour *S. Hadar* (3% de résistance), mais elle existait également pour *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow* et *S. Agona*. La résistance à la céfotaxime,

resistance to these antimicrobials (table 1). In contrast, resistance to ciprofloxacin and cefotaxime was rare, with less than 1.0 percent of isolates showing resistance to these antimicrobials. However 13 percent of strains were resistant to chloramphenicol and seven percent to trimethoprim. Fourteen percent of strains were resistant to nalidixic acid.

Occurrence of antimicrobial resistance by serotype

The ten most commonly isolated non-typhoidal salmonella serotypes in Europe in 2000 are listed in table 2. Overall 43 percent of all isolates were drug-resistant with 18 percent showing multiple resistance (to four or more unrelated antimicrobials). Multiple resistance was concentrated in four serotypes – *S. Typhimurium* (51% of isolates), *S. Hadar* (37%), *S. Virchow* (36%) and *S. Blockley* (25%). Clinical resistance to ciprofloxacin was most common in *S. Hadar* (3% resistant) but was also observed in *S. Enteritidis*,

Tableau 2 / Table 2
Résistance aux antibiotiques des salmonelles par sérotype, en Europe, en 2000 /
Occurrence of antimicrobial drug resistance in salmonellas by serotype, in Europe, 2000

Serotype	n	% résistant à / % resistant to												% résistant à / % resistant to				
		A	C	G	K	S	Su	T	Tm	Nx*	Cp	Ct	0	1	2	3	4+ drugs	
Enteritidis	14 636	6	0.5	0.5	0.5	2	6	3	1	13	0.4	0.3	71	24	2	1	2	
Typhimurium	6 777	59	47	6	4	51	60	64	15	8	0.6	0.5	23	14	8	4	51	
Hadar	622	35	0.8	0.6	0.7	62	10	73	6	57	3	0.6	21	4	14	24	37	
Virchow	449	8	3	3	2	7	21	18	20	53	0.9	0.4	28	27	4	4	36	
Infantis	439	4	2	3	2	4	24	22	22	6	0	0.2	79	9	4	4	5	
Newport	243	8	5	3	4	5	11	9	6	8	0	0.8	79	9	4	4	5	
Blockley	229	10	9	0	31	33	5	38	3	17	0	0	49	10	3	10	25	
Agona	206	4	0.5	0	0.5	2	4	5	2	2	0.5	0	87	7	3	2	0.5	
Heidelberg	175	30	3	3	3	15	15	17	9	6	0	2	57	19	4	6	14	
Brandenburg	160	3	2	0.6	0	8	18	24	0.6	0	0	1	63	26	6	4	1	
Others (245 serotypes)	3 123	8	3	2	2	10	13	14	8	7	0.4	0.5	65	19	4	3	18	
Total	27 059	22	14	2	2	21	30	26	7	14	0.5	0.4	57	19	4	3	18	

Antibiotiques / Antibiotics :

A ampicilline ; **C** chloramphénicol ; **G** gentamicine ; **K** kanamycine ;
S streptomycine ; **Su** sulphonamides ; **T** tétracyclines, **Tm** triméthoprime ;
Nx acide nalidixique ; **Cp** ciprofloxacine (CMI ≥ 1,0 mg/l) ; **Ct** céfotaxime.

* avec une sensibilité réduite à la ciprofloxacine (CMI 0,25–1,0 mg/l)

Antimicrobials:

A ampicillin; **C** chloramphenicol; **G** gentamicin; **K** kanamycin; **S** streptomycin;
Su sulphonamides; **T** tetracyclines, **Tm** trimethoprim; **Nx** nalidixic acid;
Cp ciprofloxacin (MIC ≥ 1.0 mg/l); **Ct** cefotaxime.

* also exhibit decreased susceptibility to ciprofloxacin (MIC 0.25 – 1.0 mg/l)

une céphalosporine de troisième génération, a été identifiée dans huit des dix sérotypes les plus fréquents. Toutefois, l'incidence de la résistance à cet antibiotique était inférieure à 1%, à l'exception de *S. Heidelberg* et *S. Brandenburg* (respectivement 2% et 1% de résistance).

Treize pour cent des isolats de *S. Enteritidis*, 57% des isolats de *S. Hadar* et 53% des isolats de *S. Virchow* présentaient une résistance à l'acide nalidixique. Il faut noter que dans les laboratoires évaluant les concentrations critiques, tous les isolats résistants à l'acide nalidixique ont également montré une sensibilité réduite à la ciprofloxacine (CMI : 0,25–1,0 mg/l).

Discussion

En 2000, *S. Typhimurium* a montré les taux de résistance et de multirésistance les plus élevés, avec 77% d'isolats résistants aux antibiotiques et 51% d'isolats multirésistants (MR). Ceci résulte de la dissémination en Europe et dans le monde d'une souche multirésistante de lysotype DT 104 avec une résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulphonamides et aux tétracyclines, jusqu'à 10% de ces isolats présentant une résistance ➤

S. Typhimurium, *S. Virchow* and *S. Agona*. Resistance to cefotaxime, a third-generation cephalosporin, was identified in eight of the 10 most common serotypes. However, with the exception of *S. Heidelberg* and *S. Brandenburg* (2% and 1% respectively), the incidence of resistance to this antimicrobial was less than 1 percent.

Thirteen percent of *S. Enteritidis* isolates, 57% of *S. Hadar* isolates, and 53% of *S. Virchow* isolates exhibited resistance to nalidixic acid. It should be noted that in laboratories testing by BP, all isolates with resistance to nalidixic acid also exhibited decreased susceptibility to ciprofloxacin (MIC: 0.25–1.0 mg/l).

Discussion

In 2000 both resistance and multiple resistance was most common in *S. Typhimurium*, with 77% of isolates drug-resistant and 51% multiresistant (MR). This results from the dissemination throughout Europe and worldwide of a MR clone of definitive phage type (DT) 104 with resistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulphonamides and tetracyclines, with up to 10 percent ➤

► supplémentaire au triméthoprime ou à l'acide nalidixique (3). Pour les souches de *S. Typhimurium* DT104 multirésistantes, la résistance à l'acide nalidixique était associée à une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, résultant d'une ou de plusieurs mutations dans le gène *gyrA* (4,5).

L'incidence élevée des infections à *S. Typhimurium* multirésistantes en Europe résulte de la dissémination internationale du lysotype multirésistant DT 104, mais également d'autres lysotypes. Ainsi, durant l'été 2000, une souche de *S. Typhimurium* DT204b résistante à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la gentamicine, à la kanamycine, à la streptomycine, aux sulphonamides, aux tétracyclines, au triméthoprime et à l'acide nalidixique, a causé des épidémies importantes dans cinq pays européens (6). Ces épidémies ont coïncidé avec une épidémie importante d'infections à MR DT104 en Angleterre et au Pays de Galles (7). Parmi les autres souches multirésistantes d'importance épidémiologique en 2000, la souche de *S. enterica* de sérotype [4,5,12:i:-] a été responsable de nombreuses infections en Espagne (8) et également d'une épidémie au Danemark (M. Skov, P. Gerner-Smidt, communication personnelle).

La résistance aux médicaments était également courante pour d'autres sérotypes en 2000, même si elle n'était pas aussi importante que pour *S. Typhimurium*. Cependant, la prédominance des sérotypes multirésistants variait considérablement selon les pays. Par exemple, la résistance était fréquente pour les souches de *S. Virchow* et *S. Hadar* isolées en Angleterre et au Pays de Galles, où plus de 35% des isolats de ces sérotypes étaient multirésistants. Des taux similaires de multirésistance ont aussi été observés pour des isolats des mêmes sérotypes dans d'autres pays. La multirésistance était également fréquente pour les sérotypes tels que *S. Blockley* et *S. Heidelberg*. Les souches multirésistantes de *S. Blockley* étaient souvent associées aux voyages dans le sud-est de l'Europe, et il faut noter qu'en Grèce, de telles souches provoquent des épidémies d'infections depuis la fin des années 1990 (9).

Bien que la résistance clinique à la ciprofloxacine était rare, avec un taux de résistance de 0,5% seulement, la résistance à l'acide nalidixique combinée à une susceptibilité diminuée à la ciprofloxacine a été observée dans 14% des isolats. Pour *S. Enteritidis*, 13% des isolats ont montré une telle résistance, la résistance à l'acide nalidixique étant la plus caractéristique pour ce sérotype. De nombreuses infections causées par les souches de *S. Enteritidis* résistantes à l'acide nalidixique et de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine appartiennent au lysotype 1, ou ont été associées à des voyages dans les pays d'Europe du sud et d'Asie, et à la consommation de volailles importées de ces régions (10, 11). Pour *S. Virchow*, 53% des isolats présentaient une résistance à l'acide nalidixique avec une susceptibilité diminuée à la ciprofloxacine. Ceci est particulièrement inquiétant en raison du pouvoir invasif de ce sérotype (12) et parce que la ciprofloxacine est un médicament de choix en première intention pour de telles infections. Bien que le niveau de sensibilité réduite à la ciprofloxacine (CMI : 0,25–1,0 mg/l) reste inférieur aux valeurs considérées en clinique, on note un nombre croissant d'échecs thérapeutiques à cette concentration (13). C'est pourquoi une ré-évaluation des concentrations critiques des fluoroquinolones pour *Salmonella* spp. a été récemment exigée (14). La résistance aux céphalosporines de troisième génération était rare avec seulement 0,4% de résistance à la céfotaxime.

Au cours des dix dernières années, des souches multirésistantes de salmonelles non typhiques se sont largement répandues dans de nombreux pays européens, par l'intermédiaire d'animaux destinés à la consommation et de produits alimentaires (3, 6, 7, 8, 13). Bien que faible pour les isolats de salmonelles non typhiques provenant de cas d'infection humaine en Europe en 2000, l'incidence de la résistance à des antibiotiques primordiaux comme les fluoroquinolones et les cépha-

► of isolates with additional resistance to trimethoprim or nalidixic acid (3). In MR strains of *S. Typhimurium* DT104, additional resistance to nalidixic acid was coupled with decreased susceptibility to ciprofloxacin. This has been demonstrated to result from one of several mutations in the *gyrA* gene (4,5).

An important feature of the high incidence of multiresistant *S. Typhimurium* in Europe has been the international spread, not only of MR DT104, but also of other phage types. Thus in the summer of 2000, a strain of DT204b with resistance to ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, streptomycin, sulphonamides, tetracyclines, trimethoprim and nalidixic acid caused extensive outbreaks in five European countries (6). This outbreak coincided with a large outbreak of MR DT104 infection in England and Wales (7). Other MR strains of epidemiological importance in 2000 included a strain of *S. enterica* serotype [4,5,12:i:-], responsible for numerous infections in Spain (8), and also for an outbreak in Denmark (M. Skov, P. Gerner-Smidt, personal communication).

Drug resistance was also common in several other serotypes in 2000, although not to the same extent as in *S. Typhimurium*. There were, however, considerable regional differences in the predominance of certain drug-resistant serotypes. For example, resistance was common in *S. Virchow* and *S. Hadar* strains isolated in England and Wales, where over 35% of isolates of the respective serotypes were multiresistant. Similar levels of multiple resistance were also observed in isolates of these serotypes from some other countries. Multiple resistance was also common in serotypes such as *S. Blockley* and *S. Heidelberg*. Multiresistant strains of *S. Blockley* were often linked to travel to south-east Europe, and it is noteworthy that in Greece, such strains have caused outbreaks of infections since the late 1990s (9).

Although clinical resistance to ciprofloxacin was rare, with only 0.5% of isolates exhibiting such resistance, resistance to nalidixic acid with concomitant decreased susceptibility to ciprofloxacin was observed in 14% of isolates. For *S. Enteritidis* 13% of isolates showed such resistance, and nalidixic acid resistance was the most commonly observed resistance trait in this serotype. Many infections caused by strains of *S. Enteritidis* with resistance to nalidixic acid/decreased susceptibility to ciprofloxacin have belonged to phage type 1 and have been associated with travel to countries in Southern Europe and Asia, or with the consumption of poultry products imported from this area. (10, 11). For *S. Virchow*, 53% of isolates exhibited resistance to nalidixic acid coupled with decreased susceptibility to ciprofloxacin. This is particularly concerning because of the invasive potential of this serotype (12) and because ciprofloxacin is the first-line drug of choice in such infections. Although the level of reduced susceptibility to ciprofloxacin (MIC: 0.25–1.0 mg/l) is below that regarded as clinically significant, an increasing number of treatment failures at this level has been noted (13). In this respect it is noteworthy that a reappraisal of the breakpoints for fluoroquinolones for *Salmonella* spp. has recently been requested (14). Resistance to third-generation cephalosporins was rare, with only 0.4% of isolates showing resistance to cefotaxime.

Over the last decade strains of non-typhoidal *S. enterica* with multiple drug *Salmonella* spp. resistance have been distributed widely in many European countries, with a variety of food animals and food products being implicated in their spread (3, 6, 7, 8, 13). Resistance to key antimicrobials such as the fluoroquinolones and third-generation cephalosporins, although rare in isolates of non-typhoidal salmonellas from cases of human infection in Europe in 2000, does appear to be increasing in incidence (10). Treat-

losporines de troisième génération semble en augmentation (10). Aussi les échecs thérapeutiques dans des cas d'infection invasive doivent-ils être considérés comme une réelle éventualité en présence de souches résistantes à une large gamme d'antibiotiques, dont les fluoroquinolones ou les céphalosporines.

Depuis 1991, les souches de *S. Newport* multirésistantes présentant également une résistance aux céphalosporines de troisième génération ont causé aux États-Unis des épidémies chez les bovins et chez l'homme associées à des échecs thérapeutiques (15). Bien que 0,8% des isolats de *S. Newport* étaient résistants à la céfotaxime en Europe, les souches épidémiques des USA n'ont pas encore été identifiées dans des cas d'infection humaine en Europe à notre connaissance. Cependant pour pouvoir détecter l'apparition de telles souches, comme pour suivre la résistance aux antibiotiques d'autres sérotypes en Europe, il est important de maintenir une surveillance active de la résistance des salmonelles à l'échelle internationale.

Les pays participants à cette étude en 2000 sont principalement situés en Europe du nord. Le succès de cette approche multinationale s'étendra grâce à une plus grande contribution des pays d'Europe du sud, et il est encourageant de recevoir maintenant des données sur les sensibilités aux antibiotiques de pays qui n'avaient pas participé à l'étude initiale.

Cette étude a montré l'importance d'une approche multinationale pour surveiller la résistance aux antibiotiques des salmonelles issues de cas d'infection humaine en Europe. Elle a également souligné l'impact de la dissémination étendue des souches multirésistantes dans la prévalence globale de la résistance et de la multirésistance. ■

ment failures in cases of invasive illness must be regarded as a real possibility when strains are resistant to a wide range of antimicrobials, and also exhibit resistance to key drugs such as the fluoroquinolones or cephalosporins.

Since 1991 multiresistant strains of *S. Newport* with additional resistance to third-generation cephalosporins have been responsible for outbreaks of infection in bovine animals and humans in the USA, with concomitant treatment failures (15). Although 0.8% of European isolates of *S. Newport* were resistant to cefotaxime, to our knowledge the epidemic USA strains have not as yet been identified in cases of human infection in Europe. However to be able to recognise the appearance of such strains, and also to monitor the occurrence of resistance to antimicrobials in other serotypes within Europe, it is important to maintain salmonella active surveillance of resistance on an international scale.

To a large extent the countries participating in this 2000 study were confined to northern Europe. The success of this multinational approach will be improved by the participation of more countries in southern Europe and it is encouraging that antimicrobial susceptibility data are now being received from countries that did not participate in this initial survey.

This study has demonstrated the importance of a multinational approach for the surveillance of antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. from cases of human infection in Europe. It has also highlighted the impact of the widespread distribution of multiresistant strains of clonal serotypes and phage types on the overall occurrence of both resistance and multiple resistance. ■

Remerciements / Acknowledgements

Les auteurs remercient pour leur aide et leur contribution au réseau de surveillance tous les participants d'Enter-net. Enter-net est financé par la Commission Européenne, Direction générale de la santé et de la protection des consommateurs (contrat n° 2000CVG4-037). The authors would like to acknowledge the support and contribution to the surveillance network of all the Enter-net participants. Enter-net is funded by the European Commission, Directorate General Health and Consumer Protection (contract no 2000CVG4-037).

References

1. Fisher IST. The Enter-net international surveillance network - how it works. *Eurosurveillance* 1999; **4**: 52-5.
2. Threlfall EJ, Fisher IST, Ward LR, Tschäpe H, Gerner-Smidt P. Harmonisation of antibiotic susceptibility testing for *Salmonella* - results of a study by 18 national reference laboratories within the European Union-funded Enter-net group. *Microb Drug Resist* 1999; **5**: 195-200.
3. Threlfall EJ. Epidemic *Salmonella typhimurium* DT104 - a truly international epidemic clone. *J Antimicrob Chemother* 2000; **46**: 7-10.
4. Ridley AM, Threlfall EJ. Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium* DT104. *Microb Drug Resist* 1998; **4**: 113-8.
5. Walker RA, Saunders N, Lawson AJ, Lindsay EA, Dassama M, Ward LR, Woodward MJ, Davies RH, Threlfall EJ. Use of a LightCycler *gyrA* mutation assay for rapid identification of mutations conferring decreased susceptibility to ciprofloxacin in multiresistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 isolates. *J Clin Microbiol* 2001; **39**: 1443-8.
6. Crook PD, Aguilera J-F, Threlfall EJ, O'Brien, SJ, Sigmundsdóttir G, Wilson D, Fisher IST, Ammon A, Briem H, Cowden JM, Locking ME, Tschäpe H, van Pelt W, Ward LR, Widdowson MA. A European outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Definitive Phage Type 204b linked with consumption of lettuce. *Clin Microbiol Infect*, in press.
7. Horby PW, O'Brien SJ, Adak GK, Graham C, Hawker JI, Hunter P, Lane C, Lawson AJ, Mitchell RT, Reacher MH, Threlfall EJ, Ward LR. A national outbreak of multi-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type (DT) 104 associated with consumption of lettuce. *Epidemiol Infect*, 2003, in press.
8. Guerra, B., Laconcha, I., Soto, S.M., Gonzalez-Hevia, M.A. and Mendoza, M.C. Molecular characterisation of emergent multiresistant *Salmonella enterica* serotype [4,5,12:i:-] organisms causing human salmonellosis. *FEMS Microb Lett* 2000; **190**: 341-7.
9. Tassios PT, Hadjihristodoulou C, Lambiri M, Kansouzidou-Kanakoudi A, Sarandopoulou Z, Kourea-Kremastinou J, Tzouzelevis LS, Legakis NJ. Molecular typing of multidrug-resistant *Salmonella blockley* outbreak isolates from Greece. *Emerg Infect Dis* 2000; **6**: 60-4.
10. Threlfall EJ, Ward LR, Skinner JA, Graham A. Antimicrobial drug resistance in non-typhoidal salmonellas from humans in England and Wales in 1999: Decrease in multiple resistance in *Salmonella enterica* serotypes Typhimurium, Virchow and Hadar. *Microb Drug Resist* 2000; **6**: 319-25.
11. Mølbak K, Gerner-Smidt P, Wegener HC. Increasing quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *Emerg Infect Dis* 2002; **8**: 514-5.
12. Threlfall EJ, Hall MLM, Rowe B. *Salmonella* bacteraemia in England and Wales, 1981-1990. *J Clin Path* 1992; **45**: 34-6.
13. Mølbak K, Baggesen DL, Aarestrup, F, Ebbesen JM, Enberg J, Frydenahl K, Gerner-Smidt P, Petersen AM, Wegener H. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *New Engl J Med* 1999; **341**: 1420-5.
14. Aarestrup FM, Wiuff C, Mølbak K, Threlfall EJ. Is it time to change the break points for *Salmonella* spp. *Antimicrob Ag Chemother* 2002; **47**: 821-9.
15. Anonymous. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport, United States, January-April 2002. *MMWR* 2002; **51**(25): 545-8.

Le projet Salm-gene : une collaboration européenne pour les empreintes génétiques des salmonelloses liées à l'alimentation

T.M. Peters¹, C. Maguire¹, E.J. Threlfall¹, I.S.T Fisher², N. Gill², A.J. Gatto²
Au nom des participants du projet Salm-gene*

¹ Public Health Laboratory Service, Laboratoires des maladies entériques, Londres, Royaume-Uni
² Communicable Disease Surveillance Centre, Londres, Royaume-Uni

Le projet Salm-gene a mené en Europe une évaluation externe d'assurance qualité de la technique de PFGE pour identifier le sérotype, voire le lysotype des salmonelles. Une série de 16 souches de *S. Enteritidis* a été envoyée à 10 laboratoires nationaux de référence pour les salmonelles. En suivant un protocole harmonisé, les profils de PFGE obtenus étaient comparables entre les centres. Dans la plupart des cas, le taux de similitude était de 90%, dépassant souvent les 95%. Ceci suggère que les analyses en PFGE sont reproductibles, et qu'elles sont des outils précieux d'investigation, en association avec les données épidémiologiques.

Introduction

Dans la majorité des pays d'Europe occidentale, *Salmonella* est un pathogène zoonotique dont les réservoirs sont la volaille, le bétail et les porcs. Les salmonelles sont transmises à l'homme par des aliments contaminés tels que le bœuf, le poulet, la dinde et le porc qui représentent les sources principales d'infection. Au cours des dernières années, les salades ont également été impliquées comme véhicules de l'infection (1–3). Le commerce international des animaux destinés à la consommation et des produits alimentaires a entraîné une large dissémination des *Salmonella* à travers l'Union européenne (UE), et des épidémies internationales surviennent régulièrement.

La prévention et le contrôle des salmonelloses dépendent de la détection précoce de l'épidémie par un système de surveillance approprié, basé sur le typage des isolats. La méthode de typage reconnue au niveau international est le sérotypage, suivie du lysotypage pour différencier les sérotypes les plus fréquents. La valeur des méthodes de typage phénotypique comme outils de surveillance est bien établie, mais du fait de la prédominance de certains sérotypes et lysotypes dans de nombreux pays, les empreintes génétiques sont souvent utiles en complément lors d'investigations épidémiques pour lesquelles une discrimination spécifique entre les souches est nécessaire. Un certain nombre de méthodes basées sur l'ADN, comme le ribotypage, les empreintes avec insertion de la séquence 200, et l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) sont disponibles, la PFGE étant devenue la référence pour différencier les sérotypes et les lysotypes des souches (4).

L'analyse par PFGE est hautement discriminatoire et peut classer les isolats bactériens en relation avec des situations épidémiques. Il s'agit donc d'une méthode permettant de prendre des décisions d'importance épidémiologique. Dans l'UE, la PFGE a déjà été pratiquée lors d'épidémies internationales de *S. enterica*, comprenant Enteritidis, Typhimurium, Anatum, Virchow et Hadar, impliquant des produits alimentaires contaminés comme véhicules de l'infection. Elle a également été utilisée dans d'autres parties du monde pour identifier des épidémies d'origine alimentaire liées à Typhimurium, Paratyphi, Agona, Stanley, Saphra et Javiana. Il est intéressant de noter qu'une récente épidémie causée par *S. Stanley* a mis en cause des cacahuètes produites dans un continent, alors que des cas sont apparus dans trois autres (5).

Aux Etats-Unis, PulseNet US, un réseau pour le typage situé au CDC (Centres for Disease Control and Prevention) à Atlanta, utilise la technologie PFGE pour dépister *E. coli* O157 dans tout le pays, et plus récemment, *S. enterica* (6). Ce modèle ayant prouvé son efficacité

The Salm-gene project – a European collaboration for DNA fingerprinting for food-related salmonellosis

T.M. Peters¹, C. Maguire¹, E.J. Threlfall¹, I.S.T Fisher², N. Gill², A.J. Gatto²
on behalf of the Salm-gene project participants*

¹ Public Health Laboratory Service, Laboratory of Enteric Pathogens, London, United Kingdom
² Communicable Disease Surveillance Centre, London, United Kingdom

An external quality assessment of PFGE method to discriminate between salmonella serotypes and lysotypes was carried out by the Salm-Gene project in Europe. A set of 16 strains of *S. Enteritidis* was sent to 9 national salmonella reference laboratories. By using a harmonised protocol, the PFGE profiles produced were comparable between each centre. In most cases, there was at least 90% similarity between isolates tested in the different European laboratories and there was usually >95% similarity. This suggests that PFGE analyses are reproducible and therefore can be used as a valuable investigation tool combined with epidemiological data.

Introduction

In the majority of countries in Western Europe, *Salmonella* is a zoonotic pathogen with its primary reservoirs being poultry, cattle and pigs. *Salmonella* organisms are transmitted through the food chain to humans with contaminated foodstuffs such as beef, chicken, turkey and pork being important sources of infection. In recent years, salad products have also been implicated as vehicles of infection (1–3). International trade both in food animals and food products ensures that salmonella organisms are widely distributed throughout the European Union (EU), and that international outbreaks occur regularly.

Much salmonellosis prevention and control depends on early outbreak recognition through a suitable surveillance system based on isolate subtyping. The principal internationally accepted method for the subtyping of salmonellas is serotyping, followed by phage typing for discrimination within the most common serotypes. The value of phenotypic typing methods as surveillance tools is well established but because of the predominance of certain serotypes and phage types in many countries, DNA fingerprinting is often used as an adjunct in outbreak investigations in which enhanced strain discrimination is needed. A number of DNA based methods, including ribotyping, insertion sequence 200 fingerprinting, and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) are available. Of these, PFGE has become the gold standard for strain subdivision both within serotypes and phage types (4).

Analysis by PFGE is highly discriminatory and can subdivide bacterial isolates relating to possible outbreak situations. As a method it can therefore be used to make decisions of epidemiological importance. In the EU, PFGE has already been applied to international outbreaks of *S. enterica*, including Enteritidis, Typhimurium, Anatum, Virchow and Hadar, for which contaminated food products have often been the vehicles. It has also been used elsewhere in the world to establish foodborne outbreaks of Typhimurium, Paratyphi, Agona, Stanley, Saphra, and Javiana. Of particular note is the recent outbreak of Stanley associated with peanuts produced on one continent with cases being identified on three others (5).

In the United States (US), a subtyping network, PulseNet US, based at the Centres for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, uses PFGE technology to track *E. coli* O157 throughout

comme outil de surveillance des maladies d'origine alimentaire, il a été mis en place également au Canada, et se trouve à divers stades de développement dans la région Asie Pacifique et en Amérique latine. Toutefois, le lysotypage des souches de Enteritidis et de Typhimurium n'est pas réalisé en routine aux Etats-Unis.

Le projet de recherche européen Salm-gene a donc été désigné pour évaluer la valeur ajoutée en matière de détection des épidémies du typage moléculaire par PFGE réalisé en routine des deux sérotypes prédominants de *Salmonella*, dans un environnement où le lysotypage en routine est également pratiqué. Pour établir au sein de l'UE la PFGE comme méthode efficace de typage des salmonelles, il est essentiel de convenir au niveau international de tous les paramètres à considérer et de les harmoniser.

Les dix laboratoires participant au projet Salm-gene sont déjà membres d'Enter-net (7), le réseau international de surveillance des infections gastro-intestinales humaines. Les principaux objectifs de Salm-gene sont : i) de développer les procédures de laboratoire standards pour la PFGE et pour le traitement informatique des résultats ; ii) de créer une base de données consultable des profils de PFGE des principaux sérovars de *Salmonella* circulant actuellement en Europe ; iii) de réaliser les empreintes génétiques en temps réel d'un large échantillon de souches de salmonelles dans chacun des pays en utilisant

des critères de sélection qui optimisent le pouvoir de détection, et d'analyser les données en continu dans la base de données en ligne ; iv) d'établir un protocole d'assurance qualité externe (AQE) pour la méthode PFGE.

Une bonne harmonisation des techniques de PFGE entre les laboratoires est indispensable pour obtenir des données qui soient comparables. Elle est également fondamentale au projet Salm-gene. Cet article présente les résultats des analyses d'un panel de souches rigoureusement sélectionnées dans chacun des neuf laboratoires participant à Salm-gene suivant un protocole harmonisé.

Méthodes

Les participants au projet Salm-gene comprennent le Laboratoire des pathogènes entériques (agissant comme coordinateur du projet en collaboration avec le réseau de surveillance Enter-net, CDSC, Royaume-Uni), et huit autres laboratoires de référence nationaux en Europe. Chaque centre participant a reçu une série de 16 souches de *S. enterica* pour l'évaluation externe de l'assurance qualité de la méthode. Ces souches incluaient les sérovars Typhimurium, Enteritidis, Hadar, Virchow, Agona, Heidelberg, Indiana, Montevideo, Mbandaka, Livingstone, Anatum, London, Senftenberg et Poona ; ainsi que deux lysotypes de Typhimurium et Enteritidis. Ces souches ont été sélectionnées pour donner une large gamme de profils PFGE, avec des bandes bien définies dans toutes les zones du gel.

Un protocole commun de PFGE utilisant le système CHEF® de Bio-Rad a été établi. Il impliquait une lyse des cellules par la protéinase K, ►

the country, and this has recently been extended to *S. enterica* (6). Having demonstrated its effectiveness as a tool for foodborne disease surveillance, this model has been implemented in Canada and is at various stages of development in the Asia Pacific region and South America. However, phage typing of Enteritidis and Typhimurium strains is not undertaken routinely in the US.

The Salm-gene EU research project was therefore designed to assess the added value for outbreak recognition of routine molecular subtyping, using PFGE in particular, of the two predominant salmonella serotypes in an environment where phage-typing is also employed routinely. To establish PFGE as an effective method

for the subtyping of *Salmonella* within the EU, it is essential that all parameters are internationally agreed and harmonised.

The ten laboratories participating in the Salm-gene project are already members of Enter-net (7), the international surveillance network for human gastrointestinal infections. The main aims of Salm-gene are: i) to develop standard laboratory operating

procedures for PFGE and for computer recognition of the results, ii) to create a searchable database of PFGE profiles for the major *Salmonella* serovars currently in circulation within Europe, iii) to DNA fingerprint in real time a large sample of salmonella strains in each of several countries, using selection criteria that maximise outbreak detection power, and analyse the data continuously in the online database, iv) to establish an external quality assurance (EQA) scheme for PFGE.

Satisfactory harmonising of PFGE testing across laboratories is essential if comparable data are to be collected and is fundamental to the Salm-gene project. We report the results of testing a panel of carefully selected strains in each of the nine participating Salm-gene laboratories, using a harmonised protocol.

Methods

Participants in the Salm-gene project include the Laboratory of Enteric Pathogens (acting as the Project Co-ordinator in conjunction with the Enter-net surveillance hub, Communicable Disease Surveillance Centre, United Kingdom) together with eight other national reference laboratories within Europe. Each participating centre received a set of 16 *S. enterica* strains to be used for EQA of the method. These strains included the serovars Typhimurium, Enteritidis, Hadar, Virchow, Agona, Heidelberg, Indiana, Montevideo, Mbandaka, Livingstone, Anatum, London, Senftenberg, and Poona; two phage types of Typhimurium and Enteritidis were included. These strains were selected to provide a wide variety ►

Tableau 1 / Table 1									
Taux de similarité des profils PFGE pour les 16 souches de <i>S. Enteritidis</i> analysées dans neuf laboratoires / Similarity rate of the PFGE profile for the 16 <i>S. Enteritidis</i> strains analysed by nine European laboratories									
% similarité des souches par pays / % similarity for strains by country									
Isolat de <i>S. enterica</i>	Pays Country A	Pays Country B	Pays Country C	Pays Country D	Pays Country E	Pays Country F	Pays Country G	Pays Country H	Pays Country I
<i>S. enterica</i> isolate									
Typhimurium	94.9	98.4	98.4	95.4	98.4	91.3	91.3	94.9	94.9
Typhimurium	97.1	97.1	97.1	94.3	97.1	93.8	90.6	97.1	97.1
Enteritidis	95.8	100.0	100.0	96.0	100.0	95.6	95.6	100.0	100.0
Enteritidis	95.9	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	95.6	100.0	95.6
Hadar	93.1	100.0	100.0	100.0	100.0	88.9	92.3	100.0	100.0
Virchow	93.9	100.0	100.0	97.1	93.7	91.7	97.0	100.0	97.0
Agona	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.2	95.6	100.0	100.0
Heidelberg	95.3	98.4	98.4	98.4	100.0	93.7	91.3	98.4	98.4
Indiana	97.1	100.0	100.0	93.7	96.8	84.6	96.8	97.1	96.8
Montevideo	98.3	98.3	98.3	91.3	98.1	87.9	94.7	98.3	90.9
Mbandaka	96.8	100.0	100.0	90.3	96.5	95.6	96.3	100.0	100.0
Livingstone	90.6	100.0	100.0	100.0	92.3	85.7	91.7	94.6	95.2
Anatum	98.6	100.0	100.0	97.0	97.0	91.7	96.8	95.5	100.0
London	94.3	98.0	98.0	93.8	97.8	93.1	93.8	90.9	94.0
Senftenberg	100.0	100.0	100.0	90.0	96.5	90.0	96.5	100.0	88.9
Poona	96.2	100.0	100.0	96.0	91.7	95.6	96.0	100.0	96.2

► une série de lavage à 50°C, suivie d'une digestion par *Xba*I à 30U (4h minimum à 37°C). Les conditions de l'électrophorèse étaient les suivantes : Pulsations : initiale 2s ; finale 64s ; 6V/cm ; 14°C, 22 h (CHEF DRIII®), 20h (CHEF DRIII®), 18h (CHEF Mapper®). Les fragments de restriction d'ADN ont été séparés sur des gels d'agarose à 1 % (Bio-Rad Pulsed Field Certified® or Seakem Gold) avec pour marqueur de référence moléculaire une souche de *S. Braenderup* (gracieusement fournie par PulseNet US, CDC) comme marqueur de référence moléculaire.

Les images des gels ont été échangées sous format TIFF (tag image file format). Les profils PFGE ont été analysés avec le logiciel BioNumerics en utilisant le coefficient de Dice et la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method of Averages, méthodes des moyennes de paires non ajustées), avec une limite de tolérance de 1,5% et une optimisation de 1,5%. Les profils de PFGE ont été assignés temporellement et les types ont été définis en fonction des différences d'une ou de plusieurs bandes entre les souches.

Résultats et discussion

Les profils de PFGE de la série de *S. enterica* pour les contrôles externes de l'assurance qualité contenaient entre 12 et 20 fragments chromosomiques séparables, allant d'environ 20 à 1140 kb. En utilisant une méthode PFGE harmonisée avec des paramètres définis pour l'électrophorèse, les images des gels obtenues étaient comparables entre chaque centre, en dépit de légères différences dans la préparation de l'ADN (tableau 1). Dans la plupart des cas, il y avait au moins 90% de similitude entre les isolats analysés dans les différents laboratoires européens, le taux de similitude dépassant souvent 95%. Les différences dans la distribution des fragments étaient liées à l'absence ou à la faible visibilité des bandes correspondant aux masses moléculaires les plus petites, inférieures à 30 kb (figure 1).

Les laboratoires de référence participant à ce projet sélectionnent et analysent actuellement entre 500 et 1000 isolats de *S. enterica* supplémentaires, correspondant aux sérotypes d'intérêt épidémiologique dans leur pays. L'enregistrement et la transmission électronique des données entre les laboratoires signifient que ces isolats n'ont pas besoin

► of PFGE profiles such that well defined chromosomal fragments were present in all areas of the gel.

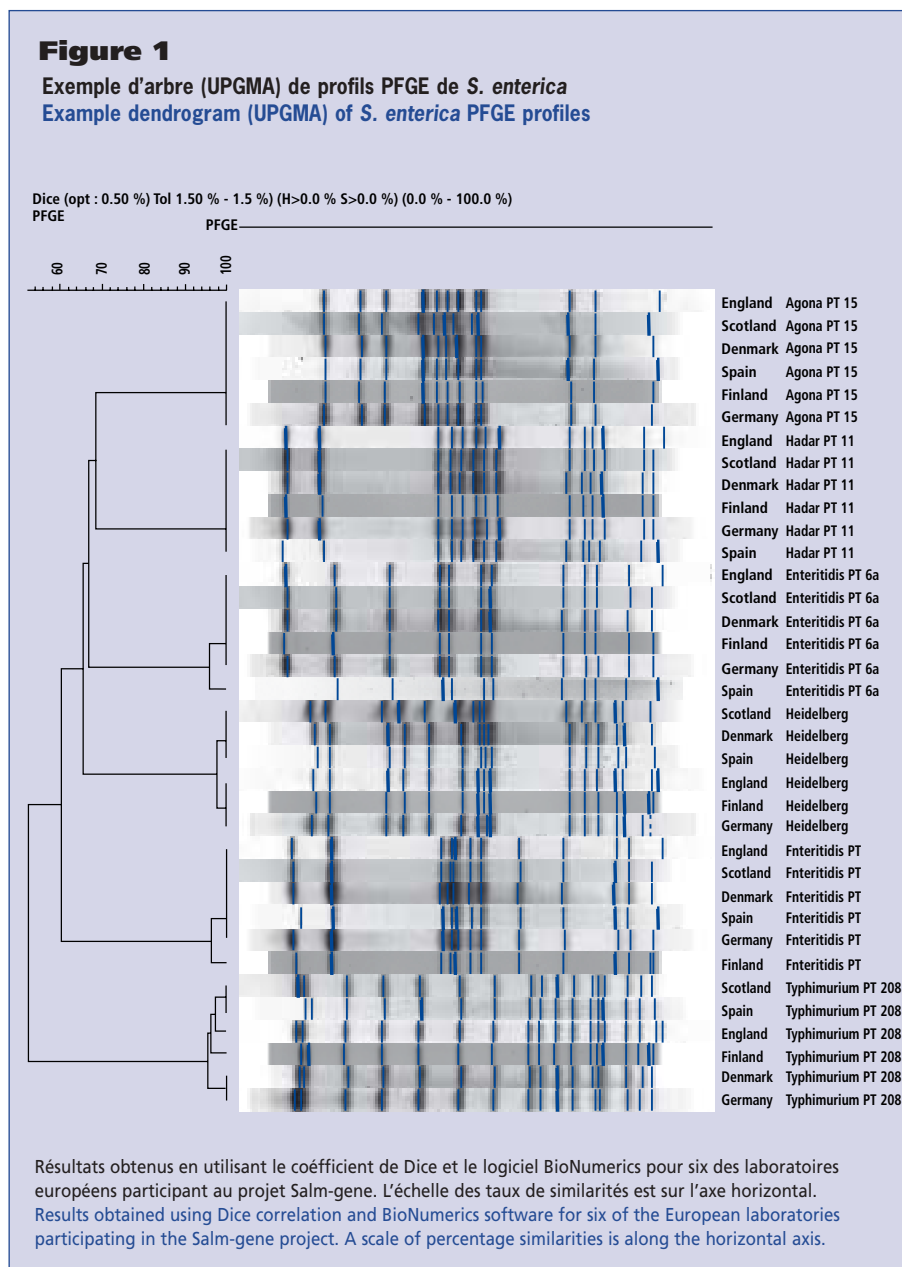
An agreed protocol for PFGE was performed using the Bio-Rad CHEF® system. This involved proteinase K lysis of cells, a series of washes at 50°C followed by digestion with 30U *Xba*I (minimum 4h, 37°C). Electrophoresis conditions were as follows: RAMP – Initial 2s; Final 64s; 6V/cm; 14°C, 22h (CHEF DRIII®), 20h (CHEF DRIII®), 18h (CHEF Mapper®). DNA macrorestriction fragments were resolved on 1% agarose gels (Bio-Rad Pulsed Field Certified® or Seakem Gold®) with a *S. Braenderup* strain (kindly supplied by PulseNet US, CDC) as a molecular reference marker.

Gel images were exchanged in tag image file format (TIFF files). PFGE patterns were analysed with BioNumerics software using Dice coefficient and Unweighted Pair Group Method of Averages (UPGMA) with a 1.5% tolerance limit and 1.5% optimisation. Pulsed field profiles were assigned on a temporal basis and types were designated on the basis of one or more band differences between strains.

Results and discussion

PFGE profiles for the external quality assessment of the set of *S. enterica* demonstrated between 12 and 20 resolvable chromosome fragments, ranging from approximately 20 kb to 1 140 kb. By using a harmonised method for PFGE with defined parameters for electrophoresis, the gel images produced were comparable between each centre despite slight variations in DNA preparation (table 1). In most cases, there was at least 90% similarity between isolates tested in the different European laboratories and there was usually >95% similarity. Where there were differences in banding patterns, this was due to the absence/faintness of the smallest bands on the gel, with molecular masses of <30 kb (figure 1).

Reference laboratories participating in this project are currently in the process of selecting and testing a further 500–1 000 *S. enterica*



d'être envoyés. Les profils PFGE transmis en fichiers TIFF sont en cours d'analyse avec le logiciel BioNumerics au laboratoire coordinateur, où ils sont stockés dans une base de données centrale et comparés à ceux d'une banque d'empreintes génétiques. A chaque nouveau profil est attribué un identifiant unique qui est ajouté à la banque des profils PFGE. Cet identifiant est un code à six lettres associé à un numéro de quatre chiffres. Par exemple, le premier code barre de *S. Enteritidis* digéré par l'enzyme *XbaI* est dénommé SENTXB.0001.

La PFGE donne des empreintes stables et reproductibles, avec des fragments bien définis qui représentent le génome dans son intégralité. Cette stabilité est vitale pour utiliser la PFGE comme méthode de typage des souches. Nous utilisons un protocole harmonisé qui tient compte de certaines variations techniques entre les centres européens. Si l'harmonisation des méthodes de préparation et de digestion de l'ADN n'a pas été considérée comme essentielle, en revanche, la standardisation des paramètres de l'électrophorèse, elle, était un pré-requis absolu. Lors de la mise en place du projet Salm-gene, des consultations avec le réseau PulseNet aux Etats-Unis et au Canada ont permis d'assurer la comparabilité des données entre l'Europe et l'Amérique du Nord.

Les résultats préliminaires des contrôles externes d'assurance qualité montrent qu'il est possible de reproduire des résultats dans différents centres et de transmettre ces informations à une base de données centrale via l'Internet. Cette évaluation a lieu tous les six mois pour assurer la fiabilité des résultats obtenus avec les procédures standardisées.

La nomenclature des profils dans ce schéma sert à faciliter la communication entre les laboratoires. Bien que ce système ne soit pas destiné à « classer » les bactéries, il est important d'établir des numéros de profils reconnus par tous pour chacune des empreintes, des différences au niveau d'une seule bande devant être considérées comme significatives. Il est prévu que ceci serve de base pour échanger des informations entre laboratoires. Cependant, la lecture des différences pour une seule bande et l'identification des profils PFGE ne prouvent pas à elles seules de façon irrévocable la clonalité des isolats. De telles associations ne devraient pas être considérées sans preuve épidémiologique. L'application en pratique serait que les pathogènes responsables d'épidémies d'origine alimentaire dans les différents pays de l'UE puissent être identifiés d'après leurs empreintes génétiques, combinées à d'autres données de typage et aux éléments épidémiologiques. Ceci fournirait une base solide pour l'instauration de stratégies d'intervention adaptées.

Une base de données en ligne sur Internet est en cours de développement. Il sera possible d'y rechercher des informations sur les sérotypes et lysotypes de salmonelles les plus prévalents en Europe. Les participants transmettent par voie électronique toutes les empreintes génétiques et les informations épidémiologiques associées au réseau coordinateur, qui les intègre dans la base de données centrale en ligne. Cette base internationale de données sera développée, gérée et maintenue par le centre de coordination et sera accessible à tous les participants via Internet. La base de données épidémiologique sera analysée en routine et les résultats seront renvoyés à tous les participants. Les retombées relevant du domaine public et les rapports seront présentés et publiés par le centre épidémiologique coordinateur du projet.

Des recommandations seront émises pour intégrer les empreintes génétiques d'ADN au système national de surveillance basé sur les laboratoires des isolats humains de *Salmonella*. Elles s'appuieront sur le rapport coût/efficacité des différentes méthodes de laboratoires, les critères d'échantillonnage, et l'incidence de certains lysotypes. ■

isolates, representing currently defined serotypes of epidemiological importance within their country. Electronic recording and transmission of data between laboratories means that these isolates do not need to be exchanged. The PFGE patterns sent as TIFF files are being analysed using BioNumerics software at the coordinating laboratory where the profiles are stored in a central database and compared to a library of such patterns. Each new pattern is given a unique designation and added to the library of PFGE profiles. This designation is in the form of a six letter code together with a four digit numerical identifier. For example, the first pattern for *S. Enteritidis* digested with the enzyme *XbaI* is SENTXB.0001.

PFGE produces reproducible, stable fingerprints with well resolved fragments that represent the entire genome. It is this stability that is crucial for PFGE as a strain typing method. We use a harmonised PFGE protocol that takes into account some of the technical variation between different European centres. While standardisation of DNA preparation and digestion were not considered to be essential, standardisation of the parameters for electrophoresis was considered to be an absolute requirement. During the development of the Salm-gene project, there has also been consultation with PulseNet in the US and Canada to ensure comparability of data between Europe and North America.

The initial results from the EQA data show that it is possible to reproduce results at different centres and transfer this information electronically to a central database. The EQA scheme takes place every six months to ensure integrity of the results obtained with the standardised procedures.

Nomenclature of profiles in this scheme is for ease of communication between laboratories. While not intended as a 'bacterial classification' system, it is important to establish universally recognised profile numbers for each unique pattern with single band differences being considered potentially significant. It is intended that this will serve as the basis for exchange of information between laboratories. However, the reporting of single band differences and the identity of PFGE profiles alone does not prove unequivocally whether isolates are related or not. Such information should be considered together with epidemiological evidence. The practical application will be that the organisms responsible for food related outbreaks of salmonellosis in different countries in the EU can be compared on the basis of their DNA fingerprints, together with other subtyping data and epidemiological information, thereby providing a sound basis for the introduction of appropriate intervention strategies.

We are currently creating an online, web-based searchable database of information for the most prevalent salmonella serotypes and phage types within Europe. Participants submit all DNA fingerprints and associated epidemiological information electronically to the coordinating hub where it is incorporated into the central web-based database. This international database will be developed, managed and maintained at the coordinating hub and will be accessible to all participants via the internet. The epidemiological database will be routinely analysed and results reported back to all participants. Public domain outputs and reports will be developed and published by the epidemiological coordinating centre for the project.

Recommendations will be developed for incorporating DNA fingerprinting into national laboratory based surveillance of human salmonella isolates, based on the cost effectiveness of different laboratory methods, sampling criteria, and the incidence of particular phage types. ■

Remerciements / Acknowledgements

Le projet Salm-gene est financé par la Direction générale de la recherche de la Commission européenne dans le cadre du Programme 5 (contrat QLK2-CT-2001-1940). / The Salm-gene project is funded by Directorate General RESEARCH of the European Commission under the Framework Programme 5 (Contract QLK2-CT-2001-1940).

* Liste des participants au projet Salm-gene / Participants in Salm-gene are:

The Laboratory of Enteric Pathogens, England and Wales, the Bakteriologisch-serologische Untersuchungsanstalt, Austria; Statens Seruminstitut, Denmark; National Public Health Institute, Finland; Robert Koch-Institut, Germany; Istituto Superiore di Sanita, Italy; National Institute of Public Health & the Environment, the Netherlands; Scottish Salmonella Reference Laboratory, Scotland and Instituto de Salud Carlos III, Spain with the reference laboratory at the Pasteur Institute, France acting as the software compatibility advisor, and the Communicable Disease Surveillance Centre, England & Wales being the epidemiological co-ordinating centre.

References

1. Horby PW, O'Brien SJ, Adak GK, Graham C, Hawker JI, Hunter P, et al. (2002). A national outbreak of multi-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type (DT) 104 associated with consumption of lettuce. *Epidemiol Infect*, in press.
2. Crook PD, Aguilera JF, Threlfall EJ, O'Brien SJ, Sigmundsdóttir G, Wilson D, et al. A European outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Definitive Phage Type 204b linked with consumption of lettuce. *Clin Microbiol Infection*, in press.
3. Ward LR, Maguire C, Hampton MD, de Pinna E, Smith HR, Threlfall EJ. A collaborative investigation of an outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport in England and Wales in 2001 associated with ready-to-eat salad vegetables. *Commun Dis Public Health* 2002; **5**: 301-5.
4. Threlfall, EJ, Ridley, AM, Hampton, MD. Technical advances in the bacteriological laboratory: methods for DNA analysis. *PHLS Microbiol Digest* 1996; **13**: 138-40.
5. Little C. *Salmonella* Stanley and *Salmonella* Newport in imported peanuts - update. *Eurosurveillance Weekly* 2001; **5**: 011025.
6. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV, and the CDC PulseNet Task Force. PulseNet: The Molecular Subtyping Network for Foodborne Bacterial Disease Surveillance. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**: 382-9.
7. IST Fisher, on behalf of the Enter-net participants. The Enter-net international surveillance network - how it works. *Eurosurveillance* 1999; **4**: 52-5. <http://www.eurosurveillance.org/em/v04n05/0405-222.asp>

RAPPORT DE SURVEILLANCE

Les infections entériques à *Salmonella* à Guipúzcoa, en Espagne, de 1983 à 2000

J.M. Marimón¹, E. Pérez-Trallero^{1,2}, M. Gomariz¹, C. Rodríguez-Andrés², C. López-Lopategui¹

¹ Servicio de microbiología, Hospital Donostia, Saint-Sébastien, Espagne

² Departamento de medicina preventiva y de salud pública, Facultad de medicina, Universidad del País Vasco, Saint-Sébastien, Espagne

L'incidence des infections entériques à *Salmonella* à Guipúzcoa, en Espagne, a été évaluée par l'étude d'une population stable de 1983 à 2000. Seuls les cas confirmés par coproculture ont été inclus. L'incidence annuelle moyenne chez les enfants de moins de deux ans était de 1121 pour 100 000 (IC 95% ; 1 060-1 181). Ce groupe d'âge présentait le risque relatif (RR) le plus élevé, 16,2 fois supérieur à celui des plus de 14 ans. *Salmonella* Enteritidis était le sérotype prédominant (80,4% des cas), suivi de *Salmonella* Typhimurium (11,7%).

Introduction

Dans les pays industrialisés, en Europe et aux Etats-Unis, *Salmonella* est la bactérie la plus souvent associée à la diarrhée chez l'homme. Au cours des dernières années, l'épidémiologie des

SURVEILLANCE REPORT

Salmonella enteric infections in Gipuzkoa, Spain, 1983-2000

J.M. Marimón¹, E. Pérez-Trallero^{1,2}, M. Gomariz¹, C. Rodríguez-Andrés², C. López-Lopategui¹

¹ Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián, Spain

² Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco, San Sebastián, Spain.

The incidence of *Salmonella* enteric infections in Gipuzkoa, Spain, was estimated by studying a stable population between 1983 and 2000. Only stool culture confirmed cases were included. The annual mean rate of infection in children under 2 years old was 1121 per 100 000 (CI 95%; 1060-1181). This age group had the highest relative risk (RR), 16.2-fold higher than the RR of those aged over 14 years. *Salmonella* Enteritidis was the most prevalent serovar (80.4% of all patients), followed by *Salmonella* Typhimurium (11.7%).

Introduction

In industrialised countries of Europe and the United States, *Salmonella* has been the bacteria most frequently associated with human diarrhoea. In the last years the epidemiology

Tableau 1 / Table 1

Distribution par groupe d'âge du nombre de patients présentant une infection entérique à *Salmonella*
Distribution by age group of number of patients with *Salmonella* enteric infection

		1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Total
Enfants (<2 ans) Children (<2 years)	S. Enteritidis	28	42	63	64	71	54	59	58	62	38	48	26	37	34	51	62	44	66	907
	S. Typhimurium	22	18	19	6	11	11	6	16	8	5	13	11	12	11	15	18	18	19	239
	Autres / Others	6	10	30	13	10	2	9	10	20	6	6	12	6	6	7	15	7	5	180
Enfants 2-14 ans Children 2-14 yrs	S. Enteritidis	41	90	137	116	203	133	137	148	148	119	117	69	84	119	135	197	139	131	2 263
	S. Typhimurium	21	13	10	18	6	10	10	15	8	24	19	22	12	36	35	43	28	41	371
	Autres / Others	13	4	9	6	10	5	5	4	15	3	7	8	8	10	12	5	8	7	139
Adultes / Adults (> 14 ans / years)	S. Enteritidis	54	93	236	254	255	244	277	308	215	144	129	81	98	79	82	173	158	169	3 049
	S. Typhimurium	24	24	17	24	19	14	16	18	13	28	14	8	9	13	18	12	20	6	297
	Autres / Others	8	5	14	8	16	16	24	16	46	12	11	17	15	22	17	16	18	8	289
Total		217	299	535	509	601	489	543	593	535	379	364	254	281	330	372	541	440	452	7 734

maladies infectieuses a beaucoup évolué, rendant nécessaire la surveillance continue de certains pathogènes comme *Salmonella*. Pour mieux évaluer l'impact de l'infection à *Salmonella* ces dernières années à Guipúzcoa et aider les autorités sanitaires à détecter les causes possibles de ces changements, l'incidence de l'infection entérique humaine à *Salmonella* a été étudiée dans une population stable sur une période de 18 ans.

Méthodes

Données de population

Guipúzcoa est une province située au nord de l'Espagne (Pays basque espagnol), bordée par la Baie de Biscaye et la France au nord. Guipúzcoa est divisée en sept régions sanitaires administratives. La population de l'étude était celle de la ville de Saint-Sébastien (capitale provinciale) et de trois autres districts voisins. Ceci représentait près de la moitié de toute la population de Guipúzcoa (675 529 habitants en 1991), et il s'agissait d'une population stable, allant de 361 861 et 355 515 habitants. Les variations résultaient surtout des naissances et des décès, puisque aucun flux migratoire n'a été observé. Ces données démographiques ont été obtenues à partir des recensements officiels de l'Institut basque des statistiques en 1986, 1991 et 1996.

Au cours de la période étudiée, aucun changement significatif dans l'assistance médicale ou les procédures de diagnostic n'a été introduit. Tous les échantillons de coproculture ont été traités par le même service de microbiologie qui opère dans le cadre du système national d'assurance et couvre près de 100% de la population. Les autres ➤

of several infectious disease has changed dramatically, making necessary the continuous monitoring of some pathogens, such as *Salmonella*. To help assessing the burden of *Salmonella* infection over the last years in Gipuzkoa and to help public health officials detect possible causes of these changes, the incidence of human enteric infection involving *Salmonella* serovars was studied in a stable population over an 18-year period.

Methods

Population data

Gipuzkoa is a province located in northern Spain (Basque Country), bordered by the Bay of Biscay and France to the north. Gipuzkoa was divided into seven different health care-administrative districts. The study population was that of the city of San Sebastián (capital of the province) and three other neighbouring districts. This represented about half of the entire population of Gipuzkoa (675 529 people in 1991) and was nearly stable, ranging between 361 861 and 355 515 inhabitants.

The changes in population were primarily due to births and deaths, as no significant migratory movements were observed. This population data was obtained from the 1986, 1991 and 1996 official population records of the Basque Institute of Statistics.

No significant changes in medical assistance or diagnostic procedures were introduced during the study period. All stool culture samples were processed in the same Microbiology Department. This laboratory operates under the National Insurance System, which nearly covers 100% of the population. Other laboratories, including private laboratories, perform analyses of less than 1% of the samples from the paediatric population and between 5–10% of the samples from the adult population. ➤

Figure 1

Evolution du taux d'incidence annuel pour *Salmonella*, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* à Gipuzkoa, Espagne du Nord, 1983-2000
Trends in annual incidence rates of *Salmonella*, *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* enteric infection in Gipuzkoa, Northern Spain, 1983-2000

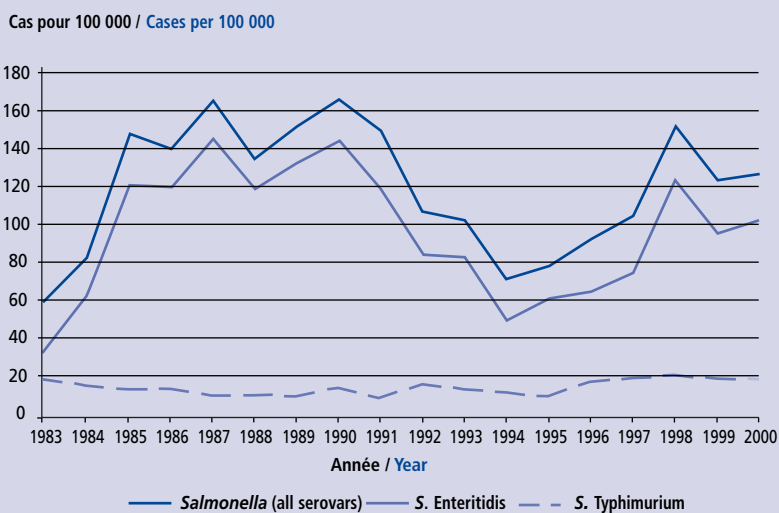


Tableau 2 / Table 2
Taux des infections entériques à *Salmonella* par groupe d'âge pour 100 000 / Rate per 100 000 of *Salmonella* enteric infections by age group

	Groupes d'âge / Age groups					
	Enfants < 2 ans / Children < 2 years		Enfants 2-14 ans / Children 2-14 years		Adults (>14 ans) / Adults (>14 years)	
	Rate	(95% CI)	Rate	(95% CI)	Rate	(95% CI)
1983	766.28	(565.58-966.99)	94.70	(73.27-116.13)	31.23	(24.63-37.83)
1984	957.85	(733.46-1182.25)	135.10	(109.50-160.70)	44.31	(36.44-52.17)
1985	1532.57	(1248.73-1816.40)	196.97	(166.06-227.88)	97.33	(85.68-108.98)
1986	1135.74	(891.40-1380.08)	176.77	(147.49-206.05)	103.87	(91.83-115.90)
1987	1258.89	(1001.65-1516.14)	276.52	(239.89-313.14)	105.32	(93.20-117.44)
1988	916.80	(697.27-1136.33)	186.87	(156.76-216.98)	99.51	(87.73-111.29)
1989	1212.32	(936.10-1488.54)	253.77	(213.43-294.12)	109.52	(97.46-121.57)
1990	1376.15	(1081.85-1670.44)	278.82	(236.53-321.10)	118.15	(105.63-130.67)
1991	1474.44	(1169.82-1779.07)	285.49	(242.70-328.29)	94.66	(83.45-105.87)
1992	802.75	(577.98-1027.52)	243.76	(204.22-283.30)	63.57	(54.38-72.75)
1993	1097.64	(834.81-1360.47)	238.75	(199.62-277.88)	53.20	(44.80-61.61)
1994	778.89	(560.80-996.98)	224.52	(180.29-268.75)	34.74	(28.13-41.35)
1995	874.26	(643.21-1105.32)	235.86	(190.53-281.19)	39.98	(32.89-47.08)
1996	810.68	(588.19-1033.18)	374.20	(317.10-431.30)	37.36	(30.50-44.22)
1997	1176.28	(908.27-1444.29)	412.75	(352.79-472.72)	38.34	(31.40-45.29)
1998	1510.09	(1206.43-1813.76)	555.63	(486.06-625.21)	65.87	(56.77-74.98)
1999	1096.81	(838.01-1355.60)	396.88	(338.08-455.68)	64.23	(55.24-73.23)
2000	1430.62	(1135.05-1726.18)	405.95	(346.48-465.42)	59.97	(51.28-68.66)
Total	1120.72	(1060.42-1181.03)	255.96	(246.44-265.49)	69.45	(67.19-71.70)

Les chiffres de population utilisés pour 1983-88, 1989-93 et 1994-2000 étaient respectivement de 7308, 6104 et 6291 pour les enfants < 2 ans, 79 200, 59 896 et 44 094 pour les 2-14 ans et 275 353, 289 458 et 305 130 pour les adultes (> 14 ans). Population included for 1983-88, 1989-93 and 1994-2000 was respectively 7308, 6104 and 6291 for children < 2 years; 79 200, 59 896 and 44 094 for children 2-14 years old; and 275 353, 289 458 and 305 130 for adults (> 14 years old).

► laboratoires, y compris les laboratoires privés, analysent moins de 1% des prélèvements de la population pédiatrique et entre 5 à 10% de ceux de la population adulte.

Définition de cas

Au cours de la période étudiée, tous les patients qui ont consulté pour une gastro-entérite et envoyé un ou plusieurs échantillons de selles au laboratoire ont été recrutés dans l'étude. N'ont été considérés que les cas confirmés par coproculture et le premier isolat de *Salmonella* identifié chez un patient. Les porteurs asymptomatiques ont été exclus. Un cas d'infection entérique à *Salmonella* a été défini comme un patient ayant consulté pour une gastro-entérite chez qui un isolat de *Salmonella* non typhiques a été mis en évidence par coproculture (2411 prélèvements positifs pour *Salmonella* ont été rejetés car ils correspondaient à des coprocultures positives récurrentes d'un patient initialement diagnostiqué). Tous les patients inclus ont été classés en deux groupes : « pédiatrique » (≤ 14 ans) et « adulte » (> 14 ans). La population pédiatrique a ensuite été répartie en deux classes d'âge : < 2 ans et 2–14 ans.

Calcul du taux annuel d'incidence

Dans cette étude, le taux d'incidence annuel est défini comme le nombre annuel de patients souffrant de gastro-entérite avec une coproculture positive pour *Salmonella* divisé par la population de cette année et exprimé en taux pour 100 000 habitants/année. Les chiffres de population utilisés étaient ceux de l'année la plus proche pour laquelle les statistiques officielles étaient disponibles. En conséquence, ces valeurs correspondent à des taux minimaux d'incidence, puisque tous les cas d'infection entérique à *Salmonella* survenus dans la population étudiée n'ont pas été envoyés pour coproculture.

Analyses microbiologiques

Les coprocultures ont été réalisées en utilisant les milieux d'enrichissement et les milieux sélectifs standards. Le genre de toutes les colonies de type *Salmonella* a été identifié selon leurs caractéristiques biochimiques à l'aide du système API 20 E® (BioMérieux, France). Les sérotypes de *Salmonella* ont été établis par agglutination sur lame en utilisant du sérum de lapin polyvalent et spécifique (Pasteur Diagnos-

Case definition

During the study period, all the patients who sought medical care for gastroenteritis and sent one or more stool specimens to the laboratory were recruited for the study. This included only cultured confirmed cases and only the first *Salmonella* isolate from each patient. Asymptomatic carriers were excluded. A case of *Salmonella* enteric infection was defined as a patient with a non-

Typhi *Salmonella* stool isolate who sought medical care for gastroenteritis (2411 *Salmonella* positive stools were rejected during those years as they were repeated positive cultures of an already diagnosed patient). All patients included were assigned to two major groups: 'paediatric' (≤ 14 years old) and 'adult' (> 14 years old). The paediatric population was further subdivided into two age groups: < 2 years and 2–14 years.

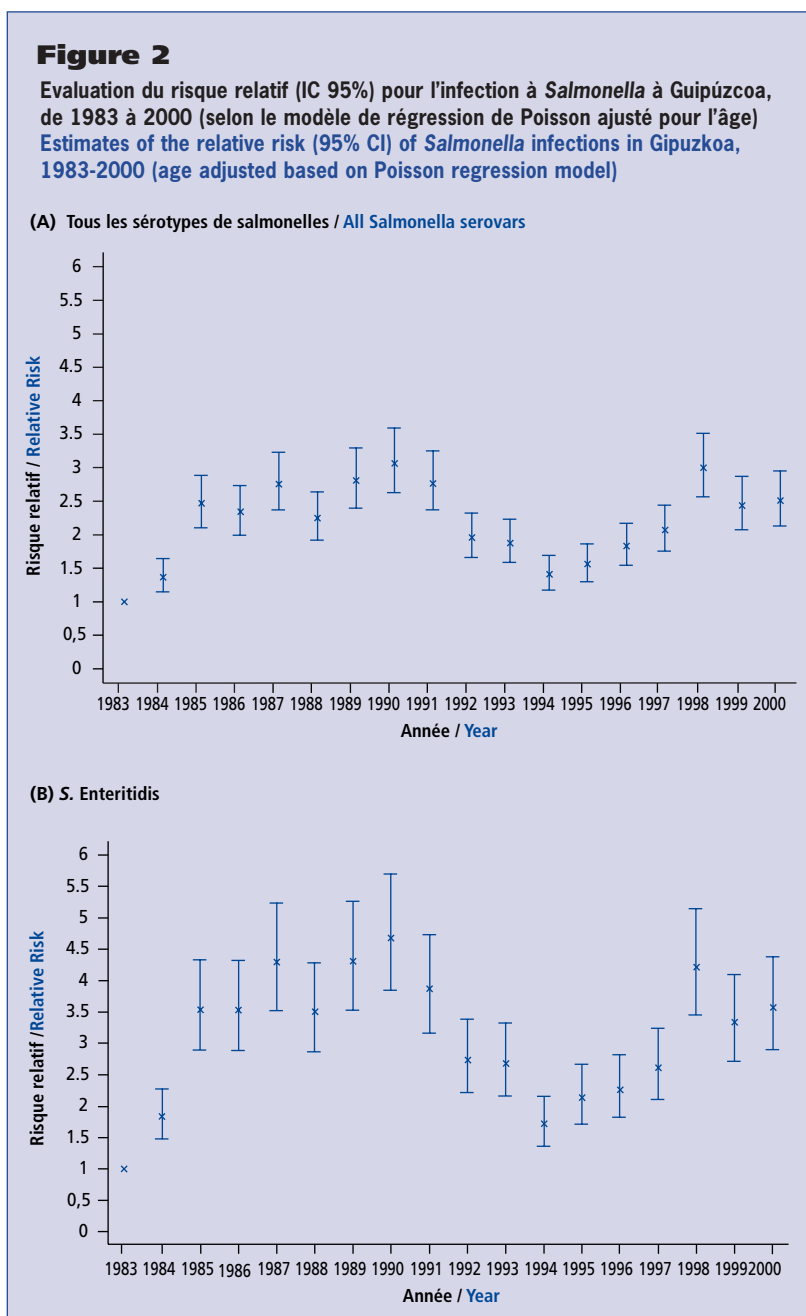
Calculation of annual incidence rate

In this study, annual incidence rate was defined as the annual number of patients suffering from gastrointestinal illness with a *Salmonella* stool isolate, divided by the population for that year, and stated as the rate per 100 000 inhabitants/year. The population used was that of the nearest year in which official data was available. Therefore, these are minimum incidence values, as not all cases of *Salmonella*

enteric disease which occurred in the population studied were sent for stool cultures.

Microbiological procedures

Stool cultures were performed using standard selective and enrichment culture techniques. All *Salmonella*-like colonies were identified to the genus level by their biochemical characteristics using the API 20 E® (BioMérieux, France) system. *Salmonella* serovars were established by slide agglutination using both polyvalent and specific rabbit sera (Pasteur Diagnostic, France) against



tics, France) contre les antigènes somatiques (O) et flagellaires (H) selon le schéma de Kauffmann-White.

Méthodes statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Stata (version 6, Stata Corporation). Les intervalles de confiance des taux d'incidence ont été calculés en supposant que le nombre de cas était une variable compatible avec la distribution de Poisson. Le risque relatif (RR) a été estimé selon un modèle de régression de Poisson avec seulement deux variables indépendantes : l'âge du patient et l'année calendaire de l'isolement. Le RR évalué pour une année calendaire est donc ajusté par l'effet de l'âge sur l'incidence. La tranche d'âge de référence était celle de la population adulte, et l'année de référence, 1983.

Résultats

De janvier 1983 à décembre 2000, l'infection entérique à *Salmonella* a été détectée chez 7734 patients (tableau 1). Le taux annuel moyen de salmonelloses confirmées était de 120,17 cas pour 100 000 dans toute la population au cours des 18 années étudiées (IC 95% ; 117,50–122,85). La figure 1 montre l'évolution du taux d'incidence annuel des infections liées à l'ensemble des *Salmonella*, et plus spécifiquement, à *Salmonella* Enteritidis et à *Salmonella* Typhimurium. L'âge exact était connu pour 6911 patients (89,4%). Après avoir réparti proportionnellement les 224 patients pédiatriques d'âge inconnu entre les deux sous-groupes définis, le taux d'incidence annuel moyen de l'infection entérique à *Salmonella* était de 1120,72 cas (IC 95% ; 1060,42-1181,03) pour 100 000 enfants de moins de deux ans, de 255,96 cas (IC 95% ; 246,44-265,49) pour 100 000 chez les 2-14 ans, et de 69,45 cas (IC 95% ; 67,19-71,70) pour 100 000 chez les plus de 14 ans.

Le tableau 2 présente la distribution par groupe d'âge du taux annuel de l'infection à *Salmonella*. Ces taux diminuent de moitié entre 1990 et 1994 pour toute la population, ce qui reflète la situation dans le groupe d'âge des adultes. Au cours de la période étudiée, les tendances du risque relatif pour une infection suivent des mouvements fluctuants pour tous les sérotypes de salmonelles dans leur ensemble, et pour *Salmonella* Enteritidis en particulier (figure 2). L'année 1990 est celle où le risque relatif pour les infections à *Salmonella* et à *Salmonella* Enteritidis était le plus élevé. Entre 1983 et 1990, le risque relatif des infections à *S. Enteritidis* a augmenté de 4,7 fois. De 1990 à 1994, une baisse graduelle du risque relatif a été observée, suivie d'une nouvelle augmentation depuis.

Des différences statistiques du risque relatif pour une infection à *Salmonella* ont été observées entre les différents groupes d'âge. Le risque relatif des 2–14 ans et des moins de 2 ans était respectivement 3,7 fois (IC 95% ; 3,52-3,89) et 16,2 fois (IC 95% ; 15,2-17,3) celui des plus de 14 ans ($p < 0,0001$). Deux sérotypes de *Salmonella* enterica, Enteritidis (*S. Enteritidis*) et Typhimurium (*S. Typhimurium*) étaient retrouvés dans 92,1% des salmonelloses (respectivement 6219 cas et 907 cas), suivis de *S. Infantis* (169 cas, 2,19%) et *S. Hadar* (68 cas, 0,88%).

Discussion

La plupart des études sur l'incidence des infections à *Salmonella* réalisées depuis le début des années 1980 ont montré que *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* étaient les sérotypes les plus fréquemment isolés en Europe et aux Etats-Unis (1,2). Lors des décades précédentes, la prévalence de *Salmonella* Enteritidis en Europe était faible, et au cours des deux dernières décennies, l'incidence de cette infection en Europe a été associée à la dissémination de ce sérotype dans la filière avicole (2). A Guipúzcoa, l'incidence des infections à *S. Typhimurium* était supérieure à celle de *S. Enteritidis* à la fin des années 1970 et de 1980 à 1982 (données non montrées). Pourtant, comme le montre ►

somatic (O) and flagellar (H) antigens according to the Kauffmann-White scheme.

Statistical methods

Statistical analysis was conducted with a Stata software (release 6, Stata Corporation). The confidence intervals for incidence rates were calculated assuming that the number of cases was compatible with a Poisson probability distribution law. The relative risk (RR) was estimated based on a Poisson regression model with only two independent variables: age of the patient and calendar year of isolation. Therefore, the RR estimated for a specific calendar year is adjusted by the effect of age on incidence. The reference age group was the adult population, and 1983 the reference year.

Results

From January 1983 to December 2000, enteric disease due to *Salmonella* was detected in 7734 patients (table 1). The mean annual rate of cultured-confirmed salmonellosis in the overall population during the 18-year study was 120.17 cases per 100 000 (CI 95% ; 117.50–122.85). Figure 1 shows the annual rate of all *Salmonella* serovars, *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium over years. The exact age was known in 6911 patients (89.4%). After proportionally distributing the 224 paediatric patients with unknown ages between the two paediatric age groups defined, the mean annual rate of *Salmonella* enteric infection was 1120.72 cases (CI 95% ; 1060.42-1181.03) per 100 000 in children under the age of 2 years old, 255.96 cases (CI 95% ; 246.44-265.49) per 100 000 for the population aged between 2 and 14 years, and 69.45 cases (CI 95% ; 67.19-71.70) per 100 000 for those aged over 14.

The annual rate of *Salmonella* enteric infection distributed by age group is showed in table 2. These rates decreased to the half between 1990 and 1994 for the whole population, reflecting basically what happened with the group of adult population. Over the period studied, trends of the relative risk for *Salmonella* infections followed an undulating pattern for all *Salmonella* serovars and for *Salmonella* Enteritidis (figure 2). The year with the highest overall relative risk of *Salmonella* and of *Salmonella* Enteritidis infections was 1990. Between 1983 and 1990, the relative risk of *S. Enteritidis* infections increased 4.7-fold. From 1990 to 1994, it gradually decreased, and re-increased since then.

Statistical differences in the relative risk of *Salmonella* infection were observed between the different age groups. The relative risk of the population aged 2–14 years old and under 2 years old versus the population over 14 years old was 3.7 (CI 95% ; 3.52-3.89) and 16.2 (CI 95% ; 15.2-17.3) respectively ($p < 0.0001$). Two *Salmonella* enterica serovars, Enteritidis and Typhimurium, accounted for 92.1% (6219 and 907 cases respectively) of all salmonellosis, followed in order of frequency by *S. Infantis* (169 cases, 2.19%) and *S. Hadar* (68 cases, 0.88%).

Discussion

Most studies on the incidence of *Salmonella* infections undertaken since the early 1980's have shown that *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* are the most frequently isolated serovars in Europe and in the United States (1,2). In previous decades, the prevalence of *Salmonella* Enteritidis in Europe was low, and the incidence of this infection throughout Europe during the last two decades was associated with the spreading of this infection among poultry (2). In Gipuzkoa the incidence of *S. Typhimurium* was higher than that of *S. Enteritidis* in the late 1970's and the first two years of the 1980's (data not shown). However, as shown in this study, ►

► cette étude, depuis 1984, le taux annuel des infections à *S. Enteritidis* est trois fois plus élevé que celui de *S. Typhimurium*. L'augmentation notable du taux des infections entériques à *S. Enteritidis* au cours des premières années de cette étude est identique à celle observée durant la première moitié des années 1980 dans d'autres régions en Espagne (3) et dans d'autres pays européens (2,4).

Dans notre étude, dès 1983, le taux global des infections à *Salmonella* a augmenté en raison de l'incidence croissante d'un seul sérotype, *Salmonella* Enteritidis, chaque année plus fréquemment isolé que les autres, et responsable en grande partie des variations des tendances pour l'ensemble des infections à *Salmonella*. Entre 1991–94, une diminution des cas d'infection a été observée, suivie à nouveau d'une augmentation au cours des dernières années de l'étude. Bien que de nombreux facteurs aient pu contribuer à la baisse observée entre 1991 et 1994, nous pensons qu'elle est liée en partie à une recommandation sur la préparation et la conservation des produits de consommation contenant des œufs crus, comme la mayonnaise, publiée en 1991 par le Département de la santé. Ce décret, rendu obligatoire dans les restaurants et autres lieux publics, a fait l'objet d'une forte publicité dans les médias et a eu un impact significatif dans la population générale. Malheureusement, l'aspect éducatif des débats médiatiques concernant cette recommandation, ainsi que d'autres mesures préventives lors de manipulations des aliments, s'est érodé avec le temps.

La surveillance européenne a mis en évidence une tendance à la baisse de l'incidence des infections à *Salmonella* Enteritidis entre 1993 et 1995 en Europe occidentale (5,6), suivie d'une augmentation à partir de la moitié de l'année 1996 jusqu'au début de l'année 1998. Cette évolution s'est inversée les mois suivants, mais cette baisse n'a pas été ressentie en Espagne, l'un des quatre pays où, au contraire, une augmentation a été observée (7).

Dans la province de Guipúzcoa, le taux annuel moyen des infections à *Salmonella* dans les deux groupes pédiatriques (1121 enfants de moins de 2 ans et 256 enfants de 2–14 ans) était dix fois plus élevé que le taux rapporté de 1987 à 1997 aux Etats-Unis (8). *Salmonella* Typhimurium était le sérovar le plus fréquent aux Etats-Unis. Les taux d'infection à *S. Typhimurium* à Guipúzcoa étaient bien plus faibles que ceux liés à *S. Enteritidis*, mais 4 à 5 fois plus élevés que ceux déclarés aux Etats-Unis (1,8). Les données américaines, comme les nôtres, n'incluent que les cas confirmés en laboratoire. Cependant, notre système de surveillance basé sur les laboratoires est passif, alors que celui des Etats-Unis est actif.

Les taux élevés d'infections entériques à *Salmonella* observés dans notre région sont très inquiétants. La qualité microbiologique des aliments doit être améliorée, en particulier au cours des premières étapes de l'industrie alimentaire. Des programmes éducatifs plus actifs sur la manipulation et la préparation des aliments par les cuisiniers professionnels ou à la maison doivent être instaurés par les autorités de santé publique, afin de réduire le risque d'infection humaine à *Salmonella* dans notre région. ■

since 1984 the annual rate of *S. Enteritidis* infections was more than 3 times greater than the rate of *S. Typhimurium*. The noteworthy increase in the rate of enteric infections associated with *S. Enteritidis* during the first years of this study is similar to that observed during the first half of the 1980's in other regions of Spain (3), and in other European countries (2,4).

In our study, as of 1983 the overall rate of *Salmonella* infections increased due to the increase in the incidence of just one serovar, *Salmonella* Enteritidis, which was more frequently isolated each year than all the others, and which was mostly involved in the undulating trends observed overall. Between 1991–94 the infection trend decreased, and then increased again during the latter years of the study. Although there are many factors that may have contributed to the decrease observed between 1991 and 1994, we consider that it may be related in part to an Order issued by the Health Department in 1991 regarding the preparation and conservation of products for public consumption that contain raw egg, such as mayonnaise. This Order, which was compulsory for restaurants and other public facilities, was highly publicised by the media and had a significant effect among the overall population. Unfortunately, the educational effect of the debate in the media regarding this and other preventive measures referred to food handling practices was probably lost over time.

In the last decade, a European surveillance observed a declining trend in the incidence of *Salmonella* Enteritidis infections in Western Europe between 1993 and 1995 (5,6), followed by an increase from the second half of 1996 into early 1998. This trend reversed over the remaining months. However, this latter decrease did not occur in Spain, which was one of the four countries where an increase was recorded (7).

In the Gipuzkoa province, the mean annual rate of *Salmonella* infection in the two paediatric age groups (1121 children under 2 years-old, and 256 children from 2–14 years old) was more than 10-fold that reported from 1987–1997 in the United States (8). *Salmonella* Typhimurium was the most frequent serovar in the United States. The rates of *Salmonella* Typhimurium infection in Gipuzkoa were much lower than those of *Salmonella* Enteritidis, but 4-5 times higher than those reported in the United States (1,8). The USA data as well as ours are limited to laboratory-confirmed illnesses, but our laboratory-based surveillance system was passive whereas the American system was active.

The high rates of *Salmonella* enteric infections observed in our area are of great concern. Further improvements in the microbiological quality of food, especially during the early stages of the food chain, as well as more active educational programs for food handling and preparation by professional and home cooks, need to be implemented by the Public Health authorities in order to reduce the risk of human *Salmonella* infection in our region. ■

References

1. Centers for Disease Control and Prevention: Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Foodborne Illnesses- Selected Sites, United States, 1999. *MMWR* 2000;**49**: 201-05.
2. Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B: International Increase in *Salmonella* enteritidis: A new pandemic?. *Epidemiol Infect* 1990;**105**: 21-7.
3. Dorronsoro I, Sarasqueta R, Perfecto B, González AI. Epidemiology of gastroenteritis by *Salmonella* (1983-1994). *Enf Infect Microbiol Clin* 1996;**14**: 604-7.
4. Ward LR, Threlfall J, Smith HR, O'Brien SJ. *Salmonella* enteritidis epidemic. *Science* 2000; **287**:1753-54.
5. Fisher IST, on behalf of the Enter-net participants. *Salmonella enteritidis* in Western Europe 1995-98: a surveillance report from Enter-net. *Eurosurveillance* 1999;**4**:56.
6. Fisher IST, on behalf of the Enter-net participants. *Salmonella enteritidis* in Western Europe 1993-95: a surveillance report from Enter-net. *Eurosurveillance* 1997;**2**:4-6.
7. WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe, 7th report. Country report: Spain 1993-1998. Update 2001. <http://www.who.int/emc/diseases/zoo/SALM-SURV/index.html>
8. Olsen SJ, Bishop R, Brenner FW, Roels TH, Bean N, Tauxe RV, Slutsker L. The changing epidemiology of *Salmonella*: trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. *J Infect Dis* 2001;**183**:753-61.

Euro surveillance

INDEX

DANS LES BULLETINS NATIONAUX Une sélection dans les derniers numéros parus

IN THE NATIONAL BULLETINS A selection from current issues



BIOTERRORISME / BIOTERRORISM

Heightened health security concern following ricin alert in the United Kingdom. *Eurosurveillance Weekly* 2003; **6**: 030109. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030109.asp>

Chemical threats in the EU Health Security Programme. *Eurosurveillance Weekly* 2003; **6**: 030109. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030109.asp>

CRYPTOSPORIDIOSE CRYPTOSPORIDIOSIS

New guidance on cryptosporidium incidents. *SCIEH Weekly Report* 2003; **37**(2): 5. [14 January. Scotland] <http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

ESCHERICHIA COLI

Cluster of *Escherichia coli* O157:H7 in - Limburg. *Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 2002; (41):11-12. [Belgium] <http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

FIÈVRE HÉMORRAGIQUE HAEMORRHAGIC FEVER

Ebola fever in Congo. *EPI-aktuell* 2003; **2**(1). [2 January. Sweden] <http://www.ltkalmar.se/smittskyddet/Ny%20information/epiaktuell.htm>

GASTRO-ENTERITE GASTROINTESTINAL DISEASE

VTEC O157 PT21/28 outbreak associated with a nursery in the UK. *Epi-Insight* 2003; **4**(1): 1. [January. Republic of Ireland] <http://www.ndsc.ie/Publications/EPHnsight/>

Outbreak of diarrhoea after consumption of mussels containing biotoxin. *Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 2002; (41):12-13. [Belgium] <http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

GRIPPE / INFLUENZA

Avian influenza in Hong Kong. *EPI-aktuell* 2003; **2**(1). [2 January. Sweden] <http://www.ltkalmar.se/smittskyddet/Ny%20information/epiaktuell.htm>

Increasing laboratory confirmed cases of influenza in Europe, particularly cases of influenza B in the south west. *Eurosurveillance Weekly* 2003; **6**: 030109. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030109.asp>

Enhanced surveillance of influenza in Northern Ireland (ESINI). *Communicable Diseases Monthly Report* 2003; **11**(11):1-2. [January. Northern Ireland] <http://www.cdscni.org.uk/publications/default.asp>

Parainfluenza. *News on outbreaks and infectious diseases* 2003; 7 January. [7 January. IPH, Belgium] http://www.iph.fgov.be/epidemi/epien/plaben/dnews/index_en.htm

Avian influenza in Hong Kong. *Eurosurveillance Weekly* 2003; **6**: 030116. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030116.asp>

HÉPATITE / HEPATITIS

Hepatitis B vaccination among health care workers in primary care. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(11) [November. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Transmission of hepatitis A following adoption despite vaccination. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(12) [December. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

INFECTION À MENINGOCOQUE MENINGOCOCCAL DISEASE

Meningococcal prophylaxis scheme, November 2002. *Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 2002; (42):9. [Belgium] <http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

INFECTIONS RESPIRATOIRES RESPIRATORY INFECTIONS

Acute respiratory syndrome in Democratic Republic of the Congo. *News on outbreaks and infectious diseases* 2003; 7 January. [7 January. IPH, Belgium] http://www.iph.fgov.be/epidemi/epien/plaben/dnews/index_en.htm

LEGIONELLOSE / LEGIONELLOSIS

New legionella guidelines - Ireland. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2003; **13**(2): news. [9 January. England and Wales] <http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

MÉNINGITE / MENINGITIS

New guidelines established for meningitis C vaccination campaign. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(12) [December. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Enterovirus infections: cluster of viral meningitis in Niedersachsen in 2002. *Epidemiologisches Bulletin* 2003; (2): 9-12. [10 January. Germany] <http://www.rki.de/INFEKT/EPIBULL/EPI.HTM>

MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE

Epidemiology and clinical features of CJD infection. *Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 2002; (41):1-6. [Belgium] <http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

Variant Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom in 2002. *Eurosurveillance Weekly* 2003; **6**: 030109. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030109.asp>

MST / STIs

Chlamydia 2001. *EPI-NEWS* 2002; (51): 1. [18 December. Denmark] <http://www.ssi.dk/sw162.asp>

STDs continue to increase. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(12) [December. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Increase of sexually transmitted diseases (STD): update. *News on outbreaks and infectious diseases* 2003; 7 January. [7 January. IPH, Belgium] http://www.iph.fgov.be/epidemi/epien/plaben/dnews/index_en.htm

Increase in infectious syphilis in Scotland. *SCIEH Weekly Report* 2003; **37**(2): 5. [14 January. Scotland] <http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

MALADIES TRANSMISSIBLES INFECTIOUS DISEASES

Impetigo: a list of facts. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(11) [November. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Infectious diseases are cheap. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(12) [December. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Occupational infectious diseases on the agenda. *Infectieziekten Bulletin* 2002; **13**(12) [December. Netherlands] http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

National reference centres and laboratories in Germany 2002-04. *Epidemiologisches Bulletin* 2002; (51):1-24. [19 December. Germany] <http://www.rki.de/INFEKT/EPIBULL/EPI.HTM>

Surveillance and trends of priority infectious diseases in the Baltic Sea Region. *EpiNorth* 2002; **3**(4). [Northern Europe] <http://www.epinorth.org/>

Consultation on draft guidance on testing healthcare workers joining or re-joining the NHS for tuberculosis, HBV, HCV, and HIV. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2003; **13**(1): news. [3 January. England and Wales] <http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

The public health impact of flooding. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2003; **13**(1): news. [3 January. England and Wales] <http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

First outbreak of infections caused by *Klebsiella pneumoniae* producing a CTX-M extended-spectrum β -lactamase in the United Kingdom. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2003; **13**(1): news. [3 January. England and Wales] <http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

Appropriate antibiotic prescribing. *Epi-Insight* 2003; **4**(1): 2-3. [January. Republic of Ireland] <http://www.ndsc.ie/Publications/EPHnsight/>

Needle and syringe exchange schemes. *SCIEH Weekly Report* 2003; **37**(1): 329-30 [6 January. Scotland] <http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

Livestock vehicle disinfection. *SCIEH Weekly Report* 2003; **37**(1): 331 [6 January. Scotland] <http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

Recommendation for treatment of impetigo bullosa. *MSIS-rapport* 2003; **31**: 1. [7 January. Norway] <http://www.fhi.no/nyhetsbrev/msis/>

Good hygiene important in prevention of spread of infectious diseases. *EPI-aktuell* 2003; **2**(2). [9 January. Sweden] <http://www.ltkalmar.se/smittskyddet/Ny%20information/epiaktuell.htm>

Psittacosis in Vlaanderen.
News on outbreaks and infectious diseases 2003; 15 January.
 [15 January. IPH, Belgium]
http://www.iph.fgov.be/epidemo/epien/plaben/ldnew/s/index_en.htm

Outbreak of Yellow Fever in Senegal.
Commun Dis Rep CDR Wkly 2003; **13**(3): news.
 [16 January. England and Wales]
<http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

New web pages on bloodborne viruses and occupational exposures.
Commun Dis Rep CDR Wkly 2003; **13**(3): news.
 [16 January. England and Wales]
<http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

NOROVIRUS

A unique waterborne Norwalk virus outbreak.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(11)
 [November. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Norovirus infections.
News on outbreaks and infectious diseases 2003; 7 January.
 [7 January. IPH, Belgium]
http://www.iph.fgov.be/epidemo/epien/plaben/ldnew/s/index_en.htm

Norovirus infections in the United Kingdom.
News on outbreaks and infectious diseases 2003; 15 January.
 [15 January. IPH, Belgium]
http://www.iph.fgov.be/epidemo/epien/plaben/ldnew/s/index_en.htm

PALUDISME / MALARIA

Malaria surveillance in Ireland.
Epi-Insight 2003; **4**(1): 4.
 [January. Republic of Ireland]
<http://www.ndsc.ie/Publications/EPI-Insight/>

Malarone® for malaria prophylaxis.
SCIEH Weekly Report 2003; **37**(1): 329
 [6 January. Scotland]
<http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

Cluster of imported malaria cases in Kalmar, Sweden.
EPI-aktuell 2003; **2**(2).
 [9 January. Sweden]
<http://www.ltkalmar.se/smittykyddet/Ny%20informatio/epiaktuell.htm>

PARVOVIRUS

Parvovirus B19 infection (the fifth childhood disease).
Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap 2002; (42):1-3.
 [Belgium]
<http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

RÉSISTANCE ANTIMICROBIENNE ANTIMICROBIAL RESISTANCE

Intestinal flora as reservoir for antimicrobial resistance.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(12)
 [December. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Resistant *Staphylococcus aureus* death in Scotland.
News on outbreaks and infectious diseases 2003; 7 January.
 [7 January. IPH, Belgium]
http://www.iph.fgov.be/epidemo/epien/plaben/ldnew/s/index_en.htm

DANMAP (The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme) 2001.
EPI-NEWS 2003; (1-2): 1.
 [8 January. Denmark]
<http://www.ssi.dk/sw162.asp>

Antibiotic resistance projects in Sweden.
EPI-aktuell 2003; **2**(2).
 [9 January. Sweden]
<http://www.ltkalmar.se/smittykyddet/Ny%20informatio/epiaktuell.htm>

ROUGEOLE / MEASLES

Measles: further information on the measles epidemic in Italy in 2002.
Epidemiologisches Bulletin 2003; (1): 4-5.
 [3 January. Germany]
<http://www.rki.de/INFEKT/EPIBULL/EPI.HTM>

Measles eliminated in Finland since 1996 – will it last?
Eurosurveillance Weekly 2003; **6**: 030116.
<http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030116.asp>

SALMONELLA

Public health investigation of *Salmonella* Enteritidis in raw shell eggs.
Commun Dis Rep CDR Wkly 2003; **13**(2): news.
 [9 January. England and Wales]
<http://www.phls.org.uk/publications/cdr/index.html>

STREPTOCOCCUS

A pseudo-outbreak of Group A streptococcal disease on a ward for newborns.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(11)
 [November. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

TUBERCULOSE / TUBERCULOSIS

Treatment of latent tuberculosis infection.
Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap 2002; (41):7-10.
 [Belgium]
<http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

History of TB control. Part I: the Netherlands.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(11)
 [November. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

History of the fight against tuberculosis: Part 2, Friesland, 1890- 1940.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(12)
 [December. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

VACCINATION / IMMUNISATION

MMR vaccine offers excellent protection.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(11)
 [November. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Pneumococcal vaccination of the elderly by GPs.
Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap 2002; (42):4-8.
 [Belgium]
<http://www.wvc.vlaanderen.be/epibul/>

Two studies find no association between MMR and autism.
Epi-Insight 2003; **4**(1): 1.
 [January. Republic of Ireland]
<http://www.ndsc.ie/Publications/EPI-Insight/>

Pneumococcal vaccination for over 65s.
SCIEH Weekly Report 2003; **37**(1): 331-2.
 [6 January. Scotland]
<http://www.show.scot.nhs.uk/SCIEH/wrhome.html>

Immunisation: Results of a survey of Munich children and GPs.
Epidemiologisches Bulletin 2003; (1): 1-4.
 [3 January. Germany]
<http://www.rki.de/INFEKT/EPIBULL/EPI.HTM>

VARIOLE / SMALLPOX

Further information in support of a selective smallpox vaccination policy.
Eurosurveillance Weekly 2003; **7**: 030102.
<http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030102.asp>

VIH-SIDA / HIV-AIDS

HIV and AIDS in the Netherlands.
Infectieziekten Bulletin 2002; **13**(12)
 [December. Netherlands]
http://www.isis.rivm.nl/inf_bul/

Newly diagnosed patients with HIV in a hospital in the north of Hautes-de-Seine.
Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 2002; (1):2-3.
 [31 December. France]
<http://www.invs.sante.fr/beh/>

EUROSURVEILLANCE

Institut de Veille Sanitaire (InVS)
 12, rue du Val d'Osne
 94415 Saint-Maurice cedex France
 Tel. 33 (0) 1 41 79 68 00
 Fax. 33 (0) 1 55 12 53 35
 ISSN: 1025 - 496X
 eurosurveillance@invs.sante.fr

MANAGING EDITOR

• G. Brückner (InVS)

PROJECT LEADER

• G. Brückner (InVS)

COORDINATORS/EDITORS

Eurosurveillance
 • M. Vilayleck
 InVS France
 m.vilayleck@invs.sante.fr
Eurosurveillance Weekly
 • E. Hoile
 P.H.L.S - CDSC - U.K.
 ehoile@phls.org.uk

ASSISTANT EDITORS

• A. Goldschmidt (InVS)
 • F. Mihoub (InVS)
 • L. Pritchard (PHLS - CDSC)

SCIENTIFIC EDITORS

• N. Gill
 P.H.L.S - Communicable Disease Surveillance Centre - United Kingdom
 • S. Salmaso
 Istituto Superiore di Sanità - Italy
 • Henriette De Valk
 Institut de Veille Sanitaire - France

EDITORIAL BOARD

• P. Aavitsland
 MSIS-rapport - Norway
 • J. Catarino
 Saúde em Números - Portugal
 • K. Ekdahl
 Smittykydd - Sweden
 • H. Heine
 PHLS - CDSC
 England and Wales
 • R. Hemmer
 National Service of Infectious Diseases, Centre Hospitalier de Luxembourg - Luxembourg
 • A. Karaitianou-Velonaki
 Ministry of Health and Welfare -Greece
 • W. Kiehl
 Epidemiologisches Bulletin - Germany
 • K. Kutsar
 Health Inspection Inspectorate - Estonia
 • N. Mac Donald
 SCIEH Weekly Report - Scotland
 • J. F. Martínez Navarro
 Boletín Epidemiológico Semanal - Spain
 • P. Nuorti
 Kansanterveys - Finland
 • F. Rossolini
 Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire - France
 • S. Samuelsson
 EPI-NEWS - Denmark
 • R. Strauss
 Bundesministerium für Soziale Sicherheit und Generationen - Austria
 • L. Thornton
 EPI-Insight - Ireland
 • F. Van Loock
 Institut Scientifique de la Santé Publique Louis Pasteur - Belgium
 • H. van Vliet
 Infectieziekten Bulletin - Netherlands

La liste des contacts nationaux est disponible sur le site web.
 The list of national contacts is available on the web site.

WWW.EUROSURVEILLANCE.ORG

Les articles publiés dans *Eurosurveillance* sont indexés par Medline/Index medicus.

Eurosurveillance est un bulletin européen sur la surveillance, la prévention et la lutte contre les maladies transmissibles soumis à un comité de lecture. Des traductions en italien, portugais et espagnol sont disponibles sur le site internet.

Articles published in *Eurosurveillance* are indexed by Medline/Index Medicus.

Eurosurveillance is a European peer-reviewed bulletin on communicable disease surveillance, prevention and control. Translations in Italian, Portuguese and Spanish are accessible at the website.