

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

COMPTE-RENDU DE COLLOQUE

Le septième Congrès international du Groupe de Travail Européen sur la Diphtérie – Vienne, juin 2002

C Kelly, A Efstratiou au nom de DIPNET : European Diphtheria Surveillance Network et the European Laboratory Working Group on Diphtheria, Respiratory and Systemic Infection Laboratory, Specialist and Reference Microbiology Division, Health Protection Agency, Royaume-Uni

Le septième Congrès international du Groupe de Travail Européen sur la Diphtérie (European Laboratory Working Group on Diphtheria - ELWGD) s'est tenu à Vienne, Autriche, en juin 2002 et a rassemblé les microbiologistes et les épidémiologistes responsables de la diphtérie de nombreux pays. ELWGD a été créé en 1993 en réponse aux épidémies de diphtérie qui ont sévi en Russie et dans les Etats nouvellement indépendants (ENI) de l'ex-Union Soviétique (1,2). Ces épidémies, et d'autres survenues ailleurs, ont souligné l'importance de renforcer et de maintenir la surveillance épidémiologique et le dépistage en laboratoire. Depuis décembre 2001, ces activités ont été développées et renforcées grâce au financement, par la Commission européenne (CE) d'une étude de faisabilité sur la surveillance de la diphtérie dans les pays membres de l'UE et les pays candidats. Cette étape a été suivie par la mise en place officielle d'un réseau européen de surveillance de la diphtérie appelé DIPNET (DG SANCO Agreement No. S12.324473 (2001 CVG4-012)). Ce congrès était la première réunion internationale de ELWGD financée par le réseau DIPNET.

DIPNET continue son approche collaborative et coordonnée pour aider les pays à améliorer notamment la détection précoce des cas et des contacts grâce à une surveillance microbiologique et épidémiologique (3,4,5). Le réseau des laboratoires nationaux et internationaux comprend des microbiologistes et ➤

CONFERENCE REPORT

Seventh International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria - Vienna, June 2002

C Kelly, A Efstratiou on behalf of DIPNET: European Diphtheria Surveillance Network and the European Laboratory Working Group on Diphtheria, Respiratory and Systemic Infection Laboratory, Specialist and Reference Microbiology Division, Health Protection Agency, United Kingdom

The Seventh International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria (ELWGD) was held in Vienna, Austria in June 2002 and brought together the microbiologists and epidemiologists responsible for diphtheria in many countries throughout the world. The ELWGD was formed in 1993 in response to the epidemics of diphtheria in Russia and the Newly Independent States (NIS) of the former Soviet Union (1,2). These epidemics, and others elsewhere, highlighted the importance of strengthening and maintaining both epidemiological surveillance and reliable laboratory screening. Since December 2001, these areas have been progressed and strengthened by European Commission (EC) funding to undertake a feasibility study for diphtheria surveillance amongst European Union (EU) member states and accession countries, and to establish a definitive and official European diphtheria surveillance network called DIPNET (EC DG SANCO Agreement No. S12.324473 (2001 CVG4-012)). This was the first international meeting of the ELWGD to be organised and funded under the auspice of the DIPNET (European Diphtheria Surveillance Network).

DIPNET will continue a collaborative and coordinated approach to support countries to improve diphtheria surveillance for early detection of cases and contacts by accurate microbiological and epidemiological surveillance (3,4,5). The network of national and international laboratories includes, ➤

S O M M A I R E

Compte-rendu de Colloque

- Le septième Congrès international du Groupe de Travail Européen sur la Diphtérie - Vienne, juin 2002

Rapports d'investigation

- Epidémie régionale de *S. Enteritidis* lysotype 5 dans un élevage avicole en Autriche
- Une épidémie nosocomiale de gale dans un hôpital en Espagne

"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

Conference report

- Seventh International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria, Vienna, June 2002

Outbreak reports

- A regional outbreak of *S. Enteritidis* phage type 5, traced back to the flocks of an egg producer, Austria
- Nosocomial outbreak of scabies in a hospital in Spain

"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"

► des épidémiologistes de la plupart des pays membres et des pays candidats. La communication entre laboratoires et autorités de santé publique améliore la capacité des états membres à répondre rapidement à cette menace pour la santé publique (6).

Les participants venaient de 39 pays dont 12 pays membres de l'UE, six pays candidats, et les 12 ENI. Étaient également représentés le Brésil, le Canada, l'Inde, Israël, la Norvège, la Suisse, la Turquie et les États-Unis. Cet article résume les discussions tenues lors de ce congrès, donnant une vue d'ensemble de la surveillance de la diphtérie au sein de la Fédération de Russie et des ENI, ainsi que des pays membres de l'UE et des pays candidats. Sont présentées également les données cliniques et microbiologiques de l'infection par corynebacteria, et les études récentes sur les caractéristiques moléculaires et génétiques de *Corynebacterium diphtheriae* et *C. ulcerans*.

Surveillance microbiologique de la diphtérie dans les ENI de l'ex-Union Soviétique

La récente épidémie de diphtérie survenue dans les ENI a débuté dans la Fédération de Russie en 1990. Fin 1994 (7), les 12 états étaient touchés. En 1990, le nombre de cas déclarés s'élevait à 1 436. Il a ensuite atteint 19 604 cas en 1993, puis 47 869 en 1994, pour atteindre un pic de 50 434 cas en 1995. Au cours de cette épidémie, les souches prédominantes étaient *C. diphtheriae* variété *gravis* ribotypes *Sankt-Petersburg* et *Rossija*. Le taux de mortalité élevé enregistré au début de l'épidémie s'explique probablement par un apport d'antitoxines inadapté, par une gestion inadaptée des cas, et par un traitement appliqué avec retard. Les actions menées pour contrôler l'épidémie, coordonnées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), ont commencé en 1992 dans la Fédération de Russie par des campagnes de vaccination de masse couvrant la majeure partie de la population adulte (8). Ont suivies d'autres actions et campagnes de vaccination de masse dans les autres ENI. Ces dernières années, le nombre de cas rapportés à la Région Europe de l'OMS a chuté jusqu'à environ 1 500 en 1999 et 2000.

D'excellents résultats ont été obtenus pour contrôler la maladie en Arménie, en Azerbaïdjan, en Biélorussie, en Estonie, au Kazakhstan, en Lituanie, en Moldavie, au Turkménistan, et en Ouzbékistan, où l'incidence de la maladie a atteint des niveaux faibles ; le nombre de cas est cependant plus élevé en Géorgie, au Kirghizistan, en Lettonie, dans la Fédération de Russie, au Tadjikistan et en Ukraine (9,10). Certaines régions semblent avoir une incidence plus élevée que d'autres : ainsi, au cours des dernières années, le nombre de cas de diphtérie déclaré a augmenté dans la région de Smolensk en Fédération de Russie. En 2001, 30 cas ont été déclarés dans cette région, soit une incidence de 2,66 pour 100 000 habitants par rapport à 0,57 pour 100 000 pour l'ensemble de la Fédération de Russie. Soixante-treize pour cent des cas – dont deux décès étaient des adultes. Le taux des porteurs des souches toxigéniques *C. diphtheriae* a également considérablement augmenté. En cas d'augmentation de l'incidence de la diphtérie, des mesures anti-épidémiques complémentaires peuvent être nécessaires pour augmenter les taux de couverture vaccinale de tous les groupes d'âge.

A partir de 1998, la région de Saint-Petersbourg a également connu une augmentation annuelle de l'incidence de la diphtérie (2,6 pour 100 000), touchant essentiellement les patients adultes. Depuis 2000, la plupart des cas de diphtérie sont liés à la souche *C. diphtheriae* de variété *mitis*, ribotype *Otchakov*. Récemment, un dépistage et des analyses sérologiques chez différentes catégories sociales et professionnelles à risque ont été réalisés dans cette région. Sur les 472 prélèvements de sérum provenant de sujets âgés de 20 à 69 ans analysés, trente-cinq pour cent étaient sen-

► not only microbiologists, but also epidemiologists from most of the EU member states and accession countries. Communication between laboratories and public health authorities within and between countries enhances the capacity of an EU member state to respond rapidly to this public health threat (6).

Participants in this meeting came from 39 different countries including 12 EU member states, six accession countries, 12 NIS countries, and Brazil, Canada, India, Israel, Norway, Switzerland, Turkey, and the United States (US). This report summarises the presentations given at this meeting which provided an interesting overview of the surveillance of diphtheria within the Russian Federation and NIS as well as the EU member states and accession countries, a review of the clinical and microbiological aspects of infection caused by corynebacteria, and an update on recent studies on the molecular and genetic characteristics of *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*.

Microbiological surveillance of diphtheria in the NIS of the former Soviet Union

The recent epidemic of diphtheria in the NIS began in the Russian Federation in 1990 and affected all 12 NIS by the end of 1994 (7). In 1990, the number of reported diphtheria cases in the NIS was 1 436. However, in 1993 the number of cases dramatically increased to 19 604, then to 47 869 in 1994, and finally reached a peak of 50 434 in 1995. The prominent strains during this epidemic were *C. diphtheriae* var *gravis* ribotypes *Sankt-Petersburg* and *Rossija*. At the beginning of the epidemic, the case fatality rate was very high and was probably due to inadequate supplies of antitoxin, improper case management, and delayed treatment. Diphtheria control efforts, coordinated by the World Health Organization (WHO), began in the Russian Federation in 1992 and included mass immunisation campaigns which covered most of the adult population (8). Further control efforts and mass immunization campaigns in the other NIS followed. In recent years, the number of cases reported to the European Region of WHO have fallen to approximately 1 500 in 1999 and 2000.

Excellent progress has been achieved in the control of diphtheria in Armenia, Azerbaijan, Belarus, Estonia, Kazakhstan, Lithuania, Republic of Moldova, Turkmenistan, and Uzbekistan, where the incidence of the disease has reached low levels. However, the number of cases are higher in Georgia, Kyrgyzstan, Latvia, the Russian Federation, Tajikistan and the Ukraine (9,10). Some regions appear to have higher incidence rates than others: during recent years, for example, there has been an increase in the number of diphtheria cases reported in the Smolensk region of the Russian Federation. In 2001, 30 cases were reported in Smolensk, giving an incidence of 2.66 per 100 000 population, while the incidence in the Russian Federation as a whole was only 0.57 per 100 000 population. Seventy three per cent of the cases were adults, and two adult patients died. A dramatic increase in carriage rates of toxigenic *C. diphtheriae* strains was also observed. When there is an increase in the incidence of diphtheria, additional anti-epidemic measures may be needed to increase the coverage rates in all age groups.

Beginning in 1998, an annual increase of diphtheria incidence was also observed in the St Petersburg region, with an incidence of 2.6 per 100 000, mainly in adult patients. Since 2000, most of the diphtheria cases have been caused by toxigenic *C. diphtheriae* var *mitis* ribotype *Otchakov*. Screening and serological investigations amongst different social and professional risk groups have recently been performed in this region. A total of 472 sera from individuals aged between 20

sibles à la diphtérie. Cinquante deux pour cent des sujets entre 40 et 59 ans n'avaient reçu qu'une dose de rappel, et parmi ceux qui en avaient reçu deux, le nombre de personnes sensibles n'était que de 25 %. Pour un contrôle efficace de l'épidémie dans la région, la vaccination des adultes à l'aide de deux doses de rappel peut être nécessaire. L'immunisation avec une dose de rappel a débuté dans la région chez la population adulte, mais il semble que le ribotype *Otchakov* représente une nouvelle menace pour la santé publique.

Epidémiologie de la diphtérie dans les Etats membres de l'UE et les pays candidats

Bien que le risque de résurgence de la diphtérie dans les Etats membres de l'UE soit relativement faible, la capacité de contrôle et de prévention de la diphtérie doit être maintenue en raison des liens étroits avec les pays où l'incidence est élevée. La capacité à identifier rapidement un cas importé et à contrôler la dissémination de la maladie au sein de la communauté est une priorité en santé publique (3). A cet égard, les laboratoires, l'expertise clinique et la surveillance doivent être maintenus. De plus, les voyageurs vers les pays où la maladie est endémique doivent être protégés, d'où l'importance de disposer de stocks suffisants d'antitoxine et de vaccins.

De nombreux Etats membres de l'UE et les pays candidats n'ont que peu – voire aucun – cas de diphtérie chaque année. Cependant, le Centre collaborateur de l'OMS pour la diphtérie au Laboratoire des Infections Respiratoires et Systémiques de l'Agence de protection sanitaire (Royaume-Uni) a identifié 36 isolats de corynebacteria toxigène entre le début de l'année 1997 et la fin 2002 provenant de prélèvements pharyngés et d'autres types de prélèvements envoyés pour des tests de toxigénicité. Cinquante huit pour cent (21/36) étaient de type *C. ulcerans*. L'infection à *C. ulcerans* chez l'homme est « traditionnellement » associée à la consommation de produits laitiers crus ou au contact avec les animaux de ferme. Cependant, pour près de 50 % des cas, aucun de ces facteurs de risque n'a été identifié.

En avril 1993, le premier cas de diphtérie importé depuis près de trente ans a été identifié en Finlande et attribué à la souche toxigène *C. diphtheriae*, variété *gravis*. Depuis, quinze isolats de *C. diphtheriae* ont été déclarés, la majorité produisait des toxines (13/15) et était de variété *gravis* (10/15). Douze des cas présentaient des liens épidémiologiques avec la Russie et étaient provoqués par la souche toxigène *C. diphtheriae*. D'après l'analyse ribotypique, la plupart des isolats de variété *gravis* n'étaient pas différenciables du groupe clonique *Sankt-Peterburg/Rossija* (11,12) identifié lors de l'épidémie russe. Malgré l'important trafic frontalier, le faible nombre de cas de diphtérie identifié récemment en Finlande suggère une bonne immunité dans la population (13).

En France, le premier cas de diphtérie depuis 1989 a été identifié au cours de l'année 2002 chez une immigrante chinoise qui présentait une dysphasie et de la fièvre. Elle vivait en France depuis deux ans et n'était probablement pas immunisée. *C. diphtheriae* variété *mitis* a été isolé à partir d'un prélèvement pharyngé correspondant à un nouveau ribotype : *Lariboisière*. En Italie, le premier cas de diphtérie depuis 1998 a également été observé en 2002 chez un garçon de 14 ans vivant à Friuli, en Italie du nord. Il présentait une fièvre, une gorge irritée, une lymphadénopathie et une pseudomembrane. La souche toxigène *C. ulcerans* a été isolée à partir d'un prélèvement pharyngé mais la source de l'infection n'a pas été confirmée.

Actuellement, la Lettonie présente le taux d'incidence de la diphtérie le plus élevé de tous les Etats membres ou des pays candidats. Entre septembre 1993 et 2001, 1 288 cas de diphtérie, dont 96 décès, ont été déclarés. Deux pics d'incidence ont été ➤

to 69 years were studied, and 35% were susceptible to diphtheria. Fifty two per cent of individuals aged between 40 and 59 years had only ever been given one booster vaccination. Among those who had been given two boosters, the proportion of susceptibles was only 25%. For effective control of the epidemic in this district, immunisation of adults with two boosters may be required. Immunisation of the booster vaccine to the adult population has begun in this region, but it seems that ribotype *Otchakov* may present a new public health threat in the future.

Epidemiology of diphtheria in EU member states and accession countries

Although the risk of resurgence of diphtheria in EU member state countries is relatively low, the capacity to control and prevent diphtheria must be maintained due to close links with other higher incidence countries. The ability to recognise an imported case of diphtheria rapidly and to control any potential spread of the disease within the community is a public health priority (3). Laboratory facilities, clinical expertise, and surveillance all need to be maintained. Additionally, travellers to countries where the disease is endemic need to be protected, so adequate supplies of antitoxin and toxoid vaccine must be available when required.

Many of the EU member states and accession countries see either no cases or very few cases of diphtheria each year. However, the WHO Collaborating Centre for Diphtheria at the Respiratory and Systemic Infection Laboratory of the Health Protection Agency in the United Kingdom (UK) identified 36 isolates of toxigenic corynebacteria between the beginning of 1997 and the end of 2002 from throat swabs and other samples types referred for toxigenicity testing, 58% (21/36) of which were identified as *C. ulcerans*. Infection with *C. ulcerans* in humans is 'traditionally' associated with consumption of raw dairy products or contact with farm animals; however, no such risk factors were identified for about half of the cases.

In April 1993, the first imported case of diphtheria for nearly thirty years was identified in Finland and was found to be caused by toxigenic *C. diphtheriae* var *gravis*. Since then, a total of fifteen isolations of *C. diphtheriae* have been reported, the majority produced toxin (13/15) and were var *gravis* (10/15). Twelve of the cases had epidemiological links to Russia and were caused by toxigenic *C. diphtheriae*. Based on ribotype analysis, most of the var *gravis* isolates were indistinguishable from the the Russian epidemic clone group *Sankt-Peterburg/Rossija* (11,12). Despite extensive traffic across the border, the small number of diphtheria cases identified in Finland in recent years suggests that the overall immunity of the population is relatively good (13).

During 2002, the first case of diphtheria since 1989 was identified in France in a female Chinese immigrant who presented with dysphasia and fever. She had lived in France for the last two years and was probably unimmunised. Toxigenic *C. diphtheriae* var *mitis* was isolated from a throat swab taken from this patient which revealed a new ribotype pattern *Lariboisière*. Also in 2002, the first case of diphtheria in Italy since 1998 was seen in a 14 year old boy from Friuli, northern Italy, who presented with fever, sore throat, lymphadenopathy and pseudomembrane. Toxigenic *C. ulcerans* was isolated from a throat swab, but the source of the infection was not ascertained.

Currently, Latvia has the highest incidence rate of diphtheria of any of the EU member states or accession countries. Between September 1993 and 2001, 1 288 cases of diphtheria were reported, including 96 deaths. Diphtheria incidence has peaked twice during this period, first between ➤

► observés au cours de cette période, le premier entre 1994 et 1996 et le second de 1999 à nos jours. Au cours du premier pic, plus de 71 % des cas concernaient des adultes, pour la plupart non vaccinés. Le taux de morbidité était particulièrement élevé chez les 30-59 ans (14). Ceci est conforme à l'épidémiologie de la maladie dans une population où le taux de vaccination infantile est élevé, mais la couverture vaccinale adulte incomplète. Au cours de la dernière augmentation d'incidence, la proportion chez les sujets âgés de 30 à 59 ans a diminué de 19 %, et 97 % avaient été vaccinés contre la diphtérie pendant l'enfance. Les raisons de cette résurgence ne sont pas encore bien comprises.

Aspects cliniques et microbiologiques des infections causées par des corynebacteria potentiellement toxigènes et par d'autres corynebacteria

Une étude séro-épidémiologique portant sur 558 patients blessés âgés de 18 à 70 ans a été menée dans le service des traumatismes d'une clinique de jour à Vienne (Autriche). Vingt-sept pour cent des patients étaient sensibles à la diphtérie, 27 % avaient une immunisation partielle et 46 % une immunisation totale (15). L'analyse en régression linéaire multiple a montré que l'âge et le sexe avaient chacun une influence significative sur le niveau d'immunité de la diphtérie. Lors d'une autre étude menée au nord de la Grèce sur les sérums de 429 enfants et adultes en bonne santé âgés de 0 à 80 ans, une forte proportion des moins de 20 ans présentait une immunité protectrice. Dans les tranches d'âge supérieures, le niveau d'immunité déclinait rapidement au cours du temps. Une étude séro-épidémiologique menée en Slovaquie a également montré un niveau élevé de protection immunitaire chez les enfants et les jeunes adultes. Là aussi, une baisse du niveau d'anticorps protecteurs chez les adultes a été mise en évidence.

Entre 1998 et 2000, des tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés sur 148 isolats de *C. diphtheriae* provenant soit de patients soit de porteurs provenant de Moscou, Mourmansk, Omsk, Kaliningrad, Vladimir et Krasnodar. Tous ces isolats avaient été caractérisés comme appartenant au groupe clonal épidémique *C. diphtheriae*, variété *gravis* ribotype *Sankt-Peterburg/Rossija*. Seize d'entre eux (11 %) se sont révélés être résistants aux antibiotiques de la famille des macrolides et de celle des lincosamides tels que l'érythromycine, l'azythromycine, la lincomycine, et la clindamycine (11). Aucune souche résistante n'a été retrouvée parmi les isolats qui circulaient en Russie entre le début des années quatre-vingt et 1998.

Le séquençage du génome de *C. diphtheriae* ouvre la voie à de nouvelles stratégies pour étudier les interactions hôte-pathogène. Récemment, une enquête a été réalisée au Brésil afin d'étudier les interactions impliquées dans le processus d'adhérence de *C. diphtheriae* aux cellules épithéliales humaines, premières cellules impliquées dans la colonisation et l'invasion de l'hôte (16,17). Treize souches ont été analysées et révèlent des degrés variables d'attachement aux monocouches de cellules HEp-2 avec deux profils d'adhésion cellulaire distincts : le type prédominant, appelé localisé (LA) et le type diffus (DA) (18). Le profil LA a été observé essentiellement parmi les souches capable d'adhérer au verre et de fermenter le sucrose (19). L'adhésion bactérienne aux cellules HEp-2 était inhibée à des degrés variables par des fragments d'hydrate de carbone. Des observations préliminaires tendent à montrer que ces composants d'hydrate de carbone sont les adhésines de *C. diphtheriae* aux cellules épithéliales humaines.

Caractéristiques moléculaires et génétiques de corynebacteria

Le ribotyping, méthode universelle de typage moléculaire des bactéries basé sur la détermination du profil de restriction de l'ARN ribosomal est reconnu comme étant le meilleur marqueur pour le typage moléculaire des isolats de *C. diphtheriae*. Les endonucléases utilisées en standard étaient *BstEII* (premier choix) et *PvuII* (second choix). Les ribotypes obtenus avec ces enzymes ont souvent

► 1994 et 1996 et then between 1999 and the present time. During the first peak, more than 71% diphtheria cases were reported amongst adults, most of whom were unvaccinated, and especially high morbidity levels was seen in those aged between 30 and 59 years (14). This is consistent with the usual epidemiology of the disease in a population that has high levels of childhood vaccination, but incomplete adult coverage. During the last increase in incidence, however, the proportion aged between 30 and 59 years decreased by 19%, and 97% had been vaccinated against diphtheria in childhood. The reasons for this last resurgence are still not completely understood.

Clinical and microbiological aspects of infection caused by potentially toxigenic and other corynebacteria

A large seroepidemiological study of 558 injured patients aged between 18 and 70 years was conducted at an outpatient clinic of a trauma department in Vienna, Austria. Twenty seven per cent of the subjects were susceptible to diphtheria, 27% had basic protection, and 46% were fully protected (15). Multiple linear regression analysis revealed that age and gender both had a significant independent influence on diphtheria immunity level. In another study carried out in northern Greece on sera from 429 healthy children and adults aged between 0 and 80 years, immunity rates against diphtheria were found to be protective in high proportions of individuals up to 20 years of age, after which time immunity levels declined sharply. Another seroepidemiological study in Slovenia also showed a high level of protective immunity in children and young adults and, again, there was evidence of a fall in the level of protective antibodies in adults.

Between 1998 and 2000, antibiotic susceptibility tests were carried out on 148 isolates of *C. diphtheriae* from diphtheria patients and carriers in the Moscow, Murmansk, Omsk, Kaliningrad, Vladimir and Krasnodar regions of Russia. Sixteen of these isolates (11%), all of which had been characterised as the epidemic clonal group of toxigenic *C. diphtheriae* var *gravis* ribotype *Sankt-Peterburg/Rossija*, were found to be resistant to macrolide and lincosamide antibiotics such as erythromycin, azithromycin, lincomycin, and clindamycin (11). No antibiotic-resistant strains were found among isolates that circulated in Russia between the early 1980s and 1998.

The completion of the genome sequence of *C. diphtheriae* offers new strategies for studying host-pathogen interactions. An investigation was described that was recently undertaken in Brazil to examine the interactions leading up to and involving the adherence process of *C. diphtheriae* to human epithelial cells, the primary step made in the colonisation and invasion of the host (16,17). Thirteen strains were tested and displayed varying degrees of attachment to HEp-2 cell monolayers with two distinct adherence patterns: the predominant type called localised (LA), and diffuse (DA) (18). The LA pattern was mainly observed among the glass adherent/sucrose fermenting strains (19). Bacterial adherence to HEp-2 cells was inhibited in varied degrees by carbohydrate moieties. Initial indications point to these carbohydrate components as putative adhesins of *C. diphtheriae* to human epithelial cells.

Molecular and genetic characteristics of corynebacteria

Ribotyping, a universal molecular typing method for bacteria based upon rRNA gene restriction pattern determination, has previously been recognised as the best marker for the molecular typing of *C. diphtheriae* isolates. The endonucleases chosen for the standard methodology were *BstEII* (first choice) and *PvuII* (second choice), because when these enzymes are used, ribotypes often share common bands, which make pat-

des bandes communes, ce qui facilite la comparaison. Il est possible d'échanger, à l'échelle internationale, ces données de typage, et il existe actuellement une base de données de tous les ribotypes de *C. diphtheriae* adoptant une nomenclature standard qui facilite la communication entre les laboratoires. Le logiciel recommandé pour l'interprétation des ribotypes de *C. diphtheriae* est Taxotron 2000® (Taxolab, Institut Pasteur, Paris, France) pour l'interpolation de la taille des fragments (20). A ce jour, 86 ribotypes distincts obtenus pour endonucléase BstEII ont été sélectionnés dans la base de données. Pour chaque profil de ribotype correspond une souche de référence possédant un seul nom géographique, produisant un profil de ribotype stable et reproductif (21). Ces souches ont également été soumises au ribotypage automatisé à l'aide du Système de caractérisation microbien RiboPrinter® (Qualicon, Wilmington, DE, USA) qui utilise les deux endonucléases (22). Il est alors possible d'identifier et de vérifier de nouveaux clones de *C. diphtheriae* génétiquement définis et des clones existants ayant un potentiel épidémique.

En 2002, une souche toxigène de *C. diphtheriae* var *mitis* a été isolée d'un prélèvement pharyngé d'un garçon de 11 ans issu d'une communauté religieuse à Salford, au nord-ouest de l'Angleterre (23). Une souche de même variété a également été isolée chez un enfant de trois ans, appartenant à la même famille et vivant à Jérusalem. Les profils ribotypiques de ces deux isolats étaient indiscernables. Cet exemple illustre parfaitement comment le ribotypage peut être utilisé pour 'traquer' la dissémination internationale de la maladie. La transmission des maladies ne survient pas nécessairement comme un événement isolé dans un pays donné, mais peut menacer d'autres pays (3).

En Biélorussie, au cours des dernières années, la majorité des souches toxigènes isolées étaient de biotype var *gravis*. Les ribotypes étaient principalement *Sankt-Petersburg*, *Rossija*, et *Lyon*. Beaucoup des souches circulant en Biélorussie sont des *C. diphtheriae* variété *mitis* non toxigènes porteuses du gène *tox* (NTTB). Ces souches, phénotypiquement non toxigènes mais porteuses du gène *tox*, ont été représentées essentiellement par le ribotype *Moskva*. Les autres souches non toxigènes étaient de ribotype *Cluj* (11,21). Le ribotypage a été utilisé avec succès pour le sous-typage moléculaire, pour l'identification et le suivi des groupes clonaux (24).

Comme mentionné précédemment, l'infection humaine à *C. ulcerans* est généralement acquise à l'occasion de contact avec des animaux ou de consommation de produits laitiers non pasteurisés, bien que les facteurs de risque soient souvent non-identifiés (3). Au Royaume-Uni, la fréquence et la gravité des infections à *C. ulcerans* serait en augmentation. Entre 1986 et 2001, un total de 51 isolats de *C. ulcerans*, dont 84 % de souches toxigènes, a été identifié. Les résultats du ribotypage des souches toxigènes de *C. ulcerans* isolées chez trois chats présentant un écoulement nasal bilatéral ont mis en évidence des profils indiscernables des souches humaines (25). La mise en évidence des souches toxigènes de *C. ulcerans* chez les chats domestiques, et la possibilité d'une transmission de personne à personne, soulignent l'importance de mener des recherches poussées sur le rôle de *C. ulcerans* dans l'épidémiologie de la diphtérie (15).

Le génome complet de la souche *C. diphtheriae* NCTC 13129, un isolat du clone épidémique (ribotype *Sankt-Petersburg*) qui a circulé en Europe de l'Est au cours des années 1990, a été séquencé à l'Unité du séquençage des pathogènes de l'Institut Sanger. Le recours à la technique de shotgun sur l'ensemble du génome a conduit à la détermination d'une séquence finale comprenant des 66 099 séquences de lecture. L'analyse de la séquence a été réalisée à l'aide du logiciel Artemis. Artemis Comparison Tool (ACT) a été utilisé pour comparer, au niveau de l'ADN ou de la protéine, ce génome avec celui d'autres bactéries. Les données de séquençage sont disponibles à l'adresse suivante : http://www.sanger.ac.uk/Projects/C_diphtheriae/. ►

tern comparison easier. International exchange of typing data can be carried out and there is now a database of all *C. diphtheriae* ribotypes with a standard ribotype nomenclature to facilitate communication between laboratories. The recommended software for interpretation of *C. diphtheriae* ribotypes is Taxotron 2000® (Taxolab, Institut Pasteur, Paris, France) for interpolation of fragment sizes (20). To date, 86 distinct ribotypes with the endonuclease BstEII have been chosen for the ribotype database, and each ribotype pattern has been represented by a reference strain possessing a unique geographical name, producing a stable and reproducible ribotype pattern (21). These strains have now also been submitted to automated ribotyping using the RiboPrinter® Microbial Characterization System (Qualicon, Wilmington, DE, USA) using both endonucleases (22). Identification and verification of new and existing genetically defined clones of *C. diphtheriae* with the potential to cause epidemics can be made.

In 2002, a toxigenic strain of *C. diphtheriae* var *mitis* was isolated from a throat swab of a boy aged 11 years from a religious community in Salford, north west England (23). A toxigenic strain of *C. diphtheriae* var *mitis* was also isolated from a family member aged 3 years in Jerusalem and the two isolates were found to be indistinguishable from their ribotype patterns. This is an excellent example of how ribotyping can be used in 'tracking' the international spread of this disease. Disease transmission does not necessarily occur as an isolated event in one country but may have implications for spread to other countries (3).

In Belarus, the majority of toxigenic strains in the last few years have been biotype var *gravis* and their ribotypes were mainly *Sankt-Petersburg*, *Rossija*, and *Lyon* ribotypes. Many of the strains circulating in Belarus, however, have been non-toxigenic *tox*-bearing (NTTB) strains of *C. diphtheriae* var *mitis* that are phenotypically non-toxigenic but carry the *tox*-gene, and these have been mainly represented by the ribotype *Moskva*, while the other non-toxigenic strains were mainly ribotype *Cluj* (11,21). Ribotyping has successfully been used for molecular subtyping and the identification and monitoring of clonal groups (24).

As previously mentioned, human infection with *C. ulcerans* is usually acquired through contact with animals or by ingestion of unpasteurised dairy products, although risk factors are often undetermined (3). In the UK, the frequency and severity of *C. ulcerans* infections appear to be increasing. Between 1986 and 2001 a total of 51 *C. ulcerans* isolates, 84% of which were toxigenic strains, were identified. Ribotyping results of toxigenic *C. ulcerans* isolated from three cats with bilateral nasal discharge have shown that the profiles produced are so far indistinguishable from human isolates (25). The isolation of toxigenic *C. ulcerans* from domestic cats, in addition to the possibility of person to person spread, highlights the importance of further research into the role of *C. ulcerans* in the epidemiology of diphtheria (15).

The complete genome of the *C. diphtheriae* NCTC 13129 strain, an isolate of the epidemic clone (ribotype *Sankt-Petersburg*), circulating within eastern Europe during the 1990s, has been sequenced at the Pathogen Sequencing Unit at the Sanger Institute. A whole-genome shotgun technique was used and the final sequence was assembled from 66 099 sequencing reads. Analysis of the sequence was carried out using the software tool Artemis and the Artemis Comparison Tool (ACT) was also used to compare this genome with other bacterial genomes, both at the DNA or protein level. The genome sequence data is available at http://www.sanger.ac.uk/Projects/C_diphtheriae/. ►

► Le séquençage de ce génome a permis de mener d'autres études sur les caractéristiques moléculaires et génétiques des corynebacteria. Une étude complète des souches NTTB, toutes de biotype *C. diphtheriae* var *mitis*, a été réalisée récemment à Moscou (26,27,28). L'absence de production de toxine diphtérique par ces souches s'est avérée liée à une mutation – délétion d'une base au niveau du nucléotide 52-55 – se traduisant par un décalage de lecture entraînant la perte de la séquence de début de lecture du gène *tox* conduisant à la production d'une protéine *tox* tronquée. Cependant, des chercheurs ont découvert des propriétés toxigéniques à ces souches NTTB. Ils émettent l'hypothèse que la production de la toxine peut facilement être restaurée après passage à travers une dialyse en cellophane sur un milieu Elek déficient en fer.

À l'Université du Colorado aux États-Unis, une analyse moléculaire impressionnante portant sur la régulation et la fonction du répresseur de la toxine de la diphtérie (DtxR) de *C. diphtheriae* (27) a été réalisée. L'étude conclut que la DtxR réprime plus fortement la biosynthèse du sidérophore que la production de toxine diphtérique. De plus, la DtxR n'est pas essentielle à la viabilité de *C. diphtheriae* bien que ces souches présentant une mutation du gène *dtxR* aient une susceptibilité accrue au stress oxydatif (29).

Les recherches et l'exploration du génome de *C. diphtheriae* sont sources de nouvelles idées et permettent de mieux comprendre la pathogénicité des souches toxigènes NTTB et des souches non toxigènes. Le nombre des participants à ce Congrès international, provenant non seulement d'Europe mais de plusieurs autres continents, a souligné l'expansion de ce domaine spécialisé de la microbiologie. Un réseau de surveillance international est nécessaire pour contrôler la résurgence d'une maladie infectieuse vaccinable et potentiellement mortelle comme la diphtérie. Cette maladie est l'exemple de choix pour montrer que les services de santé publique doivent être en mesure d'apporter une réponse rapide et coordonnée à une menace sanitaire telle qu'un cas importé, provenant d'un pays hors des frontières de l'Europe mais pouvant se disséminer à travers le pays.

Les auteurs souhaitent remercier la contribution de tous les participants au Septième Congrès international du Groupe de Travail Européen sur la Diphtérie, la Commission européenne (EU DG SANCO Agreement No. S12.324473 (2001 CVG4-012)), le Laboratoire de Santé Publique (PHLS), le Département de traumatologie de l'Université de Vienne, le Ministère fédéral de la Santé et de la population à Vienne, l'Académie médicale de Vienne, le bureau de la région Europe de l'OMS et le Trust Wellcome.

Le programme et les abstracts du congrès sont accessibles en format pdf sur le site d'Eurosurveillance. ■

► The completion of this genome sequence has enabled the development of further studies into the molecular and genetic characteristics of corynebacteria. A comprehensive study of NTTB-strains, all of biotype *C. diphtheriae* var *mitis*, was recently carried out in Moscow (26,27,28). The lack of diphtheria toxin production by these strains was explained by a mutation a single base deletion at nucleotides 52-55 – that was the result of a frameshift that subsequently produced a loss of the *tox*-gene open reading frame and the truncation of the *tox* protein. However, some researchers have discovered toxigenic properties in these NTTB strains and argued that toxin production can be easily restored after passage through dialysis cellophane on iron-deficient Elek media.

At the University of Colorado in the US, an impressive molecular analysis was carried out on the regulation and function of the diphtheria toxin repressor (DtxR) of *C. diphtheriae* (27). The conclusion to this study was that DtxR represses siderophore biosynthesis more stringently than diphtheria toxin production, and that that DtxR was not essential for the viability of *C. diphtheriae*, although those strains with mutations within the *dtxR* gene did exhibit enhanced susceptibility to oxidative stress (29).

Further research and exploration into the genome sequence of *C. diphtheriae* are providing sources of inspiration and new understanding of the pathogenicity of toxigenic, NTTB, and non-toxigenic strains. The numbers of participants in this international conference highlighted the expansion of this specialised area of microbiology, with attendees several continents. An international surveillance network within Europe is essential for the control of a resurging, potentially fatal, vaccine-preventable infectious disease such as diphtheria. Diphtheria is an excellent example of a situation where public health services are expected to deliver a timely and coordinated response to a public health threat such as an imported case that may originate outside Europe, but which has the potential to spread within that country.

The authors gratefully acknowledge the contribution of all participants of the Seventh International Meeting of the ELWGD, the European Commission (EU DG SANCO Agreement No. S12.324473 (2001 CVG4-012)), the Public Health Laboratory Service, the Department of Traumatology at the University of Vienna, the Federal Ministry of Social Security and Generations in Vienna, the Vienna Medical Academy, the WHO Regional Office for Europe, and the Wellcome Trust.

The Programme and Abstracts Book for the meeting are accessible in pdf format on the Eurosurveillance website. ■

References

1. Efstratiou A, Roure C, members of the European Laboratory Working Group on Diphtheria. The European Laboratory Working Group on Diphtheria: a global microbiologic network. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S146-51. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981423/981423.html>)
2. Lai S, Efstratiou A on behalf of the European Laboratory Working Group on Diphtheria. Report on the Sixth International Meeting of the European Working Group on Diphtheria, Brussels, Belgium. *Eurosurveillance* 2002; **7**: 7-12. (<http://www.eurosurveillance.org/em/v07n01/0701-223.asp>)
3. Efstratiou A, Engler KH, Mazurova IK, Glushkevich T, Vuopio-Varkila J, Popovic T. Current approaches to the laboratory diagnosis of diphtheria. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S138-45. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981422/981422.html>)
4. Efstratiou A, George RC. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*. World Health Organization. *Commun Dis Public Health* 1999; **2**: 250-7.
5. Engler KH, Kozlov RS, Copping SJ, European Laboratory Working Group on Diphtheria, Efstratiou A. International External Quality Assessment scheme for the laboratory diagnosis of diphtheria. *J Med Microbiol* 2001; **50**: 1006-12.
6. Bonnet JM, Begg NT. Control of diphtheria: guidance for consultants in communicable disease control. *Commun Dis Public Health* 1999; **2**: 242-9. (<http://www.hpa.org.uk/cdph/issues/CDPHVol2/no4/guidelines.pdf>)
7. Popovic T, Kombarova SV, Reeves MW, Nakao H, Mazurova IK, Wharton M, et al. Molecular epidemiology of diphtheria in Russia, 1985-1994. *J Infect Dis* 1996; **174**: 1064-72.
8. Dittmann S, Wharton M, Vitek C, Ciotti M, Galazka A, Guichard S, et al. Successful control of epidemic diphtheria in the states of the Former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S10-22. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981403/981403.html>)
9. Sulakvelidze A, Kekelidze M, Gomelauri T, Deng Y, Khetsuriani N, Kobaidze K, et al. Diphtheria in the Republic of Georgia: use of molecular typing techniques for characterization of *Corynebacterium diphtheriae* strains. *J Clin Microbiol* 1999; **37**: 3265-70. (<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/37/10/3265?view=full&pmid=10488190>)
10. Grisevica A, Ching P, Russo G, Kreysler J. Diphtheria in Latvia, 1986-1996. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S60-4. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981409/981409.html>)
11. Popovic T, Mazurova IK, Efstratiou A, Vuopio-Varkila J, Reeves MW, De Zoysa A, et al. Molecular epidemiology of diphtheria. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S168-77. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981426/981426.html>)
12. De Zoysa A, Efstratiou A, George RC, Jahlola M, Vuopio-Varkila J, Deshevoi S, et al. Molecular epidemiology of *Corynebacterium diphtheriae* from northwestern Russia and surrounding countries studied by using ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 1995; **33**: 1080-3. (<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/33/5/1080.pdf>)
13. Lumio J, Olander RM, Groundstroem K, Suomalainen P, Honkanen T, Vuopio-Varkila J. Epidemiology of three cases of severe diphtheria in Finnish patients with low antitoxin antibody levels. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; **20**: 705-10.

14. Rønne T, Valentelis R, Tarum S, Griskevica A, Wachmann CH, Aggerbeck H, et al. Immune response to diphtheria booster vaccine in the Baltic states. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S213-9. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981431/981431.html>)
15. Marlovits S, Stocker R, Efstratiou A, Broughton K, Kaider A, Vécsei V, et al. Effect on diphtheria immunity of combined tetanus and diphtheria booster vaccination of adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; **19**: 506-13.
16. Colombo AV, Hirata R Jr, de Souza CMR, Monteiro-Leal LH, Previato JO, Formiga LCD, et al. *Corynebacterium diphtheriae* surface proteins as adhesions to human erythrocytes. *FEMS Microbiol Lett* 2001; **197**: 235-9.
17. Hirata R, Napoleão F, Monteiro-Leal LH, Andrade AFB, Nagao PE, Formiga LCD, et al. Intracellular viability of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains in HEp-2 cells. *FEMS Microbiol Lett* 2002; **215**: 115-9.
18. Mattos-Guaraldi AL, Formiga LCD, Pereira GA. Cell surface components and adhesion in *Corynebacterium diphtheriae*. *Microbes Infect* 2000; **2**: 1507-12.
19. De Mattos-Guaraldi AL, Formiga LCD. Bacteriological properties of a sucrose-fermenting *Corynebacterium diphtheriae* strain isolated from a case of endocarditis. *Curr Microbiol* 1998; **37**: 156-8.
20. Regnault B, Grimont F, Grimont PAD. Universal ribotyping method using a chemically labelled oligonucleotide probe mixture. *Res Microbiol* 1997; **148**: 649-59.
21. Grimont PAD, Grimont F, Efstratiou A, De Zoysa A, Mazurova I, Lejay-Collin M, et al. International nomenclature for *Corynebacterium diphtheriae* ribotypes. *Res Microbiol* (in press).
22. De Cesare A, Manfreda G. Use of the automated ribotyping for epidemiological investigations. *Ann Microbiol* 2002; **52**: 181-90.
23. PHLS. Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* var *mitis* isolated from a child from north west England. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2002; **12** (4): news. (<http://www.hpa.org.uk/cdr/PDFFiles/2002/cdr0402.pdf>)
24. Titov L, Kolodkina V, Dronina A, Grimont F, Grimont PAD, Lejay-Collin M, et al. Genotypic and phenotypic characteristics of *Corynebacterium diphtheriae* strains isolated from patients in Belarus during an epidemic period. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 1285-8. (<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/41/3/1285?view=full&pmid=12624069>)
25. PHLS. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in cats. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2002; **12** (11): news. (<http://www.hpa.org.uk/cdr/PDFFiles/2002/cdr1102.pdf>)
26. Efstratiou A, Engler KH, Dawes CS, Sesardic D. Comparison of phenotypic and genotypic methods for detection of diphtheria toxin among isolates of pathogenic corynebacteria. *J Clin Microbiol* 1998; **36**: 3173-7. (<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/36/11/3173?view=full&pmid=9774560>)
27. Holmes RK. Biology and molecular epidemiology of diphtheria toxin and the tox gene. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 1): S156-67. (<http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181nS1/981424/981424.html>)
28. Melnikov V, DeZoysa A, Mazurova I, Kombarova S, Borisova O, Engler KH, et al. Molecular screening for the 'identification' of non-toxigenic tox bearing strains of *Corynebacterium diphtheriae* from the Russian Federation. In: *Programme and abstracts book, Sixth International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria*; 2000 21-24 June; Brussels, Belgium. p. 60-1.
29. Oram DM, Avdalovic A, Holmes RK. Construction and characterization of transposon insertion mutations in *Corynebacterium diphtheriae* that affect expression of the diphtheria toxin repressor (DtxR). *J Bacteriol* 2002; **184**: 5723-32. (<http://jb.asm.org/cgi/content/full/184/20/5723?view=full&pmid=12270831>)

RAPPORT D'INVESTIGATION

Epidémie régionale de *S. Enteritidis* lysotype 5 dans un élevage avicole en Autriche

C. Berghold¹, C. Kornschöber¹, S. Weber²

¹ National Reference Centre for Salmonella at the Austrian Agency for Health and Food Safety, Graz, Autriche

² Austrian Poultry Health Service, Tulln, Autriche

Au cours du printemps et de l'été 2002, le Nazionale Referenzzentrale für Salmonellen (Centre National de Référence autrichien pour les salmonelles - NRCS) a observé un foyer d'infections humaines à *Salmonella enterica subsp. enterica* ser. Enteritidis lysotype 5 (*S. Enteritidis* PT5) dans deux districts proches l'un de l'autre en Autriche. En 1999, une épidémie également liée à *S. Enteritidis* PT5 était survenue dans cette région chez un producteur avicole (6 000 poules environ). L'attention a donc été à nouveau portée sur cet élevage. Les analyses bactériologiques des échantillons prélevés dans cette ferme et les investigations épidémiologiques ont montré que l'épidémie de 2002 était liée au même producteur que l'épidémie de 1999. Les 70 isolats humains de *S. Enteritidis* PT5 confirmée en 2002 ne représentaient qu'une minorité de toutes les infections. Il est probable que plusieurs centaines d'infections soient survenues au cours de l'épidémie de 2002. Depuis août 2001, les nouvelles vagues d'élevage n'étaient plus vaccinées contre *Salmonella*. Il est probable que ce changement ait causé la réapparition des infections à *S. Enteritidis* PT5. Dès la fin du mois de septembre 2002, plus aucun œuf provenant de poules non traitées n'était mis en vente. En octobre 2002, seul un isolat de *S. Enteritidis* PT5 a été confirmé dans la région.

Historique

Au milieu de l'année 2002, le Nazionale Referenzzentrale für Salmonellen (Centre National de Référence autrichien des salmonelles - NRCS) a observé un foyer régional d'infections humaines à *Salmonella enterica subsp. enterica* ser. Enteritidis lysotype 5 (*S. Enteritidis* PT5) (1). La zone affectée consistait en deux ➤

OUTBREAK REPORT

A regional outbreak of *S. Enteritidis* phage type 5, traced back to the flocks of an egg producer, Austria

C. Berghold¹, C. Kornschöber¹, S. Weber²

¹ National Reference Centre for Salmonella at the Austrian Agency for Health and Food Safety, Graz, Austria

² Austrian Poultry Health Service, Tulln, Austria

In the spring and summer of 2002, the Nazionale Referenzzentrale für Salmonellen (National Reference Centre for Salmonella - NRCS) in Austria noticed a cluster of human *Salmonella enterica subsp. enterica* ser. Enteritidis phage type 5 (*S. Enteritidis* PT5) infections in two neighbouring districts of Austria. Another small outbreak of *S. Enteritidis* PT5 infections that occurred in the same region in 1999 had been traced back to the flocks of a local egg producer (approximately 6 000 hens). Attention was therefore again directed at this farm. The results of voluntary bacteriological examinations from the farm and further epidemiological investigations identified the same egg producer as the source of the second outbreak. The 70 human isolates of *S. Enteritidis* PT5 ascertained in 2002 represented a minority of all infections. It is realistic to estimate that several hundred infections occurred in the course of the 2002 outbreak. The farmer had not vaccinated new flocks against *Salmonella* since August 2001. It is likely that the change in vaccination policy resulted in the reappearance of the *S. Enteritidis* PT5 infections. By the end of September 2002 the farmer had stopped selling untreated table eggs. In October 2002 only one isolate of *S. Enteritidis* PT5 was ascertained in the region.

Background

In mid-2002, the Nazionale Referenzzentrale für Salmonellen (NRCS) noticed a regional cluster of human *Salmonella enterica subsp. enterica* ser. Enteritidis phage type 5 (*S. Enteritidis* PT5) infections (1) in a region consisting of two neighbouring districts (combined population of the two ➤