

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/ViewArticle.aspx?ArticleId=180702>)
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, Wanner 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

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

² Centre 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

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

² Scottish 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'endonuclease 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*

sérotype 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, gentamicine 20 µg/ml, kanamycine 20 µg/ml, nalidixic acid 40 µg/ml, netilmicin 20 µg/ml, spectinomycine 100 µg/ml, streptomycine 20 µg/ml, sulphaméthoxazole 100 µg/ml, tetracycline 10 µg/ml, triméthoprime 2 µg/ml).

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 ➤

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

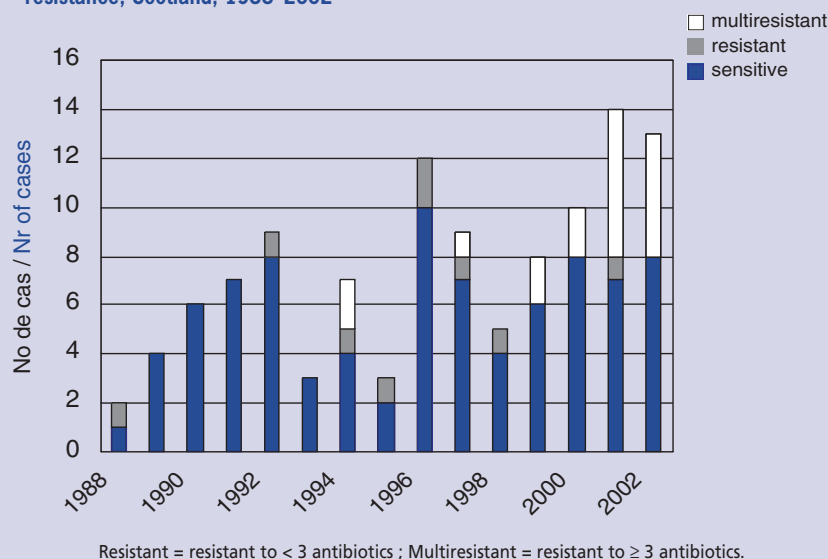


Tableau 2 / Table 2

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*

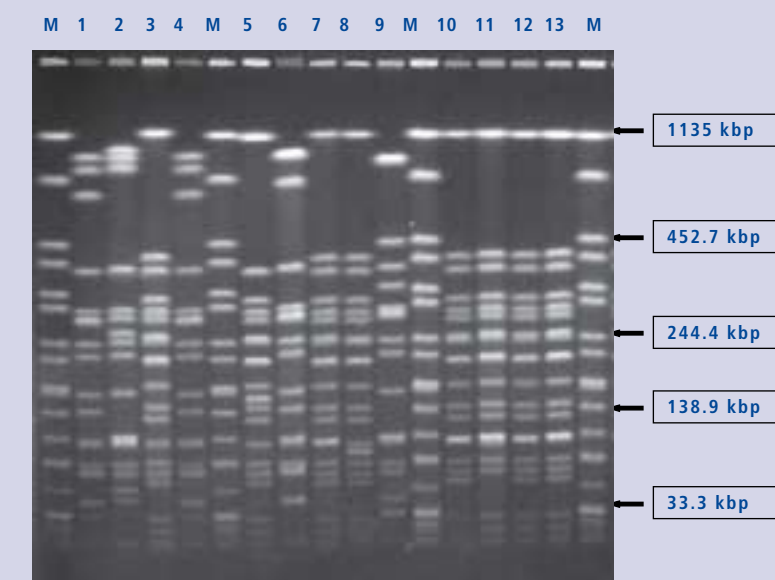
were made from animal feedstuffs during 2000 or 2001. It would therefore seem unlikely that the poultry meat infected with *S. Java* originated in the United Kingdom.

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 *S. 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.

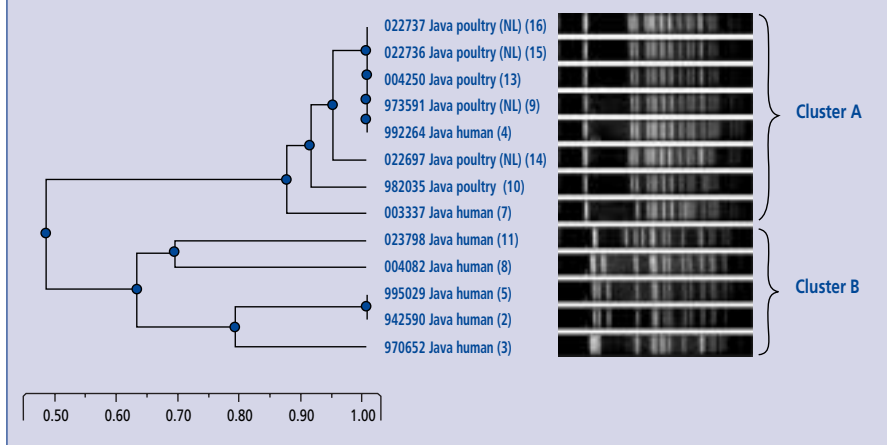
L'application de protocoles standardisés pour faciliter l'investigation d'épidémies internationales a déjà été recommandée (11). Cette approche s'est révélée précieuse en nous permettant de comparer directement nos résultats de typage moléculaire par PFGE avec ceux de nos collègues allemands et néerlandais.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

► 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. ■

Figure 3

Arbre de clusters UPGMA d'isolats de *S. enterica* issus de cas humains et de viande de volaille, Ecosse, 1999-2002 / UPGMA clustering of *S. enterica* isolates recovered from humans and poultry, Scotland, 1999-2002



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 berta 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-Smidt 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, Bolder 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.