

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, Tzouveleki 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.