

MAR 13 1998

ISSN 1188-4169

Canada Communicable Disease Report

Relevé des maladies transmissibles au Canada

Date of publication: 1 February 1998

Vol . 24-3

Date de publication : 1^{er} février 1998

Contained in this issue:

Verocytotoxigenic <i>Escherichia coli</i> Infection in Dairy Farm Families	17
Human Isolates of <i>Salmonella typhimurium</i> DT104 in Ontario	20
Announcements	23

Contenu du présent numéro :

Infection à <i>Escherichia coli</i> producteur de vérocytotoxines chez des familles habitant une ferme laitière	17
Isolats humains de <i>Salmonella typhimurium</i> DT104 en Ontario	20
Annonces	23

VEROCYTOTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI* INFECTION IN DAIRY FARM FAMILIES*

Infection with verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) continues to be an important cause of enteric illness in Canada with 5.0 cases reported per 100,000 population in 1995, the most recent year for which complete data are available⁽¹⁾. Infection results in a spectrum of illness including watery diarrhea, bloody diarrhea, and the hemolytic uremic syndrome⁽²⁾. Cattle are believed to be the principal reservoir for this organism⁽³⁾ and consumption of improperly cooked ground beef contaminated with bovine feces at slaughter is an important risk factor for human infection⁽⁴⁾. The VTEC serotype most commonly isolated from clinical specimens in Canada is *E. coli* O157:H7⁽⁵⁾. However, in both ground beef⁽⁶⁾ and bovine feces⁽⁷⁾, *E. coli* O157:H7 is far exceeded by non-O157 VTEC serotypes, several of which have been associated with human illness⁽⁸⁾.

Because dairy farm families are exposed to high levels of bovine VTEC through direct contact with cattle manure⁽⁹⁾ and through consumption of unpasteurized milk⁽¹⁰⁾, they constitute a model of naturally occurring transmission of these organisms from cattle to people. We report here on a recently published Canadian study⁽¹¹⁾ of dairy farm families undertaken to investigate the role of VTEC serotypes of bovine origin in human disease.

A formal, random sample of 80 dairy farms in southern Ontario was visited between July 1992 and February 1993. Farm family members were asked to provide a stool sample for detection of VTEC and a blood sample for detection of antibodies to verocytotoxin (VT) 1 and O157 lipopolysaccharide (LPS). Blood and rectal swabs were also obtained from a random sample of cattle, consisting of one-quarter of the milking herd or a minimum of 10 cows as well as all calves < 3 months of age on each farm. Families were interviewed about potential risk-factors for and health outcomes of VTEC infection using a standardized

INFECTION À *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEUR DE VÉROCYTOTOXINES CHEZ DES FAMILLES HABITANT UNE FERME LAITIÈRE*

L'infection à *E. coli* producteur de vérocytotoxines (ECPV) demeure une importante cause de gastro-entérite au Canada. On a ainsi recensé 5,0 cas de cette infection pour 100 000 habitants en 1995, dernière année pour laquelle des données exhaustives sont disponibles⁽¹⁾. L'infection se manifeste de diverses façons, notamment par une diarrhée aqueuse, une diarrhée sanguine et un syndrome hémolytique-urémique⁽²⁾. Les bovins seraient le principal réservoir de cet organisme⁽³⁾, et la consommation de boeuf haché insuffisamment cuit, qui a été contaminé à l'abattoir par des matières fécales de bovins, est un important facteur de risque d'infection chez l'humain⁽⁴⁾. Le sérotype d'ECPV le plus souvent isolé dans des échantillons cliniques au Canada est *E. coli* O157:H7⁽⁵⁾. Toutefois, dans les échantillons de boeuf haché⁽⁶⁾ et de matières fécales bovines⁽⁷⁾, *E. coli* O157:H7 vient loin derrière les autres sérotypes d'ECPV, dont plusieurs ont été associés à des maladies chez l'humain⁽⁸⁾.

Les familles vivant dans une ferme laitière sont fortement exposées à ECPV d'origine bovine, car elles sont en contact direct avec le fumier de vache⁽⁹⁾ et consomment du lait non pasteurisé⁽¹⁰⁾. Elles constituent donc un modèle de la transmission naturelle de ces organismes du bétail aux humains. Nous faisons ici état d'une étude canadienne, publiée récemment⁽¹¹⁾, qui porte sur des familles habitant une ferme laitière. Cette étude visait à déterminer dans quelle mesure les sérotypes d'ECPV d'origine bovine engendrent des maladies chez l'humain.

Entre juillet 1992 et février 1993, on a visité un échantillon aléatoire constitué selon les règles de 80 fermes laitières du sud de l'Ontario. On a demandé aux membres de ces familles agricoles de fournir un échantillon de selles et un échantillon de sang afin d'y rechercher, respectivement, ECPV et les anticorps neutralisant la vérocytotoxine (VT) 1 et le lipopolysaccharide (LPS) O157. Dans chaque ferme, on a également prélevé du sang et effectué un écouvillonnage rectal auprès d'un échantillon aléatoire de bovins, comprenant le quart du troupeau laitier ou au moins 10 vaches ainsi que tous les veaux âgés de < 3 mois. On a interrogé les membres des familles, au moyen d'un questionnaire

* This article is reprinted with permission from the *Journal of Infectious Diseases* (1996;174:1021-27).

* Le présent article a été reproduit avec l'autorisation du *Journal of Infectious Diseases* (1996;174:1021-27).

questionnaire. Residents and cattle on farms with VTEC-positive persons or *E. coli* O157:H7-positive cattle were retested at 1 and 3 months after the initial visit.

Fecal samples were cultured and screened for the presence of VTEC by detection of VT genes using a polymerase chain reaction (PCR) procedure employing synthetic oligonucleotide primers⁽¹²⁾ designed to target conserved sequences in VT1, VT2, and VTe genes, and VT production by a Vero cell cytotoxicity assay⁽¹³⁾. Broth cultures with evidence of VT production were then streaked onto MacConkey agar to obtain VTEC isolates which were identified similarly. Positive colonies were plated onto sorbitol-MacConkey agar, tested for the presence of the O157 antigen by slide agglutination tests with O157 antiserum (Difco), and serotyped at the National Laboratory for Enteric Pathogens, Laboratory Centre for Disease Control. Sera were tested for antibodies to VT1 using a neutralization assay⁽¹⁴⁾ and for antibodies to the O157 LPS antigen using an enzyme-linked immunosorbent assay test⁽¹⁵⁾.

Evidence of VTEC was found in stool samples from 21 (6.3%) of 335 family members on 16 (20.8%) of 77 farms on the first visit. Twenty-four persons on these 16 farms were VTEC-positive on at least one of the three visits. Among VTEC-positive persons, 3 (12.5%) were positive on more than one visit. VTEC was identified in nine (37.5%) of the 24 VTEC-positive family members by PCR only. *E. coli* O157:H7 was isolated from a healthy 6-month-old child on one farm. Eight additional VTEC serotypes were isolated (O5:NM, O7:H4, O80:NM, O91:H14, O103:H2, O119:H25, O132:NM, O146:H2), four of which were also isolated from cattle on the same farm. Human VTEC carriage had a negative linear relationship with age by logistic regression analysis ($p = 0.045$).

Among 68 families submitting blood samples, 46 (67.7%) had at least one person seropositive for VT1, and 20 (29.4%) had at least one person seropositive for O157 LPS. Overall, 97 (41.3%) of 235 family members were seropositive for VT1, and 30 (12.5%) were seropositive for O157 LPS. Seropositivity rates to each antigen showed markedly different age trends. The proportion of persons with antibodies to O157 LPS increased gradually from birth, with a peak prevalence (26%) in the 40-to-50-year-old age group that was significantly greater than that of other age groups ($p < 0.05$). In contrast, the prevalence of VT1 antibodies was greatest (78%) in children < 5 years of age, and antibodies declined significantly with increasing age ($p < 0.001$). The presence of a person with antibodies to O157 LPS was associated with isolation of *E. coli* O157H:7 from an animal or human on the same farm ($p = 0.022$). However, antibodies to O157 LPS were not associated with VT1 antibodies in individuals ($p = 0.94$).

Significant behavioral risk factors for infection were not identified, and neither stool cultures nor serologic status were associated with clinical illness. VTEC were isolated from stools cultures of 679 (46%) of cattle on all 80 (100%) farms. Twelve cattle (0.8%) on seven (8.8%) farms were positive for *E. coli* O157:H7 on at least one visit.

A substantial number of dairy farm residents participating in this study thus had evidence of current or past infection with VTEC on the basis of stool cultures (6.3%) or serologic status (41.3%). VTEC infection occurred at a very young age in subjects in this study, as indicated by both the presence of

normalisé, afin de déterminer les facteurs de risque potentiels d'infection à ECPV et les effets de cette infection sur la santé. Les résidents et les bovins des fermes où l'on avait relevé des personnes positives pour ECPV ou des bovins positifs pour *E. coli* O157:H7 ont subi de nouveaux tests 1 et 3 mois après la première visite.

Les échantillons de matières fécales ont été mis en culture, et l'on y a recherché la présence d'ECPV, par la détection des gènes de la VT au moyen d'une technique d'amplification par la polymérase (PCR) faisant appel à des amores synthétiques oligonucléotidiques⁽¹²⁾ conçues pour cibler des séquences conservées des gènes de la VT1, de la VT2 et de la VTe; on a en outre évalué la production de VT au moyen d'un essai de cytotoxicité sur lignées cellulaires Véro⁽¹³⁾. Les cultures en bouillon où l'on observait une production de VT étaient ensuite étalées sur une gélose de MacConkey afin d'obtenir des isolats d'ECPV qui étaient ensuite identifiés de la même manière. Les colonies positives ont été ensemencées dans un milieu sorbitol-MacConkey; on a tenté d'y déceler la présence de l'antigène O157 au moyen de tests d'agglutination sur lame avec l'antisérum de cet antigène (Difco) et on a procédé à leur sérotypage au Laboratoire national pour les pathogènes entériques, Laboratoire de lutte contre la maladie. On a recherché les anticorps neutralisant la VT1 dans les sérums, au moyen d'une épreuve de neutralisation⁽¹⁴⁾, et les anticorps neutralisant le LPS O157, par la technique ELISA⁽¹⁵⁾.

À la première visite, on a décelé la présence d'ECPV dans les échantillons de selles de 21 (6,3 %) membres des familles sur 335, dans 16 (20,8 %) fermes sur 77. Vingt-quatre personnes habitant l'une ou l'autre de ces 16 fermes ont été trouvées positives pour ECPV lors d'au moins une des trois visites. Parmi les personnes positives pour ECPV, 3 (12,5 %) l'étaient lors de plus d'une visite. ECPV a été identifié chez neuf (37,5 %) des 24 personnes qui avaient été trouvées positives pour ECPV par PCR seulement. Dans une ferme, *E. coli* O157:H7 a été isolé chez un enfant de 6 mois en bonne santé. Huit autres sérotypes d'ECPV ont été isolés (O5:NM, O7:H4, O80:NM, O91:H14, O103:H2, O119:H25, O132:NM, O146:H2), dont quatre ont également été isolés chez des bovins de la même ferme. On observait une relation linéaire négative entre le portage humain d'ECPV et l'âge, selon une analyse de régression logistique ($p = 0,045$).

Parmi les 68 familles qui ont fourni des échantillons sanguins, 46 (67,7 %) comptaient au moins une personne séropositive pour la VT1, et 20 (29,4 %), au moins une personne séropositive pour le LPS O157. Dans l'ensemble, 97 (41,3 %) membres des familles sur 235 étaient séropositifs pour la VT1, et 30 (12,5 %) pour le LPS O157. Les taux de séropositivité à chaque antigène différaient de façon marquée selon l'âge. Le pourcentage de personnes ayant des anticorps neutralisant le LPS O157 augmentait graduellement à partir de la naissance, la prévalence atteignant un sommet (26 %) dans le groupe d'âge de 40 à 50 ans, où elle était nettement plus élevée que dans les autres groupes d'âge ($p < 0,05$). En revanche, la prévalence des anticorps neutralisant la VT1 était plus élevée (78 %) chez les enfants de < 5 ans, et les anticorps diminuaient de façon significative à mesure que le sujet avançait en âge ($p < 0,001$). On observait un lien entre la présence d'une personne porteuse d'anticorps neutralisant le LPS O157 et l'isolement d'*E. coli* O157H:7 chez un animal ou un humain habitant la même ferme ($p = 0,022$). Toutefois, les anticorps neutralisant le LPS O157 n'étaient pas liés aux anticorps neutralisant la VT1 chez les humains ($p = 0,94$).

On n'a relevé aucun facteur de risque d'infection important associé au comportement, et ni les coprocultures ni le statut sérologique n'étaient liés aux signes cliniques de maladie. ECPV a été isolé dans les coprocultures de 679 bovins (46 %), dans les 80 fermes à l'étude (100 %). Douze bovins (0,8 %) appartenant à sept fermes (8,8 %) ont été trouvés positifs pour *E. coli* O157:H7 lors d'au moins une visite.

Les coprocultures (dans 6,3 % des cas) ou le statut sérologique (dans 41,3 % des cas) indiquent donc qu'un nombre important de résidents des fermes laitières qui ont participé à l'étude sont infectés par ECPV ou l'ont été dans le passé. L'infection à ECPV est survenue à un très jeune âge chez les sujets de la présente étude, comme

VTEC in feces and seroprevalence of antibodies to VT1. Most of these infections appeared to be due to VTEC other than serogroup O157 since a much higher proportion of persons had antibodies to VT1 (41.3%) than to O157 LPS (12.5%). Furthermore, *E. coli* O157:H7 was isolated on only 8.8% of farms and only one of the nine human VTEC isolates was *E. coli* O157:H7. Seven of the eight other human VTEC isolates belonged to serotypes previously associated with human infection⁽⁸⁾. Our results thus provide further evidence that non-O157 VTEC of bovine origin can infect humans.

The most likely source of VTEC infecting family members was cattle on the same farm. Non-O157 VTEC were prevalent in cattle on all farms, and many of the VTEC serotypes isolated from cattle have been associated with human illness⁽⁸⁾. Of the nine VTEC serotypes found in family members, four were also isolated from cattle on the same farm, and the presence of *E. coli* O157:H7 on the farm was associated with antibodies to O157 LPS in family members. Transmission of VTEC from cattle to people in this setting is not surprising, since dairy-farm families are exposed directly to cattle manure and many consume raw milk, both known risk factors for human VTEC infection^(9,10).

The lack of disease due to VT1-producing *E. coli* in farm residents in this study may reflect protection associated with antibodies induced by previous exposure⁽¹⁶⁾. Exposure to the dairy-farm environment may have greater health significance for urban residents and specific subgroups within the rural community. Urban residents who visit farms, have direct contact with cattle⁽⁹⁾, or consume unpasteurized milk^(13,10) may be expected to have a higher risk of VTEC infection and disease due to less prior exposure to VTEC. In addition, children with declining maternal immunity, the elderly, and other immunocompromised individuals who live on dairy farms may have increased risk of infection and VTEC-associated disease.

References

1. LCDC. *Notifiable diseases annual summary – 1995*. CCDR 1997;23S:92-3.
2. Karmali MA. *Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1989;2:15-38.
3. Borczyk AA, Karmali MA, Lior H et al. *Bovine reservoir for verotoxin-producing Escherichia coli O157:H7*. Lancet 1987;1:98. Letter.
4. Le Saux N, Spika JS, Friesen B et al. *Ground beef consumption in non-commercial settings is a risk factor for sporadic Escherichia coli O157:H7 infection in Canada*. J Infect Dis 1993;167:500-2.
5. Wilson JB, Johnson RP, Clarke RC et al. *Canadian perspectives on VTEC infection*. J Food Protect. In press.
6. Read SC, Gyles CL, Clarke RC et al. *Prevalence of verocytotoxigenic Escherichia coli in ground beef, pork, and chicken in southwestern Ontario*. Epidemiol Infect 1990;105:11-20.
7. Wilson JB, McEwen SA, Clarke RC et al. *Distribution and characteristics of verocytotoxigenic Escherichia coli isolated from Ontario dairy cattle*. Epidemiol Infect 1992;108:423-39.
8. Aleksic S. *Annex 2: list of serotypes of SLTEC and related strains isolated from man, animals, and foodstuffs*. In: *Report of the WHO Working Group on shiga-like toxin-producing Escherichia coli*

l'indiquent aussi bien la présence d'ECPV dans les fèces que la séroprévalence des anticorps neutralisant la VT1. Ces infections semblent pour la plupart attribuables à d'autres sérotypes d'ECPV que le O157, car une proportion nettement plus élevée de personnes étaient porteuses des anticorps neutralisant la VT1 (41,3 %) que des anticorps neutralisant le LPS O157 (12,5 %). *E. coli* O157:H7 n'a en outre été isolé que dans 8,8 % des fermes, et un seul des neuf isolats humains d'ECPV a été identifié comme étant *E. coli* O157:H7. Sept des huit autres isolats humains d'ECPV appartenaient à des sérotypes qui avaient déjà provoqué des infections chez l'humain⁽⁸⁾. Nos résultats viennent donc corroborer le fait que d'autres sérotypes d'ECPV d'origine bovine que le O157 peuvent infecter les humains.

Ce sont les bovins vivant dans la même ferme qui ont vraisemblablement transmis l'infection à ECPV aux membres des familles. Des sérotypes d'ECPV autres que le O157 ont été mis en évidence chez des bovins dans toutes les fermes, et bon nombre des sérotypes d'ECPV isolés chez les bovins avaient été associés à des maladies chez l'humain⁽⁸⁾. Quatre des neuf sérotypes d'ECPV décelés chez les membres des familles avaient également été mis en évidence chez les bovins de la même ferme, et la présence d'*E. coli* O157:H7 dans la ferme était associée à la découverte des anticorps neutralisant le LPS O157 chez les membres des familles. La transmission d'ECPV des bovins aux humains dans ce milieu n'a rien d'étonnant, car les familles vivant dans une ferme laitière sont directement exposées au fumier de vache, et bon nombre d'entre elles consomment du lait cru; or ce sont là deux facteurs de risque connus d'infection à ECPV chez l'humain^(9,10).

L'absence de maladie due à *E. coli* producteur de VT1 chez les résidents des fermes à l'étude pourrait témoigner de la protection conférée par les anticorps induits par une exposition antérieure⁽¹⁶⁾. L'exposition au milieu des fermes laitières pourrait être plus lourde de conséquences pour les résidents des villes et certains sous-groupes particuliers de la communauté rurale. Il a donc tout lieu de croire que les résidents des villes qui se rendent à la ferme, ont des contacts directs avec les bovins⁽⁹⁾, ou consomment du lait non pasteurisé^(13,10), courrent un risque accru d'infection et de maladie à ECPV, étant donné qu'ils n'ont jamais été exposés à cet organisme auparavant. De plus, les enfants dont l'immunité maternelle est à la baisse, les personnes âgées et les autres personnes immunodéprimées qui vivent dans des fermes laitières pourraient risquer davantage de contracter une infection ou une maladie due à ECPV.

Références

1. LLCM. *Sommaire annuel des maladies à déclaration obligatoire – 1995*. RMTC 1997;23S:92-3.
2. Karmali MA. *Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1989;2:15-38.
3. Borczyk AA, Karmali MA, Lior H et coll. *Bovine reservoir for verotoxin-producing Escherichia coli O157:H7*. Lancet 1987;1:98. Lettre.
4. Le Saux N, Spika JS, Friesen B et coll. *Ground beef consumption in non-commercial settings is a risk factor for sporadic Escherichia coli O157:H7 infection in Canada*. J Infect Dis 1993;167:500-2.
5. Wilson JB, Johnson RP, Clarke RC et coll. *Canadian perspectives on VTEC infection*. J Food Protect. Sous presse.
6. Read SC, Gyles CL, Clarke RC et coll. *Prevalence of verocytotoxigenic Escherichia coli in ground beef, pork, and chicken in southwestern Ontario*. Epidemiol Infect 1990;105:11-20.
7. Wilson JB, McEwen SA, Clarke RC et coll. *Distribution and characteristics of verocytotoxigenic Escherichia coli isolated from Ontario dairy cattle*. Epidemiol Infect 1992;108:423-39.
8. Aleksic S. *Annex 2: list of serotypes of SLTEC and related strains isolated from man, animals, and foodstuffs*. Dans : *Report of the WHO Working Group on shiga-like toxin-producing Escherichia coli*

- Escherichia coli* (SLTEC), with emphasis on zoonotic aspects.
- Bergamo, Italy: World Health Organization, 1994.
9. Renwick SA, Wilson JB, Clarke RC et al. Evidence of direct transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection between calves and a human. J Infect Dis 1993;168:792-93.
 10. West AM, Martin SW, McEwen SA et al. Factors associated with the presence of *Salmonella* spp. in dairy farm families in southwestern Ontario. Can J Public Health 1988;79:119-23.
 11. Wilson JB, Clarke RC, Renwick SA et al. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* infection in dairy farm families. J Infect Dis 1996;174:1021-27.
 12. Read SC, Clarke RC, Martin A et al. Polymerase chain reaction for detection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from animal and food sources. Mol Cell Probes 1992;6:153-61.
 13. Clarke RC, McEwen SA, Gannon VP et al. Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* from milk filters in southwestern Ontario. Epidemiol Infect 1989;102:253-60.
 14. Karmali MA, Petric M, Lim C et al. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. J Infect Dis 1985;151:775-82.
 15. Reymond D, Johnson RP, Karmali MA et al. Neutralizing antibodies to *Escherichia coli* Vero cytotoxin 1 and antibodies to O157 lipopolysaccharide in healthy farm family members and urban residents. J Clin Microbiol 1996;34(9):2053-56.
 16. Karmali AM, Petric M, Winkler M et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to *Escherichia coli* Vero cytotoxin 1. J Clin Microbiol 1994;32:1457-63.

Source: J Wilson, DVM, PhD, Laboratory Centre for Disease Control, Health Canada, Ottawa, Department of Population Medicine, University of Guelph, Guelph; J Spika, MD, Laboratory Centre for Disease Control, Health Canada, Ottawa; R Clarke, DVM, PhD, S McEwen, DVM, DVSc, Department of Population Medicine, University of Guelph, Guelph; R Johnson, DVM, PhD, K Rahn, MSC, Health of Animals Laboratory, Health Canada, Guelph; S Renwick, DVM, MSc, Science and Technology Services, Food Production and Inspection Branch, Agriculture and Agri-Food Canada, Nepean; M Karmali, MD, Department of Microbiology, Hospital for Sick Children, Toronto; H Lior, MSc; D Alves, DVM, PhD, Animal Health Division, Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Fergus; C Gyles, DVM, PhD, K Sandhu, PhD, Department of Veterinary Microbiology and Immunology, University of Guelph, Guelph, ON.

HUMAN ISOLATES OF SALMONELLA TYPHIMURIUM DT104 IN ONTARIO

Introduction

Multidrug-resistant isolates of *Salmonella typhimurium* known as definitive type 104 (DT104) have emerged as an important cause of salmonellosis in the United Kingdom^(1,2) and the United States⁽³⁾. The most common resistance phenotype (R-type) among DT104 isolates is ACSSuT (resistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, and tetracycline); isolates with this R-type have been found not only among humans, but among a wide range of mammals, poultry, cats, and dogs in the United Kingdom^(1,2).

In Ontario, Canada, isolates of *S. typhimurium* represent 16% to 31% of all human *Salmonella* isolates received at the Central Public Health Laboratory, Toronto, for confirmation and identification of serotypes over a 4-year period between 1993 and 1996. In response to concerns regarding the epidemic spread of *S. typhimurium* DT104 R-type ACSSuT in the United Kingdom and United States, a selected number of Ontario isolates of *S. typhimurium* over a 3-month period, between

- (SLTEC), with emphasis on zoonotic aspects. Bergamo, Italy : Organisation mondiale de la santé, 1994.
9. Renwick SA, Wilson JB, Clarke RC et coll. Evidence of direct transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection between calves and a human. J Infect Dis 1993;168:792-93.
 10. West AM, Martin SW, McEwen SA et coll. Factors associated with the presence of *Salmonella* spp. in dairy farm families in southwestern Ontario. Can J Public Health 1988;79:119-23.
 11. Wilson JB, Clarke RC, Renwick SA et coll. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* infection in dairy farm families. J Infect Dis 1996;174:1021-27.
 12. Read SC, Clarke RC, Martin A et coll. Polymerase chain reaction for detection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from animal and food sources. Mol Cell Probes 1992;6:153-61.
 13. Clarke RC, McEwen SA, Gannon VP et coll. Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* from milk filters in southwestern Ontario. Epidemiol Infect 1989;102:253-60.
 14. Karmali MA, Petric M, Lim C et coll. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. J Infect Dis 1985;151:775-82.
 15. Reymond D, Johnson RP, Karmali MA et coll. Neutralizing antibodies to *Escherichia coli* Vero cytotoxin 1 and antibodies to O157 lipopolysaccharide in healthy farm family members and urban residents. J Clin Microbiol 1996;34(9):2053-56.
 16. Karmali AM, Petric M, Winkler M et coll. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to *Escherichia coli* Vero cytotoxin 1. J Clin Microbiol 1994;32:1457-63.

Source : J Wilson, DMV, PhD, Laboratoire de lutte contre la maladie, Santé Canada, Ottawa, Department of Population Medicine and Veterinary Microbiology and Immunology, University of Guelph, Guelph; Dr J Spika, Laboratoire de lutte contre la maladie, Santé Canada, Ottawa; R Clarke, DMV, PhD, S McEwen, DMV, DVSc, Department of Population Medicine and Veterinary Microbiology and Immunology, University of Guelph, Guelph; R Johnson, DMV, PhD, K Rahn, MSC, Health of Animals Laboratory, Health Canada, Guelph; S Renwick, DMV, MSc, Services des sciences et de la technologie, Direction générale de la production et de l'inspection des aliments, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Nepean; Dr M Karmali, Department of Microbiology, Hospital for Sick Children, Toronto; H Lior, MSc; D Alves, DMV, PhD, Division de la santé des animaux, ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario, Fergus; C Gyles, DMV, PhD, K Sandhu, PhD, Department of Veterinary Microbiology and Immunology, University of Guelph, Guelph (Ont.).

ISOLATS HUMAINS DE SALMONELLA TYPHIMURIUM DT104 EN ONTARIO

Introduction

Des isolats multirésistants de *Salmonella typhimurium*, caractérisés comme appartenant au type définitif 104 (DT104), sont devenus une importante cause de salmonellose au Royaume-Uni^(1,2) et aux États-Unis⁽³⁾. Le phénotype de résistance le plus courant chez les isolats DT104 est ACSSuT (résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfaméthoxazole et à la tétracycline); on a retrouvé des isolats présentant ce phénotype non seulement chez les humains, mais également chez divers mammifères, volailles, chats et chiens au Royaume-Uni^(1,2).

En Ontario (Canada), de 16 % à 31 % de tous les isolats humains de salmonelles expédiés entre 1993 et 1996 (4 années) au Laboratoire central de santé publique de Toronto pour confirmation et identification des sérotypes appartenant à l'espèce *S. typhimurium*. Devant les inquiétudes soulevées par l'épidémie d'infection à *S. typhimurium* DT104 ACSSuT au Royaume-Uni et aux États-Unis, on a étudié la sensibilité aux antimicrobiens d'un certain nombre d'isolats de *S. typhimurium* en Ontario et déterminé la présence du lysotype DT104

20 November 1996 and 21 January 1997, were investigated for antimicrobial susceptibility and the presence of phage type DT104.

Methods

Isolates: *S. typhimurium* isolates were submitted to the Central Public Health Laboratory from private community-based laboratories which provide services to physicians, nursing homes, clinics and hospitals across Ontario, and from regional public-health laboratories. The 115 isolates examined in this study were collected from patients aged 1 to 71 years. All isolates were from stools, except for two which were from urine samples.

Susceptibility testing: Antimicrobial agents were tested by agar dilution with Mueller-Hinton (M-H) agar at the following concentrations (mg/L): ampicillin 8, 16; chloramphenicol 8, 16; tetracycline 4, 8; ticarcillin 16, 64; piperacillin 16, 64; trimethoprim 8; sulfamethoxazole 256; cotrimoxazole (trimethoprim/sulfamethoxazole) 0.5/9.5, 2.0/38.0; gentamicin 4; tobramycin 4; amikacin 16; cephalothin 8, 16; cefoxitin 8, 16; ceftazidime 8, 16; cefotaxime 8, 32; ciprofloxacin 1, 2; nalidixic acid 4, 50. Susceptibility testing was carried out according to the method of the National Committee for Clinical Laboratory Standards⁽⁴⁾. For the susceptibility testing of trimethoprim, sulfamethoxazole, and cotrimoxazole, 5% lysed horse blood was added to the M-H agar.

Results and Discussion

One hundred and fifteen isolates were investigated for antimicrobial susceptibility. Of these, 49 isolates (42.6%) were resistant to one or more antimicrobial agents, and only one DT104 isolate was susceptible to all antimicrobial agents tested (Table 1). Thirty-six of the resistant isolates were identified as DT104 phage type. The R-type of 29 of the 36 *S. typhimurium* DT104 isolates was ACSSuT (Tic Pip) (resistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, and tetracycline, ticarcillin, and piperacillin). One isolate was also resistant to nalidixic acid, and another was also resistant to trimethoprim and cotrimoxazole. The R-type of three isolates was ASu (Tic Pip) (resistance to ampicillin, sulfamethoxazole, ticarcillin and piperacillin) but these were susceptible to chloramphenicol, tetracycline, and streptomycin. One of the other two isolates was susceptible to all antimicrobial agents tested, and the other had the R-type SSu (resistance to streptomycin and sulfamethoxazole). Four isolates belonged to phage type 193, nine isolates to 193 variant, one isolate to 208, and one isolate to 10; three isolates were untypable. The 14 isolates were resistant to one to four antimicrobial agents (Table 1).

Table 2 shows the number of *S. typhimurium* DT104 by age group. The majority of *S. typhimurium* DT104 isolates were obtained from young children, 1 to 9 years of age, or from young adults, 20 to 44 years of age.

The vehicles of infection in the present study were not identified. Several studies in the United Kingdom⁽⁵⁻⁷⁾ have indicated that multiple food vehicles are involved in the transmission of this organism to humans: sources such as raw milk, pork sausages, chicken, and meat paste. Although cattle are the main reservoir of *S. typhimurium* infection, only a few reports have shown direct transmission from cattle to humans⁽⁵⁻⁷⁾. Further epidemiologic studies are needed to determine the source of infection for humans in Ontario, in order that control measures be implemented to reduce the risk of contamination.

sur une période de 3 mois, entre le 20 novembre 1996 et le 21 janvier 1997.

Méthodologie

Isolats : Les isolats de *S. typhimurium* ont été expédiés au Laboratoire central de santé publique par des laboratoires communautaires privés qui offrent des services d'analyse aux médecins, aux maisons de soins infirmiers, aux cliniques et aux hôpitaux de tout l'Ontario, ainsi que par les laboratoires régionaux de santé publique. Les 115 isolats examinés dans le cadre de cette étude ont été prélevés chez des patients âgés de 1 à 71 ans. Dans tous les cas, il s'agissait de prélèvements de selles, à l'exception de deux échantillons d'urine.

Étude de la sensibilité : On a mesuré l'effet bactériostatique d'agents antimicrobiens à l'aide de la méthode de dilution en milieu gélosé de Mueller-Hinton (M-H) aux concentrations suivantes (mg/L) : ampicilline 8, 16; chloramphénicol 8, 16; tétracycline 4, 8; ticarcilline 16, 64; pipéracilline 16, 64; triméthoprime 8; sulfaméthoxazole 256; cotrimoxazole (triméthoprime/sulfaméthoxazole) 0,5/9,5, 2,0/38,0; gentamicine 4; tobramycine 4; amikacine 16; céphalothine 8, 16; céfoxidine 8, 16; ceftazidime 8, 16; céfotaxime 8, 32; ciprofloxacine 1, 2; acide nalidixique 4, 50. Les antibiogrammes ont été effectués conformément à la méthodologie proposée par le *National Committee for Clinical Laboratory Standards*⁽⁴⁾. Pour l'étude de la sensibilité au triméthoprime, au sulfaméthoxazole et au cotrimoxazole, 5 % de sang de cheval défibriné a été ajouté au milieu gélosé M-H.

Résultats et analyse

Cent quinze isolats ont été soumis à une étude de la sensibilité aux antimicrobiens. Parmi ces isolats, 49 (42,6 %) présentaient une résistance à un ou à plusieurs antimicrobiens; et seulement un isolat DT104 était sensible à tous les antimicrobiens testés (tableau 1). Trente-six des isolats résistants appartenaient au lysotype DT104. Le phénotype de résistance de 29 des 36 isolats de *S. typhimurium* DT104 était du type ACSSuT (Tic Pip) (résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfaméthoxazole ainsi qu'à la tétracycline, à la ticarcilline et à la pipéracilline). Un isolat était également résistant à l'acide nalidixique et un autre affichait une résistance au triméthoprime et au cotrimoxazole. Trois isolats possédaient le phénotype de résistance ASu (Tic Pip) (résistance à l'ampicilline, au sulfaméthoxazole, à la ticarcilline et à la pipéracilline), mais étaient sensibles au chloramphénicol, à la tétracycline et à la streptomycine. Un des deux autres isolats était sensible à tous les antimicrobiens étudiés, et l'autre présentait le phénotype de résistance SSu (résistance à la streptomycine et au sulfaméthoxazole). Quatre isolats appartenaient au lysotype 193, neuf à la variante du lysotype 193, un au lysotype 208, et un autre au lysotype 10; trois isolats étaient non typables. Les 14 isolats étaient résistants à au moins un et à jusqu'à quatre antimicrobiens (tableau 1).

Le tableau 2 donne un aperçu du nombre d'infections par *S. typhimurium* DT104 par groupe d'âge. La majorité des isolats de *S. typhimurium* DT104 provenaient d'enfants de 1 à 9 ans ou de jeunes adultes de 20 à 44 ans.

Les véhicules de la contagion n'ont pas été identifiés dans la présente étude. Plusieurs études effectuées au Royaume-Uni⁽⁵⁻⁷⁾ ont mis en cause divers véhicules alimentaires dans la transmission de ce micro-organisme aux humains : lait cru, saucisse de porc, poulet et pâté de viande. Bien que les bovins constituent le principal réservoir de l'infection à *S. typhimurium*, seuls quelques rapports ont fait état d'une transmission directe des bovins aux humains⁽⁵⁻⁷⁾. Il est essentiel de poursuivre les études épidémiologiques afin de déterminer la source de la propagation de l'infection aux humains en Ontario, de façon à pouvoir mettre en œuvre des mesures de lutte anti-infectieuse pour réduire le risque de contamination.

Table 1
Antimicrobial susceptibility pattern and phage type of 50 *S. typhimurium* isolates, Ontario, 20 November 1996 – 21 January 1997

R-type ^a	No. of isolates	Phage type
ACSSuT (Tic Pip)	29	104
ACSSuT (Tic Pip Nal)	1	104
ACSSuTTm (Tm/Su Tic Pip)	1	104
ASu (Tic Pip)	3	104
SSu	1	104
None ^b	1	104
T	5	193 variant
SSuT	1	193
T	3	193
A (Tic Pip)	1	208
CT	1	10
AT (Tic Pip)	1	untypable
CT	2	untypable

^a A, ampicillin; C, chloramphenicol; S, streptomycin; Su, sulfamethoxazole; T, tetracycline; Tic, ticarcillin; Tm, trimethoprim; Tm/Su (cotrimoxazole); Pip, piperacillin; Nal, nalidixic acid.

^b One isolate was susceptible to all antimicrobial agents tested.

Tableau 1
Profil de sensibilité aux antimicrobiens et lysotype de 50 isolats de *S. typhimurium*, Ontario, 20 novembre 1996 au 21 janvier 1997

Phénotype de résistance ^a	N ^{bre} d'isolats	Lysotype
ACSSuT (Tic Pip)	29	104
ACSSuT (Tic Pip Nal)	1	104
ACSSuTTm (Tm/Su Tic Pip)	1	104
ASu (Tic Pip)	3	104
SSu	1	104
Aucun ^b	1	104
T	5	variante 193
SSuT	1	193
T	3	193
A (Tic Pip)	1	208
CT	1	10
AT (Tic Pip)	1	non typable
CT	2	non typable

^a A, ampicilline; C, chloramphénicol; S, streptomycine; Su, sulfaméthoxazole; T, tétracycline; Tic, ticarcilline; Tm, triméthoprime; Tm/Su (cotrimoxazole); Pip, pipéracilline; Nal, acide nalidixique.

^b Un isolat était sensible à tous les antimicrobiens étudiés.

Table 2
Referred isolates of *S. typhimurium* DT104, by age group, Ontario, 20 November 1996 - 21 January 1997

Age group	No. (%) of isolates
0-9	13 (36,1)
10-19	6 (16,7)
20-44	12 (33,3)
45-64	2 (5,6)
65+	3 (8,3)

The present study also shows that the most common R-type is ACSSuT, as reported by other investigations^(1,2,6). Only one isolate showed resistance to trimethoprim and cotrimoxazole; it is noteworthy that this isolate was from the urine of a 2-year-old male child. None of the isolates examined in this study was resistant to the newer fluoroquinolones, although one isolate showed high level resistance (> 100 mg/L) to the first generation quinolone, nalidixic acid. This isolate was from a 71-year-old individual who may have had previous exposure to the drug. Speculation is that the emergence of trimethoprim and fluoroquinolone resistance among *S. typhimurium* DT104 is the result of the use of these agents in the treatment of infections in cattle^(5,6).

It is interesting that, in this limited study, the majority of isolates were from young children, in non-outbreak (sporadic) situations. One could speculate that the reservoirs for DT104 among this group are probably food-related, or perhaps related to direct association with infected pets. The suspected animal source of an outbreak in the United States among elementary school children was difficult to confirm, since neither the ill

Tableau 2
Taux d'infection par *S. typhimurium* DT104, par groupe d'âge, Ontario, 20 novembre 1996 au 21 janvier 1997

Groupe d'âge	N ^{bre} (%) d'isolats
0-9	13 (36,1)
10-19	6 (16,7)
20-44	12 (33,3)
45-64	2 (5,6)
65+	3 (8,3)

La présente étude montre également que ACSSuT est le phénotype de résistance le plus courant, comme l'ont révélé d'autres enquêtes^(1,2,6). Seul un isolat présentait une résistance au triméthoprime et au cotrimoxazole; il convient de noter qu'il s'agissait d'un échantillon d'urine prélevé chez un garçonnet de 2 ans. Aucun des isolats examinés dans cette étude n'affichait de résistance aux nouvelles générations de fluoroquinolones, bien qu'un isolat ait présenté une résistance de haut niveau (> 100 mg/L) à l'acide nalidixique, une quinolone de première génération. Cet isolat provenait d'un sujet de 71 ans qui a pu être exposé au médicament dans le passé. On a émis l'hypothèse que l'émergence d'une résistance de *S. typhimurium* DT104 au triméthoprime et aux fluoroquinolones pourrait résulter de l'utilisation de ces agents dans le traitement des infections chez les bovins^(5,6).

Cette étude limitée a mis en évidence un fait intéressant, à savoir que la majorité des isolats provenaient de jeunes enfants qui constituaient des cas isolés sans lien entre eux (absence d'éclosion). On pourrait présumer que les réservoirs du lysotype DT104 dans ce groupe sont probablement d'origine alimentaire ou qu'il existe peut-être une association directe avec des animaux de compagnie infectés. La source d'une éclosion survenue aux États-Unis chez des enfants fréquentant

kitten or turtle which the children had handled was available for testing for *S. typhimurium*⁽³⁾.

From January to November 1997, 22.9% of all *Salmonella* isolates submitted to the Central Public Health Laboratory were *S. typhimurium*, with a peak of 28.4% in September (A Borczyk, Laboratory Services Branch, Toronto: personal communication, 1997). A more comprehensive study is being conducted at the Central Public Health Laboratory in order to determine the prevalence of *S. typhimurium* DT104 in Ontario.

Acknowledgements

The authors acknowledge the assistance of S. Lombardi for typing and Dr. F. Jamieson for reviewing the manuscript.

References

- Threlfall EJ, Frost JA, Ward LR et al. *Increasing spectrum of resistance in multiresistant Salmonella typhimurium*. Lancet 1996;347:1052-53.
- Wall PG, Threlfall EJ, Ward LR et al. *Multiresistant Salmonella typhimurium DT104 in cats: a public health risk*. Lancet 1996;348:471.
- Hosek G, Leschinsky D, Irons S et al. *Multiresistant Salmonella serotype typhimurium - United States, 1966*. JAMA 1997;227:1513.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 3rd ed. Approved Standard. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993, [NCCLS document no. M7-A3 (Vol. 13, No. 25)].
- Wall PG, Morgan D, Lamden K et al. *A case control study of infection with an epidemic strain of multi-resistant Salmonella typhimurium DT104 in England and Wales*. CDR (Lond Engl Rev) 1994;R130-35.
- Davies A, O'Neill P, Towers L et al. *An outbreak of Salmonella typhimurium DT104 food poisoning associated with eating beef*. CDR (Lond Engl Rev) 1996;R159-62.
- Fone DL, Barker RM. *Associations between human and farm animal infections with Salmonella typhimurium DT104 in Herefordshire*. CDR (Lond Engl Rev) 1994;R136-39.

Source: N Harnett, PhD, Dip Bact, Research Scientist, J Wan, BSc, RT, AIMLS, Technologist, V Brunini, BSc, RT, Senior Technologist, Enteric Reference Laboratory; A Borczyk, MSc, Chief, Enteric and Special Procedures Laboratories, Clinical Bacteriology Section, Central Laboratories, Laboratory Services Branch, Ontario Ministry of Health, Toronto; R Khakhria, BSc, Head Phage Typing, Molecular Epidemiology and Surveillance Section, National Laboratory for Enteric Pathogens, Bureau of Microbiology; W Johnson, PhD, Chief, National Laboratory for Bacteriology and Enteric Pathogens, Laboratory Centre for Disease Control, Ottawa, ON.

Announcements

SIXTH CANADIAN PHARMACOEPIDEMIOLOGY FORUM 27-28 April 1998

Radisson Hotel
Ottawa, Ontario

This two-day forum will focus on various current activities and issues in pharmacoepidemiology in Canada. In addition, the forum will be preceded by a workshop on "Risk Communication" to be held 26 April 1998.

l'école primaire a été difficile à confirmer, car ni le chaton ni la tortue malades manipulés par les enfants n'ont pu faire l'objet de tests de détection de *S. typhimurium*⁽³⁾.

De janvier à novembre 1997, 22,9 % de tous les isolats de salmonelles soumis au Laboratoire central de santé publique appartenait à l'espèce *S. typhimurium*, avec un maximum de 28,4 % atteint en septembre (A Borczyk, Direction des services de laboratoire, Toronto : communication personnelle, 1997). Une étude plus complète est en cours au Laboratoire central de santé publique en vue de déterminer la prévalence de *S. typhimurium* DT104 en Ontario.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier S. Lombardi d'avoir dactylographié le texte et le Dr F. Jamieson de l'avoir relu.

Références

- Threlfall EJ, Frost JA, Ward LR et coll. *Increasing spectrum of resistance in multiresistant Salmonella typhimurium*. Lancet 1996;347:1052-53.
- Wall PG, Threlfall EJ, Ward LR et coll. *Multiresistant Salmonella typhimurium DT104 in cats: a public health risk*. Lancet 1996;348:471.
- Hosek G, Leschinsky D, Irons S et coll. *Multiresistant Salmonella serotype typhimurium - United States, 1966*. JAMA 1997;227:1513.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 3^e éd. Approved Standard. Villanova, PA : National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993, [NCCLS document no. M7-A3 (Vol. 13, No. 25)].
- Wall PG, Morgan D, Lamden K et coll. *A case control study of infection with an epidemic strain of multi-resistant Salmonella typhimurium DT104 in England and Wales*. CDR (Lond Engl Rev) 1994;R130-35.
- Davies A, O'Neill P, Towers L et coll. *An outbreak of Salmonella typhimurium DT104 food poisoning associated with eating beef*. CDR (Lond Engl Rev) 1996;R159-62.
- Fone DL, Barker RM. *Associations between human and farm animal infections with Salmonella typhimurium DT104 in Herefordshire*. CDR (Lond Engl Rev) 1994;R136-39.

Source : N Harnett, PhD, Dip Bact, chercheur scientifique, J Wan, BSc, RT, AIMLS, technologue, V Brunini, BSc, RT, technologue supérieur, Laboratoire de référence pour les maladies entériques, A Borczyk, MSc, chef, Laboratoires d'analyses entériques et spéciales, Section de bactériologie clinique, Laboratoires centraux, Direction des services de laboratoire, ministère de la Santé de l'Ontario, Toronto; R Khakhria, BSc, chef, Lysotypie, Section de l'épidémiologie moléculaire et de la surveillance, Laboratoire national pour les entéropathogènes, Bureau de microbiologie, W Johnson, PhD, chef, Laboratoire national de bactériologie et des entéropathogènes, Laboratoire de lutte contre la maladie, Ottawa (Ont.).

annonces

SIXIÈME FORUM CANADIEN SUR LA PHARMACO-ÉPIDÉMIOLOGIE les 27 et 28 avril 1998

Hôtel Radisson
Ottawa (Ontario)

Ce forum de 2 jours mettra l'accent sur diverses questions d'actualité et activités en cours dans le domaine de la pharmaco-épidémiologie au Canada. En outre, le Forum sera précédé d'un atelier sur les «Risques et communication», qui aura lieu le 26 avril 1998.

