

# Euro surveillance

BULLETIN EUROPÉEN SUR LES MALADIES TRANSMISSIBLES / EUROPEAN COMMUNICABLE DISEASE BULLETIN

FINANCÉ PAR LA DGV DE LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

FUNDÉ PAR DGV DE LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES



## De la diversité des intoxications alimentaires et des sources de contamination

**L**es trois formes très distinctes d'intoxications alimentaires décrites dans ce numéro d'*Eurosurveillance* illustrent l'extraordinaire faculté des organismes à survivre et à provoquer des maladies. *Clostridium botulinum* est un organisme qui produit une toxine (laquelle est d'ailleurs relativement facile à détruire par la chaleur) dans certaines conditions environnementales inhabituelles et bien précises. L'article sur le botulisme en Pologne, ainsi que ceux publiés dans le numéro spécial de janvier, montrent combien ces conditions, bien que rares, sont encore répandues. Lors d'infections à *Salmonella enteritidis* les œufs ou la volaille sont souvent en cause. Aux termes d'une investigation menée en Grèce, il s'est avéré que le véhicule de l'infection était vraisemblablement une mayonnaise à base d'œufs crus conservés à 15°C. Cela montre combien la contamination des œufs de poule par ce microorganisme est répandue en Europe.

La capacité des virus à survivre plusieurs années à la surface des baies congelées a été décrite pour la première fois en 1980 à la suite de trois épidémies d'hépatite A survenues après la consommation de framboises cueillies et congelées deux ans auparavant (PHLS données non publiées). L'une de ces épidémies a touché 60 médecins et leurs invités après un dîner à Londres, et les deux autres touchaient des familles. L'origine des framboises, et non la source de la contamination, avait été retrouvée. L'hypothèse d'une contamination lors du remplissage, en station de congélation, de paniers de framboises dont le poids était insuffisant - une manœuvre parfois réalisée à mains nues - ou lors de la récolte du fruit avait été émise. Les framboises poussant généralement sur des tuteurs, et devant être sèches pour être congelées, il est peu probable qu'il y ait eu une contamination par des effluents d'origine humaine ou de l'eau de rivière. En revanche, les fraises sont plus exposées à ce type de contamination. Dans les années soixante-dix, une vaste épidémie touchant plusieurs milliers d'enfants d'un pays d'Europe Centrale avait été causée par une glace à la fraise (non publié). Les fraises, provenant d'un autre pays de cette région du globe, avaient été cultivées avec des effluents d'origine humaine utilisés comme engrangements.

Ces trois exemples montrent l'importance d'investigations précises et rapides des épidémies qui permettent souvent de mettre en évidence des modes de transmission inhabituels des intoxications alimentaires et d'élargir les moyens de prévention. ■

## The diversity of food poisoning and sources of contamination

**T**he three entirely different forms of food poisoning described in this issue of *Eurosurveillance* illustrate the extraordinary propensity of the organisms to survive and cause illness. *Clostridium botulinum* is an organism which produces its toxin (a toxin furthermore that is fairly easily destroyed by heat) only when a set of strict and unusual environmental conditions is met. The paper on botulism from Poland, together with those published in the January issue, show how this condition, though rare, is still widespread. In an outbreak of *Salmonella enteritidis* infection it is usually assumed that eggs or poultry are responsible. The report from Greece, concluded that mayonnaise made with raw eggs, stored at 15°C was the most likely vehicle of infection, and shows how widespread throughout Europe is contamination of hens' eggs with this organism.

The ability of viruses to survive on the surface of frozen berries for some years was first documented in 1980 when three outbreaks of hepatitis A occurred after frozen raspberries that had been picked and frozen two years earlier were eaten (PHLS unpublished). One of the outbreaks affected 60 doctors and their guests at a dinner in London and the other two affected families. The source of the raspberries was traced, but not the source of contamination. It was suspected to have occurred when underweight punnets of frozen raspberries were refilled in the freezing station - a process sometimes performed using bare hands - or when the fruit was picked in the field. As raspberries are generally grown on canes, and have to be dry when picked for freezing, contamination with human sewage or river water is unlikely. Strawberries on the other hand are more at risk of such contamination. An extensive outbreak affecting several thousand children in a country in central Europe in the 1970s was caused by strawberry ice cream (unpublished). The strawberries had been grown in another central European country and had been fertilised with human sewage ('night soil').

These three examples show the importance of timely and precise outbreak investigation, which often reveals unusual modes of transmission of foodborne infection and widens the scope for prevention. ■

**Norman Noah,**

PHLS Communicable Disease Surveillance Centre, London, UK.

### S O M M A I R E / C O N T E N T S

#### Editorial

- De la diversité des intoxications alimentaires et des sources de contamination  
The diversity of food poisoning and sources of contamination

#### Rapport d'investigation / Outbreak report

- Epidémie d'infections à calicivirus associée à la consommation de framboises congelées  
Outbreak of calicivirus gastroenteritis associated with eating frozen raspberries

#### Rapport de surveillance / Surveillance report

- Surveillance du botulisme d'origine alimentaire en Pologne : 1960-1998  
Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960-1998

#### Rapport d'investigation / Outbreak report

- Epidémie de gastro-entérites à salmonelle lors d'une soirée d'ouverture d'un restaurant en Grèce, juin 1998  
Outbreak of *Salmonella* gastroenteritis among attendees of a restaurant opening ceremony in Greece, June 1998

Dans les bulletins nationaux... / In the national bulletins...

Contacts / Contacts

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

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

## Epidémie d'infections à calicivirus associée à la consommation de framboises congelées

A. Ponkä<sup>1</sup>, L. Maunula<sup>2</sup>, C.H. von Bonsdorff<sup>2</sup>, O. Lyttikainen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centre pour l'Environnement de la ville d'Helsinki, Finlande

<sup>2</sup> Département de Virologie, HUCS Diagnostics, Finlande

<sup>3</sup> Département d'Epidémiologie des Maladies Infectieuses, Institut National de Santé Publique, Helsinki, Finlande

### Introduction

Les petits virus ronds (SRSV, *small round structured viruses*) auxquels appartiennent les calici-, astro- et entérovirus, sont la cause la plus courante des épidémies de gastro-entérites non bactériennes dans le monde (1,2). La transmission de ces virus par l'eau et divers aliments dont les salades, les pâtisseries, les fruits frais, le poulet, les huîtres et les moules est connue. A l'exception des épidémies liées à l'eau et aux coquillages, la contamination d'aliments par des virus est généralement attribuée à leur manipulation par des employés infectés du secteur alimentaire. Le développement récent des techniques de biologie moléculaire pour la détection et la différenciation des SRSV a permis d'augmenter la sensibilité et la spécificité du diagnostic des gastro-entérites virales (3,4).

En Finlande, le diagnostic par PCR (*polymerase chain reaction*) des affections à calicivirus a débuté à l'automne 1997. Parallèlement, la réorganisation du système de surveillance et de déclaration des épidémies liées à l'alimentation ou à l'eau a permis un rapprochement entre les autorités locales et l'Institut National de Santé Publique lors des investigations d'épidémies. A plusieurs occasions, des framboises d'importation congelées ont été mises en cause dans des épidémies à SRSV, en particulier lorsque des calicivirus ont été détectés dans les selles des patients. A notre connaissance, aucune épidémie à calicivirus attribuée à des baies congelées n'a été publiée à ce jour.

### Historique

Le 6 avril 1998, le Centre pour l'Environnement d'Helsinki était informé de cas groupés de gastro-entérites chez des employés d'une importante société basée à Helsinki. La plupart des malades avaient déjeuné à la cantine de leur société. La cuisine centrale de la compagnie livre chaque jour 1200 à 1300 déjeuners aux cantines des 59 bureaux de la société localisés dans le secteur métropolitain d'Helsinki. Selon les premières informations, les premiers cas seraient survenus dans la soirée du 3 avril et la plupart des autres le 4 avril. Cependant de nouveaux cas sont apparus le 6 avril. L'équipe de la cuisine centrale comprend 16 personnes dont sept ont présenté les mêmes symptômes en même temps que les autres employés de la compagnie.

### Méthodes

**Investigation épidémiologique.** Une étude de cohorte du personnel de la société ayant déjeuné à la cantine a été menée rétrospectivement pour déterminer la cause et l'étendue de l'épidémie. Des questionnaires ont été distribués avec les repas le 8 avril dans les cantines des 59 bureaux. Il a été demandé à tous les employés ayant fréquenté la cantine au cours de la semaine du 30 mars au 3 avril, de remplir un questionnaire afin de recueillir des informations démographiques ainsi que la date d'apparition de la maladie, la durée et les caractéristiques des symptômes depuis le 2 avril, les aliments consommés les 2 et 3 avril, et les maladies survenues ultérieurement chez des membres des familles. Répondaient à la définition d'un cas les employés ayant eu des diarrhées et/ou des vomissements le 2 avril ou plus tard.

**Investigation microbiologique et environnementale.** Cinq employés des cuisines et quatre employés des bureaux présentant des symptômes similaires ont fourni des échantillons de selles (le 6 ou 7 avril pour les premiers et le 8 avril pour les employés des bureaux). Ces échantillons ont été soumis à une recherche de salmonelles, shigella, campylobacter, yersinia, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, et *Staphylococcus aureus*. Pour la recherche de calicivirus par PCR, les échantillons ont été soumis à une transcription inverse par PCR pour les calicivirus de génotypes I et II, après extraction de l'ARN (à l'aide du réactif Tripure à base de phénol / Boehringer-Mannheim) (4). Les résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose ont été confirmés par hybridation ainsi que par séquençage des segments amplifiés. Les échantillons des restes des aliments servis les 2 et 3 avril récupérés par le responsable sanitaire du Centre pour l'Environnement, ont été mis en culture pour *C. perfringens*, staphylocques, salmonelles, et *B. cereus*. Les membres de l'équipe des cuisines ont été interrogés sur les modalités de préparation des aliments et le minutage des différentes étapes. Les framboises, seul aliment soumis à une recherche de contamination virale, ont été mélangées et lavées avec un tampon phosphate. Le surnageant, séparé par centrifugation à faible vitesse, a ensuite été concentré par ultracentrifugation ou par filtration sur une membrane nylon chargée positivement (5). Des échantillons de framboises contaminés (par injection de calicivirus) puis soumis au même protocole ont été pris comme contrôles.

## Outbreak of calicivirus gastroenteritis associated with eating frozen raspberries

A. Ponkä<sup>1</sup>, L. Maunula<sup>2</sup>, C.H. von Bonsdorff<sup>2</sup>, O. Lyttikainen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Helsinki City Center of the Environment, Finland

<sup>2</sup> Department of Virology, HUCS Diagnostics, Finland

<sup>3</sup> Department of Infectious Disease Epidemiology, National Public Health Institute, Helsinki, Finland

### Introduction

Small round structured viruses (SRSVs - for example, calici-, astro-, and enteroviruses) are the commonest causes of outbreaks of non-bacterial gastroenteritis worldwide (1,2). Transmission of SRSVs by water and by various foods - including salads, bakery products, fresh cut fruits, chicken, oysters, and mussels - has been documented. Except in waterborne outbreaks and those associated with shellfish, viral contamination of food has usually been attributed to infected food handlers. The recent development of molecular methods for detecting and differentiating SRSVs has increased the sensitivity and specificity with which viral gastroenteritis can be diagnosed (3,4).

In Finland, polymerase chain reaction (PCR) testing for calicivirus was introduced in autumn 1997. Simultaneous reorganisation of the system for surveillance and reporting of food- and waterborne outbreaks in Finland have led to closer interaction between local health authorities and the National Public Health Institute in outbreak investigation. On several occasions, imported frozen raspberries have been suspected to be the source of SRSV outbreaks, especially when caliciviruses have been detected from the stools of cases, but we are unaware of published reports of calicivirus outbreaks attributed to frozen berries.

### Background

On 6 April 1998, the Environmental Centre of Helsinki, Finland was informed of a cluster of cases of gastroenteritis among staff in the offices of a big company in Helsinki. Most of those affected had eaten lunch at their office canteens. The company's central kitchen delivers between 1200 and 1300 portions of lunch each day to the canteens of 59 different offices of the company located in the Helsinki metropolitan area. Early reports suggested that the first cases had become ill in the evening of 3 April, most cases had occurred on 4 April, but new cases were still developing on 6 April. The staff of the central kitchen includes 16 workers, seven of whom had developed similar symptoms at the same time as other company staff.

### Methods

**Epidemiological investigation.** A cohort study of the company staff who ate lunch at office canteens was carried out retrospectively to determine the cause and the extent of the outbreak. Questionnaires were distributed with lunch at all local canteens of the 59 offices on 8 April 1998. All staff who had eaten lunch at office canteens during the week from 30 March to 3 April were asked to complete the questionnaire to collect demographic information; data on the onset, duration, and nature of symptoms since 2 April and the foods eaten on 2 and 3 April, and about subsequent illness in family members. To meet the case definition, staff had to have had diarrhoea and/or vomiting on or after 2 April 1998.

**Laboratory and environmental investigation.** Five kitchen workers with symptoms provided stool specimens on 6 and 7 April and four members of office staff similarly affected provided specimens on 8 April. Specimens were cultured for salmonella, shigella, campylobacter, yersinia, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*. In the PCR test for calicivirus, stool specimens were first subjected to RNA extraction using a commercial phenol-containing Tripure reagent (Boehringer-Mannheim), then subjected to reverse transcription PCR for calicivirus genogroups I and II, respectively (4). The agarose gel findings were confirmed by hybridisation and by amplicon sequencing. Samples of leftover food items served on 2 and 3 April taken by the health officer of the Environmental Centre were cultured for *C. perfringens*, staphylococcus, salmonella, and *B. cereus*. Kitchen workers were asked about the timing and methods of food preparation. Raspberries, the only food submitted for virus detection, were melted and washed with phosphate buffer. The supernatant was separated by low speed centrifugation. Concentration was achieved either by ultracentrifugation or by filtration through a positively charged nylon membrane (5). As a control, raspberry samples were spiked with calicivirus and then submitted to similar recovery attempts.

### Results

**Epidemiological investigation.** Seven hundred and forty-one members of staff

**Tableau / Table**  
**Gastroentérite chez le personnel, par aliment consommé les 2 et 3 avril 1998, selon déclaration des intéressés**  
**Gastroenteritis among staff, by food they reported eating on 2 and 3, April 1998**

Aliment / Food	Ont consommé Ate			N'ont pas consommé Did not eat			RR**	IC 95%***	p P value
	Nb de cas* No. of cases*	Total Total	Taux d'attaque (%) Attack rate (%)	Nb de cas* No. of cases*	Total Total	Taux d'attaque (%) Attack rate (%)			
Soupe aux choux / Cabbage soup	53	96	55	55	108	51	1.1	0.8-1.4	0.64
Tomates / Tomato	56	115	49	52	89	58	0.8	0.6-1.1	0.22
Gâteau fromage blanc / Baked curd cheese	97	149	65	11	55	20	3.3	1.9-5.6	< 10 <sup>-3</sup>
Coulis de framboises / Raspberry dressing	99	153	65	9	51	18	3.7	2.0-6.7	< 10 <sup>-3</sup>
Soupe à la viande / Meat soup	16	24	67	92	180	51	1.3	1.0-1.8	0.22
Harengs / Herrings	69	118	58	39	86	45	1.3	1.0-1.7	0.09
Harengs (sans lactose) / Herrings (lactose free)	3	6	50	105	198	53	0.9	0.4-2.2	1.00
Salade au jambon / Ham salad	62	109	57	46	95	48	1.2	0.9-1.5	0.29
Salade au jambon allégée / Ham salad, light	4	5	80	104	199	52	1.5	1.0-2.4	0.37
Cocktail d'avocat / Avocado mixture	5	12	42	103	192	54	0.8	0.4-1.5	0.61
Salade au fromage / Cheese salad	22	37	59	86	167	51	1.2	0.9-1.6	0.49
Muesli	11	26	42	97	178	54	0.8	0.5-1.2	0.34
Fromage d'Edam / Edam cheese	88	158	56	20	46	43	1.3	0.9-1.8	0.20
Concombre / Cucumber	79	147	54	29	57	51	1.1	0.8-1.4	0.83
Gâteau fromage blanc (sans lactose) / Baked curd cheese (lactose free)	10	20	50	98	184	53	0.9	0.6-1.5	1.00
Mousse (sans lactose)									
Dream dessert (lactose free)	2	4	50	106	200	53	0.9	0.4-2.5	1.00
Soupe de légumes / Vegetable soup	22	41	54	86	163	53	1.0	0.7-1.4	0.94
Pommes de terre au four / Baked potatoes	66	130	51	42	74	57	0.9	0.7-1.2	0.5
Salade de champignons / Mushroom salad	22	48	46	86	156	55	0.8	0.6-1.2	0.34
Salade de champignons (sans lactose) / Mushroom salad (lactose free)	3	8	38	105	196	54	0.7	0.3-1.7	0.48
Salade-concombre-tomates / Salad-cucumber-tomato	58	114	51	50	90	56	0.9	0.7-1.2	0.6
Ragoût mixte allégé / Roast mixture, light	9	17	53	99	187	53	1.0	0.6-1.6	0.8
Soupe aux aïrelles / Blueberry soup	21	45	47	87	159	55	0.9	0.6-1.2	0.43

\* Personnel ayant déjeuné à la cantine pendant la semaine du 30 mars au 3 avril et ayant déclaré avoir souffert d'une diarrhée et/ou de vomissements après le 2 avril / Staff who ate lunch at their office canteen during the week from 30 March to 3 April and reported having had diarrhoea and /or vomiting after 2 April.

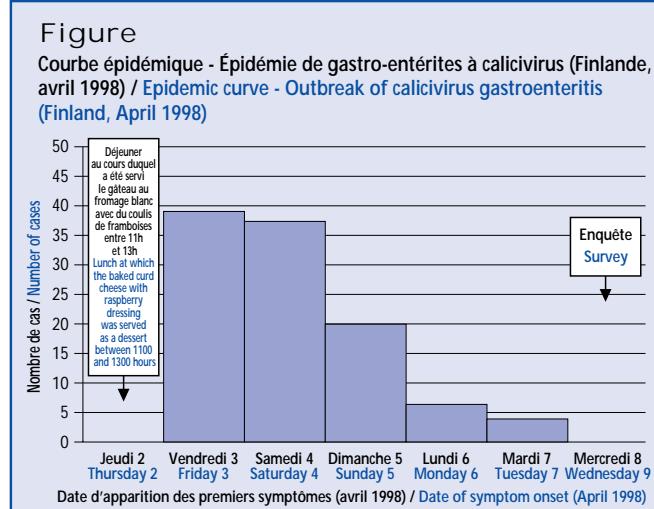
\*\* RR : risque relatif / relative risk      \*\*\* IC : intervalle de confiance / confidence interval

## Résultats

Investigation épidémiologique. Des 741 employés (soit 57% des 1296 employés) qui ont complété le questionnaire, 69% (soit 509) ont présenté des symptômes gastro-intestinaux depuis le 2 avril. Une analyse plus approfondie de l'exposition aux aliments a été menée chez les 360 employés du bureau le plus important de la compagnie : 204 (soit 57%) ont complété le questionnaire et parmi eux 108 (53%) répondent à la définition d'un cas. Les employés qui avaient mangé du coulis de framboises le 2 avril étaient presque quatre fois plus nombreux à répondre à la définition d'un cas que ceux qui n'en n'en avaient pas pris (taux d'attaque 65% versus TA 18%, risque relatif 3.7, intervalle de confiance 95% 2.0-6.7) (tableau). Le seul autre plat mis en cause était le gâteau au fromage servi avec le coulis de framboises ; 97% des employés ont mangé les deux ensemble. Soixante-seize des 106 cas (72%) dont la date d'apparition des premiers symptômes est connue, sont tombés malades dans les deux jours suivant l'exposition au véhicule suspect (figure). Les premiers cas sont venus entre 1 heure et 2 heures du matin le 3 avril. L'intervalle de temps médian entre le repas du 2 avril et l'apparition des premiers symptômes était de 41 heures (entre 12 et 119 h). Cent un cas ont rapporté des diarrhées (94%), 79 des crampes abdominales (73%), 69 des nausées (64%), 67 une fatigue (62%), 56 des maux de tête (52%), 50 de la fièvre (46%), et 49 des vomissements (45%). Dix-sept des 108 cas (16%) ont eu des membres de leur famille présentant une affection gastro-intestinale ultérieure, contre seulement cinq (5%) chez les 96 sujets non malades ( $p=0.028$ ). ►

(57% of a total of 1296) completed the questionnaire, 69% (509) of whom reported gastrointestinal symptoms since 2 April. A more detailed analysis of food exposures was made among the 360 staff of the biggest office of the company: 204 (57%) of its staff completed a questionnaire, 108 (53%) of whom met the case definition. Employees who reported that they had eaten raspberry dressing on 2 April were almost four times as likely to meet the case definition as those who did not (attack rate (AR) 65% versus AR 18%; relative risk (RR) 3.7; 95% confidence interval (CI) 2.0-6.7) (table). The only other food implicated was baked curd cheese served with the raspberry dressing: 97% of staff had eaten both together. Seventy-six of the 106 cases (72%) whose time of onset of symptoms was available had become ill within two days of exposure to the suspected vehicle of infection (figure). The first cases developed symptoms between 0100 and 0200 h on 3 April. The median time between lunch on 2 April and the onset of symptoms was 41 h (range 12-119). One hundred and one cases reported diarrhoea (94%), 79 nausea (64%), 67 fatigue (73%), 69 headache (52%), 50 fever (62%), 56 abdominal cramps (46%), and 49 vomiting (45%). Seventeen of the 108 cases (16%) reported subsequent gastrointestinal illness in members of their families, but only five (5%) of the 96 non-cases ( $p=0.028$ ).

Laboratory and environmental investigation. Four of the nine stool specimens were positive for calicivirus by PCR. All strains were genogroup 2. The four ►



► *Investigation microbiologique et environnementale.* Quatre des neuf échantillons de selles se sont révélés positifs pour les calicivirus par PCR. Toutes les souches appartenait au génogroupe 2. Ces quatre échantillons provenaient tous de personnels des cuisines qui avaient pris le repas servi dans les cantines, notamment le coulis de framboises. Ils sont tous tombés malades entre le 3 et le 5 avril. Un des cinq échantillons négatifs provenait d'un employé des cuisines malade, les quatre autres d'employés qui n'avaient pas rempli le questionnaire. Ces neuf échantillons étaient négatifs pour les astrovirus par PCR et par microscopie électronique. La recherche d'autres pathogènes bactériens s'est avérée négative, à l'exception de deux échantillons provenant de deux employés des cuisines d'où *C. perfringens* a été isolé (concentration de  $10^3\cdot10^4$  chez le premier, et de  $10^5\cdot10^6$  avec production d'entérotoxines chez le second). Les différents ingrédients du gâteau au fromage blanc ont été cuits à 120-140°C pendant 1 heure. Quant au coulis de framboises, il n'a pas été chauffé. Les échantillons de chaque met servi le 3 avril, et la soupe aux choux servie le 2 ont fait l'objet d'une recherche de pathogènes bactériens. Seule la salade de champignons a donné des résultats positifs à savoir la présence de *S. aureus* (7 800 unités formant colonie/g). Aucune toxine de *S. aureus* n'a cependant été détectée dans cet échantillon. Les tentatives pour isoler du matériel génétique de calicivirus à partir des framboises sont restées infructueuses. Les méthodes de purification et de concentration appliquées aux échantillons contrôles (framboises contaminées) indiquent une inhibition 10 à 100 fois supérieure à celle des échantillons préparés dans le tampon PBS.

## Conclusion

Cette investigation d'une importante épidémie de gastro-entérite parmi le personnel d'une importante société montre l'existence d'une forte association épidémiologique entre les gastro-entérites à calicivirus et la consommation du coulis à base de framboises congélées importées. Les symptômes décrits et la survenue de cas secondaires étaient compatibles avec une infection par des SRSVs dont font partie les calicivirus (1), virus détectés dans les échantillons de quatre patients. Tous étaient des membres du personnel des cuisines dont les échantillons ont été prélevés avant les autres employés de la compagnie. Aucun des membres de l'équipe des cuisines n'a cependant été malade avant l'épidémie et tous avaient goûté le coulis de framboises. Cela suggère qu'ils ont été contaminés par la même source que les employés des bureaux de la compagnie.

La courbe épidémique est compatible avec une source ponctuelle plutôt qu'une source continue d'infection. Plus de 70% des personnes affectées sont tombées malades dans les 48 heures (maximum de la période d'incubation pour une infection à calicivirus) après l'exposition. Il y a eu cependant quelques cas chez qui les symptômes sont apparus plus tard. Cela suggère qu'une transmission de personne à personne, caractéristique d'une infection à calicivirus, est survenue non seulement au sein des familles, mais aussi entre les employés. Ces symptômes tardifs peuvent aussi signifier que certains cas n'étaient pas associés à l'épidémie (ils peuvent témoigner de l'expression d'une maladie résiduelle ou d'autres agents responsables) ou n'avaient pas une mémoire juste de la date d'apparition de leurs premiers symptômes.

La congélation permet aux virus de survivre dans les baies pendant une longue période. Les baies contaminées peuvent, d'après des résultats antérieurs, transmettre des virus autres que les SRSVs (6,8). Des fraises congelées ont été responsables de deux épidémies importantes d'hépatite A aux Etats-Unis (6,7) et une épidémie d'hépatite A survenue en Ecosse a été associée à la consommation d'une mousse à base de framboises congelées (8). La prise de conscience croissante d'une possible transmission de virus par les baies et l'amélioration des méthodes de diagnostic des infections virales pourraient expliquer l'association mise en évidence en Finlande entre épidémies d'infections à calicivirus et framboises. Par ailleurs, l'augmentation du nombre de ces épidémies peut correspondre à une réalité et refléter le changement de l'origine géographique des baies. En Finlande, la culture des framboises étant peu développée, les framboises congelées sont souvent des produits d'importation. Les framboises soupçonnées d'être le véhicule de l'infection de plusieurs épidémies n'ont pas pu être imputées à un lot unique, leur seul point commun connu étant leur provenance de pays d'Europe de l'Est. Les framboises peuvent être contaminées par des calicivirus d'au moins deux manières. Des calicivirus ont été détectés dans de l'eau de rivière en Europe (5). De l'eau contaminée a pu être utilisée pour irriguer les framboises dans les champs ou bien pour lesasperger juste avant la congélation.

La PCR n'a pas permis de détecter la présence de calicivirus dans les framboises. Les seuls aliments dans lesquels des calicivirus ont été détectés sont des coquillages, vraisemblablement du fait de leur forte concentration (9). La difficulté à détecter des calicivirus dans les baies peut être liée au fait qu'elles contiennent des inhibiteurs de la PCR (10). Il est nécessaire de disposer de meilleures techniques pour confirmer le rôle des virus en tant qu'agents responsables d'épidémies d'intoxications alimentaires.

► positive specimens were obtained from kitchen workers who had eaten the lunches delivered to the staff canteens, including the raspberry dressing, and became ill between 3 and 5 April. One of the five negative specimens was obtained from an ill kitchen worker and four from staff who did not complete questionnaires. These nine specimens were negative for astrovirus by PCR and also by electron microscopy. The cultures were also negative for all other bacterial pathogens, except those from two kitchen workers, from whom *C. perfringens* was isolated ( $10^3\cdot10^4$  in one case, and  $10^5\cdot10^6$  (enterotoxin-producing) in the other). Mixed ingredients for the baked curd cheese had been kept at 120°C to 140°C for 1 h, but the dressing made from imported frozen raspberries had not been heated. Samples of all food items served on 3 April and cabbage soup from 2 April were tested for bacterial pathogens. Mushroom salad yielded the only positive result - *S. aureus* (7800 colony forming units/g) but no *S. aureus* toxin was detected. Attempts to isolate genomes of caliciviruses from the raspberries were unsuccessful. The purification and concentration methods applied to the spiked raspberry samples indicated that a ten- to 100-fold inhibition persisted as compared with samples prepared in phosphate buffered saline.

## Conclusion

Our investigation of a large outbreak of gastroenteritis among staff of a big company found a strong epidemiological association between calicivirus gastroenteritis and eating dressing prepared from imported frozen raspberries. The symptoms reported and the occurrence of secondary cases were compatible with infection with SRSVs including calicivirus (1) and calicivirus was detected in the stools of four cases. All those with positive stool specimens were kitchen staff, who were sampled earlier than other staff. None of the kitchen staff was ill before the outbreak began, however, and all had eaten the raspberry dressing, which suggested that they were infected from the same source as office staff.

The shape of the epidemic curve is consistent with a point source rather than a continuing source of infection. More than 70% of those affected fell ill within 48 h (the maximum incubation time for calicivirus infection) of exposure but some cases developed symptoms later. This suggests that person-to-person transmission, characteristic of calicivirus infection, occurred not only in families but also between staff. These late-onset symptoms could also suggest that some of those affected were unconnected with this outbreak (possibly representative of background disease activity or other causative agents) or had inaccurately recalled when their symptoms had begun.

Freezing allows viruses to survive in berries for a long time. Contaminated berries have been reported to transmit viruses other than SRSVs (6-8). Frozen strawberries caused two widespread outbreaks of hepatitis A in the United States (6,7) and an outbreak of hepatitis A in Scotland was linked to the consumption of mousse prepared from frozen raspberries (8). Increased awareness of the possibility that berries transmit viruses and improved methods of diagnosing viral infections might explain the association between calicivirus outbreaks and raspberries detected in Finland. On the other hand, the increased occurrence may also be real and related to the changing geographical origins of berries. In Finland, domestic raspberries are scarce, especially for freezing, and frozen raspberries are often imported. Raspberries suspected to be the vehicle of infection in several outbreaks could not be traced to a single lot, but we know that all were imported from countries in eastern Europe. Raspberries could become contaminated with calicivirus in at least two ways. Caliciviruses have been detected in river water in Europe (5). Contaminated water might have been used for irrigation of raspberries in the field or, alternatively, for spraying the berries just before they were frozen.

We did not detect caliciviruses from the raspberries by PCR. The only foods in which caliciviruses have been successfully detected are shellfish, probably because they are present at high concentration (9). The difficulty in detecting viruses in berries may be due to the fact that berries contain compounds that inhibit PCR (10). Better techniques are needed to confirm the role of viruses as causative agents in foodborne outbreaks.

The findings of this investigation and suspicions about several similar outbreaks in Finland have led the national food control authorities to make a temporary recommendation that institutional kitchens should not serve unheated dishes prepared from imported frozen berries. Berries may be a commoner vehicle for transmission of viral gastroenteritis than has been suspected. Future epidemiological studies, in combination with new molecular techniques, will assess the role of berries in the transmission of SRSVs infection.

Les conclusions de cette enquête et les soupçons émis lors de plusieurs épidémies similaires survenues en Finlande, ont poussé les autorités nationales chargées du contrôle alimentaire à émettre des recommandations provisoires, à savoir que les cuisines industrielles ne devraient plus servir de mets non chauffés préparés avec des baies congelées. Il est possible que les baies soient un véhicule de transmission de gastro-entérites virales plus courant que nous le pensons. De nouvelles études épidémiologiques, associées à l'utilisation de nouvelles techniques de biologie moléculaire, permettront d'évaluer le rôle des baies dans la transmission des infections à SRSV. ■

## References

- Hedberg CW, Osterholm MT. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1993; **6**: 199-210.
- Dedman D, Laurichesse H, Caul EO, Wall PG. Surveillance of small round structured virus (SRSV) infection in England and Wales. *Epidemiol Infect* 1998; **121**: 139-49.
- Atmar RL, Neill FH, Romalde JL, Le Guyader F, Woodley M, Metcalf TG, et al. Detection of Norwalk virus and hepatitis A virus in shellfish tissues with the PCR. *Appl Environ Microbiol* 1995; **61**: 30148.
- Le Guyader F, Estes MK, Hardy ME, Neill FH, Green J, Brown DWG, et al. Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human caliciviruses. *Arch Virol* 1996; **141**: 2225-35.
- Gilgen M, Germann D, Luthy J, Hubner Ph. Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus and small structured viruses in water samples. *Int J Food Microbiol* 1997; **37**: 189-99.
- Niu MT, Polish LB, Robertson BH, Khanna BK, Woodruff BN, Shapiro CN, et al. Multistate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. *J Infect Dis* 1992; **166**: 518-24.
- CDC. Hepatitis A associated with consumption of frozen strawberries - Michigan, March 1997. *Morb Mortal Wkly Rep* 1997; **46**: 288, 295.
- Rein TMS, Robinson HG. Frozen raspberries and hepatitis A. *Epidemiol Infect* 1987; **98**: 109-112.
- Lee DN, Henshilwood K, Green J, Gallimore CI, Brown DW. Detection of small round structured viruses in shellfish by reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 1995; **61**: 4418-24.
- Demcke T, Adams RP. The effects of plant polysaccharides and buffer additives on PCR. *BioTechniques* 1992; **12**: 332-334.

## RAPPORT DE SURVEILLANCE

Alors que cet article était sous presse, nous avons appris avec tristesse le décès du Professeur Artur Galazka survenu le 11 mai 1999 à Varsovie (Pologne). Sa participation régulière à *Eurosurveillance* nous a été précieuse. Nous regretterons son expérience et sa gentillesse.

## Surveillance du botulisme d'origine alimentaire en Pologne : 1960-1998

A. Galazka, A. Przybylska  
Institut National d'Hygiène, Varsovie, Pologne

### Introduction

Contrairement aux deux autres formes de botulisme (botulisme par blessure et botulisme du nourrisson), le botulisme d'origine alimentaire chez l'homme est une intoxication résultant de l'ingestion de toxine botulinique pré-formée. Les cas sporadiques ou familiaux et les épidémies surviennent lorsqu'un produit alimentaire est préparé ou conservé de manière inadéquate et conservé dans des conditions anaérobies favorables à la germination et à la multiplication des spores de *C. botulinum*, et à la production de la toxine.

La sensibilité du public face au risque de botulisme, le changement des habitudes alimentaires, l'amélioration des techniques de conservation et la croissance de la préparation industrielle des aliments expliquent ➤

## SURVEILLANCE REPORT

While this article was in press, we have learned of the sad death of Professor Artur Galazka on the 11 May 1999 in Warsaw (Poland). He has been a valued and regular collaborator to *Eurosurveillance*. We will miss him greatly.

## Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960-1998

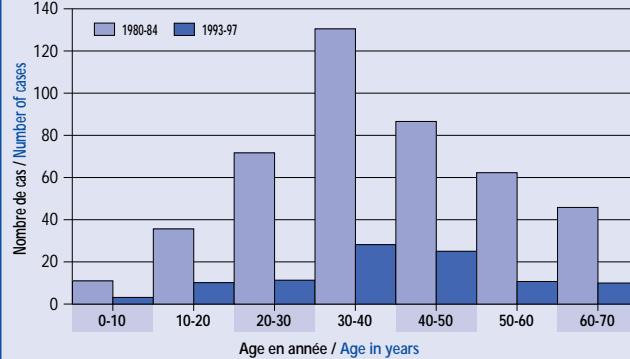
A. Galazka, A. Przybylska  
National Institute of Hygiene, Warsaw, Poland

### Introduction

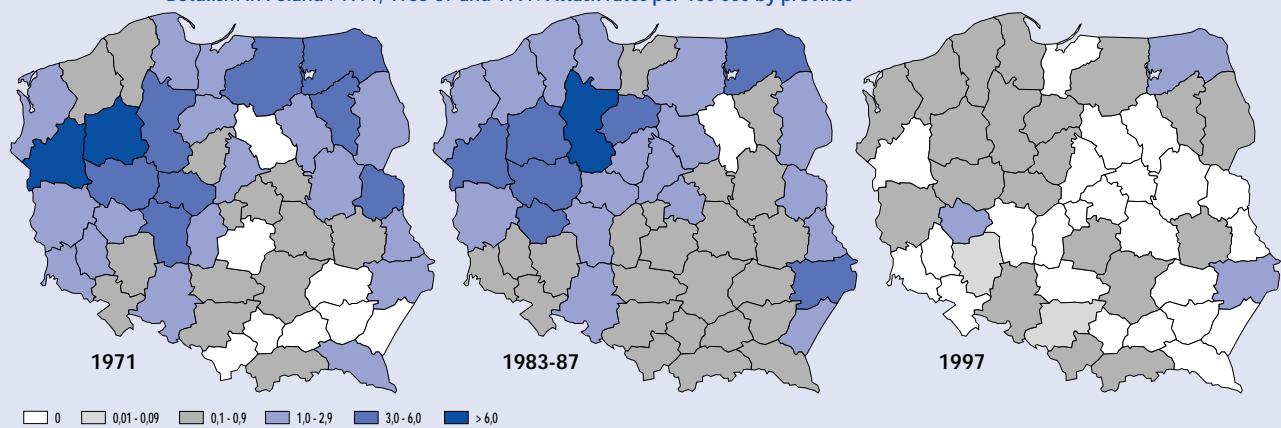
Human foodborne botulism, in contrast to the other two forms of botulism (wound and infant botulism), is an intoxication that results when preformed botulinum toxin is ingested. Sporadic cases and family and general outbreaks occur when food products are prepared or preserved improperly and stored under anaerobic conditions that permit germination, multiplication, and toxin formation.

Public awareness of the risk of botulism, changing dietary habits, improvements in food preservation techniques, and the growth of industrial food processing have made botulism rare in Europe (1). In Poland, however, food-borne botulism remains a serious ➤

**Figure 1**  
**Botulisme en Pologne, 1980-84 et 1993-97. Nombre de cas moyen par an et par groupe d'âge / Botulism in Poland, 1980-84 and 1993-97. Average annual number of cases by age group**



**Figure 2** Botulisme en Pologne : 1971, 1983-87 et 1997. Taux d'attaque pour 100 000 par province / Botulism in Poland : 1971, 1983-87 and 1997. Attack rates per 100 000 by province



► que le botulisme est rare en Europe (1). En Pologne cependant, le botulisme alimentaire reste un sérieux problème de santé publique du fait de la pratique, dans certaines régions, de mise en conserve artisanale de la viande et, à un moindre degré, de préparations à base de légumes et de fruits. Les Polonais conservent souvent les aliments cuits à domicile dans des bocaux fermés hermétiquement (*weckglas*). Il s'agit de bocaux de verre fermés à l'aide d'un joint en caoutchouc comportant un dispositif permettant d'y faire le vide. Un chauffage inadapté lors de la préparation des aliments et le non respect des instructions lors de la mise en bocal sous vide favorisent la survie des spores et la formation de la toxine.

#### Déclaration du botulisme en Pologne

Depuis 1952, le botulisme est notifié en tant qu'intoxication alimentaire (2) et en 1963, il a été classé parmi les maladies à déclaration obligatoire. Il n'y a pas de définition standard d'un cas. Sont déclarés les patients présentant des symptômes ou des signes compatibles. Les enquêtes épidémiologiques sont obligatoires et sont menées par les Stations d'épidémiologie sanitaire (une pour chacune des 49 régions administratives). Les résultats de ces investigations sont collectés et analysés à l'Institut national d'hygiène de Varsovie. Le Centre National des Anaérobies à Spores, au sein de cet institut, réalise les tests de référence et les tests diagnostiques pour déterminer le type de toxine botulinique, et assure des formations aux diagnostics des bactéries anaérobies.

#### Tendances générales de l'incidence et du taux de mortalité

L'incidence du botulisme était élevée dans les années soixante et soixante-dix, ainsi que dans les années quatre-vingt du fait du déficit alimentaire que le pays a connu à la suite du bouleversement socio-économique. Le nombre de cas rapportés de 1960 à 1990 variait de 201 en 1964 à 738 en 1982, soit un taux d'attaque de 0.6 à 2.0 pour 100 000 (tableau 1).

De 1988 à 1998, près de 2000 cas de botulisme ont été enregistrés en Pologne, soit beaucoup plus qu'en Italie (412), en Allemagne (177), et en Espagne (92) (1). Depuis 1991, le nombre de cas est passé à moins de 200 cas par an (taux d'attaque de 0.2/100 000), vraisemblablement grâce à l'amélioration de l'approvisionnement en nourriture (tableau 1).

Le nombre de décès annuel allait de zéro à 15, les taux les plus élevés étant observés au début des années quatre-vingt. Au cours de la dernière décennie, seul des décès isolés ont été rapportés. Le taux de mortalité atteignait 4.9% en 1987, puis variait ensuite entre 1% et 4% (tableau 1).

#### Incidence selon l'âge et le sexe

En Pologne, le botulisme touche essentiellement la population jeune et celle des 20-59 ans, qui représentent 74% de l'en-

semble des cas (figure 1). Moins de 10% des cas de botulisme concernent des enfants de moins de 15 ans ou des adultes de plus de 60 ans. De 1980 à 1997, l'incidence chez

► epidemiological problem due to the practice in some parts of Poland of home-preserving meat and, to a lesser extent, vegetable and fruit products. In

Poland, people often use a system of weck jars (*weckglas*) to hermetically seal cooked food at home. Weck jars are glass jars with rubber seals and a device used to create a vacuum. Inadequate heating during the preparation of food and failure to follow detailed instructions during 'wecking' leave spores viable and permit toxin formation.

#### Registration of botulism in Poland

Since 1952 botulism has been notifiable among other cases of 'food poisoning' (2). In 1963 it became a statutory notifiable disease. There is no standard case definition, and patients with compatible symptoms or signs are registered. Obligatory epidemiological investigations are performed by the Sanitary Epidemiological Stations (of which there are 49, one in each administrative region). The results of these investigations are collected and analysed at the National Institute of Hygiene in Warsaw. At the same institute, the National Centre for Sporulating Anaerobes performs diagnostic and reference tests to determine the type of botulinum toxin and offers training in diagnosis of anaerobic bacteria.

#### General trends in incidence and case fatality rates

The incidence of botulism was high in the 1960s and 1970s and during the period of social change in the 1980s when the country suffered from food shortage. The numbers of cases registered from 1960 to 1990 ranged from 201 in 1964 to 738 in 1982, equivalent to attack rates between 0.6 to 2.0 per 100 000 (table 1).

From 1988 to 1998, nearly 2000 cases of botulism have been registered in Poland, considerably more than in Italy (412), Germany (177), and Spain (92) (1). Since 1991 the numbers of cases have started to decline below 200 each year, probably due to improvement in the supply of food (attack rate 0.2/100 000) (table 1).

Between zero and 15 deaths occurred each year, and rates were highest in the early 1980s. In the last decade, deaths of sporadic cases were registered. The case fatality rate reached 4.9% (in 1987) and has subsequently varied between 1% and 4% (table 1).

#### Incidence by age and sex

Botulism in Poland mainly affects young and middle aged people (20 to 59 years), who account for 74% of all cases (figure 1). Less than 10% of botulism cases are children under 15 years of age and people over 60 years. From 1980 to 1997, the incidence in males (0.23 - 2.3/100 000, median 0.86) was higher than in females (0.4 - 1.8/100 000, median 0.43).

**Tableau 1 / Table 1**  
**Botulisme en Pologne 1960-1998. Nombre de cas et de décès, taux d'attaque pour 100 000 et taux de létalité**  
**Botulism in Poland 1960 - 1998. Number of cases and deaths, attack rate per 100 000 and case-fatality rates**

Année Year	Nb de cas No. of cases	Taux d'attaque pour 100 000 Attack rate per 100 000	Nb de décès No. of deaths	Taux de létalité (%) Case-fatality ratio (%)
1961	204	0.7	-	-
1962	404	1.3	-	-
1963	295	0.9	-	-
1964	201	0.6	-	-
1965	252	0.8	-	-
1966	428	1.3	-	-
1967	423	1.3	-	-
1968	491	1.5	-	-
1969	389	1.2	-	-
1970	401	1.2	6	1.5
1971	439	1.3	11	2.5
1972	335	1.0	5	1.5
1973	247	0.7	5	2.0
1974	333	1.0	4	1.2
1975	271	0.8	6	2.2
1976	307	0.9	5	1.6
1977	297	0.9	3	1.0
1978	392	1.1	14	3.6
1979	383	1.1	4	1.0
1980	269	0.7	1	0.4
1981	608	1.7	11	1.8
1982	738	2.0	15	2.0
1983	645	1.8	11	1.7
1984	541	1.5	13	2.4
1985	551	1.5	10	1.8
1986	416	1.1	9	2.2
1987	283	0.8	14	4.9
1988	356	0.9	4	1.1
1989	315	0.8	3	1.0
1990	328	0.9	5	1.5
1991	173	0.5	?	?
1992	165	0.4	2	1.2
1993	143	0.4	2	1.4
1994	116	0.3	3	2.6
1995	118	0.3	1	0.8
1996	107	0.3	4	3.7
1997	81	0.2	0	0
1998	93	0.2	4	4.3

**Tableau 2 / Table 2**  
**Botulisme en Pologne en 1980-1984 et 1993-1997. Nombre d'épidémies et nombre de cas par épidémie /**  
**Botulism in Poland in 1980-1984 and 1993-1997.**  
**Number of outbreaks by number of cases in one outbreak**

	Nombre d'épidémies (%) Number of outbreaks (%) 1980/84	Nombre d'épidémies (%) Number of outbreaks (%) 1993/97
Epidémies de 1 cas <b>1 case outbreaks</b>	1425 (73.6)	341 (78.9)
Epidémies de 2 cas <b>2 cases outbreaks</b>	310 (16)	67 (15.5)
Epidémies de 3 cas <b>3 cases outbreaks</b>	117 (6)	13 (3)
Epidémies de 4 cas <b>4 cases outbreaks</b>	41 (2.1)	6 (1.4)
Epidémies de 5 cas <b>5 cases outbreaks</b>	22 (1.1)	4 (0.9)
Epidémies > 5 cas <b>&gt; 5 cases outbreaks</b>	20 (1)	1 (0.2)
Total	1935 (100)	432 (100)

**Tableau 3 / Table 3**  
**Botulisme en Pologne 1990. Cas attribués aux conserves artisanales ou industrielles (5)**  
**Botulism in Poland 1990. Cases attributed to home processed foods and commercially processed foods (5)**

Aliment / Food		Viande / Meat				Poisson / Fish		Légumes / Vegetables		
Préparation / Preparation	Conserve Cans	Bocaux Wecks	Saucisses Sausages	Jambon Ham	Paté Pasty	Autres Other	Bocaux ou conserves Wecks or cans	Dans le vinaigre Pickled	Bocaux ou conserves Wecks or cans	Total
Artisanale / Home	-	124	10	38	-	11	3	11	13	210
Industrielle / Commercial	22	-	17	-	5	4	23	-	4	75
Total	22	124	27	38	5	15	26	11	17	285

les hommes ( $0.23 \cdot 2.3/100\,000$ , médiane 0,86) était plus élevée que chez les femmes ( $0.4 \cdot 1.8/100\,000$ , médiane 0,43).

#### Distributions géographique et saisonnière

La distribution géographique de la maladie varie considérablement. Dans les années soixante-dix et quatre-vingt, les taux les plus élevés étaient rapportés dans les régions rurales des provinces du nord et de l'ouest de la Pologne. L'incidence dépassait  $3/100\,000$ , atteignant  $12/100\,000$  certaines années (en 1982 dans la région de Bydgoszcz). Dans les années quatre-vingt dix, ce profil s'est atténué (figure 2). L'incidence du botulisme dans les régions du sud et du centre était inférieure à  $3/100\,000$ . Entre 1971 et 1997, les différences entre les provinces se sont réduites et un nombre croissant d'entre elles n'ont déclaré aucun cas (18,4% en 1971 soit 9 provinces, et 53% en 1997 soit 24 provinces). Le nombre de cas augmente généralement entre mai et août, et en décembre. Cette hausse est probablement associée à l'augmentation de l'abattage des porcs dans des fermes privées et à une préparation plus intensive des produits faits maison mis en conserve.

#### Caractéristiques des épidémies

La plupart des cas de botulisme rapportés étaient des cas sporadiques isolés (74% de 1980 à 1984 et 79% de 1993 à 1997) ou des petits groupes de cas de deux personnes (16% de 1980 à 1984 et de 1993 à 1997) (tableau 2). Les épidémies de trois cas représentaient 6% de l'ensemble des épidémies survenues entre 1980 et 1984, et 3% de celles survenues entre 1993 et 1997. La rareté des épidémies importantes est compensée par le nombre de cas qu'elles comptabilisent; en effet, bien que rares, les épidémies de quatre, cinq, six ou sept cas représentaient 10% des cas. Le profil épidémiologique des épidémies était similaire pour les deux périodes analysées (tableau 2), bien que quatre fois plus d'épidémies ont été rapportées au cours de la seconde période.

#### Taux d'admission hospitalier et évolution de la maladie

Entre 90% et 100% des cas rapportés ont été admis à l'hôpital. En 1997, 15% y ont séjourné moins d'une semaine, 39%

d'une à deux semaines, 21% de deux à trois, 11% de trois à quatre, et 14% plus de quatre. L'évolution de la maladie était modérée dans 47% des cas, sévère dans 20% et bénigne dans 16%. Des cas de rechute de botulisme, survenant d'un à 10 ans après le premier épisode ont été rapportés (3,4). Cette observation laisse supposer que les habitudes alimentaires n'ont pas changé et que l'immunité induite par la maladie est faible. Aucun cas de botulisme par blessure ou de botulisme du nourrisson n'a été rapporté en Pologne.

#### Les aliments et produits responsables des épidémies

La plupart des cas (81%) étaient associés à la consommation de préparations à base de viande (essentiellement viande de porc); le poisson et les légumes en revanche étaient rarement impliqués (respectivement 13 et 6%) (tableau 3).

Soixante-quatorze pour cent des 285 cas rapportés en 1990 ont été attribués à la consommation de produits faits maison, essentiellement des préparations à base de viande conservées dans des bocaux de verre sous vide. Aucun produit traditionnel polonais n'a été plus qu'un autre associé au botulisme, contrairement à ce qui a été décrit en Norvège pour le "rakfisk" (poisson fermenté consommé à Noël) (6) ou encore pour "isushi" (mélange de poissons crus, de riz et de légumes coupés macérés dans le vinaigre) (7). Les aliments impliqués avaient été soit conservés en bocaux de verre, soit macérés dans le vinaigre, soit fumés. Par ailleurs, ils étaient souvent restés à température ambiante un certain temps (de quelques semaines à plusieurs mois) et consommés sans cuisson. Hormis les conserves en bocaux de verre de préparations à base de viande de porc, les aliments les plus fréquemment mis en cause dans les cas de botulisme étaient les saucisses, le jambon, le fromage de tête, les saucisses de foie et le bacon (3,4,5). Les facteurs de risque les plus importants lors du processus de préparation des aliments de fabrication maison semblent être une forte contamination initiale par des spores, un chauffage insuffisant (cuisson trop courte à trop faible température), des conditions et une température de conservation inadaptées et l'utilisation d'aliments sans cuisson finale (8). ►

#### Geographical and seasonal distribution

The reported geographical distribution of disease varies markedly. In the 1970s and 1980s the highest rates were registered in rural areas of the northern and western provinces of Poland. The incidence exceeded  $3/100\,000$  and in some years reached  $12/100\,000$  (Bydgoszcz Region in 1982). In the 1990s this pattern became less visible (figure 2). In the southern and central regions the incidence from botulism was lower than  $3/100\,000$ . Between 1971 and 1997, differences between provinces waned and an increasing number of provinces registered no cases (18.4% in 1971 - 9 provinces, and 53% in 1997 - 24 provinces). The number of cases usually increases in May to August and in December. This is probably associated with increased slaughtering of pigs in private farms and more intensive preparation of home-made wecked products.

#### Character of outbreaks

Most cases of botulism were registered as single, sporadic cases (74% in from 1980 to 1984 and 79% from 1993 to 1997) or as small, two-person outbreaks (16% from 1980 to 1984 and from 1993 to 1997) (table 2). Outbreaks of three cases accounted for 6% of all outbreaks from 1980 to 1984 and 3% from 1993 to 1997. The rarity of large outbreaks is balanced by the number of cases they make up: larger outbreaks - including four, five, six, or seven cases - were rare but constituted up to 10% of all cases. The epidemiological patterns of outbreaks were similar in two periods analysed (table 2) although four times as many outbreaks were registered in the second period.

#### Rate of hospital admission and the course of disease

Between 90% and 100% of cases reported are admitted to hospital. In 1997, 15% of cases were admitted to hospital for up to one week, 39% between one and two weeks, 21% between two and three weeks, 11% between three and four weeks, and 14% for over four weeks. The course of the disease

was assessed as moderate in 47%, severe in 20%, and mild in 16%. There are reports of secondary onset of botulism, occurring between one and ten years after the first episode (3,4). They suggest that people do not change their dietary habits, and that there is no strong immunity following disease. No cases of wound and infant botulism have been recorded in Poland.

#### Food sources and products associated with outbreaks

Most cases of botulism (81%) were associated with eating meat (mainly pork) products; while fish (13%) and vegetables (6%) were rare vehicles (table 3).

Seventy-four per cent of the 285 cases registered in 1990 were attributed to the consumption of home-processed food, mostly prepared from meat and conserved in weck jars. There is no special Polish home-made food linked with botulism, in contrast to the 'rakfisk' (half-fermented fish eaten at Christmas in Norway) (6) or 'isushi' (pickled relish made of raw fish, rice and diced vegetable) (7). The foodstuffs implicated have been prepared in wecks, pickled, or smoked and often allowed to stand for a time (from several weeks to several months) and eaten without cooking. The commonest foods implicated in cases of botulism were wecked pork products and sausages, ham, head-cheese (brawn), liver sausage, and bacon (3,4,5). The most important risk factors for botulism in preparing home-processed food appear to be a heavy initial contamination by the spores, insufficient heating (too short treatment with too low temperature), improper conditions and temperature of storing, and the use of food without final cooking (8).

Home wecking, being a relatively ill controlled process, is far more likely than industrial canning to result in poisoned food. Nevertheless, commercially prepared food was implicated as the vehicle in 26% of all cases; most often canned meat and fish. Control measures, including hazard analysis critical control points are being introduced in the food production industry, and further cooperation with the veterinarian authorities is being established. ►

**Tableau 4 / Table 4**  
**Botulisme en Pologne 1971 - 1997. Nombre de cas et type de toxine**  
**Botulism in Poland 1971 - 1997. Number of cases and type of toxin found**

Année/Year	Nb total de cas Total No. of cases	Nb de cas testés pour toxine No. of cases tested for toxin	Nb de cas positifs (100%) No. of cases with positive test (100%)	Type de toxine (%) / Type of toxin found (%)				
				A	B	E	F	Types mixtes Mixed types
1971/74	1354	?	327	3.1	93.2	3.1	0.6	-
1980	269	211	147	3.4	85.7	0.7	-	-
1985	551	428	274	1.8	88.7	2.6	-	6.9
1990	328	271	158	9.5	79.1	-	-	8.9
1995	118	105	68	2.9	82.4	2.9	-	4.4
1997	93	93	50	2.0	76.0	8.0	-	2.0
								12.0

► Les conserves en bocaux de verre faites maison étant produites de façon relativement mal contrôlée, présentent un risque bien plus élevé de contamination des aliments que les conserves industrielles. Quoi qu'il en soit, des aliments industriels ont été impliqués dans 26% des cas; il s'agissait le plus souvent de conserves de viande ou de poisson. Les mesures de contrôle, dont l'HACCP (hazard analysis critical control points), sont en cours d'introduction dans la production industrielle, de même que l'établissement d'une coopération avec les autorités vétérinaires.

#### Résultats microbiologiques

En Pologne, la plupart des épidémies de botulisme ont été causées par des toxines de type B (tableau 4). La proportion des cas liés à la toxine E a cependant augmenté ces dernières années.

#### Prophylaxie

Jusque en 1990, l'éducation du public, moyen le plus efficace de prévention du botulisme, n'était pas satisfaisante (9). Des conseils simples sur les bonnes méthodes de fabrication des conserves faites maison (boîtes de conserve ou bocaux de verre) permettraient de prévenir de nombreux cas

de botulisme : par exemple, utilisation de cocotte-minute et acidification des aliments avec du vinaigre. *C. botulinum* ne se développant pas à un pH ≤ 4,6 ou chauffage minutieux, par ébullition ou chauffage au four, de tous les aliments en conserve avant de les servir. Un renforcement de l'éducation du public est à l'ordre du jour. Au milieu des années soixante-dix, les personnes à haut risque (personnel de laboratoire travaillant avec la toxine botulinique) ont été immunisées avec une anatoxine botulinique ABE : généralement, la réponse à cet anatoxine est similaire à celle obtenue avec l'anatoxine tétanique (10).

#### Conclusion

La surveillance du botulisme en Pologne a permis d'évaluer l'ampleur du problème, les tendances dans le temps et selon les régions et d'identifier les véhicules alimentaires les plus courants et les facteurs de risque. Bien que tous les cas ne soient probablement pas rapportés (il manque sans doute des cas mineurs n'ayant pas fait l'objet d'une admission à l'hôpital), ce système de surveillance est un outil efficace pour orienter et cibler les actions de santé publique. ■

#### ► Laboratory findings

Most of the outbreaks of botulism in Poland have been caused by toxin type B (tableau 4). In recent years the proportion of cases caused by type E has increased.

#### Prophylaxis

Public education, the most effective method of preventing botulism, was unsatisfactory until 1990 (9). Simple advice on proper methods of home canning/wecking (for example, using a pressure cooker and acidifying foods with vinegar, as *C. botulinum* does not grow in pH ≤ 4,6, or thoroughly heating all home-canned foods by boiling or baking before they are served) could prevent many cases of botulism. Public education is being intensified. In the mid-1970s, people at high risk (laboratory staff working with botulinum toxin) were successfully immunised with ABE botulinum toxoid; in general, the response to botulinum toxoid was similar to the response to tetanus toxoid (10).

#### Conclusion

Surveillance of botulism in Poland has been used to assess the importance of the problem, to monitor trends over

time and by place, and to identify the commonest food vehicles and risk factors. Although all cases are probably not reported (minor cases not admitted to hospital are probably missing), this surveillance system is an effective tool to guide and target public health action. ■

#### References

- Therre H. Botulism in the European Union. *Eurosurveillance* 1999; **4**: 2-7.
- Przybylska A. Registration of the foodborne and waterborne diseases in Poland in 1919 - 1997. *Przeglad Epidemiologiczny* 1998; **52**: 263-7.
- Anusz Z. Botulism - 1982. *Przeglad Epidemiologiczny* 1984; **38**: 175-82.
- Anusz Z. Botulism - 1985. *Przeglad Epidemiologiczny* 1987; **41**: 78-84.
- Anusz Z. Botulism - 1990. *Przeglad Epidemiologiczny* 1992; **46**: 93 - 7.
- Kuisi M, Hasselqvist V, Aavitsland P. Botulism in Norway. *Eurosurveillance* 1999; **4**: 11-2.
- Kanzawa K. Foods as vehicles in botulism in Japan. *Jap J Med Sci Biol* 1963; **16**: 303-13.
- Przybylska A. Botulism in 1995. *Przeglad Epidemiologiczny* 1997; **51**: 111-89.
- Anusz Z. Botulisms. *Przeglad Epidemiologiczny* 1981; **35**: 111-7.
- Galazka A, Rymkiewicz D, Aleksandrowicz J. Botulinum antitoxins and bacterial IgM and IgG antibodies in sera of persons immunized with botulinum polytoxin combined with cholera vaccine. I. Response to botulinum toxoid. *Arch Immunol Ther Exper* 1976; **24**: 631-9.

#### RAPPORT D'INVESTIGATION

## Epidémie de gastro-entérites à salmonelle lors d'une soirée d'ouverture d'un restaurant en Grèce, juin 1998

C. Hadjichristodoulou<sup>1</sup>, E. Nikolakopoulou<sup>1</sup>, K. Karabinis<sup>1</sup>, E. Karakou<sup>1</sup>, A. Markogiannakis<sup>2</sup>, C. Panoulis<sup>3</sup>, M. Lampiri<sup>4</sup>, P. Tassios<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centre National de Surveillance et d'Intervention, Athènes, Grèce

<sup>2</sup> Département de Microbiologie, Ecole de Médecine, Université d'Athènes, Athènes, Grèce

<sup>3</sup> Laboratoire de Bactériologie Clinique, Parasitologie, Université de Crète, Heraklion, Grèce

<sup>4</sup> Ecole Nationale de Santé Publique, Laboratoire National de Référence des Salmonelloses, Athènes, Grèce

#### Introduction

Jusqu'à très récemment en Grèce, le système de déclaration des maladies infectieuses a été inadapté. En 1998, un nouveau système de déclaration a été mis en place impliquant une déclaration hebdomadaire des laboratoires collaborateurs du pays - à l'aide de formulaires standard envoyés par e-mail ou par fax - et des rapports réguliers sur le nombre total de tests et de résultats positifs relatifs à certaines maladies transmissibles sélectionnées. Alors qu'en 1997, seuls 326 cas d'infections à salmonelle avaient été rapportés au Ministère de la Santé, 622 cas ont été déclarés en 15 semaines en 1998 avec ce nouveau système.

#### OUTBREAK REPORT

## Outbreak of salmonella gastroenteritis among attendees of a restaurant opening ceremony in Greece, June 1998

C. Hadjichristodoulou<sup>1</sup>, E. Nikolakopoulou<sup>1</sup>, K. Karabinis<sup>1</sup>, E. Karakou<sup>1</sup>, A. Markogiannakis<sup>2</sup>, C. Panoulis<sup>3</sup>, M. Lampiri<sup>4</sup>, P. Tassios<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National Center for Surveillance and Intervention, Athens, Greece

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Medical School, University of Athens, Athens, Greece

<sup>3</sup> Laboratory of Clinical Bacteriology, Parasitology, University of Crete, Heraklion, Greece

<sup>4</sup> National School of Public Health, National reference Laboratory for Salmonellosis, Athens, Greece

#### Introduction

Until recently the system for reporting infectious diseases in Greece was inadequate, but a new laboratory reporting system was introduced in 1998, in which collaborating laboratories throughout Greece report each week by e-mail or fax using standard forms and the total number of tests and positive results on selected communicable diseases are regularly reported. In 1997, only 326 cases of salmonella infection were reported to the Ministry of Health, whereas in 15 weeks of 1998, with the new laboratory reporting system, 662 cases of salmonella infection were reported.

Dans le passé, plusieurs épidémies de gastro-entérites à salmonelle ont été rapportées chez des touristes en Grèce, mais aucune n'a fait l'objet d'investigations correctes. En juin 1998, une épidémie de gastro-entérites à *Salmonella enteritidis* est survenue à Nauplie (en Péloponnèse du nord) au cours de la cérémonie d'ouverture d'un restaurant. Il s'agit de la première épidémie de ce type à avoir fait l'objet d'une investigation parmi la population grecque.

## Investigation

Le 15 juin 1998, huit cas de gastro-entérites à salmonelle étaient déclarés au Centre National de Surveillance et d'Intervention (NCSI) par le biais du système de déclaration des laboratoires. D'après les enquêtes téléphoniques initiales, une épidémie de gastro-entérites - dont les symptômes principaux étaient des diarrhées, de la fièvre et des vomissements - était survenue le 11 juin dans la région de Nauplie. Tous les patients avaient assisté le 9 juin à la cérémonie d'ouverture d'un restaurant. Le 11 juin, les inspecteurs de santé environnementale du Département de Santé Publique de Nafplion ont visité le restaurant, inspecté la cuisine et recueilli les restes d'aliments pour les soumettre à des tests. Une équipe d'investigation mise en place par le NCSI s'est rendue à Nafplion le 16 juin pour mener une étude de cohorte parmi les invités résidant en Grèce. Un questionnaire détaillé, rempli en face à face ou par téléphone, a permis de recueillir les informations suivantes : le nom, le sexe, l'âge, les symptômes, la date d'apparition des premiers symptômes et leur durée, les résultats des tests et les aliments consommés (en tenant compte des plats figurant au menu de la soirée fourni par le restaurant). Les cas ont été définis comme des personnes ayant assisté à la soirée et ayant souffert de diarrhée ou de vomissement avec ou sans douleurs abdominales. Les cas étaient "confirmés" lorsque les cultures de sang ou de selles révélaient la présence de pathogènes, et "probables" si elles correspondaient à la définition clinique sans confirmation microbiologique. Quant aux patients ayant assisté à la cérémonie et présenté des symptômes autres que des diarrhées ou des vomissements (fièvre, douleurs abdominales, faiblesse), ils étaient considérés comme des cas "suspects". Les questionnaires ont été analysés à l'aide d'Epi-Info. L'ensemble des plats, ainsi que les œufs ont été analysés par l'Institut de Microbiologie et Technologie Alimentaires, l'unité mobile du NCSI, en collaboration avec le Centre de Recherche Biologique des Armées et l'Université de Crète. Les échantillons des aliments ont été soumis à des recherches de *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, d'entérotoxines staphylococciques, et de clostridies sulphuro-reductrices.

L'électrophorèse en champ pulsé de l'ADN après digestion enzymatique par XbaI (New England Biolabs, USA) (4,7) a été réalisée avec un appareil CHEF-DRIII (BioRad, USA). Des concatamères d'ADN (New England Biolabs) ont été utilisés comme marqueurs de taille des fragments d'ADN selon une méthode déjà décrite (1). Les gels, colorés au bromure d'éthidium puis révélés sous rayons ultra-violets avec le système EasyWin32 (HeroLab, Germany), ont été analysés à l'aide du logiciel GelCompar (Applied Maths, Belgium). La corrélation entre les bandes a été calculée en ne tenant compte que de la position des bandes (à l'aide du coefficient Dice et le clustering UPGMA), la tolérance de différence de position entre les bandes étant de 2,5%.

## Résultats

On ignore le nombre total des participants à cette soirée, mais la liste transmise par le restaurant fait état de 100 invités grecs. Quant au nombre de touristes présents ce soir-là, il est estimé à 150. La plupart ayant quitté la Grèce avant le début de l'enquête, ils n'ont pas pu être contactés. En revanche, plusieurs membres d'une famille allemande ont été contactés par téléphone et présentaient des symptômes de gastro-entérite. Parmi les invités grecs, 20 ont été à une consultation à l'hôpital général de Nauplie où y ont été hospitalisés. Soixante-sept des 100 invités grecs ont participé à l'étude et ont rempli des questionnaires. Soixante répondent à la définition des cas dont 10 certains, 49 probables et un suspect. Les questionnaires ayant été remplis sept jours après la soirée, il est possible qu'un biais de mémorisation ait été introduit. Parmi les sujets ayant rempli le questionnaire, il y avait 28 hommes et 39 femmes, avec une moyenne d'âge de 41 ans (déviation standard DS = 17 ans) et sept enfants de moins de 14 ans. D'après les seuls cas certains, la période d'incubation de la maladie a été estimée à 19 heures (DS = 9) et à 21 heures (DS = 9) d'après l'information fournie par l'ensemble des cas.

Cinquante-trois patients ont souffert de diarrhée, 50 de fièvre, 43 de douleurs abdominales et 38 de vomissements, avec une durée moyenne respective des symptômes de quatre jours, à l'exception des vomissements qui duraient trois jours.

Tous les cas (certains, probables, suspects) ont été inclus dans l'étude. Des tests de <sup>xx</sup> ont été utilisés pour identifier les associations entre la consommation d'aliments et la maladie. Les taux d'attaque étaient plus élevés chez les personnes âgées que chez les jeunes adultes et les enfants ( $p = 0.01$ ). Les invités ayant consommé de la dinde et ➤

Several outbreaks of salmonella gastroenteritis have been reported among tourists in Greece in the past, but none of them was adequately investigated. In June 1998, an outbreak of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis arose during a restaurant opening ceremony in Nafplion (northern Peloponnese). This is the first such outbreak reported and investigated among the Greek population.

## Investigation

Eight cases of salmonella gastroenteritis were reported to the National Centre for Surveillance and Intervention (NCSI) through the laboratory reporting system on 15 June 1998. Initial telephone enquiries revealed that an outbreak of gastro-enteritis (main symptoms: diarrhoea, fever, and vomiting) had arisen on 11 June in the district of Nafplion. All the patients had attended a restaurant opening ceremony on 9 June. On 11 June, environmental health officers of the Department of Public Health of Nafplion visited the restaurant, and inspected the food preparation area, and collected leftover food items for testing. An outbreak investigation team was set up by NCSI, and went to Nafplion on 16 June to conduct a cohort study among Greek residents who attended. The study used a detailed questionnaire administered either in person or by telephone that asked for name, sex, age, symptoms, and their dates and times of onset and duration, test results, and food history (taking into account the items on the menu at the ceremony, supplied by the restaurant). Cases were defined as follows: people who attended the opening ceremony and developed symptoms of diarrhoea or vomiting with or without abdominal pain. They were said to be 'confirmed' if blood or stool cultures revealed pathogens and 'probable' if they fulfilled the clinical definition but were not laboratory confirmed. A 'suspected' case was one who attended the ceremony and developed symptoms other than diarrhoea or vomiting (fever, abdominal pain, weakness). The questionnaires were analysed using Epi-Info. The food items and eggs were tested at the Institute of Food Microbiology and Food Technology, the mobile unit of NCSI in collaboration with the center of Biological Research of the Army, and the University of Crete. Food samples were tested for *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, staphylococcal enterotoxins, and sulphur-reducing clostridia.

Pulsed-field gel electrophoresis of genomic DNA (4,7) after XbaI (New England Biolabs, USA) digestion was performed in a CHEF-DRIII (BioRad, USA) apparatus, using <sup>x</sup>-DNA concatamers (New England Biolabs) as DNA fragment size markers, as previously described (1). Ethidium bromide-stained gels were documented under UV illumination using the EasyWin32 system (HeroLab, Germany) and electrophoretic patterns analysed using the GelCompar software (Applied Maths, Belgium). Correlation of bands was performed taking into account only DNA band positions and not intensities (using the Dice coefficient and UPGMA clustering) with a 2.5% tolerance of band position difference.

## Results

The total number of people who attended the ceremony remains unknown, but the restaurant supplied a list of 100 Greek guests and it is believed that about 150 tourists were there. Many of the tourists had left Greece before the investigation began and could not be contacted but several members of a German family interviewed on the telephone had developed symptoms of gastroenteritis. Twenty Greeks visited or were admitted to hospital in the General Hospital of Nafplion. Sixty-seven of the 100 Greek guests took part in the study. Out of the 67 questionnaires collected, 60 were from cases: 10 confirmed, 49 probable, and 1 suspected. All questionnaires were completed seven days after the opening ceremony, making recall bias a possibility. Twenty-eight respondents were male and 39 female, with a median age of 41 years (standard deviation SD = 17 years); seven of the cases were children under 14 years of age. The incubation period of the disease was estimated to be 19 hours (SD = 9) based on confirmed cases only, and 21 hours (SD = 9) based on information from all cases.

Fifty-three cases suffered diarrhoea, 50 fever, 43 abdominal pain, and 38 vomiting. The mean duration of the symptoms was four days for diarrhoea, four days for fever, four days for abdominal pain, and three days for vomiting.

All the cases (confirmed, possible, and suspected) were included in the analysis. Chi-squared tests were used to identify associations between food consumption and disease. Attack rates were higher in elderly people than in the young adults and children who attended ( $p = 0.01$ ). Guests who ate turkey and salmon had the highest attack rate, while guests who drank bitter orange had the lowest (table). The epidemic curve is compatible with a point-source outbreak (figure). ➤

**Tableau / Table**  
**Taux d'attaque et risque relatif des aliments servis lors de la cérémonie d'ouverture**  
**Attack rate and relative risk of food items served at the opening ceremony**

Aliment / Food item	Nb malades/convives ayant consommé No. patients/attendees who ate	Nb malades/convives n'ayant pas consommé No. patients/attendees who did not eat	Taux d'attaque (%) Attack rate (%)	RR et IC* RR and CI*	p**
Hamburger	33/38	27/29	86.8	0.80<0.93<1.09	0.6
Dinde / Turkey	32/32	28/35	100	1.06<1.25<1.48	0.01
Friand à la viande / Roll meat	3/3	56/63	100	1.03<1.13<1.23	1
Porc / Pork	21/22	39/45	95.5	0.95<1.10<1.28	0.4
Rosbif / Roast beef	32/34	28/33	94.1	0.94<1.11<1.31	0.25
Bœuf / Beef	26/27	34/40	96.3	0.98<1.13<1.32	0.22
Crabe / Crab	1/1	59/66	100	1.03<1.12<1.22	1
Fruits de mer / Sea food	1/1	59/66	100	1.03<1.12<1.22	1
Saumon / Salmon	21/21	39/46	100	1.04<1.18<1.33	0.08
Salade / Salad	29/32	31/35	90.6	0.87<1.02<1.20	1
Haricots / Beans	6/7	54/60	85.7	0.70<0.95<1.30	0.55
Asperges / Asparagus	1/1	59/66	100	1.03<1.12<1.22	1
Calamars / Squid	5/6	55/61	83.3	0.64<0.92<1.33	0.49
Poulpe / Octopus	1/1	59/66	100	1.03<1.12<1.22	1
Salade du chef / Chef salad	24/25	36/42	96	0.97<1.12<1.30	0.2
Salade de pommes de terre / Potato salad	13/13	47/54	100	1.04<1.15<1.27	0.33
Tomates / Tomatoes	19/21	41/46	90.5	0.86<1.02<1.21	1
Pêches / Peach	2/2	58/65	100	1.03<1.12<1.22	1
Orange amère / Bitter orange	5/8	55/59	62.5	0.39<0.67<1.15	0.03
Fruit	1/1	58/65	100	1.03<1.12<1.22	1
Bière / Beer	29/30	30/36	96.7	0.99<1.16<1.36	0.11
Vin / Wine	11/22	47/53	91.7	0.85<1.03<1.26	1

\* RR : risque relatif / relative risk    IC/CI : intervalle de confiance / confidence interval

\*\* test du  $\chi^2$  de Pearson (ou test exact de Fisher quand nécessaire) / Pearson's  $\chi^2$  test (or Fisher's exact test when appropriate)

► du saumon présentaient les taux d'attaque les plus élevés, alors que ceux qui avaient bu du jus d'orange amère présentaient les plus faibles (tableau). La courbe épidémique est compatible avec une source ponctuelle de l'épidémie (figure).

Dix des 20 prélèvements de selles provenant des patients admis à l'Hôpital Général de Nauplie et analysés à l'Ecole Nationale de Santé Publique, étaient positifs pour *S. enteritidis*. La recherche de pathogènes bactériens était négative dans les prélèvements de deux employés du restaurant et il n'a pas été possible de recueillir de prélèvements du chef-cuisinier. *S. enteritidis* a été isolé et identifié dans le rosbif, la dinde, la viande de porc et la mayonnaise. La température du réfrigérateur où les aliments étaient conservés s'élevait à 15°C. Aucun pathogène n'a été identifié dans les œufs fournis par le producteur et utilisés pour la mayonnaise.

Les profils PFGE de l'ADN après digestion enzymatique de deux isolats provenant d'échantillons de sang et de selles étaient indiscernables de ceux des isolats isolés du rosbif et de la mayonnaise. D'après leur degré d'identité (82.5%) avec une souche de type PFGE A caractérisée auparavant (2), ils appartiennent à ce même type, dominant en Grèce (1), mais sont distincts des types PFGE B (62.9% de similitude) et D (<40%).

## Discussion

Cette épidémie de gastro-entérite à salmonelle est la première du genre détectée en Grèce ayant fait l'objet d'une investigation adaptée dans le cadre du nouveau système de déclaration des laboratoires. Si l'on tient compte du fait que les cas de gastro-entérites à salmonelle ont été déclarés quatre jours après le début de l'épidémie, l'efficacité de ce système est satisfaisante.

D'après les résultats de l'enquête épidémiologique et microbiologique, deux aliments au moins étaient incriminés dans l'épidémie, la viande de dinde et la mayonnaise. *S. enteritidis* a été isolé dans le rosbif, la dinde, la viande de porc et la mayonnaise. Vu la diver-

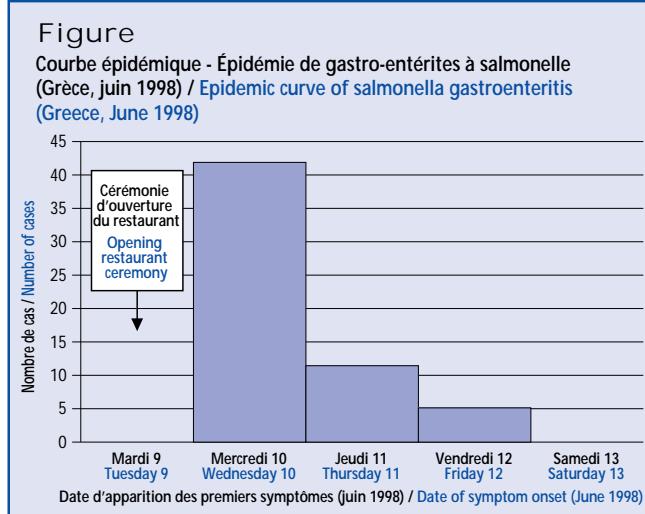
► *S. enteritidis* was isolated and identified by the National School of Public Health in stool specimens from ten of the 20 patients admitted to the General Hospital of Nafplion. Specimens from two restaurant workers were negative for bacterial pathogens and it was not possible to collect a specimen from the chef. *S. enteritidis* was isolated and identified in roast beef, turkey, pork, and mayonnaise. The temperature in the refrigerator, where the foods were kept, was found to be 15°C. Raw eggs used for the preparation of the mayonnaise obtained from the producer were tested, but no pathogen was identified.

PFGE patterns of XbaI-digested genomic DNA from two human (blood and stool culture) and two food (roast beef and mayonnaise) isolates were indistinguishable. They were 82.5% similar to a previously characterised strain, indicating (2) that they belonged to the same PFGE type, A, which is dominant in Greece (1), and distinct from PFGE types B (62.9% similarity) and D (<40%).

## Discussion

The outbreak of salmonella gastroenteritis described among guests of a restaurant opening ceremony is the first outbreak detected and properly investigated in Greece by the newly established laboratory reporting system. Taking into account that the cases of salmonella gastroenteritis in Nafplion were reported four days after the outbreak began the laboratory reporting system intervention is considered satisfactory.

The epidemiological investigation and the laboratory results suggest that at least two food items (turkey and mayonnaise) were implicated in the outbreak. *S. enteritidis* was isolated from roast beef, turkey, pork, and mayonnaise. As several food items were contaminated and mayonnaise was served with most of them, it is likely that mayonnaise was the vehicle in this outbreak. *S. enteritidis* can be found inside unbroken, normal-looking eggs and cause illness if the eggs are eaten raw



sité des aliments contaminés et le fait qu'ils étaient tous garnis de mayonnaise, celle-ci a pu être le véhicule de l'infection. *S. enteritidis* peut être présent dans des œufs entiers d'apparence normale et provoquer une maladie si les œufs sont consommés crus ou insuffisamment cuits (5,6,8). Le fait qu'aucun pathogène n'ait été retrouvé dans les œufs analysés n'exclut pas la possibilité qu'ils aient été la source de l'infection. D'après le rapport des services de santé environnementale, une mauvaise manipulation et une conservation inadaptée ont été des éléments importants qui ont contribué au taux d'attaque élevé lors de l'épidémie (6). L'explication la plus plausible est la survenue d'une contamination croisée des aliments à partir de la mayonnaise ou d'un autre aliment.

La faible proportion des invités inclus dans l'étude de cohorte a pu introduire un biais bien qu'aucune preuve n'étaie cette hypothèse. Il est dommage que les touristes ayant participé à la soirée n'aient pas pu être inclus car ils avaient déjà quitté le pays. Par ailleurs, la taille réduite de la cohorte (60 cas sur 67 participants) ne nous a pas permis de mener une analyse multivariée. On ne peut exclure que des employés infectés aient contaminé par inadvertance les aliments, contribuant ainsi à disséminer la maladie, mais aucun lien n'a pu être établi entre ces employés et l'épidémie. L'identité génotypique des isolats provenant des aliments et des patients, mise en évidence d'après le profil PFGE (4,7), a confirmé l'existence du lien épidémiologique établi par l'enquête initiale. Les quatre isolats de *S. enteritidis* représentatifs analysés appartenaient au type PGFE A, déjà mis en évidence en Grèce dans des isolats provenant d'œufs, de volaille et dans des isolats humains. Ce type A, représenté à 90% d'isolats résistants à l'ampicilline et à 80% d'isolats sensibles aux antibiotiques, est dominant en Grèce (1), alors que les types B, C et D également isolés de sources animale, alimentaire et humaine sont moins courants.

Pour réduire les infections à *S. enteritidis* chez l'homme, il est nécessaire de mener des efforts répétés pour former les employés du secteur alimentaire à une bonne manipulation des aliments crus et pour les sensibiliser à l'importance d'une bonne hygiène des mains avant, pendant et après toute préparation alimentaire. Les plats préparés et les œufs devraient être conservés au réfrigérateur pendant la distribution et la conservation (3). Tous les aliments de source animale, en particulier les viandes de volaille et de porc, ainsi que les produits à base d'œufs et les plats à base de viande doivent être cuits convenablement. Il est essentiel que les cuisines soient maintenues dans des conditions sanitaires correctes et que les plats préparés soient protégés de la contamination par des insectes, des rongeurs ou d'autres animaux. ■

## References

- Tassios PT, Markogiannakis A, Vatopoulos AC, Velonakis EN, Katsanikou K, Papadakis JA, et al. Molecular epidemiology of antibiotic resistance of *Salmonella enteritidis* during a 7-year period in Greece. *J Clin Microbiol* 1997; **35**:1316-21.
- Struelens MJ, Schwam V, Deplano A, Baran D. Genome macrorestriction analysis of diversity and variability of *Pseudomonas aeruginosa* strains infecting cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 1993; **31**: 2320-6.
- Passaro DJ, Reporter R, Mascola L, Kilman L, Malcolm GB, Rolka H, et al. Epidemic *Salmonella enteritidis* infection in Los Angeles County, California. The predominance of phage type 4. *West J Med* 1996; **165**: 126-30.
- Murase T, Nakamura A, Matsushima A, Yamai S. An epidemiological study of *Salmonella enteritidis* by pulsed-field gel electrophoresis(PFGE): several PFGE patterns observed in isolates from a food poisoning outbreak. *Microbiol Immunol* 1996; **40**: 873-5.
- Harrison C, Quigley C, Kaczmarski E, Devlin E. An outbreak of gastro-intestinal illness caused by eggs containing *Salmonella enteritidis* phage type 4. *J Infect* 1992; **24**: 207-10.
- Lin FY, Morris JG Jr, Trupp D, Tilghman D, Wood PK, Jackman N, et al. Investigation of an outbreak of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis associated with consumption of eggs in a restaurant chain in Maryland. *Am J Epidemiol* 1988; **128**: 839-44.
- Thong KL, Puthucheary S, Pang T. Outbreak of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis: investigation by pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Infect Dis* 1998; **2**: 159-63.
- Buchner L, Wermter R, Henkel S. *Salmonella enteritidis* in chicken eggs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 1991; **104**: 157-61.

## BULLETINS NATIONAUX - CONTACTS / NATIONAL BULLETINS - CONTACTS

- Bundesministerium für Arbeit, Gesundheit und Soziales - Austria - Tel: (43) 1 711 72 41 03 - Fax: (43) 1 713 86 14
- Epidemiologisch Bulletin van de Gezondheidsinspectie van de Vlaamse Gemeenschap - Belgium - Tel: (32) 3 224 62 05 - Fax: (32) 3 224 62 01  
Institut Scientifique de la Santé Publique Louis Pasteur - Belgium - Tel: (32) 2 642 51 11 - Fax: (32) 2 642 54 10
- EPI - NEWS - Denmark - Tel: (45) 32 683 268 - Fax: (45) 32 683 874 (<http://www.ssi.dk>)
- Communicable Disease Report - England and Wales - Tel: (44) (0) 181 200 6868 - Fax: (44) (0) 181 200 7868 - (<http://www.phls.co.uk/publications>)
- Kansanterveys - Finland - Tel: (358) 9 4744 82 46 - Fax: (358) 9 4744 86 75 - (<http://www.ktl.fi>)
- Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire - France - Tel: (33) (1) 40 56 45 40 - Fax: (33) (1) 40 56 50 56 - (<http://www.b3e.jussieu.fr/rnsp/beh/index.html>)
- Epidemiologisches Bulletin - Germany - Tel: (49) 30 45 47 34 06 - Fax: (49) 30 45 47 35 44 (<http://www.rki.de/INFECT/EPIBULL/EPI.HTM>)
- Ministry of Health, Welfare - Greece - Tel: (301) 646 67 11 - Fax: (301) 646 67 45
- I.D. Bulletin - Ireland - Tel: (353) (1) 668 15 77 - Fax: (353) (1) 671 06 06
- Infoscan, Southern Communicable Disease Report - Ireland - Tel: (353) 21 343 926 (<http://www.ucc.ie/faculties/medical/infoscan/>)
- Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità - Italy - Tel: (39) 06 49 38 726 15 - Fax: (39) 06 49 38 72 92 (<http://www.iss.it/pubblicazioni/Notiziari.htm>)
- Infectieziekten Bulletin - Netherlands - Tel: (31) 30 274 3551 - Fax: (31) 30 274 44 09 - (<http://www.isis.rivm.nl/>)
- Communicable Diseases - Northern Ireland - Tel: (44) (0) 1232 520 716
- Saúde em Números - Portugal - Tel: (351) 1 847 55 15 - Fax: (351) 1 847 66 39 - (<http://www.telepac.pt/dgsdeb/>)
- SCIEH Weekly Report - Scotland - Tel: (44) 141 300 11 00 - Fax: (44) 141 300 11 70
- Boletín Epidemiológico Semanal - Spain - Tel: (34) 91 387 78 02 - Fax: (34) 91 387 78 16 (<http://www.isciii.es/cne>)
- Smittskydd - Sweden - Tel: (46) (8) 457 2379 - Fax: (46) (8) 300 626

or undercooked (5,6,8). In this outbreak no pathogen was found in the tested eggs, but this finding does not exclude the possibility that eggs could have been the source of infection. The environmental health report suggested that bad handling and inadequate food storage were important factors that contributed to the high attack rate in the outbreak (6). The most possible explanation is that food items were cross contaminated from the mayonnaise or from another food item.

In this outbreak investigation the proportion of guests included in the cohort study was relatively small, which could have introduced bias, although we have no evidence to suggest that it did. Unfortunately, it was impossible to include the tourists who attended the ceremony because they had left the country. Moreover, the small size of the cohort (60 cases among 67 participants) prevented us from conducting a multivariable analysis. Infected employees may have contributed to the spread of illness by inadvertently contaminating foods, but no evidence was found to link any employee to the outbreak. The genotypic identity of food and human isolates, as revealed by PFGE (4,7), confirmed the epidemiological link established by the primary investigation. PFGE type A, to which the four representative isolates tested belonged, has been previously shown in Greece among *S. enteritidis* isolates from eggs, poultry, and humans. It is the dominant type (represented by 90% of ampicillin-resistant and 80% of isolates susceptible to antibiotics (1)), with types, B, C and D, also isolated from animal, food and human sources, being less common.

To minimize human infection with *S. enteritidis* infection, food service workers need repeated training in the proper handling of raw foods and the importance of handwashing before, during, and after food preparation. Prepared foods and eggs should be kept refrigerated during distribution and storage (3). All foodstuffs derived from animal sources, particularly poultry, pork, egg products, and meat dishes should be cooked thoroughly. It is essential to maintain sanitary conditions in the kitchen and protect prepared foods from insect, rodent or other animal contamination. ■

## INDEX

DANS LES BULLETINS NATIONAUX  
Une sélection dans les derniers numéros parus

IN THE NATIONAL BULLETINS  
A selection from current issues



### BOTULISME/BOTULISM

- Botulism. *Epidemiologisch Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 1999; (25): 1-5. [Belgium]

### CALICIVIRUS

- Calicivirus in raspberries. *Smittskydd* 1999; 5(2): 13. [February. Sweden]
- Calicivirus outbreak in Västmanland. *Smittskydd* 1999; 5(2): 14. [February. Sweden]

### ESCHERICHIA COLI

- VTEC O157 infection in three nurseries in Preston. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(19): 167, 170. [7 May. England and Wales]
- EHEC infection/HUS: case report of illness acquired abroad. *Epidemiologisches Bulletin* 1999; (16): 14. [23 April. Germany]

### HÉPATITE/HEPATITIS

- Hepatitis C virus infection from contaminated anti-D immune globulin in Ireland. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990429. (<http://www.eurosurv.org>)
- Hepatitis C: preparing the basis for surveillance in the proposed network for communicable diseases in the European Union. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990429. (<http://www.eurosurv.org>)

### INFECTIONS NOSOCOMIALES/ NOSOCOMIAL INFECTIONS

- Sigmoidoscopy and rectal biopsy - failure of infection control. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(16): 139. [16 April. England and Wales]
- Endophthalmitis following cataract surgery at Stonehouse Hospital. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(15): 104. [13 April. Scotland]

### INTOXICATIONS ALIMENTAIRES/ FOOD POISONING

- Gastro-intestinal infections. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(17): 126-7. [23 April. England and Wales]
- Annual report 1999 on important infectious diseases in Germany. Part 1: Intestinal infections. *Epidemiologisches Bulletin* 1999; (15): 99-106. [16 April. Germany]
- Staphylococcal food poisoning outbreak in Thüringen. *Epidemiologisches Bulletin* 1999; (14): 91-2. [9 April. Germany]

### LEGIONELLOSE/LEGIONELLOSIS

- Legionella outbreak in the Netherlands: update. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(16): 105, 116. [20 April. Scotland]/*EPI-NEWS* 1999; (15). [14 April. Denmark]
- Cluster of cases of legionnaires' disease associated with a Bangkok hotel. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990422. (<http://www.eurosurv.org>)/*Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(17): 147. [23 April. England and Wales]/*SCIEH Weekly Report* 1999; 33(17): 117. [27 April. Scotland]

### MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB/ CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE

- Variant Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990506. (<http://www.eurosurv.org>)
- Creutzfeldt-Jakob disease in Denmark. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990422. (<http://www.eurosurv.org>)
- Monthly surveillance figures for Creutzfeldt-Jakob disease. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(15): 101. [13 April. Scotland]/*Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990415. (<http://www.eurosurv.org>)

### MALADIE DE LYME/LYME DISEASE

- Infectious disease adviser: 3: early summer meningoencephalitis (FSME). *Epidemiologisches Bulletin* 1999; (16): 112-4. [23 April. Germany]

### STDs/STDs

- Sexually transmitted diseases in the former Soviet Union. *EPI-NEWS* 1999; (15). [14 April. Denmark]/*Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990506. (<http://www.eurosurv.org>)
- Disturbing increase in chlamydia incidence in Sweden. *Smittskydd* 1999; 5(2): 16-7. [February. Sweden]

### MALADIES TRANSMISSIBLES/ INFECTIOUS DISEASES

- Invasive infections of Haemophilus influenzae, Listeria monocytogenes, meningococcal, pneumococcal, streptococcal group A and group B in France in 1997 - evolution 1991-1997. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 1999; (15): 57-9.

- Cyclospora cayetanensis - from curiosity to emerging parasitic infection. *Smittskydd* 1999; 5(4): 37. [April. Sweden]
- The unit for highly contagious diseases in Linkoping. *Smittskydd* 1999; 5(3): 23-4. [March. Sweden]

### PARVOVIRUS

- Significant increase in parvovirus B19 reports. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(17): 117. [27 April. Scotland]

### POLIOMYÉLITE/POLIOMYELITIS

- Recent case of vaccine associated poliomyelitis in Germany. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990422; *ibid* 990429. (<http://www.eurosurv.org>)

### PROJETS EUROPÉENS/ EUROPEAN PROJECTS

- Fourth year of EPIET at SMI. *Smittskydd* 1999; 5(3): 28-9. [March. Sweden]
- The preparedness for outbreaks in the EU. *Smittskydd* 1999; 5(2): 11-2. [February. Sweden]

### RÉSISTANCE ANTIMICROBIENNE/ ANTIMICROBIAL RESISTANCE

- Clinical examination of clinafloxacin through emergency programme. *Epidemiologisches Bulletin* 1999; (14): 92. [9 April. Germany]
- Antibiotic resistance and general practice. *Infoscan* 1998; 8(4). [Oct-Dec. Ireland]

### RUBÉOLE/RUBELLA

- Update on rubella in Grampian Health Board Area. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(16): 105. [20 April. Scotland]

### SIDA/AIDS

- Occupational HIV infection in France among health care personnel. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 1999; (18): 69-70. [4 May. France]
- Evolution of causes of death of patients infected with HIV in the Aquitaine cohort, 1985-1997. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 1999; (17): 65-6. [27 April. France]
- HIV prevalence among childbearing women in Scotland. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(16): 115. [20 April. Scotland]

### VACCINATION/IMMUNISATION

- Vaccine research: new vaccines and evidence of vaccine safety. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990506. (<http://www.eurosurv.org>)/*Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(19): 167, 170. [7 May. England and Wales]

- Update on meningococcal C conjugate vaccine trials. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(18): 129. [4 May. Scotland]

- Vaccination granulomas. *EPI-NEWS* 1999; (16). [21 April. Denmark]

- New vaccination schedule for Italy. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990415. (<http://www.eurosurv.org>)

- Hepatitis A prophylaxis in Scotland. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990415. (<http://www.eurosurv.org>)

- Contraindications of vaccinations. *Epidemiologisches Bulletin van de Vlaamse Gemeenschap* 1999; (25): 6-8. [Belgium]

### VOYAGE/TRAVEL

- Responding to the health needs of the refugees from Kosovo. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(18): 129. [4 May. Scotland]

- The disease problems of Kosovan refugees in Albania. *Eurosurveillance Weekly* 1999; 3: 990429. (<http://www.eurosurv.org>)/*Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9(18): 155. [30 April. England and Wales]

- Efforts to prevent infectious disease outbreaks in South Balkans. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(17): 117, 128. [27 April. Scotland]

- Samples of the audit of those attending the Travel Medicine Clinic at the Browlee Centre, Garthnavel Hospital, Glasgow, during 1998. *SCIEH Weekly Report* 1999; 33(15): 102-3. [13 April. Scotland]

### RESPONSABLES SCIENTIFIQUES / SCIENTIFIC EDITORS

- **J.C. Desenclos**  
Réseau National de Santé Publique - Saint-Maurice - France
- **J. Drucker**  
Réseau National de Santé Publique - Saint-Maurice - France
- **N. Gill**  
P.H.L.S - Communicable Disease Surveillance Centre - London - United Kingdom
- **S. Handysides**  
P.H.L.S - Communicable Disease Surveillance Centre - London - United Kingdom
- **S. Salmaso**  
Istituto Superiore di Sanità - Italy
- **L. Wijergangs**  
Rijksinstituut Voor Volksgezondheid en Milieu - Netherlands

### COMITÉ DE RÉDACTION / EDITORIAL BOARD

- **P. Christie**  
*SCIEH Weekly Report* - Scotland
- **K. Ekdahl**  
Smittskydd - Sweden
- **S. Handysides**  
*Communicable Disease Report* - England and Wales
- **A. Karaitianou-Velonaki**  
Ministry of Health, Welfare and Social Security - Greece
- **W. Kiehl**  
*Epidemiologisches Bulletin* - Germany
- **J.P. Klein**  
Bundesministerium für Gesundheit - Austria
- **M. Le Quellec-Nathan**  
*Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* - France
- **G. Lima**  
Saúde em Números - Portugal
- **J. F. Martinez Navarro**  
*Boletín Epidemiológico Semanal* - Spain
- **H. Nohynek**  
Kansanterveys - Finland
- **T. Rønne**  
*EPI-NEWS* - Denmark
- **S. Salmaso**  
Istituto Superiore di Sanità - Italy
- **M. Sprenger**  
*Infectieziekten Bulletin* - Netherlands
- **L. Thornton**  
*Infectious Diseases Bulletin* - Ireland
- **F. Van Loock**  
*Epidemiologisch Bulletin van de Gezondheidsinspectie van de Vlaamse Gemeenschap* - Santé et communauté - Belgium

### DIRECTEUR DE LA PUBLICATION / MANAGING EDITOR

- **J. B. Brunet**  
Centre Européen pour la Surveillance Épidémiologique du Sida - Saint-Maurice - France

### RÉDACTEURS ADJOINTS / DEPUTY EDITORS

- **C. Akehurst**  
P.H.L.S - Communicable Disease Surveillance Centre - 61 Colindale Avenue London NW9 5EQ - United Kingdom  
Tel. (44) (0) 181 200 6868  
Fax. (44) (0) 181 200 7868
- **H. Therre**  
Centre Européen pour la Surveillance Épidémiologique du SIDA - 14 rue du Val d'Osne 94410 Saint-Maurice - France  
Tel. (33) (1) 41 79 68 33  
h.therre@ceses.org

### SECRETARIAT / SECRETARY

- **A. Goldschmidt**
- **F. Mihoub**

Saint-Maurice - France

### EUROSURVEILLANCE

Hôpital National de Saint-Maurice  
14, rue du Val d'Osne  
94410 Saint-Maurice  
Tel. (33) (1) 41 79 68 32  
Fax. (33) (1) 41 79 68 31  
ISSN: 1025 - 496X

### EUROSURVEILLANCE ON THE WEB

EUROSURVEILLANCE (mensuel / monthly)

<http://www.ceses.org/eurosurv>

EUROSURVEILLANCE WEEKLY

<http://www.eurosurv.org>