

## ► Réseaux

Deux projets européens ont été présentés pendant le séminaire. Le premier était CAMPYNET qui est un réseau pour la standardisation et l'harmonisation du sous-typage moléculaire de *Campylobacter jejuni/coli*. Le groupe a recueilli une série de 100 souches d'origine humaine, animale et environnementale provenant de multiples régions d'Europe. Les souches ont été spécifiées et caractérisées. La liste des caractéristiques des souches est disponible sur le site internet de CAMPYNET [www.svs.dk/campynet](http://www.svs.dk/campynet). Le second projet était l'étude portant sur l'évaluation et la description des méthodes de surveillance et d'analyses en laboratoire du *Campylobacter* en Europe (voir article dans ce numéro). ■

## ► Networks

Two EU network projects were presented in the workshop. The first one was Campynet, which is a network for the standardisation and harmonisation of molecular subtyping of *Campylobacter jejuni/coli*. The group collected a set of 100 strains from multiple locations throughout Europe and from human, animal and environmental sources. The strains have been speciated and characterised. The list of strain characteristics is available on the Campynet website [www.svs.dk/campynet](http://www.svs.dk/campynet). The second project was a study to evaluate and describe surveillance and laboratory methodologies for *Campylobacter* in Europe. This project is presented in a separate article in this issue. ■

## Reference

1. CHRO 2001. 11th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms. *Int J Med Microbiol* 2001; 291, suppl 31, 1-168.

## RAPPORT DE SURVEILLANCE

### Circulation clonale de *Salmonella enterica* sérovar Heidelberg en Italie ?

C. Mammina<sup>1</sup>, M. Talini<sup>2</sup>, M. Pontello<sup>3</sup>, Di Noto AM<sup>4</sup>, A. Nastasi<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Centre for Enteric Pathogens of Southern Italy (CEPIM), Dipartimento di Igiene e Microbiologia « G. D'Alessandro », Università di Palermo, Italia

<sup>2</sup> U.F. Biotossicologica, Azienda USL3, Pistoia, Italia

<sup>3</sup> Centre for Enteric Pathogens of Northern Italy (CEPIS), University, Milan, Italia

<sup>4</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia « A. Mirri », Palermo, Italia

<sup>5</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica, University, Florence, Italia

**L'étude décrite porte sur les caractéristiques phénotypiques et génétiques de 21 souches de *Salmonella* sérovar Heidelberg isolées entre 1999 et 2003, provenant de différentes sources en Italie. Ont été pris comme marqueurs épidémiologiques les profils de résistance aux antibiotiques, l'analyse plasmidique et le profil d'électrophorèse en champ pulsé.**

**Malgré l'hétérogénéité des deux premiers, les résultats de l'électrophorèse en champ pulsé sont en faveur d'une dissémination clonale à l'échelle nationale de ce sérotype associé à la volaille.**

#### Introduction

**S**almonella enterica sérovar Heidelberg (*S. Heidelberg*), appartenant aux salmonelles du groupe B, n'est apparemment responsable que d'une faible proportion de cas d'infections chez l'homme. Entre 1994 et 1997, *S. Heidelberg* était en dixième position parmi les sérotypes les plus fréquemment identifiés dans les isolats humains en Italie (1,3 % des isolats). Il n'est cependant pas classé parmi les dix premiers sérotypes d'après les données du système de surveillance Enter-Net Italia disponibles pour 1999, 2000 et 2001. Les données nationales du système de surveillance vétérinaire des Salmonella confirment la présence de ce sérotype dans l'environnement des élevages de poulets : en 2002, 6,5 % et 20,3 % des souches de salmonelles provenant de poulets et de dindes appartenaient à ce sérotype (1).

Des rapports provenant de pays comme les Etats-Unis et le Canada ont rapporté une forte prévalence du sérovar Heidelberg dans des sources humaines et non-humaines, essentiellement aliments et bétail (2-4). Layton et al ont décrit une épidémie survenue dans une maison de retraite, due à ce sérotype associé à *Campylobacter jejuni* (5).

## SURVEILLANCE REPORT

### Clonal circulation of *Salmonella enterica* serotype Heidelberg in Italy?

C. Mammina<sup>1</sup>, M. Talini<sup>2</sup>, M. Pontello<sup>3</sup>, Di Noto AM<sup>4</sup>, A. Nastasi<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Centre for Enteric Pathogens of Southern Italy (CEPIM), Dipartimento di Igiene e Microbiologia « G. D'Alessandro », Università di Palermo, Italia

<sup>2</sup> U.F. Biotossicologica, Azienda USL3, Pistoia, Italia

<sup>3</sup> Centre for Enteric Pathogens of Northern Italy (CEPIS), University, Milan, Italia

<sup>4</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia « A. Mirri », Palermo, Italia

<sup>5</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica, University, Florence, Italia

**Phenotypic and genetic characteristics of 21 strains of *Salmonella* serotype Heidelberg isolated in the years 1999 - 2003 from different sources in Italy were studied. Susceptibility patterns, plasmid analysis, and PFGE were used as epidemiological markers.**

**Although non-homogeneous drug resistance patterns and plasmid profiles had been detected, PFGE patterns suggest the hypothesis of a nationwide clonal spread of this serotype associated with poultry.**

#### Introduction

**S**almonella enterica serotype Heidelberg (*S. Heidelberg*) is a group B *Salmonella* which apparently accounts for a small proportion of cases of disease in humans. Between 1994 and 1997, *S. Heidelberg* was the tenth most frequently identified serotype isolated from humans in Italy (1.3% of all human isolates), although it does not appear among the top ten serotypes from the data from the Enter-Net Italia surveillance system available for 1999, 2000 and 2001. National data from the veterinary surveillance system of *Salmonella* serotypes do however confirm the presence of *S. Heidelberg* in the poultry farm environment, this serotype being identified in 2002 from 6.5% and 20.3%, respectively, of *Salmonella* strains from chicken and turkey (1).

Reports from countries including the United States (US) and Canada describe a high prevalence of the Heidelberg serotype in both human and non-human sources, mainly food and livestock (2-4). A nursing home outbreak attributable to this serotype, associated with *Campylobacter jejuni*, has also been reported by Layton et al (5).

En janvier 2002, à Pistoia, en Toscane, *S. Heidelberg* était à l'origine d'un cluster de cas, en l'occurrence deux enfants et leur père, asymptomatique. Celui-ci avait été contaminé sur son lieu de travail, un abattoir de volailles. La souche présentait une résistance plasmidique à l'ampicilline et aux sulphonamides. Simultanément, à Palerme (Sicile), une souche de *S. Heidelberg* possédant le même profil de résistance et le même profil plasmidique a été isolée à partir d'abats de poulets vendus au détail.

Entre mars et juin 2003, ce sérotype a de nouveau été identifié par le Centre des entérobactéries pathogènes d'Italie du sud (Centro per gli Enterobatteri Patogeni per l'Italia Meridionale, CEPIM), chez deux enfants et dans deux échantillons de poulets entiers à l'étal.

Une étude de typage couplant phénotypage et typage moléculaire, a été réalisée pour rechercher une relation entre les isolats de *S. Heidelberg* provenant de ces deux régions d'Italie. Une analyse rétrospective a été réalisée sur les isolats disponibles identifiés entre 1999 et 2001 dans différentes régions d'Italie.

In January 2002, a small family cluster of infections of *S. Heidelberg*, involving two children and their asymptomatic father, who was working in a poultry slaughterhouse, occurred in Pistoia, Tuscany. The strain exhibited plasmid-mediated resistances to ampicillin and sulphonamides. At the same time, in Palermo, Sicily, one *S. Heidelberg* strain with identical drug susceptibility pattern and plasmid profile was isolated from retail commercial chicken entrails. Between March and June 2003, *S. Heidelberg* was again identified at the Centro per gli Enterobatteri Patogeni per l'Italia Meridionale (Centre for enteric pathogens for southern Italy, CEPIM), from two paediatric cases and two samples of whole chicken on sale.

A typing study by phenotypic and molecular techniques was thus performed to substantiate a possible relationship between *S. Heidelberg* isolates from these two areas of Italy. A retrospective analysis of available isolates identified in the years 1999-2001 from different regions of Italy was also carried out.

**Tableau / Table**  
**Caractéristiques phénotypiques et génétiques des souches de *S. Heidelberg*, Italie 1999-2003 /**  
**Phenotypic and genetic characteristics of *S. Heidelberg* strains, Italy 1999 - 2003**

| Code de la souche / Strain code | Origine / Source   | Année du prélevement / Year of isolation | Profil de résistance aux médicaments / Drug resistance pattern |    |                        |    |    |              | Profil plasmidique / Plasmid profile | Profil électrophorétique XbaI / XbaI-PFGE pattern | Profil électrophorétique BlnI / BlnI-PFGE pattern |
|---------------------------------|--|--|--|----|------------------------|----|----|--------------|--------------------------------------|---|---|
| 1                               | Poulet, Palerme, Sicile / Chicken, Palermo, Sicily                                   | 2003                                     | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 2                               | Poulet, Agrigente, Sicile / Chicken, Agrigento, Sicily                               | "  | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 3                               | Humaine, Palerme, Sicile / Human, Palermo, Sicily                                    | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | c                                    | X-A1  | B-A1  |
| 4                               | Humaine, Pistoia, Toscane / Human, Pistoia, Tuscany                                  | 2002                                     | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 5                               |  | "  | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 6                               |  | "  | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 7                               | Humaine, Palerme, Sicile / Human, Palermo, Sicily                                    | 2001                                     | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 8                               | Viande de poulet préparée, Palerme, Sicile / Processed chicken meat, Palermo, Sicily | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | b                                    | X-A1  | B-A2  |
| 9                               | Eaux usées, Ragusa, Sicile / Sewage, Ragusa, Sicily                                  | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | c                                    | X-A1  | B-A1  |
| 10                              | Abats de poulet, Palerme, Sicile / Chicken entrails, Palermo, Sicily                 | 2002                                     | Ap   | Su |                        |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 11                              | Humaine, Palerme, Sicile / Human, Palermo, Sicily                                    | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | c                                    | X-A1  | B-A1  |
| 12                              | Humaine, Côme, Lombardie / Human, Como, Lombardy                                     | 2000                                     | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | c                                    | X-A1  | B-A1  |
| 13                              | Humaine, Milan, Lombardie / Human, Milan, Lombardy                                   | 1999                                     |  | Su | Sm                     |    |    |              | a                                    | X-A1  | B-A1  |
| 14                              | Humaine, Milan, Lombardie / Human, Milan, Lombardy                                   | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na | Km           | d                                    | X-A1  | B-A3  |
| 15                              | Humaine, Milan, Lombardie / Human, Milan, Lombardy                                   | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | e                                    | X-A2  | nd*   |
| 16                              | Humaine, Dalmine, Lombardie / Human, Dalmine, Lombardy                               | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na | Km           | d                                    | X-A1  | B-A1  |
| 17                              | Humaine, Merate, Lombardie / Human, Merate, Lombardy                                 | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | c                                    | X-A1  | B-A1  |
| 18                              | Humaine, Cantù, Lombardie / Human, Cantù, Lombardy                                   | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | f                                    | X-B   | nd*   |
| 19                              | Humaine, Cantù, Lombardie / Human, Cantù, Lombardy                                   | "  | Ap   |    | Sm                     | Tc | Na |              | f                                    | X-B   | nd*   |
| 20                              | Humaine, Brindisi, Pouilles / Human, Brindisi, Apulia                                | "  |  |    | Sensible / susceptible |    |    | plasmid free | X-A3                                 | nd*   |   |
| 21                              | Humaine, Palerme, Sicile / Human, Palermo, Sicily                                    | "  |  |    |                        |    |    | "            | "                                    | X-C   | nd*   |

nd\* = non effectué / not done

## Matériels et méthodes

L'étude incluait 21 isolats d'origine humaine, de produits à base de poulet et de l'environnement de différentes régions d'Italie (tableau). Les données épidémiologiques sur les expositions possibles à des sources contaminées (aliments particuliers, voyage antérieur ou visite de ferme) n'étaient en général pas disponibles. Les échantillons d'aliments à base de poulet provenaient tous de volailles vendues à Palerme ou Agrigente (Sicile), mais préparées et commercialisées par deux usines de traitement de la volaille, possédant un réseau de distribution national.

Les profils de résistance ont été déterminés par la méthode des disques selon les critères du National Committee for Clinical Laboratory Standards (6). Le contenu plasmidique a été analysé par la méthode de lyse alkaline (7). L'électrophorèse en champ pulsé a été effectuée selon une procédure standard (8). La taille des ADN de référence utilisés était de l'ordre de taille du bactériophage ➤

## Materials and methods

The study included 21 isolates from human cases, chicken products and the environment from different regions of Italy (Table). Epidemiological data about possible exposures to contaminated sources (eating of particular foods, previous travel or farm visit) were unavailable for most cases. All samples of chicken were on sale in Palermo and Agrigento (Sicily), but processed and marketed by two poultry factories with nationwide distribution channels.

Susceptibility patterns were assessed by disk diffusion according to the criteria of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (6). Plasmid content was investigated by the alkaline lysis method (7). PFGE was performed by a standard procedure (8). The DNA size standard used was the bacteriophage lambda ladder ranging from 48.5 to 1.000 kb (Bio-Rad). Macrorestriction fragment patterns were visually ➤

► lambda, variant entre 48,5 et 1000 kb (Bio-Rad). Les profils de fragments de macrorestriction ont été analysés à l'œil et classés en fonction de recommandations existantes (9,10). Les isolats dont le profil électrophorétique présentait une différence de un à quatre fragments d'ADN étaient classés dans des sous-types de même profil. Pour les besoins de l'étude, il a été considéré que deux clones distincts de sérovar Heidelberg possédaient des profils d'électrophorèse en champ pulsé différents.

## Résultats

Cinq profils de résistance aux antibiotiques ont été identifiés parmi les isolats de *S. Heidelberg* étudiés (tableau). Le profil dominant – partagé par 11 isolats sur 21 – était caractérisé par une résistance à l'ampicilline, à la streptomycine, à la tétracycline et à l'acide nalidixique. Deux cas présentaient en outre une résistance à la kanamycine. Depuis 2001, la résistance à l'ampicilline et aux sulfonamides est devenue plus fréquent. Seules deux souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

Six profils plasmidiques – a à f – ont été identifiés parmi 19 isolats sur les 21 (tableau). Les deux isolats entièrement sensibles étaient dépourvus de plasmide.

Trois profils d'électrophorèse en champ pulsé *Xba*I, désignés X-A à X-C ont été mis en évidence (résultats non montrés). Le profil X-A présentait trois sous-types X-A1, X-A2 et X-A3 : le premier sous-type concernait 16 isolats sur 21 tandis que les autres n'étaient représentés que par un seul isolat chacun (tableau). L'ADN des 16 souches de profil électrophorétique *Xba*I X-A1 était digéré par *Bln*I. Quatorze d'entre elles étaient indiscernables et ont reçu le nom BA1 ; les deux autres présentaient deux sous-types distincts BA2 et BA3 et se distinguaient de BA1 par deux bandes (résultats non montrés).

## Discussion

Les souches de *S. Heidelberg* étudiées ici ne peuvent être considérées comme des échantillons représentatifs des souches circulant en Italie, du fait de la méthode de sélection utilisée. Cette limite est inhérente aux systèmes de surveillance passifs, comme ceux mis en place dans la plupart des pays européens pour les pathogènes entériques, basés sur une participation volontaire des laboratoires. Néanmoins, ces réseaux de surveillance sont souvent capables de retracer les voies de transmission de certains clones de *Salmonella* et de décrire les tendances spatio-temporelles des sérotypes les plus importants en termes de santé publique.

En dépit des sensibilités aux médicaments et des profils plasmidiques différents, les profils électrophorétiques suggèrent la dissémination d'une souche épidémiologique commune. L'électrophorèse en champ pulsé est un outil très efficace pour déterminer si des isolats sont d'origine clonale et son utilisation comme méthode standard dans les réseaux de surveillance moléculaire des *Escherichia coli* vérocytotoxigéniques et de *Salmonella* a déjà fait ses preuves depuis quelques années (11). De plus, les résultats d'une étude récente sur l'épidémiologie de *S. Heidelberg* aux Etats-Unis a montré la présence d'une souche clonale sur une période de dix ans suggérant la persistance possible d'une souche donnée sur un large territoire pendant une longue période (12). Ces résultats concordent avec ceux d'autres auteurs qui, pour l'électrophorèse, ont identifié une relation clonale entre différents isolats de *Salmonella*, mais ont trouvé des profils de résistance aux antibiotiques et des profils plasmidiques différents au sein d'un clone chromosomal apparemment unique (6,13,14). Dans notre étude, l'instabilité intrinsèque de l'ADN extra-chromosomal, la pression de sélection due à l'utilisation d'antibiotiques différents selon les endroits, et la grande période d'observation pourraient expliquer l'hétérogénéité des isolats de Heidelberg quant à leurs profils plasmidiques et leur profil de résistance. D'un autre côté, des marqueurs plus spécifiques de souches comme le profil de résistance et le profil plasmidique pourraient être plus effi-

► analyzed and classified by previously established guidelines (9, 10). Isolates with electrophoretic patterns differing by one to four DNA fragments were classified as subtypes of the same pulsetype. For the purpose of this study, different pulsetypes were considered to identify distinct clones of the Heidelberg serotype.

## Results

Five distinctive antimicrobial resistance profiles were identified among the *S. Heidelberg* isolates under study (Table). The predominant pattern - 11 of 21 isolates - was characterized by resistance to ampicillin, streptomycin, tetracycline and nalidixic acid, with the addition of kanamycin in two cases. Since 2001 the ampicillin-sulfonamides resistance pattern became more frequent. Two strains only were susceptible to all the antimicrobial agents tested.

Six plasmid profiles - a to f - were identified among 19 of the 21 isolates (Table). The two fully susceptible isolates were also plasmid free.

Three distinct *Xba*I PFGE patterns, designated X-A to X-C were observed. Within PFGE type X-A pattern there were three subtypes X-A1, X-A2 and X-A3. PFGE subtype X-A1 accounted for 16 of 21 isolates, whilst subtypes X-A2 and X-A3 were represented by a single isolate, respectively (Table). The DNAs of the 16 strains with *Xba*I-PFGE pattern X-A1 were digested by *Bln*I. Fourteen were indistinguishable and were assigned the pattern BA1; the remaining two were assigned two different subtypes BA2 and BA3, differing from BA1 by two bands each (data not shown).

## Discussion

The strains of *S. Heidelberg* investigated in this study cannot be considered as a representative sample of the strains circulating in Italy because of the selection method used. This is an inherent limit of passive surveillance systems, such as those set up in most European countries for enteric pathogens, that depend on voluntary adherence by peripheral laboratories. Nevertheless, these surveillance networks are often able to trace the transmission routes of some *Salmonella* clones and describe time and space trends of the serotypes of major interest to public health.

PFGE patterns appear to be consistent with the dissemination of a common outbreak strain, though different drug susceptibility and plasmid profiles have been found. PFGE analysis has indeed proved to be a very effective tool in determining whether some isolates are essentially clonal, and its application as the basic method in molecular surveillance networks of verocytotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* has already been successful for some years (11). Furthermore, the results of a recent study of *S. Heidelberg* epidemiology in the US have demonstrated the presence of a clonal strain over a ten year period, thus suggesting the possible persistence of a particular strain over a wide area for a prolonged period (12). Moreover, the results obtained concur with reports by other authors who have used PFGE to identify clonal relationship between *Salmonella* isolates, but found different antimicrobial resistance patterns and plasmid profiles within an apparently unique chromosomal clone (6,13,14). In our case too, the intrinsic instability of extra-chromosomal DNA, the selective pressure by use of different antibiotics in different places, and the broad period of observation might justify the heterogeneity of the Heidelberg isolates on the basis of their plasmid and drug resistance patterns. On the other hand, more strain-specific markers, such as the drug resistance pattern/plasmid profile,

plus efficaces que l'electrophorèse seule pour délimiter les voies de transmission locales de sérotypes de *Salmonella* provenant d'un même clone, comme Enteritidis, et probablement Heidelberg.

L'association d'un tel sérotype avec des hôtes aviaires et des œufs est connue depuis longtemps. Lors d'une étude menée en 1991 dans des élevages de poules pondeuses, *S. Heidelberg* était le sérotype dominant dans des échantillons d'ovaires. Sa capacité à pénétrer à l'intérieur des œufs de poule et à s'y développer a déjà été décrite (3,15). De plus, la prévalence élevée de la résistance à l'acide nalidixique dans les souches de *S. Heidelberg*, un sérotype zoonotique étroitement lié aux poulets et aux dindes, pourrait être liée à leur niche écologique. En effet, l'utilisation de fluoroquinolones est courante dans les élevages de poulets, et son association temporelle à l'augmentation des fréquences de résistance dans plusieurs sérotypes de *Salmonella*, dont Enteritidis est forte (16,17).

La diffusion clonale de génotypes prédominants est peut-être plus répandue qu'il n'est reconnu actuellement et implique peut-être d'autres sérotypes que Enteritidis et Typhimurium DT104. Ainsi en Italie, le sérotype Heidelberg est capable, apparemment, d'une dissémination clonale à l'échelle nationale par le biais de la volaille. Une étude plus large qui inclurait un échantillonnage plus représentatif de souches présentes en Italie et, si possible, dans d'autres pays européens, contribuerait à évaluer de façon plus fiable les caractéristiques épidémiologiques de ce sérotype de *Salmonella*. La surveillance épidémiologique moléculaire devrait être un outil de routine pour la détection et l'évaluation quantitative d'incidents inattendus liés aux sérotypes zoonotiques. ■

might be more successful than PFGE alone in delineating local transmission routes triggered by clonally spreading *Salmonella* serotypes, such as Enteritidis and, presumably, Heidelberg.

The association of such a serotype with avian hosts and eggs has been known for some time. *S. Heidelberg* was the predominant serotype recovered from ovary samples in a survey of layer flocks in 1991, and its ability to penetrate and grow into the interior of hens' eggs has been well documented (3,15). Moreover, the high prevalence of nalidixic acid resistance within strains of *S. Heidelberg*, a zoonotic serotype closely associated with chickens and turkeys, could be related to their ecological niche. Indeed, the use of fluoroquinolones is common in the poultry industry and is temporally strongly associated with raising frequencies of resistances in many *Salmonella* serotypes, including Enteritidis (16,17).

Clonal diffusion of some predominant genotypes may be more widespread than is currently recognized and involve *Salmonella* strains other than the traditional Enteritidis and Typhimurium DT104 complex. In Italy, Heidelberg serotype is apparently able to spread clonally nationwide through the poultry vehicle. A larger study involving a more representative sample of strains from Italy and, possibly, other European countries might more confidently evaluate epidemiological features of this *Salmonella* serotype. Molecular epidemiological monitoring should be a routine tool for detection, and quantitative assessment of unexpected events related to zoonotic serotypes. ■

## References

1. Enternet-Italia. Rapporti annuali sugli isolamenti di *Salmonella*. At: <http://www.iss.laboratori/leb/enternet>
2. Harris AA, Cherubin C, Biek R, Edwards LC. Frequency of *Salmonella* Typhimurium the year after a massive outbreak. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990; **13**: 25-30.
3. Schoeni JL, Glass KA, McDermott JL, Wong AC. Growth and penetration of *Salmonella* enteritidis, *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Typhimurium in eggs. *Int J Food Microbiol* 1995; **24**: 385-96.
4. Demczuk W, Soule G, Clark C, Ackermann HW, Easy R, Khakhria R, et al. Phage-based typing scheme for *Salmonella enterica* serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 4279-84.
5. Layton MC, Calliste SG, Gomez TM, Patton C, Brooks S. A mixed foodborne outbreak with *Salmonella* heidelberg and *Campylobacter jejuni* in a nursing home. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; **18**: 115-21.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. Approved Standard: M2-A7. Wayne, PA (United States): NCCLS; 2000.
7. Birnboim HC, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res* 1979; **7**: 1513-23.
8. Foodborne and Diarrheal Diseases Branch, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, National Centre for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention. Standardized molecular subtyping of Escherichia coli O157:H7 by pulsed-field gel electrophoresis: a training manual. Atlanta, United States: CDC; 1996.
9. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; **33**:2233-9.
10. Goering RV. The molecular epidemiology of nosocomial infection: An overview of principles, application, and interpretation. In: Specter, Bendinelli M, Friedman H, editors. Rapid detection of infectious agents. New York, United States: Plenum Pub Corp; 1998. p. 131-57.
11. Ransom G, Kaplan B. USDA uses PulseNet for food safety. *J Am Vet Med Assoc* 1998; **213**: 1107.
12. Virgin FW, Kubota KA, Ribot EM, Hunter SB. PFGE diversity among *Salmonella* Heidelberg in the United States. Proceedings of the International Conference on Emerging Infectious Diseases; 2002 March 24-27; Atlanta: CDC.
13. Cormican M, DeLappe N, O'Hare C, Doran G, Morris D, Corbett-Feeney G, et al. *Salmonella enterica* serotype Bredeney: antimicrobial susceptibility and molecular diversity of isolates from Ireland and Northern Ireland. *Appl Environ Microbiol* 2002; **68**: 181-6.
14. Hartmann FA, West SE. Utilization of both phenotypic and molecular analyses to investigate an outbreak of multidrug-resistant *Salmonella anatum* in horses. *Can J Vet Res* 1997; **61**:173-81.
15. Banhart HM, Dreesen DW, Bastien R, Pancorbo OC. Prevalence of *Salmonella enteritidis* and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. *J Food Prot* 1991; **54**: 488-491.
16. Threlfall EJ, Ward LR, Rowe B. Resistance to ciprofloxacin in non-typhoidal salmonellas from humans in England and Wales-the current situation. *Clin Microbiol Infect* 1999; **5**: 130-4.
17. Molbak K, Gerner-Smidt P, Wegener HC. Increasing quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *Emerg Infect Dis* 2002; **8**: 514-5. (<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no5/01-0288.htm>)

La liste des contacts nationaux est disponible sur le site web  
The list of national contacts is available on the web site

WWW.EUROSURVEILLANCE.ORG

Les articles publiés dans Eurosurveillance sont indexés par Medline/Index medicus.

Eurosurveillance est un bulletin européen sur la surveillance, la prévention et la lutte contre les maladies transmissibles soumis à un comité de lecture. Des traductions en italien, portugais et espagnol sont disponibles sur le site Internet.

Articles published in Eurosurveillance are indexed by Medline/Index Medicus.

Eurosurveillance is a European peer-reviewed bulletin on communicable disease surveillance, prevention and control. Translations in Italian, Portuguese and Spanish are accessible on the website.