

2m11.2747.1

Université de Montréal

Caractérisation du risque, pour l'humain,
associé aux souches aviaires d'*Escherichia coli*

par

François Caya

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
Option microbiologie

Juin 1999

©François Caya



1.5445.1

SF

607

U54

1999

v.014

Université de Montréal

Caractérisation du risque pour l'humain
associé aux souches aviaires d'Escherichia coli

par

François Cayz

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M.Sc.)

en sciences vétérinaires

Option microbiologie

Juin 1999

François Cayz



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Caractérisation du risque, pour l'humain,
associé aux souches aviaires d'*Escherichia coli*

Présenté par:
François Caya

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Robert Higgins,	président du jury
John M. Fairbrother,	directeur de recherche
Sylvain Quessy,	codirecteur de recherche
Serge Messier,	membre du jury

Mémoire accepté le99-08-03.....

SOMMAIRE

La cellulite et l'aérosacculite sont deux pathologies causées par *Escherichia coli* chez le poulet de chair. Ces deux maladies sont de plus en plus prévalentes. Puisque les lésions occasionnées sont souvent peu évidentes, la possibilité que des poulets affectés par ces maladies échappent aux contrôles vétérinaires est bien réelle. Comme les risques, pour la santé humaine, associés à la présence de cette bactérie dans les lésions sont méconnus, les politiques de condamnation de ces carcasses sont relativement sévères et augmentent donc les pertes pour l'industrie avicole. Face à cette situation et considérant la possibilité que des poulets contaminés par cette bactérie se retrouvent sur le marché de la consommation, il devenait important de caractériser le risque, pour l'humain, associé aux souches aviaires d'*E. coli*.

Le but de cette étude était de déterminer si les souches d'*E. coli* retrouvées dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite chez le poulet de chair constituent un risque pour la santé humaine. Pour ce faire, nous avons effectué la caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats humains et aviaires d'*E. coli*.

Nous avons d'abord observé que les isolats aviaires d'*E. coli* présentaient de plus forts pourcentages de résistance aux antibiotiques que les isolats humains. Ces résultats suggéraient déjà une certaine différence entre ces deux populations bactériennes. L'identification des facteurs de virulence a principalement permis de constater que les isolats aviaires ne produisaient aucune des toxines recherchées alors que 45% des isolats humains produisaient au moins une de ces toxines. Les pathotypes VT1-VT2-Eae et VT2-Eae, souvent associés avec le syndrome hémolytique et urémique et à la diarrhée sanguinolente chez l'humain, étaient les plus prévalents chez les isolats humains d'origine intestinale, mais n'étaient pas rencontrés chez les isolats aviaires. Aéro-Pap-Tsh et Aéro-Tsh étaient les pathotypes les plus communs dans l'échantillonnage aviaire, mais étaient très rarement rencontrés chez les isolats humains. Aucun isolat aviaire appartenant au sérotype O157 n'a été retrouvé, tandis que plusieurs isolats humains appartenaient à ce sérotype. Les sérotypes O78 et O2 étaient les plus fréquemment observés chez les isolats aviaires, mais étaient rarement retrouvés chez les isolats humains. Seulement trois

isolats aviaires ont démontré une possible relation génétique avec des isolats humains selon la technique d'électrophorèse à champs pulsés.

Les résultats de cette étude suggèrent que les politiques de condamnation des poulets de chair, affectés par ces pathologies, devraient être ajustées en accord avec le faible risque, pour la santé humaine, associé aux isolats aviaires d'*E. coli* retrouvés dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite.

TABLE DES MATIÈRES

IDENTIFICATION DU JURY	ii
SOMMAIRE	iii
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xi
DÉDICACE	xiii
REMERCIEMENTS	xiv
I. INTRODUCTION	1
II. REVUE DE LA LITTÉRATURE	2
1. Caractéristiques générales d' <i>Escherichia coli</i>	3
1.1 Description	3
1.2 Différents modes de classification d' <i>Escherichia coli</i>	3
1.2.1 Sérotypie	4
1.2.2 Autres méthodes de caractérisation	4
2. Classification d' <i>Escherichia coli</i> pathogène pour l'humain	5
2.1 <i>Escherichia coli</i> responsable de pathologies intestinales	5
2.1.1 <i>Escherichia coli</i> entérotoxigène (ETEC)	5
2.1.2 <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène (EPEC)	6
2.1.3 <i>Escherichia coli</i> entéro-invasive (EIEC)	7
2.1.4 <i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragique (EHEC)	7
2.1.5 <i>Escherichia coli</i> entéro-aggrégante (EAaggEC)	8
2.2 Facteurs de virulence des souches intestinales pathogènes d' <i>Escherichia coli</i>	8
2.2.1 Protéines membranaires de surface (OMP)	8
2.2.1.1 Intimine (Eae)	8
2.2.2 Adhésines	9
2.2.2.1 Antigène du facteur de colonisation (CFA)	9
2.2.2.2 Fimbriae des souches intestinales d'origine animale	9

2.2.3	Toxines	9
2.2.3.1	Entérotoxines thermostables (STa et STb)	9
2.2.3.2	Entérotoxines thermosensibles (LTI et LTII)	10
2.2.3.3	Vérotoxines (VT1 et VT2)	11
2.3	<i>Escherichia coli</i> responsable d'infections extra-intestinales	12
2.3.1	<i>Escherichia coli</i> uropathogène (UPEC)	12
2.3.2	<i>Escherichia coli</i> causant la septicémie (SEPEC)	12
2.3.3	<i>Escherichia coli</i> causant la méningite (MENECC)	13
2.4	Facteurs de virulence des souches extra-intestinales d' <i>Escherichia coli</i>	13
2.4.1	Adhésines	13
2.4.1.1	Fimbriae P	13
2.4.1.2	Fimbriae S	14
2.4.1.3	Adhésines afimbriaires (AFAs)	15
2.4.1.4	Adhésines non-fimbriaires (NFAs)	15
2.4.2	Toxines	15
2.4.2.1	Hémolysine α	15
2.4.2.2	Facteur cytotoxique et nécrosant CNF1	16
2.4.3	Type capsulaire K1	17
2.4.4	Lipopolysaccharides (LPS)	17
2.4.5	Aérobactine	18
3.	Colibacillose aviaire	18
3.1	Généralités	18
3.2	Description des pathologies	19
3.2.1	Cellulite	19
3.2.2	Aérosacculite	20
3.3	Sérotypes et facteurs de virulence des APEC	20
3.3.1	Sérotypes	21
3.3.2	Fimbriae de type 1	21
3.3.3	Fimbriae P	21
3.3.4	Héماغglutinine thermosensible (Tsh)	22

3.3.5 Aéro bactéine	22
3.3.6 Résistance au sérum	22
3.3.7 Type capsulaire K1	23
4. Animaux: sources d' <i>Escherichia coli</i> pathogène pour l'humain	23
5. Problématique et objectifs	24
5.1 Problématique	24
5.2 Objectifs	25
5.2.1 Objectif général	25
5.2.2 Objectifs spécifiques	25
III. MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS	26
Article: Characterization of the risk to human health of pathogenic <i>Escherichia coli</i> isolates from chicken carcasses. Journal of Food Protection (publication en juillet 1999)	27
IV. DISCUSSION ET CONCLUSION	48
1. Antibiorésistance des souches humaines et aviaires d' <i>Escherichia coli</i>	49
2. Facteurs de virulence des souches humaines et aviaires d' <i>Escherichia coli</i>	51
2.1 Prévalence des facteurs de virulence	51
2.2 Prévalence des pathotypes	52
2.2.1 Pathotypes humains	53
2.2.2 Pathotypes aviaires	53
2.2.3 Pathotypes communs	54
3. Sérogroupes des isolats humains et aviaires d' <i>Escherichia coli</i>	54
4. Analyse des profils génotypiques des isolats d' <i>Escherichia coli</i>	56
4.1 Analyse des profils génotypiques des isolats humains	56
4.2 Analyse des profils génotypiques des isolats aviaires	57
4.3 Analyse des profils génotypiques des isolats aviaires et humains	57
5. Conclusions	59
V. BIBLIOGRAPHIE	60
VI. ANNEXES	xv
Annexe 1: Tableau complémentaire	xvi

Annexe 2: Figures complémentaires xviii

LISTE DES TABLEAUX

MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

Table 1.	<i>In vitro</i> antibiotic resistance of human and avian <i>Escherichia coli</i> isolates.	44
Table 2.	Comparison of pathotypes of human and avian <i>Escherichia coli</i> isolates.	45
Table 3.	O serogroups of human and avian <i>Escherichia coli</i> isolates.	46

ANNEXES

Tableau IV.	Facteurs de virulence des isolats humains et aviaires d' <i>Escherichia coli</i>	xvii
-------------	--	------

LISTE DES FIGURES

MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

- Figure 1. Representative dendrogram derived from genotypic profiles of human and avian *Escherichia coli* isolates. PFGE profiles were compared with each other by using the Dice similarity coefficient. 47

ANNEXES

- Figure 2. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale et extra-intestinale d'*Escherichia coli*. xix
- Figure 3. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats aviaires d'*Escherichia coli*. xx
- Figure 4. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats humains d'origine extra-intestinale et des isolats aviaires d'*Escherichia coli*. xxi
- Figure 5. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale et des isolats aviaires d'*Escherichia coli*. xxii

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACIA	Agence Canadienne d'Inspection des aliments
AEEC	Attaching and effacing <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> attachantes et effaçantes)
Aéro	Aérobactine (sidérophore)
AFA	Afimbrial adhesin (Adhésine "afimbriaire")
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
APEC	Avian pathogenic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> pathogènes pour les aviaires)
CFA	Colonizing factor antigen (Antigène-facteur de colonisation)
CNF	Cytotoxic necrotizing factor (Facteur cytotoxique et nécrosant)
CS	Coli surface antigen (Antigène de surface des "coli")
Eae	Intimine
EaggEC	Enteroaggregative <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> entéro-aggrégantes)
EAST	EAggEC heat-stable enterotoxin (Entérotoxine thermostable des EAggEC)
EHEC	Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> entérohémorragiques)
EIEC	Enteroinvasive <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> entéro-invasives)
EPEC	Enteropathogenic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> entéro-pathogènes)
ETEC	Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> entérotoxinogènes)
F	Fimbrial antigen (Antigène "fimbriaire")
Gb3	Globotriosyl ceramide
Gb4	Globotetraosyl ceramide
GMPC	Guanosine monophosphate cyclique
H	Flagellar antigen (Antigène flagellaire)
Hbp	Hemoglobin protease (Protéase de l'hémoglobine)
Hly	α -haemolysin (Hémolysine α)
HUS	Haemolytic and uremic syndrome (Syndrome hémolytique et urémique)
IBV	Infectious bronchitis virus (Virus de la bronchite infectieuse)
IgA	Immunoglobuline A
K	Capsular antigen (Antigène capsulaire, de l'allemand "Kapsel")
kDa	Kilodaltons

KDO	3-kéto-déoxyoctonate
LEE	Locus of enterocyte effacement (Locus de l'effacement des entérocytes)
LPS	Lipopolysaccharides
LT	Heat-labile toxin (Toxine thermolabile)
MDa	Mégadaltons
MENEC	Meningitis <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> causant des méningites)
MLEE	Multi-locus enzyme electrophoresis
NDV	NewCastle disease virus (Virus de la maladie de NewCastle)
NFA	Non-fimbrial adhesin (Adhésine "non-fimbriaire")
O	Polysaccharidic antigen of LPS (Antigène polysaccharidique des LPS)
OMP	Outer membrane proteins (Protéines membranaires de surface)
Pap	Pyelonephritis-associated pili (Pili associé à la pyélonéphrite)
PFGE	Pulse field gel electrophoresis (Électrophorèse à champs pulsés)
RAPD	Random amplified polymorphic DNA
SEPEC	Septicemic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> à septicémie)
SFA	S-Sialic acid specificity-fimbrial adhesin (Adhésine "fimbriaire" spécifique à l'acide sialique)
SLT	Shiga-like toxin (Toxine "Shiga-like")
ST	Heat-stable toxin (Toxine thermostable)
Tsh	Temperature-sensitive hemagglutinin (Hémagglutinine sensible à la température)
UPEC	Uropathogenic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> uropathogènes)
UTI	Urinary tract infection (Infection du tractus urinaire)
VT	Vérotoxines
VTEC	Verotoxigenic <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> vérotoxino-gènes)

DÉDICACE

À Gilles,

À Nathalie, Sylvie, Suzanne,

... et à Monique, ma source intarissable de courage.

**«Dis-lui que la crainte de la souffrance est pire
que la souffrance elle-même.**

**Et qu'aucun coeur n'a jamais souffert alors
qu'il était à la poursuite de ses rêves»**

-Alchimiste (Paulo Coelho), L'Alchimiste.

REMERCIEMENTS

Un projet de maîtrise, c'est un gros travail d'équipe. J'aimerais remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à cette aventure:

- ☺ Le docteur John Morris Fairbrother, pour m'avoir dirigé de façon très humaine
- ☺ Le docteur Sylvain Quessy, pour son optimisme sans borne et pour la confiance qu'il m'a donnée
- ☺ Louise Lessard, pour sa soif de connaissances et son dévouement
- ☺ La docteure Dominique Dugourd, pour sa précieuse aide lors de mes problèmes avec la technique d'électrophorèse à champs pulsés
- ☺ Lisette Beaudoin, pour sa participation à la technique d'hybridation sur colonies
- ☺ Annette Deschênes, pour la sérotypie des souches
- ☺ Laure Dudet Bélanger, pour avoir fait les antibiogrammes et surtout pour son support tout au long du projet
- ☺ La docteure Martine Boulianne, pour son appui et ses judicieux conseils
- ☺ Le docteur Serge Messier, pour ses encouragements
- ☺ Le personnel et les étudiants du Laboratoire d'Hygiène Vétérinaire et Agro-alimentaire de St-Hyacinthe, pour l'ambiance exceptionnelle de travail
- ☺ Le personnel et les étudiants du département, pour les belles rencontres amicales
- ☺ L'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments, pour le support financier du projet
- ☺ Les étudiants de la Promotion 1996-2000 du Doctorat en Médecine Vétérinaire, pour avoir rendu l'atmosphère d'étude des plus stimulante
- ☺ Toute les personnes que je n'ai pas nommées, mais qui, par un sourire ou une tape sur l'épaule, m'ont témoigné leur appui
- ☺ La gang des Ex-Mackines, pour votre amitié de toujours
- ☺ Michel Mauger, pour m'avoir donné la mentalité de gagnant qu'il me fallait à la toute fin
- ☺ Ma famille, mes amis, pour leur présence constante.

INTRODUCTION

Escherichia coli est l'agent étiologique d'une multitude de pathologies primaires et secondaires chez le poulet de chair. Parmi ces conditions, la cellulite et l'aérosacculite sont les plus fréquemment rencontrées sur les chaînes d'abattage. Puisque le potentiel de pathogénicité des souches aviaires d'*E. coli* pour l'humain est méconnu, les politiques de condamnations sont sévères et entraînent des pertes économiques considérables pour l'industrie avicole.

Face à l'augmentation de la prévalence de ces deux conditions, il devenait important d'évaluer le potentiel de pathogénicité des souches aviaires d'*E. coli*. Il importait de maintenir une bonne hygiène de la viande de volaille tout en examinant la possibilité de parer les carcasses atteintes pour réduire les pertes économiques. Il s'est avéré important de déterminer si les souches d'*E. coli* retrouvées dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite chez le poulet de chair constituent un risque pour la santé humaine.

II- REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. Caractéristiques générales d'*Escherichia coli*

1.1 Description

Theodor Escherich fut le premier, en 1885, à décrire un micro-organisme, isolé des fèces de nouveau-nés, qu'il nomma *Bacterium coli commune*. Plus tard, on s'inspira du nom du découvreur pour donner le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie dont la caractérisation, de nos jours, est sans doute la plus documentée. *E. coli* est une bactérie en forme de bâtonnet, Gram négatif, non-sporulante et anaérobie facultative (9).

Escherichia coli est un habitant de la microflore intestinale normale des vertébrés et fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Escherichia* compte 5 espèces dont *E. coli* est la plus importante (9).

1.2 Différents modes de classification d'*Escherichia coli*

Étant l'une des bactéries les plus étudiées, plusieurs méthodes de classification et de caractérisation ont été développées pour différencier les multiples isolats d'*E. coli*. Avant d'élaborer sur ces différentes méthodes de classification, il serait important de faire une distinction entre un génotype, un phénotype et un pathotype. En effet, ces différents termes sont régulièrement utilisés de façon inadéquate.

Tout d'abord, le génotype représente l'ensemble du matériel génétique que possède un organisme. Le phénotype signifie l'expression de cette information génétique sur laquelle agit la sélection naturelle. Finalement, le terme pathotype devrait être utilisé lorsque l'on fait référence à une combinaison de facteurs de virulence que possède une souche. Ces facteurs de virulence peuvent être détectés par génotypie (sondes génétiques par exemple) ou par phénotypie (hémolyse sur gélose sang par exemple). Parallèlement à cette notion de pathotype, les souches entériques pathogènes d'*E. coli* sont différenciées en plusieurs classes selon la présence de certains facteurs de virulence, les lésions observées et les signes cliniques associés. Ainsi, on reconnaît cinq classes soient les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), entéro-toxinogènes (ETEC), entéro-invasives (EIEC), entéro-hémorragiques (EHEC) et entéro-aggrégantes (EaggEC). Trois classes de souches d'*E. coli* extra-intestinaux sont aussi reconnues, soient celles occasionnant des septicémies (SEPEC), des méningites (MENEK) ou des infections urinaires (UPEC). Aussi, on associe

une classe aux souches pathogènes aviaires d'*E. coli* (APEC) (46). Les manifestations cliniques ainsi que les différents facteurs de virulence associés à ces classes seront discutés plus loin.

1.2.1 Sérotypie

La sérotypie est une méthode de classification très développée pour l'espèce *E. coli*. En effet, plusieurs milliers de sérotypes peuvent être identifiés selon la présence de différents antigènes de surface comprenant les lipopolysaccharides (Antigènes O), la capsule (Antigènes K), les flagelles (Antigènes H) ainsi que les fimbriae (Antigènes F).

L'antigène somatique O, dont on dénombre 167 sérogroupes, est constitué de complexes de phospholipides et de polysaccharides. L'antigène capsulaire K, qui compte 74 sérogroupes, est un facteur polysaccharidique acide qui interfère parfois avec le pouvoir agglutinant de l'antigène O. L'antigène H, compte 53 sérogroupes et représente les flagelles conférant la mobilité de la bactérie. Finalement, l'antigène F, dont on dénombre plus d'une vingtaine de sérogroupes, représente les structures servant à l'attachement des bactéries aux surfaces épithéliales de l'hôte (110).

Bien qu'il existe généralement plus d'un sérotype pouvant être impliqués dans une pathologie, certains sérotypes sont caractéristiques de certaines conditions. Ainsi, les souches du sérotype O157:H7 sont, pour la plupart, productrices de vérotoxines et appartiennent au groupe des *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) (162).

1.2.2 Autres méthodes de caractérisation

Bien que la sérotypie soit un outil pratique et largement utilisé en épidémiologie, elle a par contre ses limites et ses inconvénients. En effet, comme toute autre méthode de caractérisation phénotypique, les variations dans l'expression du génome peuvent amener des différences dans les phénotypes observés. Ainsi, de plus en plus, on développe des méthodes de caractérisation génotypiques où les variations dans l'expression n'interfèrent pas puisque c'est l'ADN lui-même qui est caractérisé. Les méthodes de caractérisation génotypiques les plus utilisées pour *E. coli* sont le ribotypage, le "multi-locus enzyme electrophoresis" (MLEE), le "random amplified polymorphic DNA" (RAPD) et

l'électrophorèse à champs pulsés (PFGE) (142, 153, 183).

Ces différentes techniques sont souvent comparées pour déterminer leur pouvoir discriminatoire respectif, c'est-à-dire la capacité de différencier des isolats. Pour ce faire, on peut se baser sur l'index de diversité Simpson. Cet index permet de déterminer l'habileté discriminatoire des différentes méthodes de caractérisation (82). Plusieurs études ont démontré que l'électrophorèse à champs pulsés, comparée aux autres méthodes de caractérisation, présente un index de diversité plus élevé, donc un plus fort pouvoir discriminatoire (8, 101, 104, 173).

2. Classification d'*Escherichia coli* pathogène pour l'humain

Bien qu'*E. coli* soit un membre de la microflore intestinale normale des humains, certaines souches peuvent causer des maladies chez ces derniers. La distinction entre les souches commensales et pathogènes est basée sur la présence de facteurs de virulence qui permettent aux bactéries pathogènes soit de plus facilement coloniser l'hôte ou de pouvoir résister à son système de défense.

2.1 *Escherichia coli* responsable de pathologies intestinales

Les différentes classes incluses dans les infections entériques causées par *E. coli* sont définies selon les facteurs de virulence impliqués, le type de lésions et les signes cliniques rencontrés.

2.1.1 *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC)

Les souches entérotoxigènes d'*E. coli* sont responsables de diarrhées aqueuses sévères accompagnées de fièvre, de crampes abdominales et de vomissements, chez les enfants des pays en voie de développement principalement. Chez les personnes habitant les pays industrialisés, les ETEC causent la diarrhée des voyageurs (162). De plus, les ETEC peuvent aussi affecter les jeunes sujets des espèces bovines, porcines et caprines (107).

Malgré les signes cliniques sévères associés à une infection à ETEC, peu de changements histologiques sont observés sur les entérocytes. Seulement une légère inflammation est observée (162). On peut expliquer cette intégrité des entérocytes par le mode d'action des ETEC. Ces derniers agissent par l'intermédiaire d'entérotoxines qui interfèrent avec le métabolisme cellulaire et ce, sans affecter l'apparence des cellules (125). Les souches entérotoxinogènes d'*E. coli* produisent des entérotoxines thermostables (heat-stable toxins STa et STb) et/ou des entérotoxines thermolabiles (heat-labile toxins LT1 et LT2). Toutes les souches ETEC produisent au moins une de ces toxines (107). Les adhésines qui permettent aux ETEC d'adhérer aux entérocytes sont les fimbriae de type 1 ainsi que les facteurs antigéniques de colonisation (Colonization Factor Antigen) CFA/I, CFA/II et CFA/IV (125). Présent chez des souches de la microflore normale, le fimbriae de type 1 est de moins en moins considéré comme un facteur de virulence (162). Il est intéressant de noter que certains sérotypes sont associés à un type spécifique de CFA (125). Les sérogroupes les plus souvent isolés chez les souches ETEC humaines sont O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128, O139, O148, O153, O159 et O167.

2.1.2 *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC)

Les souches entéropathogènes d'*E. coli* causent une diarrhée accompagnée de fièvre, de nausées et de vomissements. Elles sont fréquemment impliquées chez les enfants des pays en voie de développement. La sévérité des signes cliniques des infections causées par les EPEC serait plus grande que pour toute autre infection diarrhéique infantile (107). En Amérique du Sud, on évalue même que les infections à EPEC seraient la deuxième, sinon la première plus importante cause de diarrhée d'origine bactérienne (185).

Contrairement aux ETEC, les souches entéropathogènes d'*E. coli* occasionnent une profonde altération de l'ultrastructure des entérocytes. En effet, les microvilli sont anormalement plus longs lorsque les bactéries ne sont pas attachées et totalement absents aux endroits où les bactéries adhèrent. Ainsi, ces souches sont qualifiées d'attachantes et effaçantes (Attaching-effacing *E. coli*). Puisqu'elles sont plus invasives que les ETEC, les EPEC causent une réponse inflammatoire marquée (162). Cet accollement intime des

bactéries aux entérocytes est possible grâce à la présence d'une protéine de surface (OMP) qualifiée d'intimine ou Eae. Cette protéine serait entièrement codée par le gène *eae* dans une région du chromosome de 34 kb nommée LEE (Locus of Enterocyte Effacement)(91). Plusieurs sérogroupes sont retrouvés au sein des souches EPEC: les plus fréquemment rencontrés sont O55, O86, O111, O119, O125, O126, O127, O128 et O142.

2.1.3 *Escherichia coli* entéro-invasive (EIEC)

Les souches entéro-invasives d'*E. coli* ressemblent fortement à celles de *Shigella* spp. tant au point de vue des réactions biochimiques, de la virulence, que du type de maladie occasionné(52). Les EIEC causent une diarrhée aqueuse accompagnée de fièvre et de crampes abdominales suivies d'une dysenterie où les fèces sont mucoïdes (107). Les diarrhées engendrées par les EIEC sont observées principalement dans les pays en voie de développement, mais aussi dans les pays industrialisés. La majorité des cas observés dans les pays industrialisés sont d'origine alimentaire(112). La nourriture contaminée serait donc le principal mode de transmission de ces bactéries. La virulence des souches EIEC réside principalement dans leur pouvoir d'invasion. Les bactéries envahissent activement les cellules épithéliales du côlon et se dispersent latéralement aux cellules adjacentes selon le même principe que *Shigella* spp. D'ailleurs, les souches EIEC et *Shigella* spp. sont porteuses d'un plasmide qui code pour un gène conférant la capacité d'invasion cellulaire (76). Les sérogroupes les plus caractéristiques des souches entéro-invasives d'*E. coli* sont O28, O29, O124, O143, O144, O152 et O164.

2.1.4 *Escherichia coli* entéro-hémorragique (EHEC)

Les souches entéro-hémorragiques d'*E. coli* sont associées, dans les pays industrialisés, à des diarrhées sanguinolentes, des colites hémorragiques et au syndrome hémolytique et urémique (HUS) (125). Les taux de HUS associés aux infections à EHEC peuvent s'élever à 20% (64). L'une des principales sources de contamination à EHEC chez l'humain serait la viande de boeuf hachée, bien que la volaille, le porc et l'agneau puissent être aussi porteurs (47). Trois facteurs de virulence sont reconnus chez les

souches EHEC. Les vérotoxines de type 1 et 2 (VT1 et VT2) sont les facteurs les plus caractéristiques. Un fort pourcentage de souches EHEC possède aussi un plasmide de 60 MDa qui serait impliqué dans la production d'un fimbriae. Finalement, tout comme les souches EPEC, la plupart des souches EHEC produisent une intimine codée par le gène *eae*, qui se trouve dans la région LEE et participe à la formation de lésions de type attachante-effaçante (208). Les principaux sérogroupes caractérisant les souches EHEC sont O157, O26 et O111 (107).

2.1.5 *Escherichia coli* entéro-aggrégante (EAggEC)

Les souches entéro-aggrégantes d'*E. coli* sont principalement associées à des cas de diarrhée persistante chez les jeunes enfants des pays en voie de développement (199). Cependant, elles peuvent aussi occasionner des diarrhées chez les adultes, notamment chez les personnes immunosupprimées (105, 170). Les souches EAggEC sont principalement caractérisées par leur habileté à adhérer à des cellules (HEp-2) en culture en formant des agrégats caractéristiques de bactéries (38).

À l'exception de l'adhérence aux cellules en culture, ce groupe de bactéries est très hétérogène et peut présenter différents facteurs de virulence. Parmi ceux-ci, il y a une entérotoxine, similaire à la toxine thermostable des ETECs, que l'on nomme EAST1 (164). Une protéine membranaire de surface de 18 kDa est aussi fréquemment retrouvée chez les EAggEC et serait impliquée dans l'adhérence particulière de ces souches (32). Une protéine ayant une homologie antigénique avec l'hémolysine d'*E. coli* est parfois retrouvée dans le surnageant de cultures de souches EAggEC (6). Finalement, plusieurs souches EAggEC sont hémagglutinantes (154). L'interaction entre ces différents facteurs de virulence n'est pas encore assez connue pour bien comprendre la pathogénie des souches EAggEC. Il n'y a pas de sérotype caractéristique de ce groupe.

2.2 Facteurs de virulence des souches intestinales pathogènes d'*Escherichia coli*

2.2.1 Protéines membranaires de surface (OMP)

2.2.1.1 Intimine (Eae)

L'intimine Eae est un facteur de virulence chromosomique codé par le gène *eae A*

des souches entéropathogènes et entéro-hémorragiques d'*E. coli* humaines. Ce facteur de virulence a également été retrouvé chez des souches d'*E. coli* isolées des fèces de porcs (2, 209), de lapins (2, 209) et de chevaux (78). Aussi, on a pu démontrer une relation antigénique entre l'intimine des souches d'*E. coli* de lapins, de porcs et d'humains (2, 209). L'intimine Eae est une protéine membranaire de surface de 94 kDa qui est impliquée dans le développement des lésions de type attachant-effaçant.

2.2.2 Adhésines

2.2.2.1 Antigène du facteur de colonisation (CFA)

Les antigènes du facteur de colonisation (Colonization Factor Antigen) sont des fimbriae principalement d'origine plasmidique. Ils peuvent constituer des complexes de sous-unités appelés "coli surface antigens" (CS) (175). Ils sont responsables de l'attachement des bactéries à la muqueuse intestinale chez l'humain. Cet attachement se ferait préférentiellement sur les glycoprotéines plutôt que sur les glycolipides des entérocytes (201). Les CFAs seraient responsables du développement d'une immunité contre les souches entérotoxigéniques d'*E. coli* (177).

2.2.2.2 Fimbriae des souches intestinales d'origine animale

Plusieurs adhésines sont retrouvées chez les souches intestinales animales d'*E. coli*: K88 (F4), K99(F5), 987P (F6), F41, F17, F42, F141, F165, CS31A et CS1541. La majorité de ces fimbriae appartiennent à des souches ETEC isolées chez le porc et le bovin (175).

2.2.3 Toxines

2.2.3.1 Entérotoxines thermostables (STa et STb)

Les deux entérotoxines thermostables STa et STb, bien qu'ayant des noms similaires, sont très différentes. Les seules caractéristiques qu'elles ont en commun sont la thermostabilité, un poids moléculaire faible et la capacité d'interférer avec le mouvement de l'eau et des électrolytes à travers l'épithélium intestinal (69).

L'entérotoxine STa, aussi nommé STI, est un facteur de virulence codé par un plasmide qui porte souvent des gènes codant aussi pour d'autres facteurs de virulence, notamment des facteurs de colonisation. Cette entérotoxine est retrouvée aussi chez des souches d'origine porcine, bovine, aviaire et humaine d'*E. coli* (4, 68, 111, 117, 205). Le récepteur de la toxine STa est une glycoprotéine ou une protéine (49, 56) associée à la guanylate cyclase (197). L'activation de la guanylate cyclase entraîne une hausse de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) (81) favorisant éventuellement le relâchement des fluides intracellulaires vers la lumière intestinale (96).

Tout comme STa, l'entérotoxine STb est codée par un plasmide hétérogène qui porte aussi des gènes codant pour d'autres facteurs de virulence comme les facteurs de colonisation, la résistance aux antibiotiques, la production de colicine et d'autres toxines comme STa et LT (75). Contrairement à STa, l'entérotoxine STb n'est retrouvée que chez les ETEC d'origine porcine (69). L'entérotoxine STb n'occasionne aucune modification des niveaux d'AMPc ou de GMPc. Finalement, Dreyfus et collaborateurs (50) ont suggéré que la toxine STb ouvrirait un canal de la membrane plasmique dépendant du calcium qui serait lié à une protéine régulatrice de liaison du GMP.

2.2.3.2 Entérotoxines thermosensibles (LTI et LTII)

Deux sous-types de toxines thermosensibles sont reconnus, soit la toxine LT-I et la toxine LT-II. Le sous-type LT-I se divise en deux sous-groupes; LT-*Ip* qui est exprimé par des souches d'origine porcine et LT-*Ih* par des souches isolées chez l'humain. L'entérotoxine thermosensible I ou LT-I est un facteur de virulence plasmidique, mais certains gènes situés dans le chromosome bactérien peuvent modifier son niveau d'expression (94, 127). Comme la toxine du choléra, avec laquelle on observe 75% de similarité dans la séquence des acides aminés (162), LT-I est composée de 2 sous-unités, soit A et B. Le fragment A1 de la sous-unité A est responsable de l'activité biologique, alors que le fragment A2 est responsable de la liaison du fragment A1 à la sous-unité B (179). La liaison du fragment B se fait avec le récepteur GM1 retrouvé à la surface de certaines cellules (121). Une fois fixé à son récepteur, LT-I modifie le transport de certains ions par l'activation de l'adénylate cyclase, entraînant ainsi une augmentation intracellulaire

d' AMPc (122). Cette augmentation d' AMPc entraîne la phosphorylation de protéines responsables des mécanismes de transport des ions. Ainsi, l'inactivation des mécanismes de transport des ions résulte en une hypersécrétion intestinale (161).

L'entérotoxine LT-II est un facteur de virulence dont la structure est codée par le chromosome bactérien (69). Le gène codant pour LT-II a été retrouvé chez des souches isolées chez des humains, des bovins et des bisons (172). La structure de LT-II est similaire à celle de LT-I (67, 79). La différence entre LT-I et LT-II est démontrée par le fait que LT-II n'est pas neutralisée par les anticorps dirigés contre la toxine du choléra ou contre la toxine LT-I (69). LT-II a le même mécanisme de virulence que LT-I, soit l'augmentation intracellulaire d' AMPc (79).

2.2.3.3 Vérotoxines (VT1 et VT2)

Le terme vérotoxine provient du fait que ces cytotoxines sont létales pour les cellules Véro (cellules rénales de singe vert africain) (97). Par la suite, le terme "Shiga-like toxin" (SLT) fut employé puisque la toxine Shiga, produite par *Shigella dysenteriae*, et la vérotoxine produite par la souche H30 d'*E coli* étaient identiques aux points de vue physico-chimique et biologique (133). Deux types antigéniques de vérotoxine ont été caractérisés, soit VT1 et VT2 (93). Différents sous-types de VT2 ont été aussi identifiés; VT2c, VT2d et VT2e (70).

Les vérotoxines sont constituées de 2 sous-unités. La sous-unité A est la portion de la toxine possédant l'activité biologique alors que la sous-unité B contient le site d'attachement de la toxine aux récepteurs des cellules de l'hôte. Le récepteur des vérotoxines VT1 et VT2 est le globotriosyl ceramide (Gb3) (109, 196) et le récepteur de VT2e est le globotetraosyl ceramide (Gb4) (163).

Les vérotoxines inhibent la synthèse protéique des cellules eucaryotes en ayant une activité ARN-N-glycosidase. L'absence de synthèse protéique conduit à la mort cellulaire. Les gènes codant pour les vérotoxines VT1 et VT2 sont transportés par des bactériophages (169). Les vérotoxines sont très immunogènes et des anticorps anti-vérotoxines ont été retrouvés chez des patients atteints de diarrhée et de HUS (63). La vaccination avec une forme génétiquement modifiée de VT2e a conféré une protection

humorale contre la maladie de l'œdème chez des porcs (21).

Les vérotoxines sont les facteurs de virulence les plus caractéristiques des souches EHEC responsables de diarrhées sanguinolentes et du syndrome hémolytique et urémique (HUS) chez l'humain. Plusieurs espèces d'animaux peuvent être porteurs sains d'*E. coli* vérotoxino-gènes: le mouton, la chèvre, la vache, le chat, le cochon, le chien et le poulet (11, 47). Les bovins et les ovins sont considérés comme les deux principaux réservoirs d'*E. coli* vérotoxino-gène de sérotype O157:H7 qui est le plus important sérotype des souches pouvant causer un HUS (77, 198).

2.3 *Escherichia coli* responsable d'infections extra-intestinales

2.3.1 *Escherichia coli* uropathogène (UPEC)

Les souches extra-intestinales d'*E. coli* constituent une cause fréquente d'infections du tractus urinaire (UTI) autant chez les humains que chez les animaux (58, 87, 180). La pathogénie des infections urinaires dues aux UPEC chez l'humain a été étudiée intensivement. Les souches UPEC appartiennent fréquemment aux sérogroupes O1, O4, O6, O16, O18 et O75 (87). Elles expriment des adhésines fimbriaires telles que la fimbriae P, l'adhésine afimbriaire (AFA), l'adhésine non-fimbriaire (NFA), l'adhésine fimbriaire S (SFA) ou la fimbriae de type 1. Les souches UPEC peuvent aussi produire des cytotoxines comme l'hémolysine et le facteur cytotoxique et nécrosant 1 (CNF 1) (87, 139).

2.3.2 *Escherichia coli* causant des septicémies (SEPEC)

Les souches septicémiques d'*E. coli* (SEPEC) induisent une colibacillose systémique chez les humains et les animaux, se manifestant par une infection généralisée comme la septicémie ou une infection localisée comme la méningite ou l'arthrite chez les bovins et ovins, ou sous forme d'aérosacculite chez la volaille (120). Les souches SEPEC chez la volaille s'appellent aussi APEC (Avian Pathogenic *E. coli*) (46). Les souches SEPEC appartiennent aux sérogroupes O1, O2, O6, O8, O9, O11, O15, O17, O18, O20, O45, O60, O78, O83, O93, O101, O112, O115 et O116. Lors de septicémie, les souches SEPEC envahissent l'hôte, souvent à partir du tractus gastro-intestinal, persistent

dans le sang et colonisent les organes extra-intestinaux (39, 57). La pathogénie des infections à SEPEC n'est pas encore très bien comprise. Certaines propriétés comme la présence du type capsulaire K1, la production de sidérophores (par exemple aéro bactéine), le LPS (endotoxine) et la présence de certaines adhésines sont susceptibles de permettre à la bactérie d'envahir l'hôte et échapper aux mécanismes de défense de l'organisme (120, 128, 129).

2.3.3 *Escherichia coli* causant des méningites (MENE C)

Les méningites causées par *E. coli* sont rencontrées principalement chez les nouveau-nés. Près de 80% des isolats associés avec cette maladie possèdent une capsule de type K1 (115, 165). Les souches responsables de méningites appartiennent aux sérogroupes O1, O7, O16 et O18 (98).

2.4 Facteurs de virulence des souches extra-intestinales d'*Escherichia coli*

2.4.1 Adhésines

2.4.1.1 Fimbriae P

Le fimbriae P est un facteur de virulence chromosomique codé par le groupe de gènes *pap* nommés d'après leur fréquente association avec les infections du tractus urinaire (Pyelonephritis-Associated Pili) (71). En effet, le fimbriae P serait le principal responsable de l'adhérence d'*E. coli* aux cellules uro-épithéliales. De plus, des études épidémiologiques et expérimentales ont démontré que cette adhésine serait un facteur d'attachement d'importance chez les souches causant des pyélonéphrites (89). Le fimbriae P augmenterait le risque de bactériémie chez les patients atteints de pyélonéphrite, ce qui pourrait dégénérer en septicémie (187). Outre l'humain, le fimbriae P est aussi associé à la colisepticémie aviaire (1, 48) et plusieurs membres de cette famille de fimbriae ont été associés à des infections du tractus urinaire chez le chien (58), ainsi qu'à des septicémies chez le porc et le bovin (74).

Le fimbriae P est habituellement composé d'une sous-unité structurale majeure, une adhésine, de plusieurs sous-unités accessoires mineures impliquées dans le transport des sous-unités, l'assemblage et l'ancrage, et de protéines régulatrices (71). Les antigènes du

groupe sanguin P sont une famille d'oligosaccharides contenant une portion terminale ou interne Gal (α 1-4)-Gal β (Gal-Gal) et sont présents sur certaines cellules mammaliennes comme les érythrocytes humains et les cellules uro-épithéliales (5). L'adhésine du fimbriae P permet l'attachement des bactéries aux surfaces sur lesquelles la portion Gal-Gal est présente soit naturellement ou suite à l'application de substances contenant des portions Gal-Gal (87, 90, 106).

2.4.1.2 Fimbriae S

Le fimbriae S est un facteur de virulence chromosomique codé par l'opéron *sfa* (S fimbrial adhesin) (73). Cette adhésine est très souvent retrouvée chez les souches d' *E. coli* causant la septicémie ou la méningite chez le nouveau-né (98) ou est isolée aussi de cas d'infections du tractus urinaire (143). Chez les animaux, le fimbriae S contribue à la pathogénicité de certaines souches causant, entre autres, des infections du tractus urinaire (87). Chez l'humain, les souches d' *E. coli* exprimant le fimbriae S sont plus souvent associées aux septicémies et aux méningites qu'aux infections du tractus urinaire (87). Ainsi, le fimbriae P serait plus caractéristique des infections du tractus urinaire que le fimbriae S (98).

Tout comme le fimbriae P, la structure du fimbriae S est constituée de quatre régions fonctionnelles qui codent pour des sous-unités protéiques structurales mineures et majeures, des facteurs régulateurs et des protéines impliquées dans le transport et l'assemblage des fimbriae (171). Le fimbriae S s'attache avec une grande affinité aux récepteurs contenant la séquence d'acide sialique α 2-3 lactose (98). Cette séquence fait partie de certaines glycoprotéines incluant la glycophorine A, mais peut aussi se retrouver sur des composantes glycolipidiques des cellules eucaryotes (147). Il fut démontré que les bactéries exprimant le fimbriae S étaient capables de s'attacher aux cellules uroépithéliales, aux glomérules rénaux, à l'endothélium vasculaire du reins et de la vessie et aussi aux cellules de l'encéphale de rat (99, 100, 151). Il est intéressant de souligner que le lait humain contient des facteurs qui se fixent spécifiquement aux bactéries exprimant le fimbriae S, ayant comme conséquence d'offrir une certaine protection aux nouveau-nés contre ces *E. coli* potentiellement pathogènes (167).

2.4.1.3 Adhésines afimbriaires (AFAs)

Les adhésines AFAs sont des facteurs de virulence chromosomiques (175) impliqués principalement dans les infections du tractus urinaire chez l'humain. Ces adhésines sont qualifiées d'afimbriaires car elles ne sont pas organisées comme des fimbriae, mais plutôt semblent être attachées directement à la surface bactérienne (166). En se basant sur des réactions sérologiques, les AFAs ont pu être classées en 4 groupes, AFA-I, AFA-II, AFA-III et AFA-IV (102, 103). La majorité des AFAs reconnaissent des déterminants associés avec le groupe sanguin M/N qu'on retrouve sur les érythrocytes humains et aviaires (103, 132).

2.4.1.4 Adhésines non-fimbriaires (NFAs)

Les adhésines non-fimbriaires (NFAs) sont des facteurs de virulence chromosomiques (175) retrouvés chez les souches uropathogènes d'*E. coli* (3, 61). Ces structures sont constituées d'une centaine d'adhésines polypeptidiques similaires entourant la surface de la bactérie pour former une substance amorphe ressemblant à une capsule. Cette substance amorphe ne peut être visualisée que par microscopie électronique après stabilisation avec des anticorps (166). Les NFAs adhèrent et agglutinent seulement les érythrocytes humains. Cinq sous-types de NFAs ont été caractérisés jusqu'à présent soit les NFA-1 à NFA-5. Toutes les NFAs caractérisées reconnaissent des portions d'hydrates de carbone associées à la glycophorine A présente sur les érythrocytes humains (166).

2.4.2 Toxines

2.4.2.1 Hémolysine α

Il existe trois principaux types d'hémolysine chez *E. coli*; l'hémolysine- α , l'hémolysine- β et l'entéro-hémolysine. L'hémolysine- α est relâchée à l'extérieur de la bactérie et se retrouve ainsi libre dans la circulation sanguine, dans les tissus ou encore dans le surnageant des cultures bactériennes. L'hémolysine- β et l'entéro-hémolysine demeurent plutôt associées à la bactérie (10). Le gène *hly* codant pour la production de l'hémolysine- α est généralement situé sur le chromosome chez les souches humaines et sur un plasmide

chez les souches animales d'*E. coli* (72, 87).

Les souches produisant l'hémolysine- α sont associées avec des maladies extra-intestinales comme les infections du tractus urinaire, la septicémie et la méningite chez l'humain (30, 72), les infections du tractus urinaire et la gastro-entérite chez le chien, ainsi que la diarrhée et à la maladie de l'œdème chez le porc (30). Comme son nom l'indique, l'hémolysine- α occasionne la lyse des érythrocytes, mais elle est aussi toxique pour plusieurs types de cellules notamment les monocytes, les granulocytes, les lymphocytes et les cellules endothéliales (29, 30, 87). Le dommage aux cellules phagocytaires jouerait probablement le principal rôle dans l'établissement d'une infection par les souches produisant l'hémolysine- α . Le gène codant pour l'hémolysine- α est souvent associé avec la présence d'autres facteurs de virulence comme la résistance au sérum (80), certains sérogroupes (e.g. O4, O6, O18 et O75) (55, 71, 80), certains antigènes K (55, 87), le CNF1 (147) ainsi que les fimbriae P et S (14, 72, 73).

2.4.2.2 Facteur cytotoxique et nécrosant CNF1

Deux types de facteurs cytotoxiques et nécrosants ont été caractérisés, soit CNF1 et CNF2 (42). Les souches produisant le CNF2 n'étant retrouvées que chez les bovins et les ovins, seul CNF1 sera discuté. Le facteur cytotoxique et nécrosant 1 est une protéine de 115-kDa (41) codée par le chromosome bactérien (70). Chez l'humain, le CNF1 est produit par des souches provenant de cas de diarrhée, d'infections du tractus urinaires ou de bactériémies (26, 27, 33). Chez les animaux, les souches produisant CNF1 ont été isolées dans des cas d'entérites porcines, bovines et canines (42, 147, 148), dans des infections extra-intestinales chez le bovin et le félin (41, 147, 148) et dans la microflore intestinale normale de chats sains (16).

La toxine CNF1, lors d'injections intrapéritonéales et intraveineuses, est létale chez la souris (15). Elle occasionne également une nécrose de la peau lors d'injections intradermiques chez le lapin (15, 25, 41). Une réponse inflammatoire locale est observée lors de l'injection de CNF1 dans les coussinets plantaires de la souris. Au niveau cellulaire, il est à noter que la toxine CNF1 induit, chez les cultures de cellules HeLa, une série d'effets cytopathogènes parmi lesquels une hypertrophie cellulaire, une réorganisation du

cytosquelette, un arrêt irréversible de la mitose, une hypertrophie et une fragmentation nucléaire ainsi que la mort cellulaire 5 jours après inoculation (43). La production de CNF1, par les bactéries, est parfois associée avec la présence d'autres facteurs de virulence sur les îlots de pathogénicité comme le fimbriae P, aérobactine, l'hémolysine- α et la résistance au sérum (14, 15, 147).

2.4.3 Type capsulaire K1

Parmi tous les types capsulaires caractérisés chez *E. coli*, K1 est sans doute celui qui est le plus associé à la virulence bactérienne. L'antigène K1 est un polysaccharide homopolymère de l'acide sialique qui est, au point de vue de sa structure, identique au polysaccharide capsulaire de *Neisseria meningitidis* du groupe B (160).

La virulence associée aux souches d'*E. coli* K1 serait due à la structure de ce type capsulaire qui masquerait les déterminants antigéniques sous-jacents, empêchant le développement d'anticorps spécifiques et l'activation de la voie alterne du complément (174). D'ailleurs, on reconnaît que le type capsulaire K1 procure la résistance à l'effet bactéricide du sérum et pourrait contribuer à la résistance à la phagocytose (39).

2.4.4 Lipopolysaccharides (LPS)

Le lipopolysaccharide est une importante composante structurale et antigénique des bactéries Gram négatives. Il est composé de trois domaines structuraux distincts soient le lipide A, le core (oligosaccharide) et l'antigène O (polysaccharide) (155).

Le lipide A du LPS contient un composant toxique, l'endotoxine, responsable en grande partie de plusieurs effets pathophysiologiques chez l'hôte incluant le choc endotoxique (119, 155). Le core consiste en un petit polysaccharide qui contient un sucre inhabituel, le 3-kéto-2-déoxyoctonate (KDO) ainsi que d'autres sucres plus fréquents comme l'heptose, le glucose, le galactose et le N-acétyl glucosamine (159). L'antigène O du LPS consiste en plusieurs unités d'oligosaccharides de compositions chimiques et de structures variables (84, 138).

La majorité de l'activité biologique du LPS est due au lipide A, mais l'antigène O est aussi un important facteur d'interactions avec l'hôte (190, 202). Le LPS est impliqué

dans la virulence d'*E. coli* et est responsable de l'activation d'une grande variété de réponses immunologiques. La mitogénèse des lymphocytes B, l'activation des macrophages et l'induction de plusieurs cytokines font partie de ces réponses du système immunitaire de l'hôte (119).

2.4.5 Aéro bactéine (sidérophore)

Le fer étant une ressource limitante pour la persistance des bactéries au sein de l'hôte, un système permettant une meilleure acquisition de métal devient un atout précieux. Chez *E. coli*, l'aéro bactéine est le sidérophore le plus efficace (12, 22, 126). Le gène codant pour ce facteur de virulence peut être situé soit sur un plasmide ou sur le chromosome (65). L'aéro bactéine fait partie de la famille de sidérophores de type hydroxamate à l'origine isolé chez *Aerobacter aerogenes*. Ce sidérophore fonctionne en captant l'ion ferrique (Fe^{3+}) des protéines de l'hôte liant le fer tels que la transferrine, la lactoferrine ainsi que la ferritine (28).

On reconnaît de plus en plus que l'association entre la capacité de produire l'aéro bactéine et la virulence est particulièrement forte chez les souches isolées d'infections extra-intestinales comme la septicémie, la méningite et les infections du tractus urinaire (83, 187, 194). De plus, il a été observé que l'aéro bactéine serait le principal moyen que la bactérie utilise pour capter le fer et que l'hémolysine- α servirait de mécanisme alternatif (136).

3. Colibacillose aviaire

3.1 Généralités

Les premiers cas d'infections à coliformes chez la volaille ont été répertoriés par David et Twisselman à la fin des années 30 (66). Par la suite, le potentiel d'*E. coli*, en tant que micro-organisme pathogène chez la volaille, fut établi. La colibacillose aviaire réfère à toute infection, systémique ou localisée, causée entièrement ou partiellement par *E. coli*. Ainsi, la colibacillose englobe la colisepticémie, le coligranulome, l'aérosacculite (maladie respiratoire chronique), la cellulite, le syndrome de la tête gonflée, la péritonite, la salpingite, l'ostéomyélite/synovite, la panophtalmie et l'omphalite (infection du sac vitellin). Hormis

les infections du sac vitellin, toutes ces pathologies nécessitent des facteurs prédisposants comme une infection primaire par un autre agent pathogène (bactérie, virus ou parasite), une déficience immunitaire, une déficience alimentaire ou encore une mauvaise gestion de l'environnement (eau contaminée, ventilation ou température inadéquate) (7, 124, 131, 193). Cependant, même si la majorité des infections à *E. coli* sont secondaires, seulement les souches possédant certains facteurs de virulence ont le potentiel pour causer une infection. Ce sont les APEC ou *E. coli* pathogènes pour les aviaires.

Évidemment, ces conditions occasionnent des pertes économiques pour l'industrie aviaire, soit en retardant la croissance des oiseaux affectés ou soit en causant des condamnations dans les abattoirs. Une étude a démontré que les pertes dues à la cellulite chez le poulet de chair aux États-Unis s'élevaient à près de 20 millions de dollars annuellement (118). Ces pertes dues aux infections à *E. coli* peuvent cependant être grandement réduites par le contrôle des facteurs prédisposants. La cellulite et l'aérosacculite étant les deux pathologies à *E. coli* les plus prévalentes au Québec, une analyse plus approfondie de ces maladies s'impose.

3.2 Description des pathologies

3.2.1 Cellulite

La cellulite aviaire est une infection chronique de la peau affectant le tissu sous-cutané de l'abdomen et de la région péricloacale du poulet. Étant asymptomatique, c'est une condition qui normalement n'est détectée qu'à l'abattoir et qui entraîne des condamnations. On remarque sa présence par une coloration jaunâtre de la peau des régions affectées (24). Bien qu'on ait déjà isolé *Streptococcus dysgalactiae* de lésions de cellulite, *E. coli* est l'agent pathogène le plus fréquemment isolé de cette maladie du poulet (116). D'ailleurs, des études ont permis de reproduire expérimentalement des lésions de cellulite avec des isolats d'*E. coli* provenant de cas cliniques (60, 146).

3.2.2 Aérosacculite

L'aérosacculite chez le poulet est souvent secondaire à une première infection par différents agents pathogènes comme le virus de la bronchite infectieuse (IBV), le virus de la maladie de Newcastle (NDV) ou encore une infection à mycoplasmes (24). De plus, un taux élevé de poussière et d'ammoniac émanant des fèces provoquerait l'atrophie des cils des cellules épithéliales (123, 141). Ainsi, les dommages causés par ces infections primaires et les autres facteurs environnementaux rendraient l'épithélium respiratoire plus susceptible à l'invasion par *E. coli*.

L'aérosacculite, via la circulation sanguine, peut s'étendre aux tissus adjacents, causant des pneumonies, des pleuropneumonies, des péricardites ou des périhépatites (24). C'est une maladie qui normalement se rencontre chez les poulets âgés de 4 à 9 semaines et chez les dindes plus âgées. Des pertes économiques considérables résultent de la morbidité, de la mortalité et de la condamnation des oiseaux atteints. Tout comme pour la cellulite, des infections expérimentales ont permis de reproduire des lésions d'aérosacculite (59, 62).

3.3 Sérotypes et facteurs de virulence des APEC

Les souches aviaires d'*E. coli* sont similaires, du point de vue de la colonisation de l'hôte, aux souches extra-intestinales humaines puisqu'elles envahissent la circulation sanguine à partir d'un épithélium, mais celui du tractus respiratoire au lieu du tractus digestif comme chez l'humain. Ainsi, il n'est pas surprenant que quelques facteurs de virulence soient communs aux deux types de bactéries, c'est-à-dire les fimbriae, la résistance au sérum, la production d'aérobactine et la présence du type capsulaire K1 (23, 48, 207). De plus, certains sérotypes associés avec des infections entériques chez l'humain et des souches produisant des toxines thermostables et thermolabiles ont déjà été isolées dans l'intestin de poulets (4, 36, 182). Cependant, la production de toxines par les APEC est plutôt rare (18, 145, 195).

3.3.1 Sérotypes

Premièrement, il importe de mentionner que plusieurs isolats d'APEC n'appartiennent à aucun sérotype O établi et sont classifiés non-typables. Cependant, certains sérotypes sont reconnus comme étant pathogènes chez le poulet: O1, O2, O3, O6, O8, O15, O18, O35, O71, O74, O78, O87, O88, O95, O103 et O109 (66). Parmi ceux-ci, trois sont particulièrement prévalents, soient O1, O2 et O78 (37, 116, 145, 176). Ces sérotypes sont également régulièrement isolés chez l'humain.

3.3.2 Fimbriae type 1

La colonisation de l'hôte par les bactéries doit d'abord être précédée par l'adhérence de ces dernières aux surfaces épithéliales. Chez les poulets, il a été démontré que l'adhérence d'*E. coli* à l'épithélium trachéal était possible grâce à la présence du fimbriae type 1 (45, 150). Ce fimbriae est aussi exprimé au niveau du tractus respiratoire inférieur, mais son expression cesse lorsque la bactérie se retrouve dans la circulation sanguine ou dans les organes autres que les poumons. De plus, dans une expérience effectuée *in vitro*, il a été rapporté que les isolats les plus pathogènes étaient résistants à l'opsonisation et à la phagocytose en l'absence des fimbriae de type 1, alors que les bactéries de tous les isolats étaient rapidement tuées par les macrophages aviaires lorsqu'elles exprimaient les fimbriae de type 1 (150). Bien que ces résultats présentent le fimbriae de type 1 comme un facteur de virulence, ce facteur d'attachement est aussi fréquemment retrouvé chez des isolats commensaux d'*E. coli* (51, 95).

3.3.3 Fimbriae P

Le fimbriae P est aussi un de ces facteurs d'attachement exprimé par les souches aviaires d'*E. coli* de sérotype O1 (1, 48, 192). Il a été démontré que des souches septicémiques aviaires exprimaient un fimbriae qui serait presque identique au fimbriae P, de sérotype F11, des souches impliquées dans les infections du tractus urinaires chez l'humain (149, 192). Contrairement au fimbriae de type 1, l'expression du fimbriae P n'est observée que chez les bactéries isolées des sacs aériens, des poumons, des reins, du sang et du liquide péricardique des poulets inoculés par des isolats pathogènes. Ainsi, le fimbriae

P serait impliqué dans la colonisation des organes internes et dans la persistance systémique de la bactérie (150)

3.3.4 Hémagglutinine thermosensible (Tsh)

L'hémagglutinine thermosensible (Tsh) est une protéine de 140 kDa qui agglutine les érythrocytes de poulets (152). Le gène codant pour cette protéine a d'abord été isolé et caractérisé chez une souche aviaire de sérotype O78 (152). L'hémagglutination étant variable en fonction de la température, le qualificatif thermosensible était bien approprié (152). Dernièrement, on a cependant observé que la production de cette hémagglutinine était possible à 37 °C (178). Le séquençage des acides aminés a démontré une certaine homologie entre Tsh et les protéases, s'attaquant aux immunoglobulines A1, produites par *Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*. De plus, Tsh présenterait une séquence d'acides aminés presque identique à celle d'une autre protéase des IgA, la Hbp (Dozois 1999, communication personnelle). Tsh est une protéine membranaire externe qui jouerait un rôle dans l'adhésion des *E. coli* pathogène au tractus respiratoire des poulets (152). D'ailleurs, une étude récente a démontré une forte association entre la présence de Tsh et la virulence des isolats. En effet, tandis que 62% des isolats provenant de lésions exprimaient Tsh, aucun isolat provenant de la microflore ne présentait ce facteur de virulence (114).

3.3.5 Aérobactine

Le sidérophore aérobactine est fréquemment retrouvé chez les APEC (108, 145, 195). De plus, ce facteur de virulence est généralement plus prévalent chez les isolats provenant de lésions que chez les isolats de la microflore intestinale normale (145). La capacité de croître dans un milieu pauvre en fer libre serait fortement associée à la virulence des APEC (44).

3.3.6 Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide par le complément du sérum est due principalement à des structures de surface comme la capsule, le lipopolysaccharide ou

encore les protéines membranaires externes (66). Chez le poulet, on associe cette résistance au sérum avec les souches septicémiques d'*E. coli* (207). D'autres études ont démontré que les souches résistantes au sérum étaient plus virulente (13, 195). Certains éléments, conférant la résistance au sérum, seraient codés par des gènes situés soit sur le plasmide Col V (13) ou sur le plasmide R (157, 158). Ces plasmides augmenteraient l'habileté d'*E. coli* à échapper à l'effet bactéricide du complément.

3.3.7 Type capsulaire K1

Le type capsulaire K1 est associé principalement avec les sérogroupes O1 et O2 (66). L'antigène K1 est aussi associé avec les souches provenant d'infections extra-intestinales chez l'humain. Par sa structure, ce type capsulaire offrirait une protection contre l'effet bactéricide du complément et rendrait les bactéries très peu immunogènes. On a aussi démontré que la production du type capsulaire K1 était déterminante pour la virulence des APEC (40).

4. Animaux: sources d'*Escherichia coli* pathogène pour l'humain

Escherichia coli fait partie de la microflore intestinale normale des humains et des animaux. Cependant, les animaux peuvent être porteurs asymptomatiques d'*E. coli* pathogène pour l'humain. Ainsi, plusieurs études ont démontré que les bovins constitueraient un important réservoir d'*E. coli* vérotoxino-gènes (VTEC) (20, 88, 137). Une de ces études rapporte la présence, chez les bovins, de plus de 100 sérotypes vérotoxino-gènes parmi lesquels plusieurs seraient similaires génétiquement aux VTEC isolés chez l'humain (88). Rarement, on a isolé des souches vérotoxino-gènes chez les poulets (47). Les souches vérotoxino-gènes d'*E. coli* de sérotypes O157:H7 sont considérées principalement comme des agents pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires chez l'humain dues, entre autres, à la consommation de viande de boeuf hachée (47). Par contre, la transmission directe de VTEC via des fèces animales est aussi rapportée (113, 156, 181, 186).

Ojeniyi et collaborateurs (134) ont rapporté la transmission directe d'*E. coli* de poulets à l'humain. En effet, après avoir donné une culture d'*E. coli per os* à des poulets, les auteurs ont pu isoler et identifier, selon des méthodes phénotypiques, la souche expérimentale dans les fèces des animaliers des fermes d'élevages. Cette même étude rapporte que les souches isolées des animaliers et celles retrouvées chez les poulets ont présenté les mêmes patrons de résistance aux antibiotiques.

De plus en plus, la caractérisation génotypique et phénotypique est utilisée afin d'évaluer les relations clonales pouvant exister entre les souches animales et humaines d'*E. coli*. Ces études ont souvent pour but principal d'évaluer le risque, pour l'humain, associé aux souches animales de cette bactérie pouvant être à la fois commensale et pathogène. Ainsi, une étude a démontré que les souches de sérotype O6:H1 isolées de différents types d'infections chez l'humain, le chien, le porc et la vache appartenaient à des clones reliés (34). Dans une étude de même type, on a démontré que les souches de sérotype O2:K1 isolées chez l'humain et chez les animaux, incluant le poulet, appartenaient à des clones très apparentés (1). Cette dernière étude rapporte que les isolats d'origine aviaire et humaine appartenant au même clone ne pouvaient être distingués que par leur contenu en plasmides. Chérifi et collaborateurs ont aussi démontré que les souches septicémiques O78 isolées chez l'humain et chez les animaux, dont le poulet, étaient génétiquement très reliées (35). L'ensemble de ces études indiquent que plusieurs espèces animales constitueraient une source possible d'*E. coli* pathogènes pour l'humain.

5.0 Problématique et objectifs

5.1 Problématique

Ces dernières années, une augmentation de la prévalence des infections à *E. coli* a été observée chez le poulet de chair: en tête de liste, la cellulite et l'aérosacculite. Les lésions sont souvent peu évidentes et la possibilité que des poulets atteints de ces maladies échappent aux contrôles de l'inspection vétérinaire est bien réelle. Puisque les risques associés à la présence de cette bactérie dans ces lésions sont méconnus, les politiques reliées à la disposition des carcasses sont relativement sévères et augmentent les pertes pour l'industrie. Face à cette situation et considérant la possibilité que des poulets

contaminés avec cette bactérie se retrouvent sur le marché de la consommation, il devenait important de caractériser le risque, pour l'humain, associé aux souches aviaires d' *E. coli*.

5.2 Objectifs

5.2.1 Objectif principal

Déterminer si les souches d'*E. coli* retrouvées dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite chez le poulet de chair constituent un risque pour la santé humaine.

5.2.2 Objectifs spécifiques

-Déterminer si les isolats provenant des lésions de cellulite et d'aérosacculite sont génétiquement reliés à ceux retrouvés dans des pathologies chez les humains.

-Vérifier si les isolats provenant des lésions de cellulite et d'aérosacculite sont génétiquement reliés à ceux que l'on retrouve sur la peau saine du dos des oiseaux sains

III- MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

CHARACTERIZATION OF THE RISK TO HUMAN HEALTH OF
PATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* ISOLATES FROM CHICKEN
CARCASSES

François Caya¹, John M. Fairbrother¹, Louise Lessard² and Sylvain Quessy^{2*}

¹Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire,
Université de Montréal, 3200 Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, CANADA, J2S 7C6.

²Laboratoire d'hygiène vétérinaire et alimentaire, Santé Canada, 3400 Casavant ouest,
St-Hyacinthe, Québec, CANADA, J2S 8E3.

Manuscrit publié dans Journal of Food Protection

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the risk for human health associated with pathogenic *Escherichia coli* isolated from airsacculitis and cellulitis in chickens, by comparing the genotypic and phenotypic profiles of avian *E. coli* isolates to human *E. coli* isolates recovered from sick humans during the same period and in the same geographical area as the avian isolates. A total of 96 isolates and 46 isolates from lesions of cellulitis and airsacculitis respectively were obtained. Isolates from the backs of some of the affected and healthy birds and 91 intestinal and extra-intestinal isolates from humans with diarrhea, urinary tract infections or septicemia were examined. The frequency of antimicrobial resistance was in general higher in the avian than in the human isolates. VT1-VT2-Eae and VT2-Eae, pathotypes associated with HUS and bloody diarrhea in humans, were the most frequently encountered pathotypes in human intestinal isolates, but were not recovered from the avian isolates. Aero-Pap-TSH and Aero-TSH were the most frequently encountered pathotypes in avian isolates, but were rarely observed in human isolates. No avian isolate belonged to serogroup O157, whereas many human isolates belonged to this O group. O78 and O2 were the most frequently observed O groups in avian isolates, but were rarely found in human isolates. Only two avian isolates demonstrated possible relatedness to human isolates based on PFGE profiles, but belonged to different pathotypes. Results of this study suggest that avian isolates recovered from cellulitis and air sacculitis possess very few of the attributes required to cause diseases in humans. It is also concluded that isolates from cellulitis and airsacculitis do not represent a greater hazard than isolates from the back of healthy birds.

Escherichia coli is a worldwide cause of infection in humans and animals, resulting in a variety of intestinal and extra-intestinal diseases (7, 31). Even if only a small proportion of *E. coli* isolates can be harmful for humans, one important source of infection with pathogenic isolates is contaminated food and water, although direct human to human transmission of *E. coli* is possible. *E. coli* is found in the normal microflora of the intestine, but a small proportion can cause pathogenic processes in the uncompromised host. These pathogenic *E. coli* possess virulence factors or attributes which promote bacterial colonization and/or invasion of tissues, subsequently leading to manifestation of disease (31). In addition, *E. coli* strains recovered in pathogenic process are generally genetically linked or belong to a limited number of clones (1, 8, 9, 28, 38).

Cellulitis and airsacculitis are two important avian diseases caused by *E. coli*, most often by serotypes O78 and O2, and are responsible for extensive economical losses due to condemnation of broiler chickens harbouring lesions associated with these diseases (2, 14, 17, 25). These losses could be greatly reduced by a less radical condemnation of affected birds. However, the potential for strains causing these diseases in chickens to be pathogenic in humans is not known. Any re-assessment of post-mortem condemnation practices would require a thorough characterization of the risk to humans subsequent to a possible exposure to this bacterial pathogen.

The aim of this study was to characterize the risk associated with avian strains of *E. coli* isolated from airsacculitis and cellulitis, by comparing the genotypic and phenotypic profiles of avian *E. coli* isolates and *E. coli* strains isolated from sick humans during the same period and in the same geographical area as the avian isolates. An other objective was to determine whether birds harbouring these lesions represent a greater risk than healthy birds.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and bacterial isolation. Avian *E. coli* isolates were collected in a federally registered abattoir slaughtering birds from various regions of the province of Quebec, Canada. Affected birds were randomly selected during 18 different visits and kept apart after the evisceration process, following identification of the pathology by a veterinarian. Broiler chickens harbouring lesions of cellulitis (n=105) and airsacculitis (n=55) were swabbed. For birds with cellulitis, skin surrounding the apparent lesions was seared with a heated spatula, incised with a sterile scalpel and some of the fibrino-caseous material was recovered with a swab. For birds with airsacculitis, only unruptured air sacs were swabbed. A quaternary ammonium solution was applied on airsacs (Quatsyl-D, Upjohn Co., Orangeville, ON, Canada) and an incision was made with a sterile scalpel, to harvest the purulent matter. Samples were also collected from the back (7.5 cm by 7.5 cm) of some of the affected birds and of healthy birds in the same production lots (n=66). The samples were placed in Culturette transport tubes (Becton Dickinson, Rutherford, New-Jersey). In the following 6 hours, swabs were directly plated on both MacConkey agar and Tryptic Soy agar (Difco Laboratories, Detroit, MI) supplemented with 5% bovine blood (BA) and incubated for 18 hours at 37°C in an aerobic atmosphere. Three lactose-positive isolates per sample were selected for further biochemical testing (TSI, citrate Simmons, urea hydrolysis, methyl red and Voges-Proskauer) to confirm the presence of *E. coli*. Isolates not showing a characteristic profile of *E. coli* on TSI were processed in the API 20E (Biomérieux Vitek Inc., Hazelwood, USA) system to ensure a proper identification. Human strains (n=91) were kindly provided by the Laboratoire de Santé Publique du Québec and randomly selected among isolates from different specimens such as faeces (n=55), blood (n=15), urine (n=14), liver (n=2), pus (n=1) and of indeterminate origin (n=4), from clinically ill patients. These strains were primarily isolated in hospitals located in the same geographical area as the sampled abattoir, in cities on the north and south shores of the St-Lawrence River, between Montreal and Quebec. Human isolates were collected during the same period as the avian sampling.

Genotypic characterization. i) Preparation of DNA probes and colony hybridization. Gene probes for various virulence factors were either derived from recombinant plasmids or generated by PCR as described previously (4, 41). DNA fragments were labeled with [α - 32 P]dCTP by using a multiprimer DNA labeling kit (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) according to the instructions of the manufacturer. For colony hybridization, isolates were spotted onto Luria-Bertani agar (DIFCO laboratories, Detroit, Michigan) and incubated for 4 to 5 hours at 37 °C. Colonies were then transferred to Whatman 3MM filter paper 451 (Whatman International Ltd., Springfield Mill, England). Appropriate positive control strains were included on each filter. The filters were processed, hybridized, and revealed by autoradiography as described previously (6, 41). Gene probes were used to detect the following virulence factors; Eae (intimin) (4), *pap*-encoded (Pap) fimbrial system (11), temperature-sensitive hemagglutinin (TSH) (30), aerobactin iron-sequestering system (Aero) (12), hemolysin (Hly) (12), cytotoxic necrotizing factors type 1 and type 2 (CNF1 and CNF2) (29), verotoxins (Shiga-like toxins) type 1 and type 2 (VT1 and VT2) (41), heat-stable toxins (STa and STb) (41) and heat-labile toxin (LT) (41).

ii) Pulse Field Gel Electrophoresis of DNA. Genomic DNA was isolated by a modified version of the method of Kaufmann and Pitt (19). Briefly, for each isolate, a large number of colonies of a pure overnight culture grown on blood agar were suspended in 75mM NaCl- 25mM EDTA (pH 7.5) (SE) to an optical density of 1.5 at 625 nm. Then, 500 μ l of this suspension was mixed with 500 μ l of 1.5% low gelling temperature agarose (Sigma Chemical Co., St-Louis, Missouri) dissolved in SE. The mixture was kept at 56°C until it was dispensed into molds. After 10 min at 4°C, the solidified plugs were transferred into 3.6ml of 1% (w/v) N-lauryl sarcosine- 0.5M EDTA (pH 9.5) (Lysis Buffer). To this mixture, 0.4ml of a 10mg/ml solution of Proteinase-K (Sigma Chemical Co., St-Louis, MO) in 50mM Tris- 1mM CaCl₂ (pH 8.0) was added. The cell lysis was carried out for 20 hours at 56°C in a water bath. On the following day, the agarose plugs were washed with 10 mM Tris- 10mM EDTA (pH 7.5) (TE) and stored in this buffer. Before digestion of bacterial DNA, plugs were pre-electrophoresed to improve the clarity

of restriction pattern (37). Agarose-embedded DNA was digested with 20U of restriction endonuclease *XbaI* (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD) at 37°C for 18 hours then on the following day with 10U *XbaI* for 2 hours. PFGE was performed with the Gene Navigator system (Amersham Pharmacia Biotech) in a 1.2% high gelling agarose (Sigma Chemical Co.)- Tris-borate EDTA 0.5X buffer gel in accordance with the manufacturer's instructions. The gel was run for 20 hours at a constant voltage of 200 V, using pulse times of 5 to 25s with linear ramping, an electrical field angle of 120°, and a temperature of 10°C. The gels were stained with ethidium bromide, destained in distilled water and photographed on Type 667 Polaroid instant sheet film apparatus under UV illumination. Two lambda ladder PFGE markers (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) were used on each gel.

Phenotypic characterization. For all isolates recovered from lesions, O serotyping was carried out by the standard slide and tube agglutination techniques (13). Antimicrobial susceptibility was tested with disks (Unipath Ltd., Basingstoke, England) using the Kirby-Bauer technique (22) on unsupplemented Mueller-Hinton agar plates. The following antibiotics were examined: amikacin, ampicillin, cephalothin, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, neomycin, penicillin G, spectinomycin, sulphamethoxazole-trimethoprim, sulfisoxazole and tetracycline. The choice and concentration of the antibiotics was based on recommendations by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (26).

Statistical analysis. To determine if there was significant difference between two proportions, the Fisher's exact test and the Chi-square test with confidence intervals of 95% were used. To determine the relationships among the different isolates, we used the ImageMaster 1D Elite software (Amersham Pharmacia Biotech). PFGE profiles were compared with each other by using the Dice similarity coefficient (20)

RESULTS AND DISCUSSION

In Canada, an important increase in diseases associated with *E. coli*, such as cellulitis and aerosacculitis, has been observed in poultry (2). The lesions associated with these conditions are not always easily detected in carcasses at the abattoirs and the possibility that contaminated chickens may reach the consumer prompted us to evaluate the hazard for human health associated with the presence of these bacteria.

Some authors had reported that animals may be a potential source of pathogenic *E. coli* for humans (1, 8, 9, 27). Cherifi and collaborators (9) found a clonal relationship between septicemic human and animal O78 *E. coli* isolates based on biochemical characterization of these isolates. Clonal relationships have also been found between human and animal isolates of *E. coli* of the serogroups O6 (8) and O2:K1 (1). In one of these studies, avian and human isolates of the same clonal group could be distinguished only by their plasmid content (1). Direct transmission of *E. coli* from poultry to humans has also been reported (27).

Antimicrobial resistance. Firstly, since this property is often used as an epidemiologic tool, the resistance to antimicrobial agents of the *E. coli* isolates of the different origins was examined. Most of the human and avian isolates were multiresistant (data not shown). Overall, the human and avian isolates showed little or no resistance to neomycin, amikacin and enrofloxacin (Table 1). On the other hand, the resistance rates to spectinomycin, tetracycline and sulfisoxazole were higher in avian than in human isolates. In addition, no human isolate was resistant to gentamicin whereas almost half of the avian isolates were resistant to this antibiotic. Therefore, certain differences were observed in the antibiotic resistance patterns of avian and human isolates. Although it was suggested that indiscriminate use of antibiotics in animals has led to an increased resistance to antibiotics in bacteria pathogenic to humans (32) these results suggest that poultry are not the source of many of the pathogenic human *E. coli* isolates.

Virulence factors. The authors wished to verify if avian *E. coli* isolates recovered from lesions of cellulitis or airsacculitis possessed virulence attributes which may permit them to cause disease in humans. Most of the human and avian isolates possessed more than one of the virulence factors tested. The authors were thus interested to look for the different associations of virulence factors (pathotypes).

Firstly, the prevalence of pathotypes already known to be associated with human diseases was examined. In the human intestinal isolates, the most frequent pathotypes encountered were VT1-VT2-Eae and VT2-Eae (Table 2). These are common pathotypes of verotoxigenic *E. coli* (VTEC) or enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), associated with hemolytic and uremic syndrome (HUS) and bloody diarrhea in humans (35, 40). In contrast, isolates of these two pathotypes were not found in lesions or on the backs of the chickens sampled. Thus, it is unlikely that these chickens are a source of VTEC for humans. In the human extra-intestinal isolates, the pathotypes Aero-Pap-Hly and CNF-Pap-Hly were found. These pathotypes are classically associated with urinary tract disease in humans (18). In contrast, these pathotypes were not encountered in avian isolates, suggesting that chickens were not a common source of *E. coli* responsible for urinary tract infections in humans.

The prevalence of certain pathotypes recognized to be associated with avian diseases, such as Aero-Pap-TSH and Aero-TSH was then examined. These virulence factors are characteristic of avian *E. coli* isolated from disease (16, 23). Although isolates from lesions and the backs of diseased and healthy birds frequently belonged to these pathotypes, only two human isolates belonged to these same pathotypes. Therefore, it was concluded that avian isolates belonging to these two pathotypes represent a low risk of association with human disease, at least in the human isolates examined.

Certain pathotypes, such as Aero, Aero-Pap and Pap, were common to both human and avian isolates, but have not been associated with any particular disease. Except for Aero, these pathotypes were found in similar or higher frequency in isolates from the backs of healthy birds than in isolates from lesions, suggesting that these isolates may not be highly pathogenic. Nevertheless, these isolates, as well as the negative isolates, could represent a source of infection for humans. To more definitively examine this possibility,

further characterization of the isolates was required.

O serotyping. In typeable isolates, particular O groups were mostly associated with either human or avian isolates (Table 3). For example, serotyping confirmed that most verotoxigenic isolates were O157 and that this serogroup was not found in avian isolates. The most prevalent O group in human extra-intestinal isolates was O1 and most of the O1 isolates belonged to the pathotypes Aero-Pap-Hly or Pap-Hly which were not encountered in avian isolates.

The O groups most frequently recovered from lesions of cellulitis and airsacculitis in chickens were O2 and O78 as previously reported (10, 24). None of the human isolates belonged to the O78 serogroup, but some of the human isolates belonged to the O2 serogroup. Isolates of this latter serogroup have been reported to be involved in urinary tract infections in humans (18, 36). However, in this study, the avian O2 isolates did not possess the same virulence factors as the human O2 isolates.

Overall, the avian and human isolates belonging to the same O group did not possess the same virulence factors. Most of the serotypable avian isolates of the Aero pathotype belonged to different serogroups than the human isolates of the same pathotype, and many of the avian Aero isolates belonged to the O78 serogroup, which was not encountered in the human isolates. Nevertheless, since many of the isolates were not typable, a more definitive analysis of the genotypic profile of the isolates was required to distinguish the avian from the human isolates.

Pulse Field Gel Electrophoresis. PFGE profiles were obtained for a total of 59 cellulitis isolates, 43 airsacculitis isolates and 88 human isolates. A large genotypic variety was observed among the isolates, probably because of the high discriminatory power of the PFGE technique (Figure 1). Many authors have reported that PFGE permits a greater discrimination between isolates than other techniques such as phage typing, ribotyping, or random amplified polymorphic DNA (RAPD) (3, 15, 21, 33). In one study, showing relationships between O157 *E. coli* isolates, PFGE was much more discriminatory than phage typing, the diversity index, Simpson's D, being higher for PFGE than for phage

typing (20).

According to the criteria of Tenover et al. (34), 3 categories of genotypic and epidemiologic relatedness were established. The first category consisted of indistinguishable isolates which showed the same number of bands on electrophoresis gels and the corresponding bands were of the same size. On the dendrogram, the isolates of this category had a similarity coefficient higher than 95%. The second category consisted of possibly related isolates which showed a difference of two to six bands on electrophoresis gels. The isolates of this category had a similarity coefficient of between 86% and 95% on the dendrogram. Isolates having a similarity coefficient of 85% or less were considered different and consisted of those that demonstrated more than 7 band differences on gel electrophoresis. Only two avian isolates with a similarity coefficient of higher than 85% as compared to the human isolates were found. However, these two avian isolates did not possess the same virulence factors as the human isolates with which they were clustered. No other avian isolates demonstrated any relatedness to any of the human isolates. Most of the *E. coli* O157 isolates belonged to the same cluster on the dendrogram, supporting other studies which had established that isolates of this O group were a single conserved pathogenic clone (5, 39). Similarly, *E. coli* O78 avian isolates belonged to only 3 clusters, supporting the finding that isolates of this O group are clonally related (9). All of the avian *E. coli* O2 isolates belonged to the same cluster which was different to those of the human O2 isolates. In contrast, Achtman and collaborators (1) reported that O2 isolates from diseased humans and animals belonged to the same clonal group, as demonstrated by a biochemical characterization. These differences may be explained by the greatest discriminatory power of the PFGE.

Conclusion. Overall, this study showed that isolates from airsacculitis and cellulitis lesions in broiler chickens were different to *E. coli* isolates originating from sick humans sampled during the same period and in the same geographical area as the avian isolates, based on the examination of phenotypic and genotypic characteristics. These results suggest that avian isolates recovered from cellulitis and air sacculitis possess very few of the attributes required to cause diseases in humans. It is also concluded that isolates from

cellulitis and airsacculitis do not represent a greater hazard than isolates from the back of healthy birds.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Lisette Beaudoin, Annette Deschênes and Laure Dudet Bélanger for their excellent technical assistance in this research. We would also want to acknowledge the financial support of the Canadian Food Inspection Agency (CFIA).

REFERENCES

1. Achtman, M., M. Heuzenroeder, B. Kusecek, H. Ochman, D. Caugant, R. K. Selander, V. Väisanen-Rhen, T. K. Korhonen, S. Stuart, F. Orskov, and I. Orskov. 1986. Clonal analysis of *Escherichia coli* O2:K1 isolated from diseased humans and animals. *Infect. Immun.* 51:268-276.
2. Agriculture and agri-food Canada. Unpublished. 930 Carling, Ottawa, Ontario. 1998.
3. Barrett, T. J., H. Lior, J. H. Green, R. Khakhria, J. G. Wells, B. P. Bell, K. D. Greene, J. Lewis, and P. M. Griffin. 1994. Laboratory investigation of multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *J. Clin. Microbiol.* 32:3013-3017.
4. Beaudry, M., C. Zhu, J. M. Fairbrother., and J. Harel. 1996. Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates from dogs manifesting attaching and effacing lesions. *J. Clin. Microbiol.* 34:144-148.
5. Bohm, H., and H. Karch. 1992. DNA fingerprinting of *Escherichia coli* O157:H7 strains by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 30:2169-2172.
6. Broes, A., J. M. Fairbrother, J. Mainil, J. Harel, and S. Larivière. 1988. Phenotypic and genotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* serotype O8:KX105 and O8:K2829 strains isolated from pigs with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 26:2402-2409.
7. Calnek, B. W. (ed.). 1997. Diseases of poultry. 10th ed. Iowa State University Press. Iowa. p.131-141.

8. Cherifi, A., M. Contrepois, B. Picard, P. Gouillet, I. Orskov, F. Orskov, and J. De Rycke. 1991. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O6 isolates from human and animal infections. *FEMS Microbiol. Lett.* 80:225-230.
9. Cherifi, A., M. Contrepois, B. Picard, P. Gouillet, I. Orskov, and F. Orskov. 1994. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O78 isolates from human and animal infections. *J. Clin. Microbiol.* 32:1197-1202.
10. Cloud, S. S., J. K. Rosenberger, P. A. Fries, R. A. Wilson, and E. M. Odor. 1985. *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. I. Serotypes, metabolic activity, and antibiotic sensitivity. *Avian Dis.* 29:1084-1093.
11. Daigle, F., J. Harel, and J. M. Fairbrother. 1994. Expression and detection of *pap*-, *sfa*-, and *afa*-encoded fimbrial adhesin systems among uropathogenic *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 40:286-291.
12. Dozois, C. M., J. M. Fairbrother, J. Harel, and M. Bossé. 1992. *pap*- and *pil*-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. *Infect. Immun.* 60:2648-2656.
13. Edwards, P. R., W. H. Ewing (ed.). 1962. Identification of *Enterobacteriaceae*. 2nd ed. Burgess Publishing company. Minneapolis.
14. Elfadil, A. A., J.-P. Vaillancourt, A. H. Meek, R. J. Jullian, and C. L. Gyles. 1996. Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Dis.* 40:690-698.
15. Gibson, J. R., C. Fitzgerald, and R. J. Owen. 1995. Comparison of PFGE, ribotyping and phage-typing in the epidemiological analysis of *Campylobacter jejuni* serotype HS2 infections. *Epidemiol. Infect.* 115:215-225.

16. Gross, W. G. 1994. Diseases due to *Escherichia coli* in poultry, ch. 11. In C. L. Gyles (ed.), *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, UK.
17. Herenda, D. C., and D. A. Franco. 1996. Poultry Diseases and Meat Hygiene: A Color Atlas. Iowa State University Press. Ames.
18. Johnson, J. R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 4:80-128.
19. Kaufmann, M. E., and T. L. Pitt. 1994. Pulsed-field gel electrophoresis of bacterial DNA, ch. 8. In H. Chart (ed.), *Methods in Practical Laboratory Bacteriology*. CRC Press, England.
20. Krause, U., F. M. Thomson-Carter, and T. H. Pennington. 1996. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 by pulsed-field gel electrophoresis and comparison with that by bacteriophage typing. *J. Clin. Microbiol.* 34:959-961.
21. Laconcha, I., N. Lopez-Molina, A. Rementeria, A. Audicana, I. Perales, and J. Garaizar. 1998. Phage typing combined with pulsed-field gel electrophoresis and random amplified polymorphic DNA increases discrimination in the epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 40:27-34.
22. Lennette, E. H., A. Balows, W. J. Hausler Jr., and H. J. Shadomy (ed.). 1985. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
23. Maurer, J. J., T. P. Brown, W. L. Steffens, and S. G. Thayer. 1998. The occurrence of ambient temperature-regulated adhesins, curli, and the temperature-sensitive hemagglutinin Tsh among avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 42:106-118.

24. Messier, S., S. Quessy, Y. Robinson, L. A. Devriese, J. Homme, and J. M. Fairbrother. 1993. Focal dermatitis and cellulitis in broiler chickens: bacteriological and pathological findings. *Avian Dis.* 37:839-844.
25. Morris, M. P. 1991. Cellulitis in broilers. *Broiler Industry.* September 32-40.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standard. 1991. Performance standards for antimicrobial disks susceptibility tests. 4th ed.
27. Ojeniyi, A. A. 1989. Direct transmission of *Escherichia coli* from poultry to humans. *Epidemiol. Infect.* 103:513-522.
28. Orskov, F., T. S. Whittam, A. Cravioto, and I. Orskov. 1990. Clonal relationships among classic enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) belonging to different O groups. *J. Infect. Dis.* 162:76-81.
29. Oswald, E., P. Pohl, E. Jacquemin, P. Lintermans, K. Van Muylem, A. D. O'Brien, and J. Mainil. 1994. Specific DNA probes to detect *Escherichia coli* strains producing cytotoxic necrotising factor type 1 or type 2. *J. Med. Microbiol.* 40:428-434.
30. Provence, D. L., and R. Curtiss. 1994. Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.* 62:1369-1380.
31. Salyers, A. A., and D. D. Whitt. 1994. *Escherichia coli* gastro-intestinal infections, ch. 16. *In* Salyers and Whitt (ed.), *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Press, Washington, D.C.

32. Shah, P. M., V. Schäfer, and H. Knothe. 1993. Medical and veterinary use of antimicrobial agents: implications for public health. A clinician's view on antimicrobial resistance. *Vet. Microbiol.* 35:269-274.
33. Shimizu, A., J. Kawano, C. Yamamoto, O. Kakutani, and M. Fujita. 1997. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and phage typing for discriminating poultry strains of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Vet. Res.* 58:1412-1416.
34. Tenover, F. C., R.D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, and B. Swaminathan. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.
35. Tzipori, S., H. Karch, K. I. Wachsmuth, R. M. Robins-Browne, A. D. O'Brien, H. Lior, M. I. Cohen, J. Smithers, and M. M. Levine. 1987. Role of 60-megadalton plasmid and Shiga-like toxins in the pathogenesis of infections caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.* 55:3117-3125.
36. Van den Bosch, J. F., P. Postma, D. van Brenk, P. A. Guinée, J. de Graaff, and D. M. MacLaren. 1981. Virulence of *Escherichia coli* strains isolated from urine of patients with acute cystitis and from faeces of healthy women. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 47:97-106.
37. Whatling, C. A., and C. M. Thomas. 1993. Preelectrophoresis of agarose plugs containing bacterial chromosomal DNA prepared for analysis by pulse field gel electrophoresis can improve the clarity of restriction patterns. *Anal. Biochem.* 210:98-101.

38. White, D. G., M. Dho-Moulin, R. A. Wilson, and T. S. Whittam. 1993. Clonal relationships and variation in virulence among *Escherichia coli* strains of avian origin. *Microb. Pathog.* 14:399-409.
39. Whittam, T. S., I. K. Wachsmuth, R. A. Wilson. 1988. Genetic evidence of clonal descent of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J. Infect. Dis.* 157:1124-1133.
40. Yu, J., and J. B. Kaper. 1992. Cloning and characterization of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Mol. Microbiol.* 6:411-417.
41. Zhu, C., J. Harel, M. Jacques, C. Desautels, M. S. Donnenberg, M. Beaudry, and J. M. Fairbrother. 1994. Virulence properties and attaching-effacing activity of *Escherichia coli* O45 from swine postweaning diarrhea. *Infect. Immun.* 63:4153-4159.

TABLE 1. *In vitro* antibiotic resistance of human and avian *Escherichia coli* isolates

Antibiotic	Antibiotic concentration on disk	No. (%) of resistant isolates			
		Human		Avian	
		Intestinal n=55	Extra-intestinal n=36	Cellulitis n=96	Airsacculitis n=46
Penicillin G	10 units	48 (87,3)	29 (80,6)	91 (94,8)	42 (91,3)
Ampicillin	10ug	6 (10,9)	7 (19,4)	26 (27,1)	10 (21,7)
Cephalotin	30ug	2 (3,6)	6 (16,7)	21 (21,9)	4 (8,7)
Neomycin	30ug	0 (0,0)	1 (2,8)	5 (5,2)	3 (6,5)
Gentamicin	10ug	0 (0,0)	0 (0,0)	30 (31,3)	23 (50,0)
Amikacin	30ug	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,2)
Spectinomycin	10ug	28 (50,9)	25 (69,4)	92 (95,8)	43 (93,5)
Tetracycline	30ug	10 (18,2)	4 (11,1)	72 (75,0)	39 (84,8)
Erythromycin	15ug	42 (76,4)	32 (88,9)	92 (95,8)	43 (93,5)
Sulfisoxazole	0.2mg	11 (20,0)	7 (19,4)	64 (66,7)	38 (82,6)
Sulpha-trimethoprim	25ug	7 (12,7)	5 (13,9)	14 (14,6)	6 (13,0)
Enrofloxacin	5ug	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,0)	0 (0,0)

TABLE 2. Comparison of pathotypes of human and avian *Escherichia coli* isolates

Pathotype	No. (%) of positive human isolates			No. (%) of positive avian isolates							
	Intestinal		Extra-intestinal	Cellulitis		Airsacculitis		Lesion	Backs of healthy birds	Backs of diseased birds	Backs of healthy birds
	n=55	n=36		n=94	n=113	n=122	n=46				
Aero	16 (29,1)	4 (11,1)	26 (27,7)	13 (11,5)	10 (8,2)	23 (50,0)	16 (48,5)	2 (6,1)			
VT1-VT2-Eae	16 (29,1)	2 (5,6)	0	0	0	0	0	0			0
Aero-Pap-Hly	1 (1,8)	7 (12,7)	0	0	0	0	0	0			0
Aero-Pap	1 (1,8)	4 (7,3)	2 (2,1)	1 (0,9)	12 (9,8)	2 (4,3)	0	1 (3,0)			0
VT2-Eae	4 (7,3)	1 (2,8)	0	0	0	0	0	0			0
Aero-Eae	3 (5,5)	0	0	0	0	0	0	0			0
CNF-Pap-Hly	0	2 (5,6)	0	0	0	0	0	0			0
Pap	0	2 (5,6)	0	4 (3,5)	8 (6,6)	0	0	2 (6,1)			0
Aero-Pap-TSH	0	1 (2,8)	15 (16,0)	19 (16,8)	11 (9,0)	6 (13,0)	0	4 (12,1)			0
Aero-TSH	1 (1,8)	0	41 (43,6)	23 (20,4)	19 (15,6)	15 (32,6)	8 (24,2)	5 (15,2)			0
Eae	1 (1,8)	0	0	3 (2,7)	7 (5,7)	0	0	0			0
TSH	1 (1,8)	0	0	1 (0,9)	1 (0,8)	0	0	0			0
Pap-Eae	0	0	0	10 (8,8)	5 (4,1)	0	0	0			0
Negative	7 (12,7)	9 (25,0)	10 (10,6)	39 (34,5)	48 (39,3)	0	9 (27,3)	19 (57,6)			0
Others ^a	4 (7,3)	4 (11,1)	0	0	1 (0,8)	0	0	0			0

^a CNF-Hly, VT2-Eae-TSH, Aero-VT1, Aero-CNF-Pap-Hly, Pap-Hly, Hly-Eae, Hly, STa, Eae-TSH.

TABLE 3. O serogroups of human and avian *Escherichia coli* isolates

O group	No. of human isolates		No. of avian isolates	
	Intestinal n=55	Extra-intestinal n=36	Cellulitis n=96	Airsacculitis n=46
O1	0	6	1	0
O2	3	1	9	4
O7:O147	0	0	4	1
O9	1	3	1	0
O21	0	1	1	1
O25:O147	3	1	1	4
O45	0	0	5	0
O78	0	0	21	16
O131	1	1	1	0
O157	24	3	0	0
OTHER ^a	15	15	32	8
NS ^b	3	1	12	7
NT ^c	2	2	4	4
AUTO ^d	3	2	4	1

^a O Serogroups with weak prevalence: O4, O4:O18, O5, O6, O8, O8:O75, O12, O15, O16, O18:O23, O20, O21:O45, O23:O53, O34, O35:O101, O41, O44, O68, O69, O70, O71, O71:O114, O75, O82, O83, O84, O85, O86, O88, O101, O102, O103, O109:O119, O111, O117, O119, O120, O120:O147, O123, O133, O140, O150, O158, O159, O161, O169, O170.

^b Isolates with none specific agglutination.

^c Isolates that showed no agglutination for tested serogroups.

^d Isolates that showed auto-agglutination.

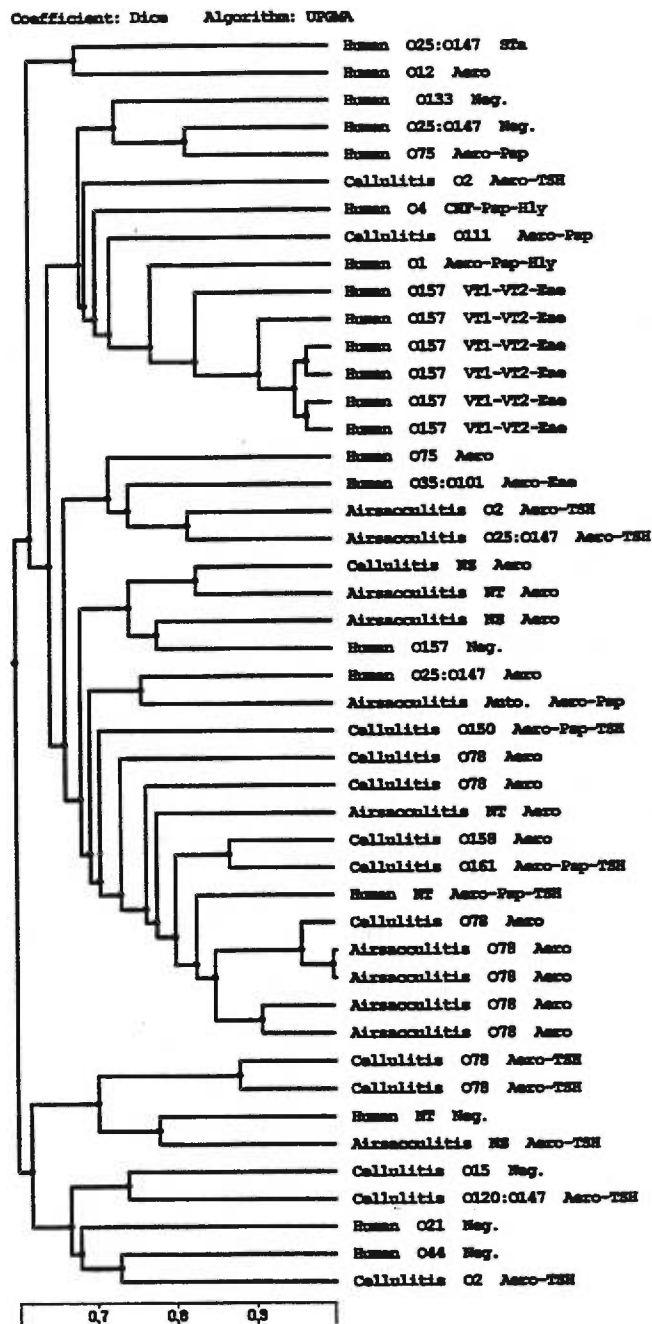


FIGURE 1. Representative dendrogram derived from genotypic profiles of human and avian *Escherichia coli* isolates. PFGE profiles were compared with each other by using the Dice similarity coefficient.

IV- DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La cellulite et l'aérosacculite sont présentement les deux pathologies, toutes deux causées par *Escherichia coli*, retrouvées le plus fréquemment sur les chaînes d'abattage de poulets à griller au Québec. Puisque les risques, pour l'humain, associés à la présence de cette bactérie dans ces lésions sont méconnus, l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA) maintient des politiques sévères quant à la disposition des carcasses atteintes. Bien que ces politiques sévères soient appliquées d'abord dans un but de protection de la santé publique, elles entraînent aussi des pertes économiques importantes pour l'industrie aviaire. Ainsi, il devenait important d'évaluer le risque, pour la santé humaine, associé à la présence d'*E. coli* sur la viande de poulet afin d'ajuster les politiques de condamnation des carcasses présentant des lésions de cellulite et d'aérosacculite.

Une relation clonale entre des souches aviaires et humaines d'*E. coli* a déjà été suggérée (1, 35). Cependant, ces études étaient basées sur différentes méthodes de caractérisation plus ou moins discriminatoires. Lors de notre étude, nous avons utilisé deux méthodes de caractérisation phénotypiques (la sérotypie et l'antibiorésistance) et deux méthodes génotypiques (les sondes génétiques et l'électrophorèse à champs pulsés) pour caractériser les isolats humains et aviaires d'*E. coli*. Parmi toutes les méthodes de caractérisation, l'électrophorèse à champs pulsés se démarque par son pouvoir discriminatoire supérieur aux autres méthodes de caractérisation utilisées (8, 101, 104, 173).

1. Antibiorésistance des souches humaines et aviaires d'*Escherichia coli*

La résistance aux antibiotiques est un phénomène d'actualité qui concerne autant la médecine humaine que la médecine vétérinaire. Ainsi, il devenait évident qu'un volet de cette étude devait porter sur l'antibiorésistance pour évaluer la possibilité que les souches aviaires d'*E. coli* soient une source de résistance aux antibiotiques pour les souches humaines.

Bien qu'il existe plusieurs études portant sur l'antibiorésistance des souches aviaires ou humaines d'*E. coli*, il est difficile de comparer les résultats de cette étude avec d'autres puisque le choix et l'emploi des antibiotiques diffèrent d'un pays ou d'une région à l'autre. Néanmoins, il a été observé que, de façon générale, les isolats aviaires provenant de lésions

de cellulite et d'aérosacculite, présentent plus de résistance aux antibiotiques que les isolats humains (Table 1). Le plus fort pourcentage de résistance observé chez les isolats aviaires pourrait s'expliquer par la vaste utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire autant pour le contrôle des maladies que comme agent de croissance (17, 168). En médecine aviaire, les antibiotiques utilisés pour la supplémentation alimentaire sont la bacitracine de zinc et la virginiamycine tandis que l'ampicilline, le chloramphénicol, les tétracyclines, la néomycine, les nitrofuranes, la gentamicine, l'acide nalidixique, la polymyxine B, la spectinomycine, la streptomycine et les sulfamidés peuvent être employés pour le traitement de diverses infections. La virginiamycine étant reconnue comme pouvant créer une résistance croisée avec les macrolides (206), certains auteurs ont pu ainsi expliquer le fort pourcentage de résistance des souches aviaires à l'érythromycine (macrolides). Les forts pourcentages de résistance observés contre la tétracycline, la spectinomycine et les sulfamidés chez les isolats aviaires pourraient aussi s'expliquer par l'utilisation de ces antibiotiques dans les élevages.

La résistance aux antibiotiques testés est de type plasmidique et donc plus facilement transmissible que la résistance chromosomique. Ainsi, puisque les isolats aviaires sont plus résistants aux antibiotiques que les isolats humains, ceci suggère qu'il y aurait eu peu de transmission de plasmides de résistance entre les isolats aviaires et humains, et donc peu de contact entre ces deux populations d'*E. coli*. Ces résultats ne sont pas en accord avec d'autres études ayant suggéré que les isolats aviaires pourraient représenter un réservoir de résistance aux antibiotiques pour les isolats humains d'*E. coli* (86, 191).

Les règles d'hygiène qui sont de plus en plus appliquées par les consommateurs dans la préparation des aliments pourraient possiblement expliquer le peu de contact existant entre les populations aviaires et humaines d'*E. coli*. Cependant, les travailleurs de l'abattage et de la transformation dans l'industrie avicoles ainsi que les vétérinaires, par le biais de leurs activités professionnelles, seraient beaucoup plus exposés aux populations bactériennes animales. D'ailleurs, une étude a démontré que les isolats d'*E. coli*, provenant des matières fécales de vétérinaires en médecine de population, possèdent des patrons d'antibiorésistance similaires à ceux des animaux qu'ils traitent (19).

2. Facteurs de virulence présents chez les souches humaines et aviaires d'*Escherichia coli*

Escherichia coli étant un habitant de la micro-flore intestinale normale, seulement un nombre limité d'isolats sont pathogènes. Pour pouvoir initier une pathologie chez un hôte, ces isolats pathogènes doivent posséder un ou des facteurs de virulence. Ainsi, dans cette partie de l'étude nous avons voulu vérifier si les isolats aviaires possédaient les mêmes facteurs de virulence que les isolats humains afin de pouvoir juger du potentiel de pathogénicité des isolats aviaires pour la santé humaine.

2.1 Prévalence des facteurs de virulence

Bien que la majorité des isolats humains et aviaires d'*E. coli* isolés dans notre étude soient positifs à plus d'un des facteurs de virulence testés, la prévalence des facteurs de virulence pris individuellement donne de précieuses informations qui nous permettent de mieux cerner l'association de certains de ces facteurs avec certaines conditions pathologiques. (Tableau IV de l'annexe 1).

Il a d'abord été remarqué qu'aucun isolat aviaire de l'étude ne possédait les gènes pour la production de l'une ou l'autre des toxines testées. Ces résultats supportent la majorité des études portant sur la production de toxines par des souches aviaires d'*E. coli*. En effet, bien que certaines études aient démontré la production de toxines par des isolats aviaires d'*E. coli* (54, 200), généralement, l'expression de tels facteurs de virulence ne semble pas être déterminante pour le développement de la colibacillose aviaire (18, 145, 195). Cependant, une étude a démontré qu'une vérotoxine (VT2y) était fortement associée avec la virulence des souches causant le syndrome de la tête gonflée (144). Puisque 45% des isolats humains de l'étude étaient positifs à au moins une des toxines, il a été déduit que la production d'une ou de plusieurs toxines était un critère de virulence important pour qu'une souche d'*E. coli* puisse causer une pathologie chez l'humain.

L'intimine (Eae) n'était présente chez aucune des souches aviaires provenant des lésions. Par contre, quelques isolats, provenant probablement de contamination fécale croisée et isolés sur les dos de poulets sains et atteints de cellulite, possédaient ce facteur

de virulence. Puisque l'intimine semble être un facteur de virulence important pour la pathogénicité des isolats humains d'origine intestinale, les bactéries isolées du dos des poulets pourraient représenter un plus grand risque pour la santé humaine que les isolats provenant des lésions. Dans le même ordre d'idées, les isolats provenant du dos des poulets atteints et des poulets sains, exprimaient le fimbriae P dans une proportion similaire ou une plus grande proportion que les isolats des lésions, indiquant à nouveau que les isolats provenant des dos de poulets pourraient constituer un risque aussi important pour la santé.

Le facteur de virulence Tsh semble aider *E. coli* à causer la cellulite et l'aérosacculite puisqu'il était plus fréquent dans les isolats provenant des lésions. Contrairement à ce qui est indiqué dans la littérature, Tsh a été retrouvé dans les isolats provenant de la contamination fécale retrouvé sur le dos des poulets (114). Quoiqu'il en soit, ce facteur de virulence était très peu fréquent chez les isolats humains de l'étude. Cependant, il serait intéressant de regarder l'homologie entre le Tsh des souches humaines de notre étude et une autre protéase des IgA, la Hbp (140), déjà retrouvée chez une souche humaine pathogène d'*E. coli*. En effet, des études préliminaires ont démontré un fort pourcentage de similarité entre la Tsh aviaire et cette Hbp (Dozois 1999, communication personnelle).

Tout comme le rapporte la littérature, l'aérobactine semblait être le principal moyen de captation du fer qu'utilisaient les isolats humains de cette étude (136). Cependant, on a observé que l'hémolysine était exprimée plus fréquemment chez les isolats extra-intestinaux que chez les isolats intestinaux. Ces observations suggèrent que la production d'hémolysine serait le moyen le plus efficace pour la captation du fer lorsque la bactérie se retrouve hors du tractus intestinal.

2.2 Prévalence des pathotypes

La majorité des isolats de l'étude possédaient plus d'un des facteurs de virulence testés. Les différentes associations de facteurs de virulence ont donc été vérifiées. Les pathotypes ainsi observés donnent des informations plus précises quant à la possibilité que des souches aviaires infectent l'humain (Table 2).

2.2.1 Pathotypes humains

Plusieurs pathotypes étaient retrouvés chez les isolats humains, mais seulement quelques-uns démontraient une prévalence notable. Chez les isolats humains d'origine intestinale, seulement 4 pathotypes retenaient l'attention soit Aéro-Eae, VT2-Eae, VT1-VT2-Eae et Aéro. Les isolats de pathotype Aéro-Eae représentaient probablement les souches EPEC (107), alors que les isolats de pathotypes VT2-eae et VT1-VT2-eae incluait probablement les EHEC (107).

Chez les isolats d'origine extra-intestinale, les pathotypes les plus prévalent étaient ceux possédant le fimbriae P (Pap) seul ou en association avec les toxines Hly et/ou CNF ou avec aérobactine. Les souches présentant le fimbriae P en association avec les toxines Hly et CNF sont souvent impliquées dans les pathologies du tractus urinaire et donc appartiennent aux UPEC (70, 87). Bien qu'effectivement plusieurs de nos isolats d'origine urinaire faisaient partie de ces pathotypes, plusieurs isolats sanguins présentaient les mêmes combinaisons de facteurs de virulence, suggérant que la localisation urinaire faisait suite à une bactériémie transitoire ou encore que ces isolats pouvaient être responsables de septicémie.

2.2.2 Pathotypes aviaires

Aucun des isolats aviaires ne présentait les pathotypes caractéristiques permettant de les relier avec les EPEC, EHEC ou UPEC retrouvés dans l'échantillonnage humain. Ainsi, ceci donnait une autre indication à l'effet qu'il est peu probable que les isolats aviaires constituent une source de ces *E. coli* pathogènes pour l'humain.

Les deux pathotypes les plus caractéristiques de pathologies aviaires retrouvés dans l'échantillonnage étaient ceux présentant le facteur de virulence TSH. Cette hémagglutinine est de plus en plus associée à la virulence des souches aviaires d' *E. coli* (114). De façon générale, les pathotypes Aéro-Pap-TSH et Aéro-TSH étaient retrouvés autant dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite que chez les isolats provenant des dos de poulets sains et atteints. Quoi qu'il en soit, ces pathotypes étaient très peu prévalent chez les isolats humains. Donc, une fois de plus, il semble peu probable que les isolats aviaires de ces pathotypes puissent représenter une source de contamination pour l'humain.

2.2.3 Pathotypes communs

Pour certains pathotypes, retrouvés à la fois dans l'échantillonnage humain et aviaire, il était difficile de statuer sur la virulence puisqu'ils ne présentaient pas de combinaison caractéristique de facteurs pouvant nous permettre de conclure à une pathogénicité quelconque. Le pathotype Aéro-Pap, bien qu'il était retrouvé chez les isolats humains et aviaires, se retrouvait sur les dos de poulets sains dans des proportions similaires ou même supérieures à celles des lésions. Alors, même si les isolats aviaires de ce pathotype avaient la possibilité de contaminer l'humain, il a été suggéré que les isolats de lésions de cellulite et d'aérosacculite ne représenteraient pas un risque plus élevé que les isolats présents chez les oiseaux sains qui se retrouvent sur le marché de la consommation humaine. Les isolats de pathotype Pap, quant à eux, n'étaient retrouvés que dans l'échantillonnage humain et le dos de poulets. Toujours selon le même raisonnement, les isolats provenant de dos de poulets pourraient donc représenter un risque plus élevé pour la santé humaine que les isolats de lésions.

Les isolats n'exprimant que le facteur de virulence Aéro étaient ceux qui semblaient demander une plus grande investigation puisque ce pathotype était retrouvé autant chez les isolats humains qu'aviaires. De plus, dans l'échantillonnage aviaire, ce pathotype était plus prévalent dans les lésions que sur le dos des poulets, suggérant que ce pathotype était associé à une certaine virulence. Cette virulence ne pouvant être expliquée que par la seule présence de l'aérobactine, on peut soulever l'hypothèse que d'autres facteurs doivent intervenir pour expliquer le pouvoir pathogène de ces isolats.

Certaines bactéries ne possédaient aucun des facteurs de virulence testés (Négatifs). Bien que le nombre de ces isolats était plus élevé dans le groupe des isolats provenant des dos de poulets, il semblait souhaitable de procéder à une caractérisation plus approfondie de ces isolats, car il est possible que ces souches possèdent des facteurs de virulence non-testés dans cette étude ou encore des facteurs jusqu'à présent inconnus.

3. Sérogroupes des isolats humains et aviaires d'*Escherichia coli*

Bien que plusieurs autres méthodes de caractérisation soient beaucoup plus discriminatoires, la sérotypie fut utilisée pour vérifier la présence de certains sérogroupes

classiques qui caractérisent soit les isolats humains ou aviaires. Un fort pourcentage d'isolats ne pouvait être rattaché à l'un ou l'autre des sérogroupes testés, ce qui a limité d'autant l'utilité de la sérotypie et conséquemment notre investigation avec cette méthode de caractérisation.

Le séroroupe le plus fréquemment retrouvé chez les isolats humains était O157 (Table 3). Évidemment, la majorité des isolats de ce séroroupe étaient d'origine intestinale et pouvaient être classifiés dans les EHEC. Cependant, trois des isolats sanguins étaient O157 suggérant la possibilité du développement d'une bactériémie dans le cas du syndrome hémolytique et urémique. Aucun des isolats vérotoxigéniques n'appartenait à un séroroupe autre que O157 par contre, trois des isolats O157 intestinaux ne produisaient pas de vérotoxines. Peu d'études rapportent ce phénomène (135). Cependant, une étude rapporte que la capacité de produire les vérotoxines n'est pas essentielle à la pathogénicité des souches O157:H7 chez le porc infecté expérimentalement, suggérant que d'autres facteurs contribuent à la virulence de ces isolats (188). Aucun des isolats aviaires appartenait au séroroupe O157. En effet, ce séroroupe semble très peu prévalent chez les isolats aviaires d'*E. coli* (31, 85). Pour sa part, le séroroupe O1 était le plus prévalent chez les isolats d'origine extra-intestinale, particulièrement ceux isolés de sang et d'urine. Bien que la majorité des isolats O1 humains étaient positifs pour la production d'hémolysine, toxine absente chez tous nos isolats aviaires, deux de ces isolats présentaient des pathotypes pouvant être retrouvés chez des isolats aviaires (Aéro-Pap et Pap). Puisqu'un des isolats de cellulite était O1 et que ce séroroupe est caractéristique des souches SEPEC et MENEK, une caractérisation plus précise semblait justifiée.

Tout comme le rapportent plusieurs publications, les sérogroupes les plus fréquemment retrouvés chez les isolats aviaires de cette étude étaient O2 et O78 (37, 116, 145). La majorité des isolats aviaires (78%) de séroroupe O78 étaient aussi de pathotype Aéro. Puisque le séroroupe O78 n'était pas retrouvé chez les isolats humains de cette étude, la possibilité que des isolats aviaires de pathotype Aéro et de séroroupe O78 soit une source de contamination pour l'humain, semblait donc moindre. Quelques sérogroupes étaient retrouvés à la fois chez les isolats aviaires et humains, notamment les sérogroupes O2, O9 et O25:O147. Cependant, les isolats aviaires de cellulite et d'aérosacculite

présentant ces sérogroupes appartenait à des pathotypes peu retrouvés chez les isolats humains de ces mêmes sérogroupes.

4. Analyse des profils génotypiques des isolats d'*Escherichia coli*

Bien que les autres méthodes de caractérisation utilisées dans cette étude indiquaient déjà un faible risque, pour l'humain, associé aux souches aviaires d'*E. coli*, l'électrophorèse à champs pulsé a permis de le confirmer. De plus, cette méthode de caractérisation a permis de vérifier certaines allégations retrouvées dans la littérature.

4.1 Analyse des profils génotypiques des isolats humains

Les différentes relations génétiques existant entre les isolats humains de cette étude ont d'abord été étudiées. Ainsi, la figure 2 (Annexe 2) présente le dendrogramme obtenu à partir des profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale et extra-intestinale. Les isolats de sérotype O157 se sont avérés regroupés au sein d'un même groupe avec des pourcentage de similarité élevés, démontrant à nouveau que les souches de ce sérotype appartiennent à un clone bien défini (203, 204). Toutefois, deux isolats O157 vérotoxigènes n'étaient pas associés aux autres isolats de ce sérotype. De plus, les trois isolats O157 non-vérotoxigènes démontraient des pourcentage de similarité plus élevés avec des souches n'étant pas O157.

Un certain regroupement fut observé entre les isolats intestinaux de même qu'entre les isolats extra-intestinaux de telle sorte qu'il est possible de déduire que les isolats intestinaux sont génotypiquement différents des isolats extra-intestinaux. Il a été observé que les deux seuls isolats de sérotype O16 avaient été regroupés ensemble, suggérant également la possibilité d'une relation clonale entre les isolats de ce sérotype. Une étude a d'ailleurs déjà fait état de la possibilité de ce type de relation entre les isolats de ce sérotype en utilisant cependant des méthodes de caractérisation moins discriminatoire (189).

4.2 Analyse des profils génotypiques des isolats aviaires

Tout comme pour l'échantillonnage humain, cette étude a démontré une grande diversité génotypique au sein des isolats aviaires (Figure 3 de l'annexe 2). Cette diversité s'explique par le grand pouvoir discriminatoire de la technique d'électrophorèse à champs pulsés.

Il a été observé que les isolats aviaires avaient tendance à se regrouper selon la provenance de l'échantillon. Cette observation est probablement le reflet de la nature distincte de ces deux populations de bactéries. En effet, la cellulite, étant une pathologie localisée, les bactéries qu'on y retrouve seraient génétiquement différentes de celles qu'on isole dans les lésions d'aérosacculite, une pathologie du tractus respiratoire et des séreuses. Ces résultats supportent les conclusions d'une autre étude ayant démontré que les isolats provenant de lésions de cellulite appartenaient à des clones similaires aux autres APEC, mais que certains clones étaient spécifiques aux lésions de cellulite (130).

Tout comme le rapporte une étude de Chérifi et collaborateurs (35), une relation clonale entre les isolats de sérotype O78 fut observée à la différence toutefois que dans cette étude, ce sérotype n'a pas été retrouvé chez les isolats humains. Dans cette étude, les isolats de ce sérotype sont regroupés au sein de trois clones distincts. Deux de ces clones sont de pathotype Aéro et étaient reliés ensemble. Un groupe d'isolats non-typables ou non-spécifiques à la sérotypie était associé à ces clones. Le troisième clone O78 n'était pas relié aux deux autres et les isolats qui le composaient étaient de pathotype Aéro-Tsh. Chacun de ces clones semblaient spécifiques à l'une ou l'autre des pathologies aviaires.

Les isolats aviaires de sérotype O2 se sont majoritairement regroupés dans le même clone, supportant ainsi les résultats d'un autre projet de recherche portant sur ce sérotype (1).

4.3 Analyse des profils génotypiques des isolats aviaires et humains

Puisque cette étude portait sur le risque, pour l'humain, associé aux souches aviaires d'*E. coli*, la principale information à vérifier était la présence de liens génétiques entre les isolats de ces deux espèces. Les profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale ont été comparés avec ceux des isolats aviaires d'une part, et les isolats

humains d'origine extra-intestinale avec ceux des isolats aviaires d'autre part.

Afin d'établir le pourcentage de similarité à partir duquel on considérerait deux isolats comme étant possiblement reliés, le présent projet s'est basé sur une étude de Tenover et collaborateurs (184). Ainsi, selon les critères de cette étude, trois catégories de relations génotypiques et épidémiologiques ont été établies. La première détermine les isolats identiques qui, sur le dendrogramme, correspond à un pourcentage de similarité de plus de 95%. La deuxième catégorie détermine les isolats étant possiblement reliés et correspond à un pourcentage de similarité se situant entre 86% et 95%. Finalement, les isolats ayant un pourcentage de similarité de 85% et moins ont été considérés comme non-reliés.

La figure 4 (Annexe 2) présente le dendrogramme comparant les isolats humains d'origine extra-intestinale et les isolats aviaires provenant des lésions de cellulites et d'aérosacculite. Puisque les isolats provenant des lésions de cellulite et d'aérosacculite sont d'origine extra-intestinale tout comme le sont les isolats humains provenant d'échantillons d'urine, de sang, de pus ou de biopsie de foie, la possibilité que ces deux groupes d'isolats soient reliés semblait plus probable. Il a été observé que seulement un isolat aviaire de lésions de cellulite était génétiquement similaire à plus de 85% avec un isolat sanguin humain. Cependant, malgré leur fort pourcentage de similarité (94%), ces deux isolats (HS-69, O25:O147, Nég. et AC-5, O83, Aéro-Tsh-Pap) ne présentaient pas les mêmes sérogroupes et ne possédaient pas les gènes codant pour les mêmes facteurs de virulence.

Sur le même dendrogramme, il a été observé que les isolats humains n'étaient pas strictement réunis au sein d'un même groupe, mais formaient plutôt quelques regroupements auxquels se rattachaient des isolats aviaires, suggérant que les isolats humains d'origine extra-intestinale ne constituent pas un clone bien défini lorsque mis en association avec ces isolats aviaires. Contrairement à ce qu'a rapporté Achtman et collaborateurs (1), aucune relation clonale n'a été observée entre les isolats aviaires et humains de séro groupe O2. En effet, l'étude de ces auteurs montrait que les isolats aviaires et humains d'un même groupe clonal ne pouvaient être distingués que par leur contenu plasmidique.

La figure 5 (Annexe 2) présente le dendrogramme comparant les profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale avec ceux des isolats aviaires de lésions de cellulite et d'aérosacculite. Deux isolats aviaires de lésions de cellulite ont des coefficients de similarité de plus de 85% avec une souche humaine, donc sont possiblement reliés. L'une de ces associations (HI-11 et AC-68) se fait entre des isolats de sérotype et de pathotype différents. Cependant, l'autre association (HI-28 et AC-23) se fait entre un isolat humain O2 et un isolat aviaire non-spécifique à la sérotypie, mais de même pathotype, soit Aéro. Puisque la présence d'aérobactine ne peut à elle seule expliquer la virulence d'une souche, il serait intéressant d'approfondir la caractérisation de ces isolats de pathotype Aéro en recherchant la présence d'autres facteurs de virulence.

L'ensemble des résultats obtenus par l'analyse et la comparaison des profils génétiques des isolats aviaires et humains aura donc permis d'établir que les souches d'*E. coli* isolées chez l'homme sont distinctes de celles isolées chez le poulet. Ces résultats supportent les conclusions d'une autre étude, utilisant la technique d'électrophorèse à champs pulsé, qui a démontré que les isolats intestinaux aviaires étaient différents des isolats provenant de fèces d'enfants vivant en relation étroite avec ces animaux (92).

5. Conclusions

Par une caractérisation des isolats aviaires et humains d'*E. coli*, il a été déterminé que ces deux populations étaient distinctes. Il est donc permis de conclure que le jugement post-mortem des carcasses atteintes doit être reconsidéré compte tenu du faible risque pour l'homme associé à la présence de ces isolats dans les lésions de cellulite et d'aérosacculite.

V- BIBLIOGRAPHIE

1. **Achtman, M., M. Heuzenroeder, B. Kusecek, H. Ochman, D. Caugant, R. K. Selander, V. Väisanen-Rhen, T. K. Korhonen, S. Stuart, F. Orskov, and I. Orskov.** 1986. Clonal analysis of *Escherichia coli* O2:K1 isolated from diseased humans and animals. *Infect. Immun.* 51:268-276.
2. **Agin, T. S., and M. K. Wolf.** 1997. Identification of a family of intimins common to *Escherichia coli* causing attaching-effacing lesions in rabbits, humans, and swine. *Infect. Immun.* 65:320-326.
3. **Ahrens, R., M. Ott, A. Ritter, H. Hoshützky, T. Bühler, F. Lottspeich, G. J. Boulnois, K. Jann, and J. Hacker.** 1993. Genetic analysis of the gene cluster encoding nonfimbrial adhesin I from an *Escherichia coli* uropathogen. *Infect. Immun.* 61:2505-2512.
4. **Akashi, N., S. Hitotsubashi, H. Yamanaka, Y. Fujii, T. Tsuji, A. Miyama, J. Encarnacion-Joya, and K. Okamoto.** 1993. Production of heat-stable enterotoxin II by chicken clinical isolates of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 109:311-316.
5. **Baga, M., M. Norgren, and S. Normark.** 1987. Biogenesis of *Escherichia coli* pap pili: papH, a minor pilin subunit involved in cell anchoring and length modulation. *Cell* 49:241-251.
6. **Baldwin, T. J., S. Knutton, L. Sellers, H. A. Manjarrez Hernandez, A. Aitken, and P. H. Williams.** 1992. Enteraggregative *Escherichia coli* strains secrete a heat-labile toxin antigenically related to *E. coli* hemolysin. *Infect. Immun.* 60:2092-2095.
7. **Barnes, H. J., and F. Lozano.** 1994. Colibacillosis in poultry. *In* Pfizer Veterinary Practicum, Pfizer Animal Health. Lee's Summit, MO, 45 pp.

8. **Barrett, T. J., H. Lior, J. H. Green, R. Khakhria, J. G. Wells, B. P. Bell, K. Greene, J. Lewis, and P. M. Griffin.** 1994. Laboratory investigation of multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *J. Clin. Microbiol.* 32:3013-3017.
9. **Bettelheim, K. A.** 1994. Biochemical characteristics of *Escherichia coli*. p. 3-30. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.
10. **Beutin, L.** 1991. The different hemolysins of *Escherichia coli*. *Med. Microbiol. Immunol.* 180:167-182.
11. **Beutin, L., D. Geier, H. Steinruck, S. Zimmermann, and F. Scheutz.** 1993. Prevalence and some properties of verotoxin-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *J. Clin. Microbiol.* 31:2483-2488.
12. **Bindereif, A., and J. B. Neilands.** 1985. Aerobactin genes in clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 161:727-735.
13. **Binns, M. M., D. L. Davies, and K. G. Hardy.** 1979. Cloned fragments of the plasmid ColV,I-K94 specifying virulence and serum resistance. *Nature* 279:778-781.
14. **Blanco, J., M. P. Alonso, E. A. Gonzalez, M. Blanco, and J. I. Garabal.** 1990. Virulence factors of bacteraemic *Escherichia coli* with particular reference to production of cytotoxic necrotising factor (CNF) by P-fimbriate strains. *J. Med. Microbiol.* 31:175-183.

15. **Blanco, J., M. Blanco, M. P. Alonso, J. E. Blanco, E. A. Gonzalez, and J. I. Garabal.** 1992. Characteristics of haemolytic *Escherichia coli* with particular reference to production of cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1). *Res. Microbiol.* 143:869-878.
16. **Blanco, J., M. Blanco, I. Wong, and J. E. Blanco.** 1993. Haemolytic *Escherichia coli* strains isolated from stools of healthy cats produce cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1). *Vet. Microbiol.* 38:157-165.
17. **Blanco, J. E., M. Blanco, A. Mora, and J. Blanco.** 1997. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic healthy chickens in Spain. *J. Clin. Microbiol.* 35:2184-2185.
18. **Blanco, J. E., M. Blanco, A. Mora, and J. Blanco.** 1997. Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with *in vivo* pathogenicity. *J. Clin. Microbiol.* 35:2953-2957.
19. **Bongers, J. H., F. Franssen, A. R. W. Elbers, and M. J. M. Tielen.** 1995. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from the faecal flora of veterinarians with different professional specialties. *Vet. Q.* 17:146-149.
20. **Borczyk, A. A., M. A. Karmali, H. Lior, and L. M. C. Duncan.** 1987. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1:98.
21. **Bosworth, B. T., J. E. Samuel, H. W. Moon, A. D. O'Brien, V. M. Gordon, and S. C. Whipp.** 1996. Vaccination with genetically modified Shiga-like toxin IIe prevents edema disease in swine. *Infect. Immun.* 64:55-60.

22. **Braun, V., K. Hantke, and K. Eick-Helmerich.** 1987. Molecular biology and biochemistry of microbial iron transport. p.35-51. *In* Winkelmann, G., D. van der Helm, and J. B. Neilands (eds.). Iron Transport in Microbes, Plants and Animals. VCH Publishers, New York.
23. **Brée, A., M. Dho, and J. P. Lafont.** 1989. Comparative infectivity for axenic and specific-pathogen-free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. *Avian Dis.* 33:134-139.
24. **Calnek, B. W. (ed.).** 1997. Diseases of Poultry. 10th ed. Iowa State University Press. Iowa.
25. **Caprioli, A., V. Falbo, L. G. Roda, F. M. Ruggeri, and C. Zona.** 1983. Partial purification and characterization of an *Escherichia coli* toxic factor that induces morphological cell alterations. *Infect. Immun.* 39:1300-1306.
26. **Caprioli, A., V. Falbo, F. M. Ruggeri, L. Baldassarri, R. Bisicchia, G. Ippolito, E. Romoli, and G. Donelli.** 1987. Cytotoxic necrotizing factor production by hemolytic strains of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. *J. Clin. Microbiol.* 25:146-149.
27. **Caprioli, A., V. Falbo, F. M. Ruggeri, F. Minelli, I. Orskov, and G. Donelli.** 1989. Relationship between cytotoxic necrotizing factor production and serotype in hemolytic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 27:758-761.
28. **Carbonetti, N. H., and P. H. Williams.** 1984. A cluster of 5 genes specifying the aerobactin uptake system of plasmid ColV-K30. *Infect. Immun.* 46:7-12.

29. **Cavalieri, S. J., and I. S. Snyder.** 1982. Effect of *Escherichia coli* alpha-hemolysin on human peripheral leukocyte viability *in vitro*. *Infect. Immun.* 36:455-461.
30. **Cavalieri, S. J., G. A. Bohach, and I. S. Snyder.** 1984. *Escherichia coli* α -hemolysin: characteristics and probable role in pathogenicity. *Microbiol. Rev.* 48:326-343.
31. **Chapman, P. A., C. A. Siddons, A. T. Gerdan Malo, and M. A. Harkin.** 1997. A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiol. Infect.* 119:245-250.
32. **Chart, H., J. Spencer, H. R. Smith, and B. Rowe.** 1997. Identification of entero-aggregative *Escherichia coli* based on surface properties. *J. Appl. Microbiol.* 83:712-717.
33. **Cherifi, A., M. Contrepolis, B. Picard, P. Goulet, J. De Rycke, J. M. Fairbrother, and J. Barnouin.** 1990. Factors and markers of virulence in *Escherichia coli* from human septicemia. *FEMS Microbiol. Lett.* 70:279-284.
34. **Cherifi, A., M. Contrepolis, B. Picard, P. Goulet, I. Orskov, F. Orskov, and J. De Rycke.** 1991. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O6 isolates from human and animal infections. *FEMS Microbiol. Lett.* 80:225-230.
35. **Cherifi, A., M. Contrepolis, B. Picard, P. Goulet, I. Orskov, and F. Orskov.** 1994. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O78 isolates from human and animal infections. *J. Clin. Microbiol.* 32:1197-1202.
36. **Chulasiri, M., and O. Suthienkul.** 1989. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens. *Vet. Microbiol.* 21:189-194.

37. **Cloud, S. S., J. K. Rosenberger, P. A. Fries, R. A. Wilson, and E. M. Odor.** 1985. *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. I. Serotypes, metabolic activity, and antibiotic sensitivity. *Avian Dis.* 29:1084-1093.
38. **Cravioto, A., R. J. Gross, S. M. Scotland, and B. Rowe.** 1979. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Curr. Microbiol.* 3:95-99.
39. **Cross, A. L., P. Gemski, J. C. Sadoff, F. Orskov, and I. Orskov.** 1984. The importance of the K1 capsule in invasive infections caused by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 149:184-193.
40. **Czirök, E., M. Dho, M. Herpay, I. Gado, and H. Milch.** 1990. Association of virulence markers with animal pathogenicity of *Escherichia coli* in different models. *Acta Microbiol. Hung.* 37:207-217.
41. **De Rycke, J., L. Phan-Thanh, and S. Bernard.** 1989. Immunochemical identification and biological characterization of cytotoxic necrotizing factor from *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 27:983-988.
42. **De Rycke, J., E. A. Gonzalez, J. Blanco, E. Oswald, M. Blanco, and R. Boivin.** 1990. Evidence for two types of cytotoxic necrotizing factor in human and animal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 28:694-699.
43. **De Rycke, J., P. Mazars, J.-P. Nougayrede, C. Tasca, M. Boury, F. Herault, A. Valette, and E. Oswald.** 1996. Mitotic and delayed lethality in Hela epithelial cells exposed to *Escherichia coli* BM2-1 producing cytotoxic necrotizing factor type 1. *Infect. Immun.* 64:1694-1705.

44. **Dho, M., and J. P. Lafont.** 1982. *Escherichia coli* colonization of the trachea in poultry: comparison of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens. *Avian Dis.* 26:787-797.
45. **Dho, M., J. P. Lafont, J. P. Girardeau, A. Michaud-Darfeuille, and G. Chabanon.** 1986. Propriétés d'adhésion des *Escherichia coli* aviaires. *Rev. Inst. Pasteur Lyon* 19:87-92.
46. **Dho-Moulin, M., and J. M. Fairbrother.** 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.* 30:299-316.
47. **Dorn, C. R.** 1993. Review of foodborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in the western United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:1583-1587.
48. **Dozois, C. M., J. M. Fairbrother, J. Harel, and M. Bossé.** 1992. *pap*- and *pil*-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. *Infect. Immun.* 60:2648-2656.
49. **Dreyfus, L. A., and D. C. Robertson.** 1984. Solubilization and partial characterization of the intestinal receptor for *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. *Infect. Immun.* 46:537-543.
50. **Dreyfus, L. A., B. Harville, D. E. Howard, R. Shaban, D. M. Beatty, and S. J. Morris.** 1993. Calcium influx mediated by *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin B (STb). *Proc. Natl. Acad. (USA).* 90:3202-3206.
51. **Duguid, J. P., and D. C. Old.** 1980. Adhesive properties of *Enterobacteriaceae*. p.186-217. *In* Beachey, E. H. (ed.), *Bacterial Adherence, Receptors and Recognition*. Chapman and Hall, London Series B, Vol. 6.

52. **Dupont, H. L., S. B. Formal, R. B. Hornick, M. J. Snyder, J. P. Libonati, D. G. Sheahan, E. H. Labrec, and J. P. Kalas.** 1971. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhoea. *New Engl. J. Med.* 285:1-9.
53. **Elfadil, A. A., J.-P. Vaillancourt, A. H. Meek, R. J. Jullian, and C. L. Gyles.** 1996. Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Dis.* 40:690-698.
54. **Emery, D. A., K. V. Nagaraja, D. P. Shaw, J. A. Newman, and D. G. White.** 1992. Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. *Avian Dis.* 36:504-511.
55. **Evans, D. J., D. G. Evans, C. Höhne, M. A. Noble, E. V. Haldane, H. Lior, and L. S. Young.** 1981. Hemolysin and K antigens in relation to serotype and hemagglutination type of *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections. *J. Clin. Microbiol.* 13:171-178.
56. **Frantz, J. C., L. Jaso-Friedman, and D. C. Robertson.** 1984. Binding of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin to rat intestinal cells and brush border membranes. *Infect. Immun.* 43:622-630.
57. **Fröman, G., L. M. Switalski, A. Faris, T. Wadström, and M. Höök.** 1984. Binding of *Escherichia coli* to fibronectin. *J. Biol. Chem.* 259:14899.
58. **Garcia, E., H. E. N. Bergmans, J. F. Van den Bosch, I. Orskov, B. A. M. Van der Zeijst, and W. Gaastra.** 1988. Isolation and characterization of dog uropathogenic *Escherichia coli* strains and their fimbriae. *Antonie Leeuwenhoek.* 54:149-163.

59. **Gjessing, K. M., and H. A. Berkhoff.** 1989. Experimental reproduction of airsacculitis and septicemia by aerosol exposure of 1-day-old chicks using Congo red-positive *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 33:473-478.
60. **Glünder, G.** 1990. Dermatitis in broilers caused by *Escherichia coli*: isolation of *Escherichia coli* from field cases, reproduction of the disease with *Escherichia coli* O78:K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. *Zentralbl. Veterinarmed* 37:383-391.
61. **Goldhar, J., R. Perry, J. R. Golecki, H. Hoschutzky, B. Jann, and K. Jann.** 1987. Nonfimbrial, mannose-resistant adhesins from uropathogenic *Escherichia coli* O83:K1:H4 and O14:K?:H11. *Infect. Immun.* 55:1837-1842.
62. **Gomis, S. M., T. Watts, C. Riddell, A. A. Potter, and B. J. Allan.** 1997. Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. *Avian Dis.* 41:234-240.
63. **Greatorex, J. S., and G. M. Thorne.** 1994. Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J. Clin. Microbiol.* 32:1172-1178.
64. **Griffin, P. M., and R. V. Tauxe.** 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohaemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.* 13:60-98.
65. **Griffiths, E.** 1994. Iron acquisition systems in *Escherichia coli*. p.533-566. *In* Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.

66. **Gross, W. G.** 1994. Diseases due to *Escherichia coli* in poultry. p.237-260. In C.L. Gyles (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, UK.
67. **Guth, B. E. C., E. M. Twiddy, L. R. Trabulsi, and R. K. Holmes.** 1986. Variation in chemical properties and antigenic determinants among type II heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 54:529-536.
68. **Gyles, C. L.** 1992. *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Can. J. Microbiol.* 38:734-746.
69. **Gyles, C. L.** 1994. *Escherichia coli* enterotoxins. p.337-364. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.
70. **Gyles, C. L.** 1994. *Escherichia coli* verotoxins and other cytotoxins. p.365-398. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.
71. **Hacker, J.** 1990. Genetic determinants coding for fimbriae and adhesins of extraintestinal *Escherichia coli*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 151:1-27.
72. **Hacker, J., L. Bender, M. Ott, J. Wingender, B. Lund, R. Marre, and W. Goebel.** 1990. Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysins occur *in vitro* and *in vivo* in various extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Microbial Pathog.* 8:213-225.
73. **Hacker, J.** 1992. Role of fimbrial adhesins in the pathogenesis of *Escherichia coli* infections. *Can. J. Microbiol.* 38:720-727.

74. **Harel, J., M. Jacques, J. M. Fairbrother, M. Bossé, and C. Forget.** 1995. Cloning of determinants encoding F165₂ fimbriae from porcine septicaemic *Escherichia coli* confirms their identity as F1C fimbriae. *Microbiol.* 141:221-228.
75. **Harnett, N. M., and C. L. Gyles.** 1985. Linkage of genes for heat-stable enterotoxin, drug resistance, K99 antigen, and colicin in bovine and porcine strains of *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 46:428-433.
76. **Harris, J. R., J. K. Wachsmuth, B. R. Davis, and M. L. Cohen.** 1982. A high molecular weight plasmid correlates with *Escherichia coli* enteroinvasiveness. *Infect. Immun.* 37:1295-1298.
77. **Heuvelink, A. E., F. L. van den Biggelaar, E. de Boer, R. G. Herbes, W. J. Melchers, J. H. Huis in't Veld, and L. A. Monnens.** 1998. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J. Clin. Microbiol.* 36:878-882.
78. **Holland, R.E., A. Schmidt, N. Sriranganathan, S. D. Grimes, R. A. Wilson, C. M. Brown, and R. D. Walker.** 1996. Characterization of *Escherichia coli* isolated from foals. *Vet. Microbiol.* 48:243-255.
79. **Holmes, R. K., E. M. Twiddy, and C. L. Pickett.** 1986. Purification and characterization of type II heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 53:464-473.
80. **Hughes, C., R. Phillips, and A. P. Roberts.** 1982. Serum resistance among *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection in relation to O type and the carriage of hemolysin, colicin, and antibiotic resistance determinants. *Infect. Immun.* 35:270-275.

81. **Hughes, J. M., F. Murad, B. Chang, and R. L. Guerrant.** 1978. Role of cyclic GMP in the activity of heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. *Nature*. 271:755-756.
82. **Hunter, P. R., and M. A. Gaston.** 1988. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 26:2465-2466.
83. **Jacobson, S. H., M. Hammarlind, K. J. Lidfeldt, E. Östergberg, K. Tullus, and A. Brauner.** 1988. Incidence of aerobactin-positive *Escherichia coli* strains in patients with symptomatic urinary tract infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7:630-634.
84. **Jann, K., and B. Jann.** 1984. Structure and biosynthesis of O-antigens. p. 138-186. *In* Rietschel, E. T. (ed.). *Handbook of Endotoxin*. Vol. 1. *Chemistry of Endotoxin*. Elsevier Press, Amsterdam.
85. **Jeffrey, J. S., J. H. Kirk, E. R. Atwill, and J. S. Cullor.** 1998. Research notes: prevalence of selected microbial pathogens in processed poultry waste used as dairy cattle feed. *Poult. Sci.* 77:808-811.
86. **Johnson, A. P., L. Burns, N. Woodford, E. J. Threlfall, J. Naidoo, E. M. Cooke, and R. C. George.** 1994. Gentamicin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* encoded by genes of veterinary origin. *J. Med. Microbiol.* 40:221-226.
87. **Johnson, J. R.** 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 4:80-128.

88. **Johnson, R. P., R. C. Clarke, J. B. Wilson, S. C. Read, K. Rahn, S. A. Renwick, K. A. Sandhu, D. Alves, M. A. Karmali, H. Lior, S. A. McEwen, J. S. Spika, and C. L. Gyles.** 1996. Growing concerns and recent outbreak involving non-O157:H7 serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Food Prot.* 59:1112-1122.
89. **Källenius, G., R. Möllby, S. B. Svenson, I. Helin, H. Hultberg, B. Cedergren, and J. Winberg.** 1981. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* urinary tract infections. *Lancet.* 1369-1372.
90. **Källenius, G., S. B. Svenson, R. Möllby, B. Cedergren, H. Hultberg, and J. Winberg.** 1981. Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet.* 604-606.
91. **Kaper, J. B., T. K. McDaniel, K. G. Jarvis, and O. Gomez-Duarte.** 1997. Genetics of virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 412:279-287.
92. **Kariuki, S., C. Gilks, J. Kimari, A. Obanda, J. Muyodi, P. Waiyaki, and C. A. Hart.** 1999. Genotype analysis of *Escherichia coli* strains isolated from children and chickens living in close contact. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:472-476.
93. **Karmali, M. A., M. Petric, S. Louie, and R. Cheung.** 1986. Antigenic heterogeneity of *Escherichia coli* verotoxins. *Lancet I.* 164-165.
94. **Katayama, S., M. Ninomiya, J. Minami, A. Okabe, and H. Hayashi.** 1990. Transcriptional control plays an important role for the production of heat-labile enterotoxin enterotoxigenic *Escherichia coli* of human origin. *Microbiol. Immunol.* 34:11-24.

95. **Klemm, P.** 1985. Fimbrial adhesins of *Escherichia coli*. Rev. Infect. Dis. 7:321-340.
96. **Knoop, F. C., and M. Owens.** 1992. Pharmacologic action of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. J. Pharmacol. Toxicol. Meth. 28:67-72.
97. **Konowalchuk, J., J. L. Speirs, and S. Stavric.** 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 18:775-779.
98. **Korhonen, T. K., M. V. Valtonen, J. Parkkinen, V. Väisänen-Rhen, J. Finne, F. Orskov, I. Orskov, S. B. Svenson, and P. H. Mäkelä.** 1985. Serotypes, hemolysin production, and receptor recognition of *Escherichia coli* strains associated with neonatal sepsis and meningitis. Infect. Immun. 48:486-491.
99. **Korhonen, T. K., R. Virkola, B. Westerlund, H. Holthöfer, and J. Parkkinen.** 1990. Tissue tropism of *Escherichia coli* adhesins in human extraintestinal infections. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 151:115-127.
100. **Korhonen, T. K., R. Virkola, K. Lähteenmäki, Y. Björkman, M. Kukkonen, T. Raunio, A.-M. Tarkkanen, and B. Westerlund.** 1992. Penetration of enteric bacteria through basement membranes: a hypothesis. FEMS Microbiol. Lett. 100:307-312.
101. **Krause, U., F. M. Thomson-Carter, and T. H. Pennington.** 1996. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 by pulsed-field gel electrophoresis and comparison with that by bacteriophage typing. J. Clin. Microbiol. 34:959-961.

102. **Labigne-Roussel, A., M. A. Schmidt, W. Walz, and S. Falkow.** 1985. Genetic organization of the afimbrial adhesin operon and nucleotide sequence from a uropathogenic *Escherichia coli* gene encoding an afimbrial adhesin. *J. Bacteriol.* 162:1285-1292.
103. **Labigne-Roussel, A., and S. Falkow.** 1988. Distribution and degree of heterogeneity of the afimbrial-adhesin-encoding operon (*afa*) among uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.* 56:640-648.
104. **Laconcha, I., N. Lopez-Molina, A. Rementeria, A. Audicana, I. Perales, and J. Garaizar.** 1998. Phage typing combined with pulsed-field gel electrophoresis and random amplified polymorphic DNA increases discrimination in the epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 40:27-34.
105. **Law, D., and H. Chart.** 1998. Enteroaggregative *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 84:685-697.
106. **Leffler, H., and C. Svanborg Edén.** 1980. Chemical identification of a glucosphingolipid receptor for *Escherichia coli* attaching to human urinary tract epithelial cells and agglutinating human erythrocytes. *FEMS Microbiol. Lett.* 8:127-134.
107. **Levine, M. M.** 1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. *J. Infect. Dis.* 155:377-389.
108. **Linggood, M. A., M. Roberts, S. Ford, S. H. Parry, and P. H. Williams.** 1987. Incidence of the aerobactin iron uptake system among *Escherichia coli* isolates from infections of farm animals. *J. Gen. Microbiol.* 133:835-842.

109. **Lingwood, C. A., H. Law, S. E. Richardson, M. Petric, J. L. Brunton, S. de Grandis, and M. Karmali.** 1987. Glycolipid binding of natural and recombinant *Escherichia coli* produced verotoxin *in-vitro*. J. Biol. Chem. 262:8834-8839.
110. **Lior, H.** 1994. Classification of *Escherichia coli*. p. 31-72. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.
111. **Mainil, J. G., F. Bex, E. Jacquemin, P. Pohl, M. Couturier, and A. Kaeckenbeeck.** 1990. Prevalence of four enterotoxin (STaP, STaH, STb, and LT) and four adhesin subunit (K99, K88, 987P, and F41) genes among *Escherichia coli* isolates from cattle. Am. J. Vet. Res. 51:187-190.
112. **Marier, R., J. G. Wells, R. C. Swanson, W. Dallhan, and I. J. Mehlman.** 1973. An outbreak of enteropathogenic *Escherichia coli* foodborne disease traced to imported soft French cheese. Lancet II 1376-1378.
113. **Martin, M. L., L. D. Shipman, J. G. Wells, M. E. Potter, K. Hedberg, I. K. Wachsmuth, R. V. Tauxe, J. P. Davis, J. Arnoldi, and J. Tilleli.** 1986. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic uraemic syndrome. Lancet 2:1043.
114. **Maurer, J. J., T. P. Brown, W. L. Steffens, and S. G. Thayer.** 1998. The occurrence of ambient temperature-regulated adhesins, curli, and the temperature-sensitive hemagglutinin Tsh among avian *Escherichia coli*. Avian Dis. 42:106-118.

115. **McCracken, G. H., L. D. Sarff, M. P. Glode, S. G. Mize, M. S. Schiffer, J. B. Robbins, E. C. Gotschlich, I. Orskov, and F. Orskov.** 1974. Relation between *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide antigen and clinical outcome in neonatal meningitis. *Lancet.* 246-250.
116. **Messier, S., S. Quessy, Y. Robinson, L. A. Devriese, J. Homme, and J. M. Fairbrother.** 1993. Focal dermatitis and cellulitis in broiler chickens: bacteriological and pathological findings. *Avian Dis.* 37:839-844.
117. **Moon, H. W., R. A. Schneider, and S. L. Moseley.** 1986. Comparative prevalence of four enterotoxin genes among *Escherichia coli* isolated from swine. *Am. J. Vet. Res.* 47:210-212.
118. **Morris, M. P.** 1994. Broiler cellulitis update. *Broiler Industry* 2:36-39.
119. **Morrison, D. C., and J. L. Ryan.** 1979. Bacterial endotoxins and host immune response. *Adv. Immunol.* 28:293-450.
120. **Morschhäuser, J., V. Vetter, T. K. Korhonen, B. E. Uhlin, and J. Hacker.** 1993. Regulation and binding properties of S fimbriae cloned from *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection and meningitis. *Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis.* 278:165-176.
121. **Moseley, S. L., J. W. Hardy, M. I. Huq, P. Echeverria, and S. Falkow.** 1983. Isolation and nucleotide sequence determination of a gene encoding a heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 39:1167-1174.
122. **Mouricourt, M.** 1991. Swine and cattle enterotoxigenic *Escherichia coli* mediated diarrhea. Development of therapies based on inhibition of bacteria-host interactions. *Eur. J. Epidemiol.* 7:588-604.

123. **Nagaraja, K. V., D. A. Emery, K. A. Jordan, V. Sivanandan, J. A. Newman, and B. S. Pomeroy.** 1984. Effect of ammonia on the quantitative clearance of *Escherichia coli* from lungs, air sacs, and livers of turkeys aerosol vaccinated against *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 45:392-395.
124. **Nakamura, K., K. Imai, and N. Tanimura.** 1996. Comparison of the effects of infectious bronchitis and infectious laryngotracheitis on the chicken respiratory tract. *J. Comp. Path.* 114:11-21.
125. **Nataro, J. P., and M. M. Levine.** 1994. *Escherichia coli* diseases in humans. p. 285-333. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, U. K.
126. **Neilands, J. B.** 1992. Mechanism and regulation of synthesis of aerobactin in *Escherichia coli* K12 (pColV-K30). *Can. J. Microbiol.* 38:728-733.
127. **Neill, R. J., E. M. Twiddy, and R. K. Holmes.** 1983. Synthesis of plasmid-coded heat-labile enterotoxin in wild-type and hypertoxinogenic strains of *Escherichia coli* and in other genera of *Enterobacteriaceae*. *Infect. Immun.* 41:1056-1061.
128. **Ngeleka, M., M. Jacques, B. Martineau-Doizé, F. Daigle, J. Harel, and J. M. Fairbrother.** 1993. Pathogenicity of an *Escherichia coli* O115:KV165 mutant negative for F165₁ fimbriae in septicemia of gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.* 61:836-843.
129. **Ngeleka, M., B. Martineau-Doizé, and J. M. Fairbrother.** 1994. Septicemia-inducing *Escherichia coli* O115:KV165:F165₁ resists killing by porcine polymorphonuclear leukocytes *in vitro*: role of F165₁ fimbriae and K V165 O-antigen capsule. *Infect. Immun.* 62:398-404.

130. **Ngeleka, M., J. K. P. Kwaga, D. G. White, T. S. Whittam, C. Riddell, R. Goodhope, A. A. Potter, and B. Allan.** 1996. *Escherichia coli* cellulitis in broiler chickens: clonal relationships among strains and analysis of virulence-associated factors of isolates from diseased birds. *Infect. Immun.* 64:3118-326.
131. **Norton, R. A., B. A. Hopkins, J. K. Skeeles, J. N. Beasley, and J. M. Kreeger.** 1992. High mortality of domestic turkeys associated with *Ascaridia dissimilis*. *Avian Dis.* 36:469-473.
132. **Nowicki, B., A. Labigne, S. Moseley, R. Hull, S. Hull, and J. Moulds.** 1990. The Dr hemagglutinin, afimbrial adhesins AFA-I and AFA-III, and F1845 fimbriae of uropathogenic *Escherichia coli* belong to a family of hemagglutinins with Dr receptor recognition. *Infect. Immun.* 58:279-281.
133. **O'Brien, A. D., G. D. LaVeck, M. R. Thompson, and S. B. Formal.** 1982. Production of *Shigella dysenteriae* Type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 146:763-769.
134. **Ojeniyi, A. A.** 1989. Direct transmission of *Escherichia coli* from poultry to humans. *Epidemiol. Infect.* 103:513-522.
135. **Onderka, D. K., J. A. Hanson, K. R. Mcmillan, and B. Allan.** 1997. *Escherichia coli* associated cellulitis in broilers: correlation with systemic infection and microscopic visceral lesions, and evaluation for skin trimming. *Avian Dis.* 41:935-940.
136. **Opal, S. M., A. S. Cross, P. Gemski, and L. W. Lyhte.** 1990. Aerobactin and alpha-hemolysin as virulence determinants in *Escherichia coli* isolated from blood, urine, and stool. *J. Infect. Dis.* 161:794-796.

137. **Orskov, F., I. Orskov, and J. A. Villar.** 1987. Cattle as a reservoir of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 2:276.
138. **Orskov, I., F. Orskov, B. Jann, and K. Jann.** 1977. Serology, chemistry, and genetics of O and K antigens of *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 41:667-710.
139. **Oswald, E., P. Pohl, E. Jacquemin, P. Lintermans, K. Van Muylem, A. D. O'Brien, and J. Mainil.** 1994. Specific DNA probes to detect *Escherichia coli* strains producing cytotoxic necrotising factor type 1 or type 2. *J. Med. Microbiol.* 40:428-434.
140. **Otto, B. R., S. J. van Dooren, J. H. Nuijens, J. Luirink, and B. Oudega.** 1998. Characterization of a hemoglobin protease secreted by the pathogenic *Escherichia coli* strain EB1. *J. Exp. Med.* 188:1091-1103.
141. **Oyetunde, O. O. F., R. G. Thomson, and H. C. Carlson.** 1978. Dust and *Escherichia coli* in broiler chickens. *Can. Vet. J.* 19:187-193.
142. **Pacheco, A. B., B. E. Guth, K. C. Soares, L. Nishimura, D. F. de Almeida, and L. C. Ferreira.** 1997. Random amplification of polymorphic DNA reveals serotype-specific clonal clusters among enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from humans. *J. Clin. Microbiol.* 35:1521-1525.
143. **Parkkinen, J., J. Hacker, and T. K. Korhonen.** 1991. Enhancement of tissue plasminogen activator-catalyzed plasminogen activation by *Escherichia coli* S fimbriae associated with neonatal septicaemia and meningitis. *Thromb. Haemostasis.* 65:483-486.

144. **Parreira, V. R., and T. Yano.** 1998. Cytotoxin produced by *Escherichia coli* isolated from chickens with swollen head syndrome (SHS). *Vet. Microbiol.* 62:111-119.
145. **Peighambari, S. M., J.-P. Vaillancourt, R. A. Wilson, and C. L. Gyles.** 1995. Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis. *Avian Dis.* 39:116-124.
146. **Peighambari, S. M., R. J. Julian, J.-P. Vaillancourt, and C. L. Gyles.** 1995. *Escherichia coli* cellulitis: experimental infections in broiler chickens. *Avian Dis.* 39:125-134.
147. **Pohl, P., G. Daube, J. Mainil, P. Lintermans, A. Kaeckenbeeck, and E. Oswald.** 1992. Facteurs de virulence et phénotypes de soixante et une souches d'*Escherichia coli* d'origine bovine, productrices de la toxine cytotoxique nécrosante de type 1 (CNF 1). *Ann. Méd. Vét.* 23:83-91.
148. **Pohl, P., J. Mainil, L. A. Devriese, F. Haesebrouck, A. Broes, P. Lintermans, and E. Oswald.** 1992. *Escherichia coli* productrices de la toxine cytotoxique nécrosante de type 1 (CNF1) isolées à partir de processus pathologiques chez des chats et des chiens. *Ann. Méd. Vét.* 137:21-25.
149. **Pourbakhsh, S. A., and J. M. Fairbrother.** 1994. Purification and characterization of P fimbriae from an *Escherichia coli* strain isolated from a septicemic turkey. *FEMS Microbiol. Lett.* 122:313-318.
150. **Pourbakhsh, S. A.** 1996. Phenotypic characterization of fimbriae of avian pathogenic *Escherichia coli* and their role in pathogenesis of colisepticemia in the chicken. Thèse de doctorat. Université de Montréal, Montréal, Québec.

151. **Prada, J., G. Baljer, J. De Rycke, H. Steinruck, S. Zimmerman, R. Stepham, and L. Beutin.** 1991. Characteristics of α -hemolytic strains of *Escherichia coli* isolated from dogs with gastroenteritis. *Vet. Microbiol.* 29:59-73.
152. **Provence, D. L., and R. Curtiss.** 1994. Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.* 62:1369-1380.
153. **Pupo, G. M., D. K. Karaolis, R. Lan, and P. R. Reeves.** 1997. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and mdh sequence studies. *Infect. Immun.* 65:2685-2692.
154. **Qadri, F., A. Haque, S. M. Faruque, K. A. Bettelheim, R. Robins-Browne, and M. J. Albert.** 1994. Hemagglutinating properties of enteroaggregative *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 32:510-514.
155. **Raetz, C. R. H.** 1990. Biochemistry of endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 59:129-170.
156. **Renwick, S. A., J. B. Wilson, R. C. Clarke, H. Lior, A. A. Borczyk, J. Spika, K. Rahn, K. McFadden, A. Brouwer, A. Copps, N. G. Anderson, D. Alves, and M. A. Karmali.** 1993. Evidence of direct transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection between calves and a human. *J. Infect. Dis.* 168:792-793.
157. **Reynard, A. M., and M. E. Beck.** 1976. Plasmid-mediated resistance to the bactericidal effects of normal rabbit serum. *Infect. Immun.* 14:848-850.

158. **Reynard, A. M., M. E. Beck, and R. K. Cunningham.** 1978. Effects of antibiotic resistance plasmids on the bactericidal activity of normal rabbit serum. *Infect. Immun.* 19:861-866.
159. **Rietschel, E. T., and H. Brade.** 1992. Bacterial endotoxins. *Scientific Amer.* 267:54-61.
160. **Robbins, J. B., G. H. McCracken, E. C. Gotschlich, F. Orskov, I. Orskov, and L. A. Hanson.** 1974. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *N. Engl. J. Med.* 290:1216-1220.
161. **Sack, R. B., B. Jacobs, and R. Mitra.** 1974. Antitoxin responses to infections with enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 129:330-335.
162. **Salyers, A. A., and D. D. Whitt.** 1994. *Escherichia coli* gastro-intestinal infections, ch. 16. *In* Salyers and Whitt (ed.), *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Press, Washington, D.C.
163. **Samuel, J. E., L. P. Perera, S. Ward, A. D. O'Brien, V. Ginsburg, and H. C. Krivan.** 1990. Comparison of the glycolipid receptor specificities of Shiga-like toxin type II and Shiga-like toxin type II variants. *Infect. Immun.* 58:611-618.
164. **Savarino, S. J., A. Fasano, D. C. Robertson, and M. M. Levine.** 1991. Enteroaggregative *Escherichia coli* elaborate a heat-stable enterotoxin demonstrable in an *in vitro* rabbit intestinal model. *J. Clin. Invest.* 87:1450-1455.
165. **Schiffer, M. S., E. Oliveira, M. P. Glode, G. H. McCracken, L. M. Sarff, and J. B. Robbins.** *A review: Relation between invasiveness and K1 capsular polysaccharide of Escherichia coli.* *Pediat. Res.* 10:82-87.

166. **Schmidt, M. A.** 1994. Nonfimbrial adhesins of *Escherichia coli*. In Klemm, P. (ed.), *Fimbriae: Adhesion, Genetics, Biogenesis and Vaccines*. CRC Press, Boca Raton.
167. **Schroten, H., R. Plogmenn, F. G. Hanisch, J. Hacker, R. Nobis-Bosh, and V. Wahn.** 1993. Inhibition of adhesion of S-fimbriated *Escherichia coli* to buccal epithelial cells by human skim milk is predominantly mediated by mucins and depends on the period of lactation. *Acta. Paediatr. Scand.* 82:6-11.
168. **Scioli, C. S., S. Esposito, G. Anzillotti, A. Pavone, and C. Penucci.** 1983. Transferable drug resistance in *Escherichia coli* isolated from antibiotic-fed chickens. *Poultry Sci.* 62:382-384.
169. **Scotland, S. M., H. R. Smith, G. A. Willshaw, and B. Rowe.** 1983. Vero cytotoxin production in strain of *Escherichia coli* is determined by genes carried on bacteriophage. *Lancet II.* 2:216.
170. **Scotland, S. M., G. A. Willshaw, H. R. Smith, B. Said, N. Stokes, and B. Rowe.** 1993. Virulence properties of *Escherichia coli* strains belonging to serogroups O26, O55, O111 and O128 isolated in the United Kingdom in 1991 from patients with diarrhoea. *Epidemiol. Infect.* 111:429-438.
171. **Senior, D. F., P. DeMan, and C. Svanborg.** 1992. Serotype, hemolysin production, and adherence characteristics of strains of *Escherichia coli* causing urinary tract infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 53:494-498.
172. **Seriwatana, J., P. Echeverria, D. N. Taylor, L. Rasrinaul, J. E. Brown, J. S. Peiris, and C. L. Clayton.** 1988. Type II heat-labile enterotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from animals and humans. *Infect. Immun.* 56:1158-1161.

173. **Shimizu, A., J. Kawano, C. Yamamoto, O. Kakutani, and M. Fujita.** 1997. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and phage typing for discriminating poultry strains of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Vet. Res.* 58:1412-1416.
174. **Silver, R. P., and E. R. Vimr.** 1990. Polysialic acid capsule of *Escherichia coli* K1. p.39-60. *In* Iglewski, B. H. and V. L. Clark (eds.). *Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis*. Academic Press, San Diego.
175. **Smyth, C. J., M. Marron, and S. G. J. Smith.** 1994. Fimbriae of *Escherichia coli*. p.399-436. *In* Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, U. K.
176. **Sojka, W. J., and R. B. A. Carnaghan.** 1961. *Escherichia coli* infections in poultry. *Res. Vet. Sci.* 2:340-352.
177. **Sommerfelt, H., H. Steinsland, H. M. Grewal, G. I. Viboud, N. Bhandari, W. Gaastra, A. M. Svennerholm, and M. K. Bhan.** 1996. Colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from children in north India. *J. Infect. Dis.* 174:768-776.
178. **Stathopoulos, C., D. L. Provence, and R. Curtiss.** 1999. Characterization of the avian pathogenic *Escherichia coli* hemagglutinin Tsh, a member of the immunoglobulin A protease-type family of autotransporters. *Infect. Immun.* 67:772-781.
179. **Stephen, J., and R. A. Pietrowski (ed.).** 1986. *Microbiology*. 2nd ed. American society for microbiology. Washington D.C.

180. **Svanborg-Edén, C., L. Hagberg, R. Hull, S. Hull, K.-E. Magnusson, and L. Öhman.** 1987. Bacterial virulence versus host resistance in the urinary tracts of mice. *Infect. Immun.* 55:1224-1232.
181. **Synge, B. A., G. F. Hopkins, W. J. Reilly, and J. C. M. Sharp.** 1993. Possible link between cattle and *Escherichia coli* O157 infection in a human. *Vet. Rec.* 133:507.
182. **Takashi, I., T. Tsuji, M. Koto, S. Imamura, and A. Miyama.** 1993. Amino acid sequence of heat-labile enterotoxin from chicken enterotoxigenic *Escherichia coli* is identical to that of human strain H 10407. *FEMS Microbiol. Lett.* 108:157-162.
183. **Tarkka, E., H. Ahman, and A. Siitonen.** 1994. Ribotyping as an epidemiologic tool for *Escherichia coli*. *Epidemiol. Infect.* 112:263-274.
184. **Tenover, F. C., R.D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, and B. Swaminathan.** 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.
185. **Toledo, M. R. F., M. C. B. Alvariza, J. Murahovschi, S. R. T. S. Ramos, and L. R. Trabulsi.** 1983. Enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and endemic diarrhea in infants. *Infect. Immun.* 39:586-589.
186. **Trevena, W. B., G. A. Willshaw, T. Cheasty, C. Wray, and J. Gallagher.** 1996. Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infection associated with farms. *Lancet* 347:60-61.

187. **Tullus, K., A. Brauner, B. Fryklund, T. Munkhammar, W. Rabsch, R. Reissbrodt, and L. G. Burman.** 1992. Host factors *versus* virulence-associated bacterial characteristics in neonatal and infantile bacteriemia and meningitis caused by *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* 36:203-208.
188. **Tzipori, S., H. Karch, K. I. Wachsmuth, R. M. Robins-Browne, A. D. O'Brien, H. Lior, M. I. Cohen, J. Smithers, and M. M. Levine.** 1987. Role of 60-megadalton plasmid and Shiga-like toxins in the pathogenesis of infections caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.* 55:3117-3125.
189. **Vaisanen-Rhen, V., J. Elo, E. Vaisanen, A. Siitonen, I. Orskov, F. Orskov, S. B. Svenson, P. H. Makela, and T. K. Korhonen.** 1984. P-fimbriated clones among uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* 43:149-155.
190. **Valvano, M. A.** 1992. Pathogenicity and molecular genetics of O-specific side-chain lipopolysaccharides of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 38:711-719.
191. **Van den Bogaard.** 1997. Vancomycin-resistant enterococci in turkeys and farmers. *N. Engl. J. Med.* 337:1158-1159.
192. **Van den Bosch, J. F., J. H. I. M. Hendriks, I. Gladigau, H. M. C. Willems, P. K. Storm, and F. K. de Graaf.** 1993. Identification of F11 fimbriae on chicken *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* 61:800-806.
193. **Van den Hurk, J. V., B. J. Allan, C. Riddell, T. Watts, and A. A. Potter.** 1994. Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys to *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 38:708-716.

194. **Vernet, V., A. Philippon, C. Madoulet, R. Vistelle, R. Jaussaud, and C. Chippaux.** 1995. Virulence factors (aerobactin and mucoid phenotype) in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* blood culture isolates. FEMS Microbiol Lett. 130:51-57.
195. **Vidotto, M. C., E. E. Müller, J. C. de Freitas, A. A. Alfieri, I. G. Guimaraes, and D. S. Santos.** 1990. Virulence factors of avian *Escherichia coli*. Avian Dis. 34:531-538.
196. **Waddell, T., S. Head, M. Petric, A. Cohen, and C. Lingwood.** 1988. Globotriosyl ceramide is specifically recognized by the *Escherichia coli* verocytotoxin 2. Biochem. Biophys. Res. Commun. 152:674-679.
197. **Waldman, S. A., T. Kuno, Y. Kamisaki, L. Y. Chang, J. Gariepy, P. O'Hanley, G. Schoolnik, and F. Murad.** 1986. Intestinal receptor for heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli* is tightly coupled to a novel form of particulate guanylate cyclase. Infect. Immun. 51:320-326.
198. **Wang, G., T. Zhao, and M. P. Doyle.** 1996. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in bovine feces. Appl. Environ. Microbiol. 62:2567-2570.
199. **Wanke, C. A., J. B. Schorling, L. J. Barrett, M. A. Desouza, and R. L. Guerrant.** 1991. Potential role of adherence traits of *Escherichia coli* in persistent diarrhea in an urban Brazilian slum. Pediatr. Infect. Dis. J. 10:746-751.
200. **Wastlhuber, U., C. Spleiss, and J. E. Lohr.** 1998. Verotoxin production and adhesion genes of *E. coli* isolates from commercial poultry and psittacines: detection by PCR. Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere 26:49-52.

201. **Wenneras, C., J. Holmgren, and A. M. Svennerholm.** 1990. The binding of colonization factor antigens of enteritoxigenic *Escherichia coli* to intestinal cell membrane proteins. *FEMS Microbiol Lett.* 54:107-112.
202. **Whitfield, C., W. J. Keenleyside, and B. R. Clarke.** 1994. Structure, function and synthesis of surface polysaccharides in *Escherichia coli*. p. 437-494. In Gyles, C. L. (ed.). *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, U. K.
203. **Whittam, T. S., and R. A. Wilson.** 1988. Genetic relationships among pathogenic *Escherichia coli* of serogroup O157. *Infect. Immun.* 56:2467-2473.
204. **Whittam, T. S., I. K. Wachsmuth, R. A. Wilson.** 1988. Genetic evidence of clonal descent of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J. Infect. Dis.* 157:1124-1133.
205. **Wilson, R. A., and D. H. Francis.** 1986. Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am. J. Vet. Res.* 47:213-217.
206. **Witte, W.** 1997. Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. *Ciba Found. Symp.* 207:61-71.
207. **Wooley, R. E., K. R. Spears, J. Brown, L. K. Nolan, and O. J. Fletcher.** 1992. Relationship of complement resistance and selected virulence factors in pathogenic avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 36:679-684.
208. **Yu, J., and J. B. Kaper.** 1992. Cloning and characterization of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Mol. Microbiol.* 6:411-417.

209. **Zhu, C., J. Harel, F. Dumas, and J. M. Fairbrother.** 1995. Identification of EaeA protein in the outer membrane of attaching and effacing *Escherichia coli* O45 from pigs. FEMS Microbiol. Lett. 129:237-242.

VI- ANNEXES

Annexe 1

Tableau complémentaire

Annexe 2

Figures complémentaires

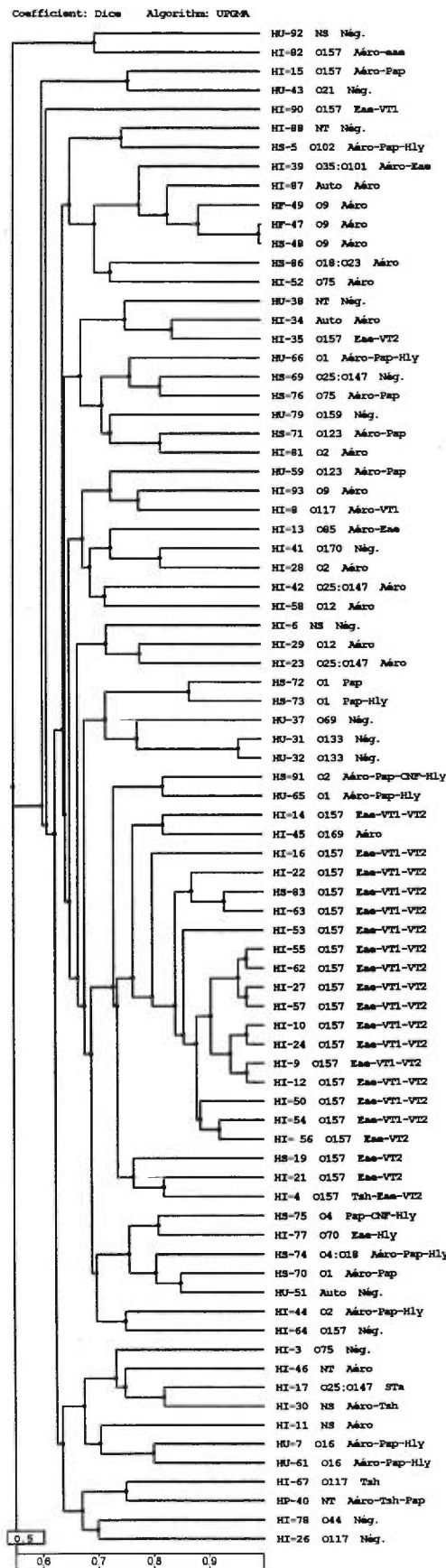


Figure 2. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats humains d'origine intestinale (HI) et extra-intestinale (HU: urine, HS: sang, HF: foie, HP: pus) d'*Escherichia coli*. Les profils génotypiques étaient comparés entre eux en utilisant le coefficient de similarité de Dice.

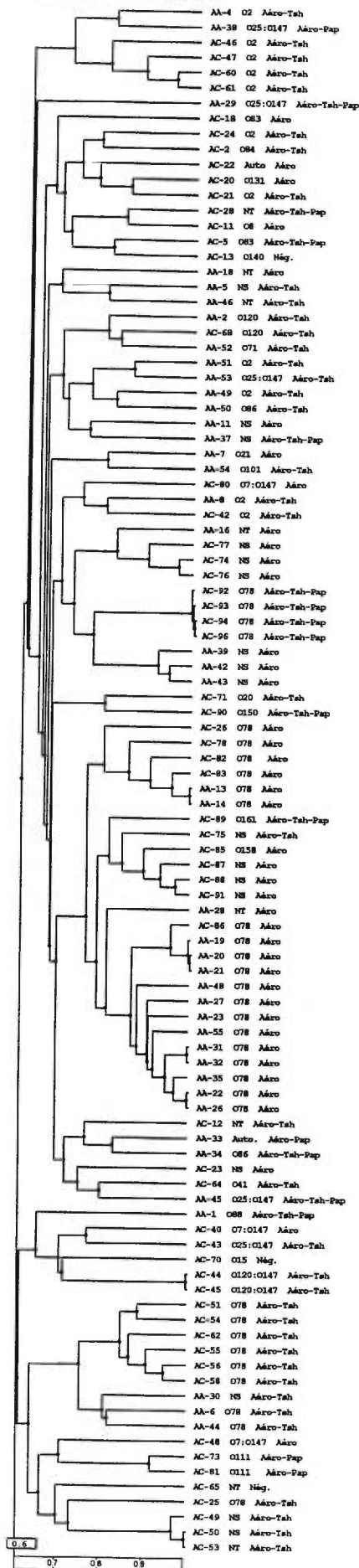


Figure 3. Dendrogramme fait à partir des profils génotypiques des isolats aviaires (AA: aérosacculite, AC: cellulite) d'*Escherichia coli*. Les profils génotypiques étaient comparés entre eux en utilisant le coefficient de similarité de Dice.

