

Typage des *Escherichia coli* isolées d'intestins de porcelets en Belgique au moyen de sondes génétiques : souches entérotoxinogènes, vérotoxinogènes ou entéropathogènes

J. G. MAINIL, G. DAUBE, E. JACQUEMIN, A. KAECKENBEECK, P. POHL¹

Chaire de Bactériologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Sart-Tilman - Bât B43
B-4000 Liège, Belgique.

¹ Institut National de Recherches Vétérinaires
Groeselenberg, 99
B-1180 Bruxelles, Belgique.

Manuscrit déposé le 30/08/1994.

INTRODUCTION

Les souches diarrhéogènes d'*Escherichia coli* sont réparties en de nombreux groupes selon les combinaisons de facteurs ou de propriétés de virulence qu'elles possèdent (revue par Pohl, 1993). Selon l'espèce animale, ces classes ont été ou non observées. Les souches de chaque classe appartiennent à un nombre limité de sérogroupes O et K (revues par Morris et Sojka, 1985; Holland, 1990; Kaeckenbeeck, 1993).

Les souches entérotoxinogènes d'*E. coli* (ETEC) provoquent l'apparition de diarrhée chez des animaux nouveau-nés et des enfants dans les pays en voie de développement. Ces souches produisent deux

types de facteurs spécifiques de virulence : des entérotoxines thermostables et thermolabiles et des adhésines de type fimbriaire (revues par Orskov et Orskov, 1984; Morris et Sojka, 1985; Sussman, 1985). Les entérotoxines sont divisées en thermostables actives sur l'intestin du souriceau nouveau-né et soluble dans le méthanol (STa, avec deux génotypes : STaP, présent dans des souches d'origine humaine et animale, dont le porc, et STaH, présent seulement dans des souches d'origine humaine), thermostables inactives sur l'intestin du souriceau nouveau-né et insoluble dans le méthanol (STb) et thermolabiles de type 1 (LT1 avec deux variants antigéniques : LT1p produit par des

RESUME

Sept cent quatre-vingt-deux souches d'*Escherichia coli* isolées d'intestins de porcelets en Belgique ont été étudiées par hybridation sur colonies au moyen de sondes génétiques pour des entérotoxines thermostables (STaP et STb) et thermolabiles (LT1 et LT2a), pour des adhésines (F4, F5, F6, F41 et F107), pour des vérocytotoxines (SLT1 et SLT2) et pour la protéine intimine impliquée dans l'effacement des microvillosités des entérocytes (EAE) afin de déterminer les pathotypes prévalents parmi les souches entérotoxinogènes (ETEC), vérocytotoxinogènes (VTEC) et entéropathogènes (EPEC). Trois cent cinquante-huit souches (46 %) étaient positives avec au moins une sonde. Les sondes LT2a et SLT1 n'avaient hybridé avec aucune souche. Cinq pathotypes majeurs représentaient plus de 80 % des ETEC (139 souches) : STb+LT1+F4+ (62 souches), STaP+F5+F41+ (23 souches), STaP+STb+LT1+F4+F6+ (10 souches), LT1+F4+ (neuf souches) et STb+ (neuf souches). Parmi toutes les souches ETEC F4+, un sérotype était largement majoritaire : O149:K91 (87 %). Le sérotype O101 était le plus représenté parmi les souches F5+ et/ou F41+ (25 %). Les autres souches ETEC étaient trop peu nombreuses pour être analysées. Les souches SLT2+ se répartissaient en souches VTEC et en souches VTEC/ETEC, également positives avec des sondes d'entérotoxines. Pour les unes comme pour les autres, deux groupes se distinguaient sur base de l'hybridation avec la sonde F107. En ce qui concerne les 164 souches VTEC et VTEC/ETEC, deux sérotypes bien représentés étaient O141:K85:H4 et O141:K85:H-. Cependant, ces sérotypes étaient beaucoup plus fréquents parmi les 64 souches ETEC/VTEC F107+ (78 %) et les 22 souches ETEC/VTEC F107- (86 %), que parmi les 24 souches VTEC F107+ (29 %) et les 54 souches VTEC F107- (37 %). Il est à remarquer que huit souches non-ETEC non-VTEC F107+ (20 %) appartiennent aussi à ces deux sérotypes. Tous les sérotypes cités étaient rares parmi les souches négatives aux sondes. Les dix souches EAE+ n'ont pas été sérotypées.

souches d'origine porcine et LT1h produit par des souches d'origine humaine). Les adhésines fimbriaires ont reçu des noms variés, mais sont actuellement symbolisées par la lettre F suivie d'un nombre (CFA1 ou F2, CFA2 ou F3, K88 ou F4, K99 ou F5, 987P ou F6, F41...). Les souches ETEC d'origine porcine provoquent des diarrhées non seulement chez les porcelets nouvellement sevrés (revues par Morris et Sojka, 1985; Holland, 1990; Fairbrother, 1993).

Selon la combinaison des toxines thermostables produites (STa et STb), les souches ETEC porcines ont été réparties en trois classes : les souches de la classe 1 produisent la toxine STb, celles de la classe 2 la toxine STa et celles de la classe 3 les deux toxines thermostables (Whipp et al., 1981; Harnett et Gyles, 1983). Ces trois classes peuvent être subdivisées selon la production ou non de toxine LT1 et d'adhésines : les souches associées aux diarrhées néonatales produisent les adhésines F4, F5, F6 et/ou F41 tandis que celles associées aux diarrhées du sevrage produisent les adhésines F4, F107, F«2134» et/ou F«8813» (revues par Morris et Sojka, 1985; Holland, 1990; Fairbrother, 1993).

Actuellement, les souches ETEC porcines sont cependant classées en fonction des types d'adhésines produites, bien qu'il en existe encore qui ne possèdent aucune des adhésines actuellement décrites (revues par Morris et Sojka, 1985; Holland, 1990; Fairbrother, 1993). Des études par hybridation sur colonies au moyen de sondes génétiques ont confirmé l'existence de ces différentes classes (Moon et al., 1986; Monckton et Hasse, 1988; Nagy et al., 1990; Woodward et al., 1990; Harel et al., 1991).

D'autre part, des toxines thermolabiles antigéniquement distinctes mais biologiquement similaires à la toxine LT1, sont produites par des souches isolées à l'origine de buffles d'eau (*Bubalus arnee bubalis*) et de nourriture : les toxines LT2, dont au moins deux variants (a et b) ont été décrits (Green et al., 1983; Guth et al., 1986b). Des souches isolées

d'humains (voyageurs et enfants), de buffles d'eau et de bétail se sont révélées positives phénotypiquement ou génotypiquement pour ces toxines LT2 (Guth et al., 1986a; Seriwatana et al., 1988; Pohl et al., 1989b). Ces souches n'ont cependant pas encore été observées dans l'espèce porcine à notre connaissance.

Les souches entérotoxémiques d'*E. coli* sont associées à la maladie de l'œdème chez des porcelets récemment sevrés. Elles produisent une toxine thermolabile active sur cellules Véro, ou vérocytotoxine (*E. coli* vérotoxino-gènes ou VTEC), dénommée dans un premier temps *Edema Disease Principle* (EDP) (Dobrescu, 1983). Cette cytotoxine est un membre de la famille des toxines Shiga-like (SLT) (O'Brien et Holmes, 1987) et est aussi dénommée variant porcin de la toxine SLT2 (SLT2vp) (Marques et al., 1987). Ces souches VTEC associées à la maladie de l'œdème produisent une adhésine qui leur permet de coloniser l'intestin des porcelets de cet âge, l'adhésine F107 (Bertschinger et al., 1990; Imberechts et al., 1992).

Certaines souches produisent l'une ou l'autre des entérotoxines classiques et la toxine SLT2vp (souches ETEC/VTEC). Ces souches peuvent être impliquées dans la maladie de l'œdème et dans des diarrhées d'après le sevrage. Ces souches ETEC/VTEC sont aussi positives pour les adhésines F4, F107, F«2134» et/ou F«8813» (revue par Fairbrother, 1993). En fait, il apparaît que ces différentes adhésines de souches VTEC et ETEC/VTEC porcines sont des variants antigéniques d'une famille d'adhésines de type fimbriaire (Nagy et al., 1992). Génétiquement, elles sont très proches et peuvent être détectées au moyen d'une sonde génétique dérivée du gène codant pour la sous-unité majeure de ces fimbriae (Imberechts et al., 1994). Cette situation semble similaire à celle des adhésines F4 dont les trois variants antigéniques, F4ab, F4ac et F4ad, sont détectés par une sonde génétique dérivée du gène codant pour la sous-unité du fimbriae de l'un de ces variants (Dykes et al., 1985).

Enfin, une classe de souches d'*E. coli* provoquent l'effacement des microvillosités des entérocytes : les souches «attachantes et effaçantes» ou souches AEEC ou souches entéroeffaçantes. Ces souches sont bien connues chez l'homme, chez les bovins, chez le lapin et ont été décrites chez quelques autres espèces animales dont le porc. L'effacement des microvillosités est sous la dépendance entre autres d'un gène (*eaeA*) qui code pour une protéine, l'intimine, de la membrane externe des bactéries dont divers variants ont été décrits. Certaines souches AEEC produisent aussi des vérocytotoxines ou toxines Shiga-like (= souches VTEC), d'autres non (= souches EPEC) (revues par Donnenberg et Kaper, 1992; Broes, 1993; Fairbrother, 1993; Mainil, 1993; Peeters, 1993; Pohl, 1993).

En plus de produire une combinaison particulière de facteurs de virulence, les souches d'une classe donnée appartiennent à un nombre restreint de sérotypes (revues par Morris et Sojka, 1985; Holland, 1990; Kaeckenbeeck, 1993). Les données concernant les souches porcines ont été récemment revues (Fairbrother, 1993).

Le but du travail a été d'utiliser des sondes génétiques pour l'ensemble de ces facteurs de virulence sur des souches isolées de porcelets en Belgique afin d'en identifier les pathotypes et de les comparer avec ceux décrits dans d'autres régions du monde.

MATERIEL ET METHODES

Sondes génétiques

Les sondes génétiques (Tableau 1) ont été dérivées de plasmides recombinants multicopies porteurs de gènes codant pour une toxine, la sous-unité d'une adhésine de type fimbriaire ou la protéine intimine impliquée dans l'effacement des microvillosités des entérocytes (Mainil et al., 1989, 1990, 1993; Imberechts et al., 1992). La seule différence était la sonde pour l'adhésine F4. Un fragment de restriction *Hind3-EcoR1* de 382 paires de base correspondant au gène qui code pour la sous-unité du fimbriae (Moseley, communication personnelle) a été dérivé

TABLEAU 1
Description des sondes génétiques utilisées

| Sonde génétique | | Plasmide recombinant | | Spécificité |
|-------------------------------|---|---|---|--|
| Nom | Origine | Nom | Enzyme(s) * | |
| STaP STb LT1 LT2a | Bovine Porcine Porcine Buffle d'eau | pRIT10130 pRAS1 pEWD299 pCP2725 | <i>Hinf</i> 1 <i>Hinf</i> 1 <i>Hind</i> 2 <i>Hind</i> 3 + <i>Pst</i> 1 | Toxine STaP Toxine STb Toxines LT1 Toxine LT2a |
| F4 F5 F6 F41 F107 | Porcine Bovine Porcine Bovine Porcine | pCUR1 pFK99 pPK150 pDGA17 pIH16 | <i>Hind</i> 3 + <i>Eco</i> R 1 <i>Hpa</i> 1 <i>Hpa</i> 1 3 + <i>Bg</i> 12 <i>Pst</i> 1 + <i>Hind</i> 2 <i>Pst</i> 1 | Adhésines K88 Adhésine K99 Adhésine 987P Adhésine F41 Adhésines F107 |
| SLT1 SLT2 EAE | Humaine Humaine Humaine | pJN37-19 pNN11-19 pCVD434 | <i>Bam</i> H1 <i>Pst</i> 1 <i>Sal</i> 1 + <i>Kpn</i> 1 | Toxine SLT1 Toxines SLT2 Intimines |

* Endonucléases de restriction à utiliser pour dériver le fragment-sonde à partir du plasmide vecteur.

du plasmide recombinant pMK005 (Ke-hoe et al., 1981). Le fragment a été sous-cloné dans le plasmide vecteur pUC18 pour former le plasmide recombinant pCUR 1. Ces diverses sondes ont déjà été utilisées par de nombreux auteurs et sont réputées sensibles et spécifiques vis à vis soit des toxines, soit des adhésines de type fimbriaire. Dans nos conditions d'hybridation, les particularités suivantes sont à retenir. La sonde LT1 détecte les variants porcine et humaine de cette toxine (Moseley et al., 1980) tandis que la sonde LT2 ne détecte que le variant a des toxines LT2 (Pickett et al., 1989). La sonde pour le variant LT2b n'a pas été utilisée. La sonde F4 détecte les trois variants antigéniques connus de cette adhésine, K88ab, K88ac et K88ad (Dykes et al., 1985). La sonde SLT2 détecte les différents variants connus de cette famille de toxines (revue par Mainil, 1991), dont le variant porcine produits par les souches associées à la maladie de l'œdème (Mainil et al., 1989). La sonde F107 détecte les différents variants connus de cette famille d'adhésines produites par les souches associées à la maladie de l'œdème (Imberechts et al., 1994). La sonde EAE détecte les gènes codant pour l'intimine de souches humaines et animales (Donnenberg et Kaper, 1992; Mainil et al., 1993; Pohl et al., 1993; Mainil et al., 1994)

Souches d'*Escherichia coli*

Les souches sauvages testées étaient au nombre de 782. Elles provenaient des collections de l'Institut National de Recherches Vétérinaires et de la Faculté de Médecine Vétérinaire. Elles ont été isolées entre 1985 et 1990 d'intestins de porcelets nouveau-nés ou récemment

sevrés (un à trois isolats par porcelet) avec des signes cliniques ou des lésions de colibacillose ou de maladie de l'œdème. Ces souches ont été conservées sur milieu Dorset à l'œuf (Cowan et Steel, 1995) depuis leur isolement. Certaines ont déjà été partiellement étudiées (Mainil et al., 1989; Pohl et al., 1989c). Les sérotypes et sérogroupes ont été déterminés à l'Institut selon les données de Sojka (1972) et de Morris et Sojka (1985). Les souches témoins pour les différentes sondes génétiques étaient les souches suivantes : 431 (STaP+F5+F41+), 987 (STaP+STb+F6+), E2348/69 (EAE+), 1625 (EAE+SLT1+), 211 (SLT2+), G7 (STb+LT1+F4+), SA 53 (LT2a+) et 107/86 (SLT2+F107+).

Hybridation ADN-ADN sur colonies

Après une croissance de nuit à 37 °C sur gélose nutritive, les colonies ont été transférées sur des filtres de papier (Whatman 541, Belgolabo, Bruxelles). Le traitement de ces filtres afin de lyser les bactéries et de dénaturer l'ADN et les conditions d'hybridation (65 °C, pas de formamide) ont déjà été décrites en détail (Mainil et al., 1990).

RESULTATS

Hybridation des souches contrôles

Chaque sonde génétique a hybridé avec son (ou ses) contrôle(s) posi-

tif(s) et pas avec les contrôles négatifs.

Hybridation des souches sauvages

Trois cent cinquante-huit souches d'*E. coli* (46 %) étaient positives à au moins une sonde génétique (Tableau 2). Seuls les gènes codant pour l'entérotoxine LT2a et pour la vérocytotoxine SLT1 n'ont pas été détectés.

Pathotypes des souches positives aux sondes

Les souches positives aux sondes ont été divisées en quatre groupes : ETEC, VTEC, ETEC/VTEC et EPEC (Tableau 3).

TABLEAU 2
Prévalence des gènes codant pour quatre entérotoxines, cinq adhésines, deux cytotoxines et la protéine intimine parmi 782 souches d'*E. coli* isolés de porcelets

| Sonde génétique | N° souches positives | % souches positives |
|-----------------|----------------------|---------------------|
| STaP | 47 | 6 % |
| STb | 181 | 23 % |
| LT1 | 90 | 12 % |
| LT2a | 0 | — |
| F4 | 86 | 11 % |
| F5 | 26 | 3,3 % |
| F6 | 14 | 1,7 % |
| F41 | 31 | 4 % |
| F107 | 135 | 17 % |
| SLT1 | 0 | — |
| SLT2 | 164 | 21 % |
| EAE | 11 | 1,4 % |

Les souches ETEC sont au nombre de 139 (18 %). Ce groupe de souches peut être subdivisé en quatre classes sur base de l'hybridation avec les sondes STaP et STb : les souches de la classe 1 (80 souches, 10 %) répondent à la sonde

STb (souches STb+); celles de la classe 2 (31 souches, 4 %) à la sonde STaP (souches STaP+) et celles de la classe 3 (15 souches, 2 %) aux deux sondes (souches STaP+STb+). Quelques autres souches (13 souches, 2 %) ne sont

par contre positives à aucune de ces deux sondes, mais bien à la sonde LT1.

Les 78 souches VTEC du deuxième groupe (10 %) renferment un gène qui code pour une vérocitotoxine de la famille SLT2; 24 d'entre elles (3 %) sont en plus F107+; une autre souche est aussi EAE+.

Les 87 souches ETEC/VTEC du troisième groupe (11 %) contiennent les gènes qui codent pour des entérotoxines (STaP, STb et/ou LT1) ainsi que pour une vérocitotoxine de la famille SLT2. Parmi elles, 65 (8 %) répondent aussi à une sonde d'adhésine (F4 ou F107).

Enfin, dix souches (1 %) sont EAE+ mais SLT1- et SLT2-. Elles ont été dénommées souches EPEC par analogie avec les mêmes types de souches d'origine humaine.

Il reste certaines souches (44 souches, 6 %) qui sont inclassables selon le schéma présenté, car elles sont positives uniquement avec une sonde spécifique d'une adhésine, F41 ou F107.

Sérotypes des souches positives aux sondes

Les données relatives aux sérotypes étaient disponibles pour presque toutes les souches positives et une partie de celles négatives aux sondes. Certains regroupements sont possibles en fonction de l'hybridation soit avec la sonde d'une adhésine, soit avec la sonde d'une cytotoxine.

En ce qui concerne les 86 souches ETEC ou ETEC/VTEC F4+ (Tableau 3), 75 (87 %) appartiennent au sérotype O149:K91 et ce, quelle que soit la combinaison de sondes hybridées en plus des deux susmentionnées, contre 1 % seulement des 424 souches négatives aux sondes.

Par contre, seulement un quart des 28 souches ETEC F5+ et/ou F41+ (Tableau 3) appartiennent à un sérotype classique de ces pathotypes, O101 (sept souches) et O8 (une souche) en l'occurrence. Les autres souches ETEC, F6+, F107+ ou négatives avec les sondes d'adhésines (Tableau 3), sont trop peu nombreuses que pour être analysées, mis à part certaines souches F6+ ou

TABLEAU 3
Prévalence des pathotypes parmi les 782 souches porcines d'*Escherichia coli*

| Pathotypes | N° souches | Sérogroupe classique (N° souches) |
|---|------------|-----------------------------------|
| A) Groupe ETEC | | |
| <i>a) Classe 1</i> | | |
| STb+LT1+F4+ | 62 | O149:K91 (53) |
| STb+F4+ | 1 | O149:K91 |
| STb+LT1+F4+F107+ | 2 | O149:K91 (1) |
| STb+F107+ | 4 | O149:K85 (2) |
| | | O149:K91 (1) |
| STb+ | 9 | -- * |
| STb+LT1+ | 2 | O20 (1) |
| <i>b) Classe 2</i> | | |
| STaP+F5+F41+ | 23 | O101 (6) |
| STaP+F5+F41+F107+ | 1 | O101 |
| STaP+F5+ | 2 | O8 (1) |
| STaP+F41+ | 2 | -- |
| STaP+F6+ | 3 | O20 (2) |
| <i>c) Classe 3</i> | | |
| STaP+STb+LT1+F4+F6+ | 10 | O149:K91 |
| STaP+STb+F4+ | 1 | O9:K"2343" |
| STaP+STb+F107+ | 1 | -- |
| STaP+STb+F6+ | 1 | O9:K"P16" |
| STaP+STb+ | 2 | -- |
| <i>d) Autres</i> | | |
| LT1+F4+ | 9 | O149:K91 |
| LT1+ | 4 | O149:K91 (5) |
| B) Groupe VTEC | | |
| SLT2+F107+ | 24 | O141:K85:H4 ou H- (7) |
| SLT2+ | 53 | O149:K91 (1) |
| | | O139:K82 (4) |
| | | O141:K85:H4 ou H- (19) |
| SLT2+EAE+ | 1 | O141:K85:H- |
| C) Groupe ETEC/VTEC | | |
| STaP+SLT2+F107+ | 1 | -- |
| STb+SLT2+F107+ | 63 | O141:K85:H- (50) |
| STb+SLT2+ | 22 | O141:K85:H- (19) |
| STb+LT1+F4+SLT2+ | 1 | O149:K91 |
| D) Groupe EPEC | | |
| EAE+ | 10 | -- |
| E) Isolats positifs aux sondes d'adhésines | | |
| F41+ | 5 | -- |
| F107+ | 39 | O139:K82 (1) |
| | | O141:K85:H4 ou H- (8) |
| F) Isolats négatifs aux sondes | | |
| | 424 | O8 (5); O9 (2); O20 (1) |
| | | O64:K"V142" (1); O101 (14); |
| | | O138:K81 (1); O139:K82 (1) |
| | | O141:K85:H4 ou H- (9) |
| | | O149:K91 (4) |

* Soit souches non typées, soit sérotypes indéterminés, soit sérotypes variés.

F107+ qui sont également F4+ ou F5+ et qui ont déjà été mentionnées.

En ce qui concerne les 164 souches VTEC et ETEC/VTEC autres que celles déjà citées plus haut (Tableau 3), deux sérotypes bien représentés sont O141:K85:H4 et O141:K85:H-. Cependant, ces sérotypes sont beaucoup plus fréquents parmi les 64 souches ETEC/VTEC F107+ (78 %) et les 22 souches ETEC/VTEC F107- (86 %), que parmi les 24 souches VTEC F107+ (29 %) et les 54 souches VTEC F107- (37 %). De même que pour le sérotype O149:K91, les sérotypes O141:K85:H4 et H- sont rares parmi les 424 souches négatives aux sondes (2 %). Il est à remarquer que huit souches non-ETEC non-VTEC F107+ (20 %) appartiennent aussi à ces sérotypes. Enfin, les dix souches EAE+ n'ont pas été sérotypées.

DISCUSSION

Le test d'hybridation sur colonies est beaucoup plus simple à réaliser que les tests phénotypiques pour déterminer les pathotypes des souches diarrhéogènes et entérotoxémiques du porcelet. Grâce à la multiplicité des sondes disponibles, il est devenu possible de définir les pathotypes non seulement des souches ETEC, mais aussi des souches VTEC et EPEC associées à la maladie de l'œdème et à des lésions d'effacement des microvillosités. Divers travaux ont montré l'excellente corrélation qui existe entre les résultats d'hybridation avec une sonde génétique pour une toxine ou une adhésine et la production de cette toxine ou de cette adhésine. La seule exception notable est constituée par les souches porcines dénommées souches 3F-, qui sont positives à l'hybridation avec la sonde pour l'adhésine F5, mais qui ne la produisent pas (Moseley et al., 1986).

Les résultats de cette enquête ne sont pas analysables statistiquement car l'échantillonnage des souches étudiées ne s'est pas fait au hasard, mais certaines observations sont possibles. Contrastant avec les résultats obtenus sur les souches bovines (Mainil et al., 1990; Woodward et al., 1990), les souches

ETEC porcines appartiennent à de nombreux pathotypes (Tableau 3) dont l'importance peut varier en fonction des régions et de l'âge des porcelets (Moon et al., 1986; Wilson et Francis, 1986; Nakazawa et al., 1987; Fairbrother et al., 1988; Monckton et Hasse, 1988; Söderlind et al., 1988; Nagy et al., 1990; Woodward et al., 1990; Harel et al., 1991). Il est toujours possible de répartir ces souches ETEC en trois classes (Tableau 3) en fonction des combinaisons de toxines thermostables, STa et/ou STb (Whipp et al., 1981; Harnett et Gyles 1983). Les souches appartenant à la classe 1 (STb+) sont les plus nombreuses et celles appartenant à la classe 3 (STaP+STb+) sont les moins nombreuses. Cependant, une classification basée sur les adhésines paraît plus rationnelle et est, en tout cas, mieux reliée aux sérotypes : souches F4+; souches F5+ et/ou F41+; souches F6+ et F4-; souches négatives aux sondes F4, F5, F6 et F41. Enfin, un certain nombre de souches sont positives uniquement avec une sonde d'adhésine (F41+ ou F107+).

Certaines souches de ces deux derniers groupes appartiennent d'ailleurs à un sérotype que l'on retrouve dans l'une des trois premières classes. Il est permis de supposer qu'il s'agisse en fait de souches ETEC classiques ayant perdu certains gènes de virulence, dont beaucoup sont situés sur des plasmides (Smith et al., 1985; Schifferli et al., 1990). Ce genre d'observation n'est pas rare (Evans et al., 1977; Kétyi et al., 1978; Linggood et al., 1979; Lanata et al., 1985; Levine et al., 1985; Mainil et al., 1987) et la combinaison sur les plasmides des gènes qui codent pour les facteurs de virulence permet certaines prédictions ou déductions (Mainil et al., 1990, données non publiées). Par contre, d'autres souches pourraient produire des facteurs d'adhérence différents de ceux recherchés classiquement. Certains de ces facteurs ont déjà été décrits (Oliveira et al., 1981; Aning et al., 1983; Leite et al., 1988; Broes et al., 1989), mais leur importance n'est pas connue.

Dans la plupart des études, y compris la nôtre, les souches des pa-

thotypes F4+ sont largement majoritaires quelles que soient les toxines et autres adhésines produites. La plupart de ces souches F4+ sont d'ailleurs aussi STb+ et LT1+. Les autres pathotypes F4+ de notre étude sont plus rares. La majorité de ces souches F4+ appartiennent au sérotype O149:K91 conformément aux données publiées jusqu'à présent (Schneider et To, 1982; Wilson et Francis, 1986; Nakazawa et al., 1987; Suarez et al., 1987; Fairbrother et al., 1988; Monckton et Hasse, 1988; Söderlind et al., 1988; Nagy et al., 1990; Woodward et al., 1990; Harel et al., 1991).

Les souches ETEC appartenant à d'autres pathotypes sont beaucoup plus rarement isolées de porcelets en Belgique, comme il avait déjà été signalé (Pohl et al., 1989c), à l'exception peut-être de souches appartenant au pathotype STaP+F5+F41+. La plupart de ces dernières n'appartiennent cependant pas aux sérotypes classiques des souches de ce pathotype, à savoir O9 et O101. La fréquence d'isolement de ces souches appartenant à d'autres pathotypes est variable de région à région dans le monde, mais est aussi plus faible que celle des souches F4+ (Murray, 1984; Wilson et Francis, 1986; Nakazawa et al., 1987; Fairbrother et al., 1988; Monckton et Hasse, 1988; Söderlind et al., 1988; Nagy et al., 1990; Woodward et al., 1990; Harel et al., 1991).

Les souches VTEC et VTEC/ETEC forment un groupe plus homogène que les souches ETEC. En effet, les principaux facteurs spécifiques de virulence sont la vérocytotoxine SLT2vp responsable des lésions et une adhésine fimbriaire de la famille F107. Deux classes sont donc présentes dans chacun de ces deux groupes : les souches SLT2+ et F107+ et les souches SLT2+ F107- (Tableau 3). Plus de la moitié de ces souches VTEC et ETEC/VTEC appartiennent au sérotype O141:K85 qui est le plus représenté en Belgique (Pohl et al., 1989a).

Les seuls résultats d'hybridation avec la sonde SLT2 ne permettent pas de conclure quant à l'identité de la vérocytotoxine produite puisque

cette sonde hybride avec tous les variants de la famille SLT2. Cependant, la production de toxine SLT2 proprement dite par des souches porcines n'a été observée que dans un seul cas à notre connaissance (Gannon et al., 1988). De plus, les souches de cette étude-ci ont été isolées de cas de maladie de l'œdème (Pohl et al., 1989a). Il y a donc lieu de penser qu'elles produisent bien la vérocitotoxine SLT2vp.

La seule souche qui pourrait faire exception est la souche SLT2+EAE+ qui pourrait être une souche produisant la vérocitotoxine SLT2 proprement dite et effaçant les microvillosités des cellules épithéliales intestinales. Une souche AEEC qui produit la toxine SLT2 a été décrite chez les bovins (Wray et al., 1989) mais cette souche n'hybride pas avec la sonde EAE (Mainil et al., 1993). Seule l'application de tests phénotypiques permettant la caractérisation de la vérocitotoxine produite et la recherche des propriétés d'effacement permettrait de répondre à ces questions.

Un peu plus de la moitié seulement de ces souches SLT2+ sont aussi F107+, ce qui laisse supposer l'existence d'une autre adhésine dans les souches qui ne répondent pas à cette sonde, étant donné que la sonde F107 détecte les variants actuellement décrits de cette famille d'adhésines. Quant à la nature exacte de l'adhésine produite par les souches F107+ (F107, F«2134», F«8813»...), une approche sérologique ou par PCR permettrait de mieux les caractériser (Nagy et al., 1992; Imberechts et al., 1994).

Les dix souches EAE+ s'apparentent aux souches EPEC humaines (revue par Donnenberg et Kaper, 1992). Ces souches sont plutôt rares chez le porc (Fairbrother, 1993), au contraire de ce qui s'observe chez les bovins, lapins et chiens (Broes, 1993; Mainil, 1993; Peeters, 1993).

Aucune souche ne fut positive avec les sondes LT2a et SLT1. Les entérotoxines LT2 semblent restreintes aux ruminants et à l'homme (Guth et al., 1986a; Seriwatana et al., 1988; Pohl et al., 1989b). La vérocitotoxine SLT1 est bien connue dans diverses espèces animales, mais

n'a encore été décrite que très rarement chez le porc (Mainil et al., 1985; Gannon et al., 1988; Linggood et Thompson, 1987).

Il apparaît donc que la situation en Belgique ne diffère pas beaucoup d'une manière générale de celle d'autres pays, sur d'autres continents. Des différences sont cependant observées si l'on regarde un groupe particulier, une classe particulière ou un sérotype particulier (voir revue par Fairbrother, 1993). En résumé, les souches ETEC sont essentiellement F4+ et les souches associées à la maladie de l'œdème contiennent les gènes codant pour une vérocitotoxine de la famille SLT2, très probablement le variant porc (Pohl et al., 1989a; Mainil et al., 1989), et pour une adhésine de la famille F107 (Imberechts et al., 1994).

En plus des antigènes de surface O et K spécifiques, divers antigènes fimbriaires pourraient être incorporés dans des vaccins destinés à protéger les porcelets contre les diarrhées néonatales et de post-sevrage (Moon, 1978; Runnels et al., 1987). L'entérotoxine LT1 qui est immunogène, contrairement aux entérotoxines ST, peut aussi être incorporée dans de tels vaccins (Smith et Gyles, 1970; Moon, 1982). Il est évident que la vaccination contre certaines adhésines peut contribuer à l'émergence dans le futur d'autres adhésines (F5 ou F6 par exemple). Enfin, la description récente de la famille d'adhésines fimbriaires F107 (Imberechts et al., 1992; Nagy et al., 1992) a permis de franchir un grand pas dans la direction de la vaccination contre la maladie de l'œdème et des résultats encourageants quant à son application ont été obtenus (Deprez, communication personnelle).

Il faut enfin remarquer que 54 % des souches étudiées n'hybrident avec aucune des sondes utilisées et se poser la question de la signification de ces souches. Il peut s'agir de souches appartenant à d'autres pathotypes connus non repris dans ce travail (CNF1, CNF2 par exemple; Oswald et al., 1994) ou encore inconnus. Mais il peut aussi s'agir de souches banales d'*E. coli* qui ne jouent aucun rôle pathogène. Dans le cas

de cette seconde hypothèse, les problèmes cliniques dont souffraient les porcelets à partir desquels ces souches ont été isolées étaient soit des problèmes de colibacillose provoqués par d'autres souches d'*E. coli* qu'il n'a pas été possible d'isoler, soit des problèmes liés à d'autres causes infectieuses ou même non infectieuses. *E. coli* est certes la bactérie la plus facile à isoler, mais les souches pathogènes ne sont pas toutes connues et cette bactérie est loin d'être le seul agent pathogène, ce dont il faut se souvenir en cas de résultats négatifs de typage.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les Drs Hein Imberechts et Paul Lintermans de l'INRV pour la sonde F107 ainsi que Mr K. Van Muylem pour son assistance dans le sérotypage des souches. Ce travail a été supporté financièrement par le Fonds National de la Recherche Scientifique (Crédit aux chercheurs).

SUMMARY

Typing of *Escherichia coli* isolates from pigs in Belgium by colony hybridization with specific gene probes: enterotoxigenic, verotoxigenic or enteropathogenic isolates.

Seven hundred and eighty-two *Escherichia coli* isolates from pigs were tested by colony hybridization with gene probes for heat-stable (STaP and STb) and heat-labile (LT1 and LT2a) enterotoxins, adhesins (F4, F5, F6, F41, and F107), verocytotoxins (SLT1 and SLT2) and for the intimin protein involved in the effacement of the microvilli of the enterocytes (EAE) to determine the pathotypes prevalent in Belgium among enterotoxigenic (ETEC), verocytotoxigenic (VTEC) and enteropathogenic (EPEC) *E. coli* isolates. Three hundred and fifty-eight isolates (46 %) hybridized with at least one gene probe. The LT2a and SLT1 probes hybridized with none of the iso-

lates. Five major pathotypes accounted for over 80 % of the ETEC: STb+LT1+F4+ (62 isolates), STaP+F5+F41+ (23 isolates), STaP+STb+LT1+F4+F6+ (10 isolates), LT1+F4+ (9 isolates) and STb+ (9 isolates). The serotype O149:K91 was by far prevalent among F4+ isolates (87 %) and the serogroup O101 was the most frequent among F5+ and/or F41+ isolates (25 %). Other ETEC pathotypes were not frequent. The SLT2+ isolates were divided into VTEC and VTEC/ETEC isolates, which also hybridized with enterotoxin gene probes. In either group, a subdivision was possible on the basis of the hybridization results with the F107 probe. The O141:K85:H4 and O141:K85:H- serotypes were prevalent among the 164 VTEC and VTEC/ETEC isolates. However, they were more frequent among the 64 VTEC/ETEC F107+ (78 %) and 22 VTEC/ETEC F107- isolates (86 %) than among the 54 VTEC F107- isolates (37 %) or among the 24 VTEC F107+ isolates (29 %). Eight non-ETEC non-VTEC F107+ (20 %) isolates also belonged to these two serotypes. All those serotypes were rare among probe-negative isolates. The ten EAE+ isolates were not serotyped.

BIBLIOGRAPHIE

- ANING K.G., THOMLINSON J.R., WRAY C., SOJKA W.J., COULTER J. Adhesion factor distinct from K88, K99, 987P, CFAI and CFAII in porcine *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1983, 112, 251.
- BERTSCHINGER H.U., BACHMANN M., METTLER C., POSPISCHIL A., SCHRANER E.M., STAMM M., SYDLER T., WILD P. Adhesive fimbriae produced in vivo by *Escherichia coli* O139:K12(B):H1 associated with enterotoxaemia in piglets. *Vet. Microbiol.*, 1990, 25, 267.
- BROES A. Les *Escherichia coli* pathogènes du chien et du chat. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 377-384.
- BROES A., FAIRBROTHER J.M., JACQUES M., LARIVIERE S. Requirement for capsular antigen KX 105 and fimbrial antigen CS1541 in the pathogenicity of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* O8:KX105 strains. *Can. J. Vet. Res.*, 1989, 53, 43-47.
- COWAN and STEEL's manual for identification of medical bacteria. (BARROW G.I., FELTHAM R.K.A. eds). 3rd ed. (1993). New York : Cambridge University Press, p 194.
- DOBRESCU L. New biological effect of edema disease principle (*Escherichia coli*-neurotoxin) and its use as an in vitro assay for this toxin. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 44, 31-34.
- DONNENBERG M.S., KAPER J.B. Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1992, 60, 3953-3961.
- DYKES C.W., HALLIDAY I.J., READ M.J., HOLDEN A.N., HARTFORD S. Nucleotide sequence of four variants of the K88 gene of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1985, 50, 279-283.
- EVANS D.J. Jr., EVANS D.G., DUPONT H.L., ORSKOV F., ORSKOV I. Patterns of loss of enterotoxigenicity by *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea : suggestive evidence for an interrelationship with serotype. *Infect. Immun.*, 1977, 17, 105-111.
- FAIRBROTHER J.M. Les colibacillooses du porc. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 369-375.
- FAIRBROTHER J.M., LARIVIERE S., JOHNSON W. Prevalence of fimbrial antigens and enterotoxins in non classical serogroups of *Escherichia coli* isolated from newborn pigs with diarrhea. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, 49, 1325-1328.
- GANNON V.P.J., GYLES C.L., FRIENDSHIP R.W. Characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* from pigs. *Can. J. Vet. Res.*, 1988, 52, 331-337.
- GREEN B.A., NEILL R.J., RUYECHAN W.T., HOLMES R.K. Evidence that a new enterotoxin of *Escherichia coli* which activates adenylate cyclase in eucaryotic target cells is not plasmid mediated. *Infect. Immun.*, 1983, 41, 383-390.
- GUTH B.E., PICKETT C.L., TWIDDY E.M., HOLMES R.K., GOMES T.A., LIMA A.A., GUERRANT R.L., FRANCO B.D., TRABULSI L.R. Production of type II heat-labile enterotoxin by *Escherichia coli* isolated from food and human feces. *Infect. Immun.*, 1986a, 54, 587-589.
- GUTH B.E.C., TWIDDY E.M., TRABULSI L.R., HOLMES R.K. Variation in chemical properties and antigenic determinants among type II heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1986b, 54, 529-536.
- HAREL J., LAPOINTE H., FALLARA A., LORTIE L.A., BIGRAS-POULIN M., LARIVIERE S., FAIRBROTHER J.M. Detection of genes for fimbrial antigens and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, 29, 745-752.
- HARNETT N.M., GYLES C.L. Enterotoxigenicity of bovine and porcine *Escherichia coli* of O groups 8, 9, 20, 64, 101, and X46. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 44, 1210-1214.
- HOLLAND R.E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1990, 3, 345-375.
- IMBERECHTS H., De GREVE H., SCHLICKER C., BOUCHET H., POHL P., CHARLIER G., BERTSCHINGER H., WILD P., VANDERKERCKHOVE J., VAN DAMME J., VAN MONTAGU M., LINTERMANS P. Characterization of F107 fimbriae of *Escherichia coli* 107/86, which causes edema disease in pigs, and nucleotide sequence of the F107 major fimbrial subunit gene, *fedA*. *Infect. Immun.*, 1992, 60, 1963-1971.
- IMBERECHTS H., VAN PELT N., De GREVE H., LINTERMANS P. Sequences related to the major subunit gene *fedA* of F107 fimbriae in porcine *Escherichia coli* strains that express adhesive fimbriae. *FEMS Microbiol. Letters*, 1994, 119, 309-314.
- KAECKENBEECK A. Le diagnostic des souches pathogènes d'*Escherichia coli* : petites et grandes histoires. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 337-340.
- KEHOE M., SELLWOOD R., SHIPLEY P., DOUGAN G. Genetic analysis of K88-mediated adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Nature*, 1981, 291, 122-126.
- KETYI I., KUCH B., VERTENYI A. Stability of *Escherichia coli* adhesive factors K88 and K99 in mice. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 1978, 25, 77-86.
- LANATA C.F., KAPER J.B., BALDINI M.M., BLACH R.E., LEVINE M.M. Sensitivity and specificity of DNA probes with the stool blot technique for detection of *Escherichia coli* enterotoxins. *J. Inf. Dis.*, 1985, 152, 1087-1090.
- LEITE D.S., YANO T., de CASTRO A.F.P. Production, purification and partial characterization of a new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs. *Ann. Inst. Pasteur-Microbiol.*, 1988, 139, 295-306.
- LEVINE M.M., NATARO J.P., KARCH H., BALDINI M.M., KAPER J.B., BLACK R.E., CLEMENTS M.L., O'BRIEN A.D. The diarrheal response of humans to some classic serotypes of enteropathogenic *Escherichia coli* is dependent on a plasmid encoding an enteroadhesiveness factor. *J. Inf. Dis.*, 1985, 152, 550-559.
- LINGGOOD M.A., ELLIS M.L., PORTER P. An examination of the O and K specificity involved in the antibody-induced loss of the K88 plasmid from porcine enteropathogenic strains of *Escherichia coli*. *Immunology*, 1979, 38, 123-127.
- LINGGOOD M.A., THOMPSON J.M. Verotoxin production among porcine strains of *Escherichia coli* and its association with edema disease. *J. Med. Microbiol.*, 1987, 24, 359-362.

- MAINIL J.G. Les vérocitotoxines d'*Escherichia coli* et leur diagnostic par sondes génétiques. *Ann. Méd. Vét.*, 1991, 135, 579-586.
- MAINIL J.G. Les colibacillooses dans l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 343-350.
- MAINIL J.G., BEX F., JACQUEMIN E., POHL P., COUTURIER M., KAECKENBEECK A. 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.*, 1990, 51, 187-190.
- MAINIL J.G., DAUBE G., DEPRez P., KAECKENBEECK A., POHL P. Detection and identification of pathotypes of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from weaned piglets using gene probes for seven *E. coli* toxins. *FEMS Microbiol. Letters*, 1989, 59, 345-350.
- MAINIL J.G., DAUBE G., JACQUEMIN E., URBAIN B., POHL P., KAECKENBEECK A. Identification of virulence plasmids in enterotoxigenic *Escherichia coli* from cattle and pigs. 2nd International Meeting on Bacterial Epidemiological Markers. Abstract 231, Rodos, Grèce, 1990.
- MAINIL J.G., DUCHESNES C.J., MOON H.W. Shiga-like toxin production by *Escherichia coli* isolated from calves and piglets. *Ann. Meeting CRWAD*, Chicago, Illinois, USA, 1985, Abstr. 148.
- MAINIL J.G., JACQUEMIN E., BEZ S., POHL P., KAECKENBEECK A. La détection au moyen de sonde(s) génétique(s) de souches potentiellement attachantes et effaçantes d'*Escherichia coli* (AEEC) isolées de veaux, de porcelets et de carnivores domestiques. Biotechnologie du Diagnostic et de la Prévention des Maladies Animales (IIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'Union des Réseaux d'Expression Française). pp 73-80. (Diop P.E.H., Kaeckenbeeck A. eds). Collection Universités Francophones, John Libbey Eurotext, Paris, France, 1994.
- MAINIL J.G., JACQUEMIN E., KAECKENBEECK A., POHL P. Association between the effacing (*eae*) gene and the Shiga-like toxin-encoding genes in *Escherichia coli* isolates from cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, 54, 1064-1068.
- MAINIL J.G., POHL P. Les souches attachantes et effaçantes d'*Escherichia coli* d'origine bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1994, 138, 419-429.
- MAINIL J.G., SADOWSKI P.L., TARSIO M., MOON H.W. In vivo emergence of enterotoxigenic *Escherichia coli* variants lacking genes for K99 fimbriae and heat-stable enterotoxin. *Infect. Immun.*, 1987, 55, 3111-3116.
- MARQUES L.R.M., PEIRIS J.S.M., CRYZ S.J., O'BRIEN A.D. *Escherichia coli* strains isolated from pigs with edema disease produce a variant of Shiga-like toxin II. *FEMS Microbiol. Letters*, 1987, 44, 33-38.
- MONCKTON R.P., HASSE D. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in piggeries in Victoria by DNA hybridization using K88, K99, ST1 and ST2 probes. *Vet. Microbiol.*, 1988, 16, 273-281.
- MOON H.W. Pili as protective antigens in vaccines for the control of enterotoxigenic *Escherichia coli* infections. *Proc. 2nd Int. Symp. Neonatal Diarrhea*, Saskatchewan, Canada, 1978, 393-405.
- MOON H.W. Protective antigens of enterotoxigenic *Escherichia coli*: potential in vaccine development. *Proc. World Congr. Dis. Cattle*, 1982, 12, 313-318.
- MOON H.W., SCHNEIDER R.A., MOSELEY S.L. Comparative prevalence of four enterotoxin genes among *Escherichia coli* isolated from swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, 47, 210-212.
- MORRIS J.A., SOJKA W.J. *Escherichia coli* as a pathogen in animals. In: Sussman M., ed. *The virulence of Escherichia coli*. Published for the Society for General Microbiology (1985). London: Academic Press Inc Ltd, pp 47-77.
- MOSELEY S.L., DOUGAN G., SCHNEIDER R.A., MOON H.W. Cloning of chromosomal DNA encoding the F41 adhesin of enterotoxigenic *Escherichia coli* and genetic homology between F41 and K88. *J. Bacteriol.*, 1986, 167, 799-804.
- MOSELEY S.L., HUCQI, ALIM A.R.M.A., SO M., SAMADPOUR-MOTALEBI M., FALKOW S. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* by DNA colony hybridization. *J. Infect. Dis.*, 1980, 142, 892-898.
- MURRAY C.J. Isolates of *Salmonella* and *Escherichia coli* serotyped at the Salmonella Reference Laboratory in 1984 from veterinary and human sources. *Austr. Vet. J.*, 1984, 63, 192-193.
- NAGY B., CASEY T.A., MOON H.W. Phenotype and genotype of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhea in Hungary. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28, 651-653.
- NAGY B., CASEY T.A., WHIPP S.C., MOON H.W., DEAN-NYSTROM E.A. Pili and adhesiveness of porcine post-weaning enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli*. *Intern. Pig Vet. Soc. Congr.*, La Haye, Pays-Bas, 1992, p 240.
- NAKASAWA M., SUGIMOTO C., ISAYAMA Y., KASHIWAZAKI M. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from piglets with neonatal and post-weaning diarrhea in Japan. *Vet. Microbiol.*, 1987, 13, 291-300.
- O'BRIEN A.D., HOLMES R.K. Shiga and Shiga-like toxins. *Microbiol. Rev.*, 1987, 51, 206-220.
- OLIVEIRA M.S., De CASTRO A.F.P., SERAFIM M.B. Mannose-resistant haemagglutination and colonisation factors among *Escherichia coli* strains isolated from pigs. *Vet. Rec.*, 1981, 109, 275-278.
- ORSKOV F., ORSKOV I. Serotyping of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.*, 1984, 14, 43-112.
- OSWALD E., POHL P., JACQUEMIN E., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K., O'BRIEN A.D., MAINIL J. Specific DNA probes to detect *Escherichia coli* strains producing cytotoxic necrotizing factor type 1 or type 2. *J. Med. Microbiol.*, 1994, 40, 428-434.
- PEETERS J. Les *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) du lapin. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 361-368.
- PICKETT C.L., TWIDDY E.M., COKER C., HOLMES R.K. Cloning, nucleotide sequence, and hybridization studies of the type IIb heat-labile enterotoxin gene of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1989, 171, 4945-4952.
- POHL P. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, 325-333.
- POHL P., LINTERMANS P., MAINIL J., DEPRez P. Production de vérocitotoxine par les *Escherichia coli* du porc. *Ann. Méd. Vét.*, 1989a, 133, 31-38.
- POHL P., LINTERMANS P., MAINIL J., KAECKENBEECK A., DAUBE G. ETEC-like strains (LTIIa+; adhesin+) from cattle. *Vet. Rec.*, 1989b, 125, 382.
- POHL P., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K., KAECKENBEECK A., DAUBE G., MAINIL J. Fréquence et caractères des *Escherichia coli* 987P et F41 isolées chez les porcelets en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, 1989c, 133, 431-434.
- POHL P.H., PEETERS J.E., JACQUEMIN E.R., LINTERMANS P.F., MAINIL J.G. Identification of *eae* sequences in enteropathogenic *Escherichia coli* strains from rabbits. *Infect. Immun.*, 1993, 61, 2203-2206.
- RUNNELS P.L., MOSELEY S.L., MOON H.W. F41 pili as protective antigens of enterotoxigenic *Escherichia coli* that produce F41, K99, or both pilus antigens. *Infect. Immun.*, 1987, 55, 555-558.
- SCHIFFERLI D.M., BEACHEY E.H., TAYLOR R.K. The 987P fimbrial gene cluster of enterotoxigenic *Escherichia coli* is plasmid encoded. *Infect. Immun.*, 1990, 58, 149-156.
- SCHNEIDER R.A., TO S.C.M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* strains that express K88 and 987P pilus antigens. *Infect. Immun.*, 1982, 36, 417-418.
- SERIWATANA J., ECHEVERRIA P., TAYLOR D.N., RASRINAUL L., BROWN J.E., PEIRIS J.S.M., CLAYTON C.L. Type II heat-labile enterotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from animals and humans. *Infect. Immun.*, 1988, 56, 1158-1161.
- SMITH H.R., SCOTLAND S.M., ROWE B. Genetics of *Escherichia coli* virulence. In: Sussman M., ed. *The virulence of Escherichia coli*. Published for the Society for General Microbiology (1985). London: Academic Press Inc Ltd, pp 227-269.
- SMITH H.W., GYLES C.L. The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. *J. Med. Microbiol.*, 1970, 3, 387-401.
- SODERLIND O., THAFVELIN B., MOLLBY R. Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from Swedish pigs with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, 1988, 26, 879-884.
- SOJKA W.J. Colibacillose intestinale des porcelets. *Ann. Méd. Vét.*, 1972, 116, 377-446.
- SUAREZ S., PANIAGUA C., ALVAREZ M., RUBIO P. Features of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains of porcine origin that ex-

- press K88 and 987P fimbrial antigens. *Vet. Microbiol.*, 1987, 13, 65-68.
- SUSSMAN M. *Escherichia coli* in human and animal disease. In : Sussman M., ed. The virulence of *Escherichia coli*. Published for the Society for General Microbiology (1985). London : Academic Press Inc Ltd, pp 7-45.
- WHIPP S.C., MOON H.W., ARGENZIO R.A. Comparison of enterotoxic activities of heat-stable enterotoxins from class 1 and class 2 *Escherichia coli* of swine origin. *Infect. Immun.*, 1981, 31, 245-251.
- WILSON R.A., FRANCIS D.H. Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, 47, 213-217.
- WOODWARD M.J., KEARSLEY R., WRAY C., ROEDER P.L. DNA probes for detection of toxin genes in *Escherichia coli* isolated from diarrheal disease in cattle and pigs. *Vet. Microbiol.*, 1990, 22, 277-290.
- WRAY C., Mc LAREN I., PEARSON G.R. Occurrence of «attaching and effacing» lesions in the small intestines of calves experimentally infected with bovine isolates of verocytotoxic *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1989, 125, 365-368.