

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
sur les caractéristiques à retenir pour considérer qu'une souche d'*Escherichia coli*
vérocytotoxique est potentiellement pathogène pour l'homme**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie le 12 juin 2001, par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, la Direction générale de l'alimentation et la Direction générale de la santé, d'une demande d'avis relative aux caractéristiques à retenir pour considérer qu'une souche d'*Escherichia coli* vérocytotoxique est potentiellement pathogène pour l'homme et parmi ces caractères stricts :

- les facteurs de virulence spécifiques,
- les sérogroupes,
- les profils phénotypiques.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments, après consultation du Comité d'experts spécialisé « Microbiologie », réuni le 17 octobre 2001, rend l'avis suivant :

I. CONSIDERANT LA DEFINITION DES ESCHERICHIA COLI VEROTOXIQUES

Escherichia coli fait partie de la microflore bactérienne normale du tube digestif de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. Si la majorité des souches sont commensales, quelques unes sont toutefois à l'origine de pathologies intestinales ou extra-intestinales.

Les principaux pathotypes connus sont décrits en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés. Il s'agit des souches d'*Escherichia coli* enterotoxinogènes (ETEC), d'*Escherichia coli* entérotoxinogènes (EPEC), d'*Escherichia coli* entéroinvasifs (EIEC) et d'*Escherichia coli* enterohémorragiques (EHEC). La colite hémorragique est la manifestation la plus fréquente des infections à VTEC (90 %) et le syndrome hémolytique urémique (SHU) en est une complication sévère.

Le terme VTEC (verotoxin-producing *Escherichia coli*) regroupe l'ensemble des souches d'*Escherichia coli* ayant le gène *stx* codant les shiga-like toxines ou vérotoxines, impliquées ou non dans des pathologies. Les EHEC, auxquels appartient le sérovar O157:H7, font partie de ces VTEC.

II. CONSIDERANT LES BASES MOLECULAIRES DE LA VIRULENCE DES SOUCHES D'E. COLI/VTEC

1) Les gènes de virulence

Les VTEC ont plusieurs facteurs de virulence actuellement bien connus, portés par des îlots génomiques spécifiques :

- les gènes *stx* codant les vérotoxines,
- le gène *eae* codant l'attachement et l'effacement aux microvillosités intestinales,
- le gène *ehx* codant l'entérohémolysine.

➤ Les gènes *stx* codant les vérotoxines.

Les VTEC sont caractérisées par leur capacité à produire une ou plusieurs cytotoxines appelées vérotoxines, parmi lesquelles, les plus fréquentes sont STX1 et STX2. Les gènes *stx 1* et *stx 2* codant pour les deux sous-unités des toxines STX font partie de phages lambdaïdes intégrés dans le chromosome bactérien. La présence du gène *stx* dans les souches VTEC est une condition *sine qua non* à la virulence de ces souches [1].

Certaines d'entre elles, telles que *E. coli* O157:H7 et *E. coli* O157:H(-), isolées chez des malades avec diarrhées et/ou SHU, sont *stx* (-) [2]. On ne peut toutefois exclure que ces souches aient perdu le phage lors de l'isolement et de la conservation des prélèvements.

➤ Le gène *eae* (attachement et effacement aux microvillosités intestinales).

Le gène *eae* fait partie de l'îlot de pathogénicité LEE (Locus of Enterocyte Effacement), également intégré dans le chromosome bactérien. Il code pour une protéine de membrane appelée intimine. Les intimines produites par les EHEC sont jusqu'à présent de quatre types : β_1 , γ_1 , γ_2 et ϵ [3]. Ces intimines sont responsables du tropisme tissulaire des EHEC et des EPEC [4, 5].

➤ Le gène *ehx* (entérohémolysine).

Ce gène est responsable de la production d'une hémolysine (EHX), dont le rôle précis en pathologie humaine est encore inconnu. Cette hémolysine est à l'origine d'une petite zone trouble d'hémolyse après 18-24 heures d'incubation sur une gélose au sang contenant des érythrocytes lavés.

La mise en évidence de ce gène, par PCR, pourrait dépendre des amorces utilisées pour un diagnostic PCR, en raison de l'existence de mutations génétiques fréquentes [6].

2) Impact des différentes combinaisons géniques de ces trois facteurs sur la virulence

Plusieurs combinaisons géniques peuvent se présenter :

- La souche VTEC est *stx* (+) et *eae* (+). Le degré de gravité des symptômes cliniques paraît alors plus marqué que pour les souches *stx* (+) [7]. Le gène *eae* est constamment retrouvé chez les souches EHEC impliquées dans l'ensemble des épidémies recensées, à l'exception d'une épidémie en Australie [8].

- La souche VTEC est *stx* (+) et *eae* (-), sans autre facteur de virulence décrit chez les VTEC. Ces souches ont été isolées de cas sporadiques, de patients atteints de SHU et/ou de diarrhées hémorragiques [8, 9].

La virulence de ces souches VTEC, *stx* (+), *eae* (-), *ehx* (-), s'explique par le relais probable pris par d'autres facteurs de virulence qui permettent l'adhérence des bactéries aux cellules intestinales [8, 9]. Ces facteurs ne sont pas connus à ce jour.

Ces souches *stx* (+) et *eae* (-) sont toujours *stx2* (+). Il a été démontré que certaines d'entre elles produisaient une toxine d'un variant particulier, STX2d, activable par le mucus intestinal [10]. Cette activation pourrait compenser l'absence du gène *eae*. Cette hypothèse n'a toutefois pas été validée dans les modèles expérimentaux sur souris.

Par ailleurs, sont décrits des pathovars hybrides entre des souches VTEC (présence des gènes *stx*) et des souches entéroaggrégatives [11]. En effet, les gènes des toxines STX sont portés par des phages qui peuvent infecter d'autres souches bactériennes et ainsi créer de nouveaux pathovars. C'est ainsi que les souches EHEC de sérotype O157:H7 seraient issues d'une souche EPEC, de sérotype O55:H7 et seraient aptes à coloniser le tractus digestif de l'homme [12].

- Le gène *ehx* est associé aux gènes *stx* et *eae*. Les souches *stx* (+), *eae* (+) et *ehx* (+) sont alors corrélées à un risque supérieur de diarrhées hémorragiques et surtout de SHU que le risque lié aux souches *stx* (+) [7, 13].

- Des souches EHEC *stx* (+), *eae* (-) et *ehx* (+) ont été retrouvées à plusieurs reprises dans des épidémies de SHU, dont récemment pour une souche O104:H21 [6]. Cependant, l'implication de l'entérohémolysine dans la pathogénicité reste discutée [14].

3) Modulation de l'expression génique des facteurs de virulence

L'expression des ces trois facteurs peut être modulée par :

- une variabilité allélique des gènes codant des protéines capables de reconnaître ou d'être reconnues par l'hôte,
- une régulation transcriptionnelle spécifique liée à la capacité de la bactérie à s'adapter à son environnement.

➤ Variabilité allélique des gènes de virulence :

Le gène *stx2* est associé à une plus grande virulence des souches et à une clinique plus grave chez les malades atteints d'une infection avec des EHEC *stx2* (+) par rapport à des EHEC *stx1* (+) [15], même si ces dernières peuvent être responsables de SHU [16].

➤ Régulation transcriptionnelle :

Plusieurs études indiquent que les souches de *E. coli* isolées de l'animal sont plus ou moins adaptées à l'homme. Notamment le niveau d'expression des facteurs de virulence de l'îlot de pathogénicité LEE dépend de la température corporelle de l'hôte [17]. Ainsi, une comparaison récente d'isolats bovins et humains de EHEC de sérotype O157:H7 semble indiquer que seule une fraction des isolats bovins ont un niveau de sécrétion des facteurs de virulence qui soit comparable à celui des souches humaines [18]. Le caractère zoonotique d'une souche EHEC isolée de l'animal ou de denrées alimentaires d'origine animale dépend de sa capacité à exprimer ses facteurs de virulence à 37°C dans un environnement semblable au tube digestif de l'Homme.

En conséquence

*Une souche VTEC seulement *stx* (+) est potentiellement pathogène car elle peut être à l'origine de cas sporadiques de diarrhées et/ou de SHU. Et le risque peut être majoré pour le consommateur s'il s'agit d'une souche VTEC *stx* (+), *eae* (+) et *ehx* (+).*

*Cependant, une maîtrise du danger VTEC basée sur une recherche par PCR du gène *stx* dans les aliments est non pertinente dans l'état actuel des connaissances scientifiques, pour les raisons suivantes :*

- *Les souches VTEC effectivement présentes dans un aliment ne sont pas forcément dangereuses,*
- *Le pourcentage important d'aliments donnant des PCR positives pour la recherche des gènes *stx* (+) est régulièrement observé dans certaines catégories d'aliments [19],*
- *Il est difficile actuellement de réaliser en routine par PCR la détection de ces gènes dans les aliments¹.*

¹ peu de laboratoires de diagnostic agro-alimentaire sont équipés en PCR et il n'existe aucune méthode validée AFNOR de détection des gènes *stx* par PCR

III. CONSIDERANT LES SEROGROUPES DOMINANTS DANS LES DIFFERENTES EPIDEMIES A VTEC

Le sérotype O157:H7 est dominant dans les différentes épidémies actuellement répertoriées [20].

Toutefois d'autres sérogroupes peuvent être en cause. Une seule épidémie d'envergure a été corrélée à un sérotype autre que O157:H7 : il s'agissait de O111:H (-) en Australie où plus de 200 personnes ont été atteintes suite à la consommation de saucisses fermentées crues semi-sèches.

Les sérotypes non O157 ont très certainement été sous-estimés, du fait même des méthodes de détection non ciblées sur ces sérotypes, dans les aliments de même que chez les malades [21]. La communauté scientifique met régulièrement en évidence des sérotypes non O157 chez les malades atteints de SHU ou de colites hémorragiques avec en ordre décroissant de fréquence les sérotypes O111, puis O26 et O103. Cette liste n'est pas exhaustive, mais indique les sérotypes majeurs (après O157:H7) isolés chez des malades. D'autres sérotypes peuvent être impliqués tels que O145, O118 et O91 [9, 21-23].

La détection des sérotypes majeurs O157:H7, O26, O111 et O103 a été envisagée par différents chercheurs, notamment avec l'utilisation de l'immuno-séparation magnétique [24]. Cette méthode immunologique a été testée uniquement sur certaines matrices : les légumes et le steak haché.

Le séquençage des loci impliqués dans la biosynthèse de l'antigène O a aussi permis le développement de tests PCR permettant de détecter des sérogroupes importants comme O104, O111, O113 et O157 [8, 25-29].

Par ailleurs, les variations dans la région 3' du gène *eae* codant pour l'intimine ont permis d'élaborer des tests PCR permettant de reconnaître certains sérogroupes d'intérêt diagnostique comme O26, O103, O111 et O157 [4, 30-32].

En conséquence

Plusieurs sérotypes dominants apparaissent actuellement impliqués dans des épidémies et/ou cas sporadiques de diarrhées hémorragiques ou de SHU. Ces sérotypes sont O157 (avec O157:H7 et O157:H-), O111 (avec O111:H- et O111:H2), O26 (avec O26:H11 et O26:H-) et O103 (avec O103:H2 et O103:H-). Cette liste n'est pas fermée et d'autres sérotypes émergents peuvent apparaître dans les années à venir.

Une recherche de E. coli O157:H7 semble donc une nécessité pour une maîtrise au moins partielle du danger lié aux VTEC dans les aliments. Cette recherche pourrait être mise en place rapidement en France car il existe déjà 2 méthodes validées AFNOR permettant la détection de E. coli O157:H7. Mais il faudrait pouvoir y associer tout aussi rapidement la recherche des autres sérogroupes O111, O26, O103 et O157.

IV. CONSIDERANT LES CARACTERES PHENOTYPIQUES DES VTEC

Les caractéristiques biochimiques intéressantes concernent le seul sérotype O157:H7 (sorbitol et β -glucuronidase négatives). Cependant, de nombreux mutants biochimiques d'*E. coli* O157:H7 ont été mis en évidence [20].

Les sérotypes non O157 tels que O103, O26 et O111 n'ont pas de caractéristiques biochimiques communes permettant leur détection. L'unique méthode de culture des VTEC non O157 peut être basée sur la détection de l'entérohémolysine sur une gélose au sang [21]. Mais, l'inconvénient de ce milieu pour la détection des VTEC est sa non-sélectivité. En outre, si *E. coli* produit une α -hémolysine, cette dernière masquera les véritables VTEC. Enfin, il est à noter que certaines souches productrices d'entérohémolysine ne sont pas des VTEC [7, 33].

En conséquence

La caractérisation des souches de E. coli basée sur une recherche de certains caractères phénotypiques n'est pas possible du fait de l'absence de caractéristiques biochimiques communes aux différents sérotypes formant les VTEC.

V. CONSIDERANT LES DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DES SYNDROMES HEMOLYTIQUES ET UREMiques A VTEC

La recherche de VTEC dans les selles n'étant pas effectuée en routine dans les laboratoires d'analyses médicales [34], la surveillance des infections à VTEC s'appuie sur la surveillance des SHU.

Cette surveillance mise en place par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) en 1996, à la suite d'une étude rétrospective concernant les années 1993 à 1995, porte sur les SHU survenant chez les enfants de moins de 15 ans [35-37]. Basée sur une participation volontaire, elle repose sur un réseau de néphrologues pédiatres de 31 services de pédiatrie de centres hospitaliers universitaires et généraux. Le diagnostic d'infection à VTEC est confirmé par une sérologie réalisée dans l'Unité des Entérobactéries de l'Institut Pasteur basée sur une recherche d'anticorps dirigés contre le lipopolysaccharide de 26 sérogroupes de *E coli*² [35-38].

En 1999, le taux d'incidence du SHU autochtone était de 0,9 pour 100 000 enfants de moins de 15 ans (soit 98 cas notifiés) et de 3 pour 100 000 chez les enfants de moins de 2 ans. Cette incidence demeure globalement stable depuis 1993 (0,78/10⁵ en moyenne).

Par ailleurs, depuis la mise en place de la surveillance, seuls des cas sporadiques (sans lien épidémiologique avéré avec un autre cas) de SHU avec une recrudescence saisonnière pendant la période estivale (juin-septembre) sont observés. Les taux d'incidence, les plus élevés, sont observés dans les régions suivantes : Bretagne (1,4/10⁵), Auvergne (1,2/10⁵), Franche-Comté (1,2/10⁵), Champagne-Ardenne (1,1/10⁵) [38].

Depuis 1993, la présence d'anticorps, dirigés contre 1 des 26 sérogroupes d'*E. coli* recherchés, a été mise en évidence chez 59 % des cas testés (266/447). Parmi les réponses sérologiques positives, 84 % sont liées au séro groupe O157 (isolé ou associé à un autre séro groupe) (224/266). 14 autres sérogroupes, pour lesquels une réponse anticorps positive a été retrouvée, étaient O103 pour 8 cas, et O157 + O103 pour 18 cas et quelques cas unitaires pour d'autres sérogroupes³ [38].

La distribution des facteurs de pathogénicité recherchés lors de l'étude rétrospective de l'InVS est présentée dans le tableau I. L'association la plus fréquemment observée est celle des gènes *stx2* + *eae* + *ehx* chez 33,8 % des prélèvements. L'association *stx1* + *stx2* + *eae* + *ehx* a été retrouvée uniquement chez 3,4 % de ces souches [35].

² O1, O2, O4, O5, O9, O25, O25, O26, O29, O55, O100, O103, O104, O105, O111, O112, O113, O115, O118, O127, O128, O136, O145, O153, O157, O163, O164

³ O9 (2 cas), O26 (2 cas), O105 (1 cas), O111 (1 cas), O113 (1 cas), O115 (1cas), O145 (1 cas), O153 (1cas), O163 (1 cas), , O103+O2 (1 cas), O104+O1 (1cas), O9+O2+O164 (1 cas)

Facteurs de pathogénicité	n (%)
<i>stx2 + eae + ehx</i>	20 (33,8)
<i>stx2</i>	13 (22,0)
<i>stx2+ ehx</i>	6 (10,2)
<i>eae</i>	7 (11,9)
<i>stx2 + eae</i>	4 (6,8)
<i>stx1</i>	3 (5,1)
<i>stx1 + stx2 + eae + ehx</i>	2 (3,4)
<i>stx1 + stx2+ eae</i>	1 (1,7)
<i>stx1+ eae</i>	1 (1,7)
<i>stx1 + eae + ehx</i>	1 (1,7)
<i>eae + ehx</i>	1 (1,7)
Total	59 (100)

Tableau I : Distribution des facteurs de pathogénicité[36]

Par ailleurs, depuis janvier 2000, une étude nationale⁴ sur les facteurs de risque du SHU est en cours, menée par l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS) et permettra d'améliorer les connaissances et les moyens de prévention de cette maladie.

En conséquence

L'ensemble de ces données épidémiologiques montre qu'en France :

- *la majorité des cas de SHU pédiatriques est sporadique et qu'aucune épidémie n'a été observée depuis 1993,*
- *l'incidence du SHU pédiatrique est de l'ordre de 0,75 cas pour 100 000 enfants de moins de 15 ans,*
- *la moitié des cas de SHU, pour lesquels une sérologie a été réalisée, est associée à une infection à VTEC, avec une forte prévalence du sérotype O157. Cependant, d'autres sérotypes de E. coli à l'origine de SHU ont été mis en évidence.*

Sur le fondement de l'expertise scientifique menée par le Comité d'experts spécialisé « Microbiologie », l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant :

1. L'Agence estime que la maîtrise du danger VTEC, en matière de sécurité sanitaire des aliments, ne peut s'appuyer sur :
 - une recherche par PCR du gène *stx* dans les aliments qui est, dans l'état actuel des connaissances et des moyens, non pertinente ;
 - une recherche de certains caractères phénotypiques qui s'avère impossible du fait de l'absence de caractéristiques biochimiques communes aux différents sérotypes formant les VTEC.
2. En revanche, l'Agence estime que la recherche spécifique de certains sérotypes majoritaires, parmi lesquels O157, O111, O26 et O103, pourrait constituer un outil de maîtrise du danger VTEC.
3. L'Agence souligne également que des moyens de recherche devraient être mis en oeuvre pour mettre à la disposition des laboratoires de diagnostic des méthodes d'identification des sérotypes : O111, O26, O103 et O123.

⁴ Facteurs de risque de survenue des SHU par infection à *Escherichia coli* producteurs de vérotoxines (VTEC) chez l'enfant de moins de 15 ans

Compte tenu des enjeux en terme d'évaluation et de maîtrise des risques, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a entrepris une réflexion sur les *Escherichia coli* VTEC dans le cadre d'un groupe de travail⁵, qui devrait aboutir à un bilan actualisé des connaissances sur ces pathogènes.

Martin HIRSCH

Références bibliographiques :

1. Paton, J.C. and A.W. Paton, *Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections*. Clin Microbiol Rev, 1998. 11(3): p. 450-79.
2. Schmidt, H., et al., *Escherichia coli O157:H7 and O157:H(-) strains that do not produce Shiga toxin: phenotypic and genetic characterization of isolates associated with diarrhea and hemolytic-uremic syndrome*. J Clin Microbiol, 1999. 37(11): p. 3491-6.
3. Oswald, E., et al., *Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic Escherichia coli: characterization of a new intimin variant*. Infect Immun, 2000. 68(1): p. 64-71.
4. Phillips, A.D. and G. Frankel, *Intimin-mediated tissue specificity in enteropathogenic Escherichia coli interaction with human intestinal organ cultures*. J Infect Dis, 2000. 181(4): p. 1496-500.
5. Tzipori, S., et al., *The role of the eaeA gene in diarrhea and neurological complications in a gnotobiotic piglet model of enterohemorrhagic Escherichia coli infection*. Infect Immun, 1995. 63(9): p. 3621-7.
6. Feng, P., S.D. Weagant, and S.R. Monday, *Genetic analysis for virulence factors in Escherichia coli O104:H21 that was implicated in an outbreak of hemorrhagic colitis*. J Clin Microbiol, 2001. 39(1): p. 24-8.
7. Boerlin, P., et al., *Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing Escherichia coli and disease in humans*. J Clin Microbiol, 1999. 37(3): p. 497-503.
8. Paton, A.W., et al., *Molecular characterization of a Shiga toxigenic Escherichia coli O113:H21 strain lacking eae responsible for a cluster of cases of hemolytic-uremic syndrome*. J Clin Microbiol, 1999. 37(10): p. 3357-61.
9. Bonnet, R., et al., *Non-O157:H7 Stx2-producing Escherichia coli strains associated with sporadic cases of hemolytic-uremic syndrome in adults*. J Clin Microbiol, 1998. 36(6): p. 1777-80.
10. Melton-Celsa, A.R., et al., *Virulence of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) in orally-infected mice correlates with the type of toxin produced by the infecting strain*. Jpn J Med Sci Biol, 1998. 51(Suppl): p. 108-14.
11. Morabito, S., et al., *Enteroaggregative, Shiga toxin-producing Escherichia coli O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome*. J Clin Microbiol, 1998. 36(3): p. 840-2.
12. Whittam, T.S., et al., *Clonal relationships among Escherichia coli strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea*. Infect Immun, 1993. 61(5): p. 1619-29.
13. Schmidt, H. and H. Karch, *Enterohemolytic phenotypes and genotypes of shiga toxin-producing Escherichia coli O111 strains from patients with diarrhea and hemolytic-uremic syndrome*. J Clin Microbiol, 1996. 34(10): p. 2364-7.
14. Beutin, L., et al., *Virulence markers of Shiga-like toxin-producing Escherichia coli strains originating from healthy domestic animals of different species*. J Clin Microbiol, 1995. 33(3): p. 631-5.
15. Boerlin, P., et al., *Evolution of enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin plasmids and the locus for enterocyte effacement in shiga toxin-producing E. coli*. Infect Immun, 1998. 66(6): p. 2553-61.
16. Mariani-Kurkdjian, P., et al., *Identification of a clone of Escherichia coli O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France*. J Clin Microbiol, 1993. 31(2): p. 296-301.
17. Abe, A., et al., *Characterization of two virulence proteins secreted by rabbit enteropathogenic Escherichia coli, EspA and EspB, whose maximal expression is sensitive to host body temperature*. Infect Immun, 1997. 65(9): p. 3547-55.

⁵ Le groupe de travail *E.coli* VTEC a été nommé par décision du Directeur Général de l'Afssa le 23 novembre 2001 et sera présidé par Mme Vernozy-Rozand.

18. McNally, A., et al., *Differences in levels of secreted locus of enterocyte effacement proteins between human disease-associated and bovine Escherichia coli O157*. Infect Immun, 2001. 69(8): p. 5107-14.
19. Fach, P., et al., *Comparison between a PCR-ELISA test and the vero cell assay for detecting Shiga toxin-producing Escherichia coli in dairy products and characterization of virulence traits of the isolated strains*. J Appl Microbiol, 2001. 90(5): p. 809-18.
20. Karch, H., et al., *Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections*. Diagn Microbiol Infect Dis, 1999. 34(3): p. 229-43.
21. Bettelheim, K.A., *Role of non-O157 VTEC*. J Appl Microbiol, 2000. 88(Suppl): p. 38S-50S.
22. WHO/CSR, *Zoonotic Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia coli (STEC)*. Report of a WHO Scientific Working Group Meeting. 1998; Berlin, Germany, 26-28 June 1998.
23. Beutin, L., et al., *Investigation of human infections with verocytotoxin-producing strains of Escherichia coli (VTEC) belonging to serogroup O118 with evidence for zoonotic transmission*. Epidemiol Infect, 2000. 125(1): p. 47-54.
24. Safarikova, M. and I. Safarik, *Immunomagnetic separation of Escherichia coli O26, O111 and O157 from vegetables*. Lett Appl Microbiol, 2001. 33(1): p. 36-9.
25. Desmarchelier, P.M., et al., *A PCR specific for Escherichia coli O157 based on the rfb locus encoding O157 lipopolysaccharide*. J Clin Microbiol, 1998. 36(6): p. 1801-4.
26. Maurer, J.J., et al., *Development of primers to O-antigen biosynthesis genes for specific detection of Escherichia coli O157 by PCR*. Appl Environ Microbiol, 1999. 65(7): p. 2954-60.
27. Paton, A.W. and J.C. Paton, *Detection and characterization of Shiga toxigenic Escherichia coli by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic E. coli hlyA, rfbO111, and rfbO157*. J Clin Microbiol, 1998. 36(2): p. 598-602.
28. Paton, A.W. and J.C. Paton, *Molecular characterization of the locus encoding biosynthesis of the lipopolysaccharide O antigen of Escherichia coli serotype O113*. Infect Immun, 1999. 67(11): p. 5930-7.
29. Wang, L., et al., *Sequencing of Escherichia coli O111 O-antigen gene cluster and identification of O111-specific genes*. J Clin Microbiol, 1998. 36(11): p. 3182-7.
30. Gannon, V.P., et al., *Detection and characterization of the eae gene of Shiga-like toxin-producing Escherichia coli using polymerase chain reaction*. J Clin Microbiol, 1993. 31(5): p. 1268-74.
31. Louie, M., et al., *Sequence heterogeneity of the eae gene and detection of verotoxin-producing Escherichia coli using serotype-specific primers*. Epidemiol Infect, 1994. 112(3): p. 449-61.
32. Louie, M., et al., *Application of multiplex PCR for detection of non-O157 verocytotoxin-producing Escherichia coli in bloody stools: identification of serogroups O26 and O111*. J Clin Microbiol, 1998. 36(11): p. 3375-7.
33. Gyles, C., et al., *Association of enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin with serotypes of shiga-like-toxin-producing Escherichia coli of human and bovine origins*. Appl Environ Microbiol, 1998. 64(11): p. 4134-41.
34. De Valk, H. and B. Decludt, *Diagnostic des infections à Escherichia coli entéro-hémorragique : enquêtes auprès des laboratoires de bactériologie*. 1997, Réseau National de Santé Publique: Saint Maurice, France. p. Novembre 1997, 22 pages.
35. Decludt, B., *Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans, en 1996*. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, numéro spécial Février 1998, 1998: p. 43-4.
36. Decludt, B., *Syndromes hémolytiques et urémiques en France, épidémiologie et agents responsables (avril 1995 - mars 1996)*. 1998, Réseau National de Santé Publique: Saint Maurice, France. p. Juin 1997.
37. Decludt, B., et al., *Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing Escherichia coli infection in children in France*. The Societe de Nephrologie Pédiatrique. Epidemiol Infect, 2000. 124(2): p. 215-20.
38. Haeghebert, S., et al., *Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 1999*. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, 2001. 37: p. 177-80.