

Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* :

I) les adhésines et facteurs de colonisation

MAINIL J

Département des maladies infectieuses et parasitaires – Bactériologie
Faculté de Médecine vétérinaire
Université de Liège
Sart Tilman, Bât B43a
B4000 Liège

Correspondance : Professeur Jacques Mainil
Tél: x-32-(0)4-366 40 50
FAX: x-32-(0)4-366 42 61
Email : jg.mainil@ulg.ac.be

RESUME : L'espèce *Escherichia coli* est subdivisée en de nombreuses souches pathogènes pour l'homme et les animaux sur base de la possession de propriétés ou de la production de facteurs spécifiques qui sont responsables de leur pouvoir pathogène. Ces souches pathogènes sont classiquement divisées en souches à tropisme intestinal (entérotoxigènes, entéropathogènes, entérohémorragiques, vérotoxigènes et entéro-invasives) et en souches à tropisme extra-intestinal (uropathogènes et invasives). Les souches invasives provoquent des septicémies et/ou des bactériémies avec localisations dans différents organes (infections systémiques). Si les propriétés et facteurs spécifiques de virulence des souches à tropisme intestinal sont relativement bien connus et caractérisés, ceux des souches à tropisme extra-intestinal le sont beaucoup moins, surtout chez les animaux.

Le but de cette série d'articles de revue est de présenter les connaissances sur les propriétés et facteurs spécifiques des souches à tropisme extra-intestinal : les adhésines et facteurs de colonisation, le franchissement des muqueuses et la survie dans le sang et les organes internes, les propriétés toxiques. Le quatrième article fera le point sur les souches invasives elle-mêmes, particulièrement les souches nécrotoxigènes.

Ce premier article présente donc les connaissances actuelles sur les récepteurs, les rôles pathogènes, les structures, les déterminismes génétiques et les méthodes d'identification des adhésines fimbriaires des familles P (Pap, Prs), S (Sfa, F1C, Sfr) et F17 (Vir, Att25, FY, 20K, G, Att111) et des adhésines afimbriaires de la famille Afa (Afa, Nfa, F1845, Bma, Dr...).

INTRODUCTION

Le genre *Escherichia* a été dénommé d'après le médecin allemand Theodor Escherich (1857-1911) qui, en 1885, publia ses travaux sur un court bâtonnet à Gram négatif aux extrémités arrondies, présent dans les matières fécales et l'intestin d'enfants (Escherich, 1885). Cette espèce bactérienne fut baptisée *Bacillus* (ou *Bacterium*) *coli commune*, puis renommée, en 1919 sur proposition,

et en 1958 officiellement, *Escherichia coli*, sur recommandation du Sous-comité *Enterobacteriaceae* du Comité de Nomenclature de l'Association Internationale des Sociétés de Microbiologie (Sojka, 1965; Anonyme, 1985).

Pendant longtemps, le genre *Escherichia* n'a renfermé que l'espèce *Escherichia coli* (*E. coli*), à laquelle sont venues s'ajouter les espèces *E. blattae* (1973; intestin des

blattes), *E. hermannii* (1982; fèces, blessures et bactériémies chez l'homme), *E. vulneris* (1982; fèces et blessures chez l'homme), *E. fergusonii* (1985; fèces, infections urinaires et bactériémies chez l'homme) et certaines *Species Incertae Sedis* (Bergan, 1984; Farmer *et al.*, 1985; Bettelheim, 1994). De plus, selon les critères modernes de taxonomie bactérienne, les genres *Shigella* et *Escherichia* sont identiques (Orskov, 1984; Rowe et Gross, 1984). Si l'on

suivait les règles de nomenclature, les quatre espèces du genre *Shigella* (*S. boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*) devraient être incluses dans le genre *Escherichia*.

Subdivisions de l'espèce *E. coli*

L'espèce *E. coli* est constituée d'une multitude de souches qui peuvent être différenciées et classées par la détermination de leur BIOTYPES, SEROTYPES et LYSOTYPES.

Le BIOTYPE est le profil biochimique des souches. A côté des caractères d'espèce, les souches d'*E. coli* varient, en effet, par différents autres caractères biochimiques (Bergan, 1984; Brenner, 1984; Bettelheim, 1994).

Le SEROTYPE est défini par la combinaison de certains antigènes de surface que l'on peut mettre en évidence: les antigènes somatiques O (de l'Allemand "**O**hne **K**apsel") de nature lipopolysaccharidique (LPS), les antigènes capsulaires K (ou antigènes de **K**auffmann) de nature polysaccharidique et les antigènes ciliaires H (de l'Allemand "**H**auch") de nature protéique (Sojka, 1965; Orskov et Orskov, 1984; Lior, 1994). Les bases du schéma d'identification par sérotypie ont été définies par Kauffmann (Kauffmann, 1947; Kaeckenbeeck, 1993). Actuellement, environ 180 groupes O, 80 groupes K et 70 groupes H ont été reconnus (Orskov et Orskov, 1984; 1992).

Le LYSOTYPE est le spectre de sensibilité d'une souche à une collection de bactériophages (Sojka, 1965; Lior, 1994). Cependant, contrairement au sérotypage, il n'existe pas de collection internationale de référence de bactériophages à utiliser. Aussi, la lysotypie est-elle relativement peu appliquée, sauf pour certaines souches particulièrement importantes en pathologie (Lior, 1994).

Les souches pathogènes d'*E. coli*

Si l'espèce *E. coli* est hétérogène dans ses biotypes, sérotypes et lysotypes, elle l'est aussi dans son écologie et son association à des pathologies. La grande majorité des souches sont dites commensales ou non-pathogènes. Elles colonisent l'intestin des animaux à sang chaud peu de temps après la naissance et participent aux fonctions de la flore intestinale dans

la digestion des aliments et l'apport de certaines vitamines. Elles vivent aussi dans la nature (sols, eaux) après contamination fécale (Cooke, 1985; Lior, 1994; Bettelheim, 1997; Sussman, 1997; Wray et Woodward, 1997).

Dès la fin du 19^e siècle, il est aussi apparu qu'*E. coli* est associée à diverses pathologies (Laruelle, 1889). Pendant longtemps, la question du rôle pathogène réel d'*E. coli* a perturbé les bactériologistes car, si cette association apparaissait de manière de plus en plus évidente, il était tout aussi évident que la même bactérie était isolée d'individus parfaitement sains. Cette observation était très perturbante à une époque où l'on pensait qu'une espèce bactérienne était soit pathogène, soit commensale.

La notion de " pathotype "

La réponse vint d'une intuition géniale d'un vétérinaire danois, Carl Oluf Jensen (1864-1934), qui émit l'hypothèse que l'espèce *E. coli* était en fait hétérogène et composée de souches provoquant des pathologies et de souches tout à fait inoffensives (Jensen, 1893). Mais, à cette époque, aucun moyen n'existait pour reconnaître et différencier ces souches, sauf la reproduction expérimentale des pathologies chez les espèces animales hôtes naturels.

La détermination des sérotypes (Kauffmann, 1947) est le premier système qui a permis, dans une certaine mesure, de différencier des souches pathogènes de souches commensales, chez l'homme dans un premier temps, chez les animaux par la suite (Sojka, 1965; Organisation Mondiale Santé, 1980; Orskov et Orskov, 1984; Cooke, 1985; Kaeckenbeeck, 1993; Lior, 1994; Sussman, 1997; Beutin, 1999). En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des pathologies, tandis que d'autres le sont très fréquemment. Par la suite, divers chercheurs ont fait oeuvre pionnière en reconnaissant l'existence pour les souches pathogènes de propriétés particulières, dites de virulence, directement ou indirectement reliées à leur pouvoir pathogène. Ces propriétés permettent aux bactéries de coloniser les surfaces muqueuses de l'hôte, de les franchir, de résister aux défenses internes ou de produire un effet toxique sur cet hôte, avec apparition de lésions et de signes cliniques

(Cooke, 1985; Pohl, 1993; Lior, 1994; Sussman, 1997; Wray et Woodward, 1997). La détermination des combinaisons de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche constitue un nouveau moyen de typage d'*E. coli*, que l'on désigne sous le néologisme de PATHOTYPIE.

Le support génétique de la virulence

Si l'univers des souches pathogènes d'*E. coli* apparaît aussi complexe aujourd'hui, c'est la conséquence de l'évolution très rapide, à notre échelle de temps, du monde bactérien, à la plasticité du génome des bactéries, en particulier *E. coli*, permettant des échanges permanents de matériel génétique, et aussi à la présence de nombreux gènes qui codent pour ces propriétés de virulence sur des structures génétiques mobiles, comme des plasmides, des transposons, des phages ou des îlots de pathogénicité. Les tailles du chromosome de diverses souches d'*E. coli* varient entre 4,5 et 5,5 Mégabase (Berghthorsson et Ochman, 1998). Par rapport à la souche de laboratoire *E. coli* K12 (4,63 Mb), les souches pathogènes d'*E. coli* possèdent jusqu'à 20% d'information génétique supplémentaire, acquise vraisemblablement au cours de transferts horizontaux d'ADN. L'origine étrangère de ces fragments d'ADN est encore décelable grâce à un G+C% et à un usage préférentiel des codons différents. De nombreux gènes nouvellement acquis sont localisés sur le chromosome, mais beaucoup d'autres le sont sur des réplicons extra-chromosomiques, les plasmides. Au cours de l'évolution, ces gènes peuvent s'intégrer dans des structures relativement indépendantes, comme les transposons ou les phages, ou se regrouper pour former des îlots de pathogénicité.

Les plasmides (Couturier *et al.*, 1988; Snyder et Champness, 1997a; Saunders, 2000) sont des molécules d'ADN double brin, presque tous circulaires, et autonomes du chromosome bactérien pour le contrôle de leur répllication. Leur taille varie entre quelques kbases et plusieurs centaines de kbases et ils sont présents en un nombre défini de copies par cellule bactérienne. Certains peuvent se transférer horizontalement, dans d'autres souches d'*E. coli*, voire d'autres espèces bactériennes, par conjugaison ou mobilisation, entraî-

Tableau I : Définitions des principaux groupes d'*E. coli* pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (Holland, 1990 ; Broes, 1993 ; Dho-Moulin, 1993 ; Fairbrother, 1993 ; Mainil, 1993 ; 1999 ; Peeters, 1994 ; Donnenberg et Welch, 1996 ; Johnson, 1997 ; Mac Laren, 1997 ; Mainil *et al.*, 1998 ; 1999 ; Nataro et Kaper, 1998 ; Beutin, 1999 ; De Rycke *et al.*, 1999 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Le Bouguenec et Bertin, 1999 ; Milon *et al.*, 1999 ; Nagy et Fekete, 1999 ; Stordeur et Mainil, 2002 ; Stordeur *et al.*, 2002).

Classe	Nom	Acronyme anglophone	Définition	Espèces cibles
Diarrhéogènes : Entérites Entérocolites	Entéro-invasifs	EIEC*	Envahissement des entérocytes	Homme, primates
	Entérotoxigènes	ETEC	Production d'entérotoxines avec accumulation de fluide dans l'intestin, de fimbriae F2 à F6, F41	Ruminants, porc, homme (chiens)
	Entéropathogènes	EPEC	Production de la lésion d'attachement et d'effacement (A/E)	Animaux, homme
	Vérotoxinogènes	VTEC (STEC)	Production de toxines actives sur cellules Vero en culture	Ruminants ? Homme ?
	Entérohémorragiques	EHEC	Responsables d'une entérocolite souvent hémorragique, production de lésions A/E et de toxines Véro	Homme, ruminants
	Entéroadhérents	EAEC	Adhésion agrégative sur cellules en culture : adhésines AAF/I	Homme
	« Diffuse adherent »	DAEC	Adhésion diffuse sur cellules en culture : adhésines AIDA-I ou Afa	Homme (animaux ?)
Entérotoxémiques : Maladie de l'œdème	Nécrotoxigènes	NTEC	Production de facteurs cytotoxiques nécrosants 1 (CNF1), facteurs cytotoxiques nécrosants 2 (CNF2), fimbriae P, S et/ou F17, adhésines Afa, hémolysine α (entérotoxines, aérobactine, résistance au complément)	Animaux et homme (NTEC1), ruminants (NTEC2)
	Vérotoxinogènes	VTEC (STEC)	Production de toxines actives sur cellules Vero en culture	Porcelet
	Nécrotoxigènes	NTEC	Production de CNF1 ou CNF2, de toxines Cytoléthales Distendantes (CDT), fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément)	Homme, chiens, chats
Uropathogènes (UPEC)** :				
Cystites Pyélonéphrites	Autres	?***	Production de fimbriae P et/ou S, adhésine Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément)	Homme, animaux
Mammopathogènes** :		?	Pas de facteurs spécifiques de virulence : origine fécale	Animaux, surtout ruminants
Invasives** : Septicémie Bactériémie Infections systémiques	Nécrotoxigènes	NTEC	Production de CNF1, CNF2 et /ou CDT, aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17, et/ou adhésines Afa, hémolysine α	Animaux, homme
	« Neonatal Meningitis E. coli »	NMEC	Production d'aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, antigène capsulaire K1, (hémolysine α)	Homme
	« Avian Pathogenic E. coli »	APEC	Production d'aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, antigène capsulaire K1, (hémolysine α)	Oiseaux
	Autres	?	Production d'aérobactine, résistance au complément (hémolysine α)	Animaux, homme

* EC : *E. coli*

** L'acronyme ExPEC est aussi utilisé pour les souches extra-intestinales

*** Pas de nom ou d'acronyme spécifique

nant tous les gènes présents, y compris ceux situés sur des transposons, phages ou îlots de pathogénicité. La présence de gènes qui codent pour des facteurs de virulence d'*E. coli* sur des plasmides favorisent donc leur mobilité à l'intérieur, ainsi qu'en dehors, de cette espèce bactérienne.

Les transposons sont des fragments linéaires d'ADN qui sont capables de se transférer, avec ou sans duplication, depuis le chromosome bactérien jusqu'à un plasmide ou entre deux plasmides. Ils ne sont pas autonomes des réplicons qui les véhiculent (Cornélis, 1982; Snyder et Champness, 1997c).

Les phages sont les virus des bactéries. Ils peuvent suivre un cycle lytique ou un cycle non lytique (= phages tempérés), qui les voit s'incorporer dans le chromosome bactérien ou exister sous la forme d'un plasmide (= prophages). Les prophages peuvent se réveiller sous l'influence de conditions extérieures (rayons ultra-violet par exemple) et entamer leur cycle lytique (Snyder et Champness, 1997b; Toth, 2000).

Les îlots de pathogénicité ("*Pathogenicity Islands*", Pai) sont des fragments linéaires d'ADN intégrés sur le chromosome bactérien, parfois sur un plasmide, qui se comportent comme des blocs indissociables et répondent aux définitions suivantes (Dozois et Curtiss, 1999; Hacker et Kaper, 2000) :

- ils comprennent divers gènes codant pour des facteurs prouvés ou potentiels de virulence;
- ils sont présents dans certaines souches pathogènes, mais pas dans les souches non pathogènes de la même espèce bactérienne;
- leur taille varie entre 10 et 200 kbases;
- leur contenu en G+C % est différent de celui de la bactérie hôte, attestant d'une origine étrangère;
- ils sont souvent encadrés par de courtes séquences répétées directes;
- ils sont associés à des gènes codant pour des ARN de transfert (site d'intégration);
- ils contiennent aussi des gènes, cryptiques ou exprimés, codant pour des fonctions d'intégrases, ou de transposases, et des séquences d'insertion entières ou partielles;
- ils sont souvent instables et s'excisent en bloc à des fréquences

variables selon l'îlot de pathogénicité (Pai). Lorsqu'ils s'excisent, toutes les fonctions pour lesquelles ils codent sont perdues.

Les différentes souches pathogènes d'*E. coli*

Les premières distinctions faites entre les différentes souches pathogènes ont été basées sur leur tropisme clinique, permettant de séparer les souches à tropisme intestinal de celles à tropisme extra-intestinal (Neter, 1965). Par la suite, ces dernières furent à leur tour subdivisées en souches uropathogènes responsables d'infections du tractus urinaire (cystites, pyélonéphrites), en souches mammopathogènes responsables d'infections de la mammelle (mammites) et en souches invasives, responsables d'infections généralisées, de type septicémique ou bactériémique, et d'infections d'organes internes, de type encéphalite, arthrites, pneumonie... A ces différents groupes, il faut ajouter celui des souches responsables d'entérotoxémies (tableau 1).

Dans chacun de ces groupes de souches pathogènes, diverses subdivisions supplémentaires existent, basées, cette fois-ci, sur les pathotypes. Chaque pathotype a ainsi reçu un (parfois plusieurs) nom basé sur la reconnaissance d'une propriété *in vivo* ou *in vitro*, liée directement ou indirectement aux lésions et à la clinique (tableau 2). Mais des redondances et des confusions de nomenclature existent, car il n'y a pas de comité de coordination de ces dénominations. De plus, certaines souches ont été classées comme souches pathogènes avant même que leur rôle *in vivo* dans une pathologie ne soit confirmé, ou dénommées avant même que le rôle de la propriété nouvellement reconnue dans leur pathogénie n'ait été démontré, selon les postulats classiques et moléculaires de Koch (Falkow, 1988; Krause, 2001).

Toutes ces souches pathogènes d'*E. coli* doivent réaliser diverses étapes dans leur relation avec leur hôte avant de pouvoir véritablement exercer leur pouvoir pathogène. Ces étapes sont d'ailleurs classiques pour l'ensemble des bactéries pathogènes. Il s'agit de :

- i) la colonisation des surfaces muqueuses;
- ii) le franchissement de ces muqueuses;

iii) la résistance aux défenses internes de l'organisme;

iv) la production d'un effet toxique.

Les étapes i et iv sont réalisées par l'ensemble des souches pathogènes entériques, entérotoxémiques, urinaires et mammaires d'*E. coli*; les étapes ii et iii le sont par les souches envahissantes, septicémiques, bactériémiques et systémiques.

Les souches entériques et entérotoxémiques d'*E. coli* ont fait et font toujours l'objet de nombreuses revues de littérature nationales et internationales (Holland, 1990; Fairbrother, 1993; Mainil, 1993; 1999; 2000; Nataro et Kaper, 1998; Milon *et al.*, 1999; Nagy et Fekete, 1999), de même, bien que dans une moindre mesure, que les souches uropathogènes (Johnson, 1991; 1997). Les souches envahissantes (septicémiques, bactériémiques et systémiques) sont les parents pauvres dans ce domaine (Fairbrother et Ngeleka, 1994; Mac Laren, 1997), sauf chez la volaille (Dho-Moulin, 1993; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999; Stordeur et Mainil, 2002). Afin de pallier à cette lacune relative, trois manuscrits vont faire le point sur leurs propriétés et facteurs principaux de virulence: les adhésines, le franchissement des muqueuses et la résistance aux défenses internes de l'hôte, et les toxines.

ADHESINES FIMBRIAIRES ET AFIMBRIAIRES

Lorsqu'une souche d'*E. coli* pénètre dans une cavité de l'hôte, elle doit vaincre diverses défenses naturelles non spécifiques constituée par les flores commensales, la couche de mucus, les molécules à activité antibactérienne qui y sont associées... Après avoir surmonté ces défenses, *E. coli* arrive au contact des épithéliums. L'adhésion aux cellules épithéliales est un préalable au développement de nombreuses pathologies. Cette adhésion permet, en effet, à la bactérie de résister aux défenses mécaniques (péristaltisme, miction...) et, ce faisant, de se multiplier sur place, provoquant la formation de microcolonies.

Classification

La première classification proposée répartissait les adhésines en trois

Tableau II : Liste des acronymes des souches (potentiellement) pathogènes d'*E. coli*

Acronyme (ordre alphabétique)	Anglais	Français
AdEC**	<i>Adhesin-positive E. coli</i>	<i>E. coli</i> positives pour des adhésines
AEEC	<i>Attaching Effacing E. coli</i>	<i>E. coli</i> attachant et effaçant
APEC	<i>Avian Pathogenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> pathogènes aviaires
CDEC	<i>Cell Detaching E. coli</i>	<i>E. coli</i> cyto-détachant
CDTEC***	<i>Cytolethal Distending E. coli</i>	<i>E. coli</i> cytolétaux distendant
CNEC**	<i>Cytonecrototoxic E. coli</i>	<i>E. coli</i> cytonécrotoxinogènes
DAEC	<i>Diffuse-adherent E. coli</i>	<i>E. coli</i> à adhésion diffuse
DHEC***	<i>Diarrhea-associated Haemolytic E. coli</i>	<i>E. coli</i> diarrhéogènes hémolytiques
EAEC	<i>Enteroadherent E. coli*</i>	<i>E. coli</i> entéro-adhérent*
EAEC	<i>Enteroaggregative E. coli</i>	<i>E. coli</i> entéro-agrégatifs
EAggEC*	<i>Enteroaggregative E. coli</i>	<i>E. coli</i> entéro-agrégatifs
EHEC	<i>Enterohaemorrhagic E. coli</i>	<i>E. coli</i> entérohémorragiques
EIEC	<i>Enteroinvasive E. coli</i>	<i>E. coli</i> entéro-invasifs
EPEC	<i>Enteropathogenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> entéro-pathogènes
ETEC	<i>Enterotoxigenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> entérotoxinogènes
ExPEC***	<i>Extraintestinal E. coli</i>	<i>E. coli</i> extra-intestinaux
MAEC	<i>Meningitis-Associated E. coli</i>	<i>E. coli</i> associés aux méningites
NMEC	<i>Neonatal Meningitis E. coli</i>	<i>E. coli</i> des méningites néonatales
NTEC	<i>Non-toxigenic E. coli*</i>	<i>E. coli</i> non toxigènes*
NTEC	<i>Necrotaxigenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> nécrotoxinogènes
SePEC**	<i>Septicaemic E. coli</i>	<i>E. coli</i> septicémiques
STEC	<i>Shigatoxigenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> shigatoxinogènes
VTEC	<i>Verotoxigenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> vérotoxinogènes
UPEC	<i>Uropathogenic E. coli</i>	<i>E. coli</i> uropathogènes

* Obsolète

** Abréviation personnelle

*** Usage non reconnu

groupes en se basant à la fois sur les propriétés d'hémagglutination par les bactéries et de structure ultramicroscopique des hémagglutinines produites (Duguid *et al.*, 1955; 1979). Les adhésines du groupe I agglutinent la plupart des globules rouges testés. Cette hémagglutination est inhibée par le mannose et est médiée par des appendices de type fimbriaire. Ces appendices ont, par la suite, été dénommés "fimbriae de type 1" (Brinton, 1965; Ottow, 1975).

Les adhésines du groupe II possèdent diverses activités hémagglutinantes, selon les origines des globules rouges. Ces hémagglutinations ne sont pas inhibées par le mannose et sont médiées par des appendices de type fimbriaire ou fibrillaire : les premiers, parfois appelés fimbriae de type 2, forment une structure cylindrique, creuse (0,5 à 2 nm de creux), épaisse (5 à 7 nm de diamètre) et rigide; les seconds, parfois appelés fimbriae de type 3, forment une struc-

ture cylindrique, pleine, mince (3 à 4 nm de diamètre) et souple (Orskov et Orskov, 1990; Smyth *et al.*, 1994). Signalons qu'il existe des adhésines fimbriaires qui ne montrent aucune propriété connue d'hémagglutination, ce qui ne permet pas de les classer dans le système proposé ci-dessus.

Les adhésines du groupe III montrent aussi diverses activités hémagglutinantes résistantes au mannose, bien qu'aucune structure fimbriaire ne soit

visible. Ces hémagglutinations sont médiées par des adhésines de type afimbriaire.

Par la suite, un quatrième groupe d'adhésines fut décrit, les fimbriae de type 4 qui montrent une distribution polaire et possèdent des propriétés auto-agglutinantes. Elles sont produites par diverses espèces bactériennes, dont *E. coli* (Giron *et al.*, 1991; Hultgren *et al.*, 1991; Nataro *et al.*, 1992).

Les adhésines fimbriaires des types 2 et 3 sont très nombreuses et hétérogènes. Il s'agit de la plupart des adhésines produites par les souches entérotoxigènes (de Graaf et Gaastra, 1997; Nagy et Fekete, 1999), uropathogènes (Johnson, 1991; 1997), vérotoxigènes (Mainil, 1999) ou invasives (Mac Laren, 1997) d'*E. coli*. Elles ont reçu différents noms au cours du temps, en fonction de critères empiriques très différents et créant des nomenclatures très complexes. Ces critères sont :

- la mise en évidence sur des souches pathogènes d'un antigène commun de surface présentant tous les caractères physiques d'antigènes K capsulaires (fimbriae K88, K99);
- les propriétés d'agglutination d'érythrocytes humains appartenant à certains groupes sanguins (fimbriae P);
- la nature chimique du récepteur (fimbriae S, G);
- le numéro de la souche étudiée dans une collection (fimbriae 987P, F41, F107, F165);
- l'observation d'une structure fimbriaire, facteur potentiel de colonisation, sur une souche pathogène (CFA: "*Colonisation Factor Antigen*"; PCF09: "*Putative Colonisation Factor*").

Réconcilier ces différents systèmes de nomenclature est une tâche impossible actuellement, car les techniques, les souches et les critères utilisés sont par trop différents. Les diverses tentatives d'uniformisation de ces nomenclatures ont d'ailleurs échoué pour diverses raisons, dont la complexité progressivement révélée des fimbriae bactériens, l'impossibilité de les inclure tous et l'absence de volonté de consensus des chercheurs (Ottow, 1975; Garcia et Le Bouguéneq, 1996). Cependant, celle proposée par Orskov et Orskov (1984) commence à être adoptée universellement. Elle consiste à attribuer la lettre F, pour

"*Fimbria*", suivie d'un chiffre arabe, aux antigènes de nature fimbriaire, impliqué ou non dans la pathogénie bactérienne. Certaines adhésines ont déjà été incorporées dans ce système et renommées s'il le fallait, mais d'autres ne l'ont pas encore été. Cette classification ne tient cependant absolument pas compte des adhésines afimbriaires. Malgré l'adoption partielle de ce nouveau système de classification, certaines parties des anciennes terminologies sont encore utilisées: fimbriae de type 1 ou de type 4, par exemple.

Dans les paragraphes qui suivent, les données concernant les adhésines fimbriaires appartenant aux familles P, S et F17 seront présentées, suivies de celles qui concernent les adhésines afimbriaires de la famille Afa.

Fimbriae P

Les adhésines fimbriaires de la famille P se définissent sur base de leurs propriétés d'agglutination des érythrocytes humains du groupe sanguin P. Elles ont en effet comme récepteurs différentes parties des oligosaccharides déterminant le groupe sanguin P (Hacker, 1990; Orskov et Orskov, 1990; Johnson, 1991; 1997; Fairbrother et Ngeleka, 1994; Law, 1994; Smyth *et al.*, 1994; Donnenberg et Welch, 1996; Garcia et Le Bouguéneq, 1996; Jones *et al.*, 1996; Abraham et Jaisval, 1997; de Graaf et Gaastra, 1997; Mac Laren, 1997; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999; Bann *et al.*, 2002).

Rôle pathogène et récepteurs

La proportion de souches d'*E. coli* isolées d'infections du tractus urinaire chez l'homme et exprimant des fimbriae P varie entre des moyennes de 70% pour celles isolées de pyélonéphrites, à 36% pour celles isolées de cystites et à 25% pour celles isolées de personnes souffrant de bactériurie asymptomatique. D'autres part, des souches porteuses de fimbriae P sont isolées des fèces de 20% d'humains en bonne santé, ainsi que du sang de 71% d'humains souffrant de bactériémie consécutive à une pyélonéphrite et de 28% des personnes souffrant de bactériémie ayant une autre origine. Des souches exprimant des fimbriae P, ou en possédant les gènes, d'origine urinaire, systémique ou intestinale sont aussi isolées de

chiens et de chats (Broes, 1993; Peeters, 1994; Mainil *et al.*, 1998; 2001; Beutin, 1999), de porcelets et de veaux (Harel *et al.*, 1991; 1992; Fairbrother, 1993; Maiti *et al.*, 1993; Fairbrother et Ngeleka, 1994; Mainil *et al.*, 1999) ainsi que d'oiseaux (Dho-Moulin, 1993; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999; Stordeur *et al.*, 2002).

Dans le tractus urinaire, le rôle des fimbriae P serait non seulement d'en assurer la colonisation, mais aussi d'exacerber la réponse inflammatoire, avec augmentation de la production d'interleukine 6, comme cela a été suggéré dans un modèle expérimental chez des primates, en comparant des souches sauvages et mutantes alléliques. Ces dernières persistent moins longtemps et provoquent des dommages tissulaires moins graves (Roberts *et al.*, 1994; Donnenberg et Welch, 1996). Par contre, dans le modèle murin, les résultats montrent que les fimbriae P ne jouent pas un rôle aussi important, bien qu'ils soient effectivement exprimés *in vivo* et que des récepteurs spécifiques existent dans le tractus urinaire des souris (Mobley *et al.*, 1993; Donnenberg et Welch, 1996). Dans un modèle porcin d'infections invasives, les fimbriae P contribueraient à la survie des *E. coli* dans le système circulatoire par leurs propriétés anti-phagocytaires (Ngeleka *et al.*, 1993).

La spécificité d'hôte et de tissu est basée sur les interactions des fimbriae P avec leurs récepteurs spécifiques présents sur les cellules eucaryotes. Ce récepteur est une partie de la molécule formant le groupe sanguin humain P, constitué d'une famille d'oligosaccharides contenant l'entité commune Gal-(α 1-4)-Gal, en position terminale comme dans Gal-(α 1-4)-Gal-(β 1-4)-Glc-, ou Globotriaose, ou GbOse3, ou Gb3 (adhésine PapGI), ou en position interne comme dans GalNAc-(β 1-3)-Gal-(α 1-4)-Gal-(β 1-4)-Glc-, ou Globoside, ou Globotétraose, ou GbOse4, ou Gb4 (adhésine PapGII). Certains fimbriae P interagissent avec des variants de ces entités: GalNAc-(α 1-3)-GalNAc-(β 1-3)-Gal-(α 1-4)-Gal-(β 1-4)-Glc-, ou antigène de Forssman, ou Globopentaose, ou GbOse5, ou Gb5 (adhésine F ou PapGIII ou PrsG), présent sur les globules rouges de mouton.

Les récepteurs Gb3 et Gb4 sont aussi présents sur les érythrocytes de

diverses espèces animales (porc, pigeon, volaille, chèvre, chien), ainsi que sur les cellules épithéliales du tractus urinaire chez l'homme (vessie pour Gb3, rein pour Gb4) ; les récepteurs Gb5 se retrouvent aussi sur les cellules rénales de chiens.

Architecture (figure 1)

La structure des fimbriae P est typique : un cylindre de 7 nm de diamètre avec un creux axial de 1,5 nm de diamètre et de 1 µm de longueur, formé par des centaines d'exemplaires d'une protéine d'un poids moléculaire de 17 à 22 kDa, selon le sérotype. Cette protéine, ou sous-unité majeure A, forme une hélice dextrogyre de 3,3 sous-unités par tour d'hélice et comprend de nombreux variants antigéniques qui ont reçu les chiffres suivants : F7.1, F7.2, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14, F15 et F16. Ces variants antigéniques partagent cependant divers épitopes et des réactions croisées sont observées avec des immunosérums polyclonaux. Des anticorps monoclonaux sont indispensables pour différencier les sérotypes avec un haut degré de spécificité ; certains de ces anticorps monoclonaux sont même capables de distinguer des

sous-types à l'intérieur de certains variants antigéniques. Les diverses sous-unités A montrent un degré élevé d'homologie aux extrémités NH2 et COOH et un degré moyen d'homologie avec les sous-unités majeures des fimbriae de type 1 à l'extrémité NH2. Les différents sérotypes sont retrouvés à des fréquences variables parmi les souches uropathogènes humaines, tandis que les souches uropathogènes canines et félines produisent surtout les sérotypes F12 et F13. Les souches aviaires, bovines et porcines produisent surtout des fimbriae P appartenant au sérotype F11, également connus sous le nom de fimbriae F165-1 et Pap_{31A} dans les espèces bovine et porcine (Orskov et Orskov, 1990 ; Harel *et al.*, 1991 ; 1992 ; Dho-Moulin, 1993 ; Fairbrother, 1993 ; Maiti *et al.*, 1993 ; Fairbrother et Ngeleka, 1994 ; Beutin, 1999 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Bertin *et al.*, 2000 ; Girardeau *et al.*, 2003).

Les fimbriae P sont aussi composés de sous-unités mineures : H à la base du fimbria pour le stabiliser sur la protéine d'ancrage, K, E, F et G à l'extrémité (figure 1). Les sous-unités K, E et F forment un appendice plein, de 40 nm de long sur 2 nm de diamètre, porteur, à son sommet, de la sous-unité

G, qui est seule responsable des propriétés et de la spécificité d'adhésion du fimbria. En effet, certains anticorps monoclonaux dirigés contre la sous-unité G inhibent complètement les propriétés d'adhésion du fimbria et des mutants pour la sous-unité G ne possèdent plus de fonction d'adhésion, bien que la structure du fimbria soit intacte par ailleurs. Des variants ont aussi été décrits dans certaines sous-unités mineures (E par exemple), mais les plus importantes sont celles qui concernent l'adhésine G, responsable des interactions avec et, donc, de la spécificité de récepteur. Trois variants sont classiquement décrits : adhésine PapGI qui se lie spécifiquement au récepteur Gb3 ; adhésine PapGII qui se lie spécifiquement au récepteur Gb4 ; et adhésine PapGIII, ou PrsG, qui se lie spécifiquement au récepteur Gb5.

L'adhésine PapGI n'a été décrite que sur le fimbriae P du sérotype F13 de la souche uropathogène humaine J96 ; l'adhésine PapGII est majoritaire sur les souches uropathogènes humaines, tandis que l'adhésine PrsG est produite par, comparativement, peu de souches uropathogènes humaines, mais par la majorité des souches uropathogènes animales et diverses souches intestinales et extra-intestinales aviaires, bovines et porcines (Broes, 1993 ; Fairbrother et Ngeleka, 1994 ; Beutin, 1999 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Johnson *et al.*, 2000 ; Mainil *et al.*, 2001). L'adhésine des fimbriae P du sérotype F11 (F165-1) des souches bovines et porcines, représente un sous-variant de l'adhésine PrsG des souches humaines, possédant des propriétés particulières d'hémagglutination, notamment des globules rouges porcins et bovins que les souches humaines ne possèdent pas (Harel *et al.*, 1992 ; Fairbrother *et al.*, 1993 ; Maiti *et al.*, 1993). L'adhésine du variant Pap_{31A} représente un nouveau variant, PapGrS, dont la spécificité de récepteur est inconnue à ce jour, présent dans des souches bovines, humaines et porcines, intestinales et extra-intestinales (Bertin *et al.*, 2000 ; Girardeau *et al.*, 2003).

La base des fimbriae P est attachée à une protéine de membrane externe, ou protéine d'ancrage, dénommée protéine C. Cette protéine C montre jusqu'à 20 % d'identité et 40 % de similarité avec les protéines d'ancrage d'autres fimbriae.

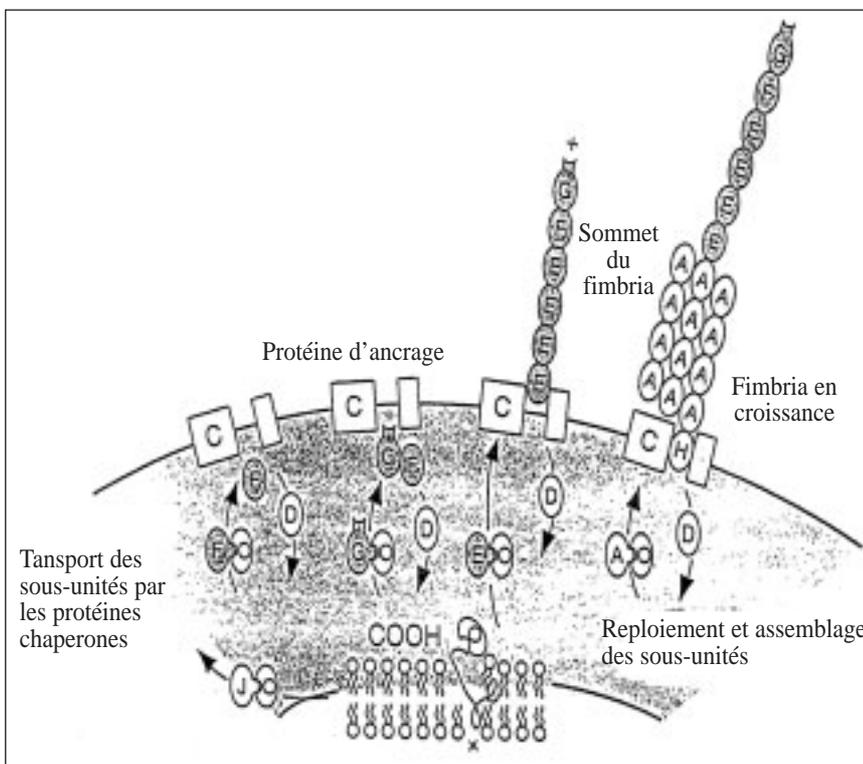


Figure 1 : Architecture schématique et croissance d'une fimbria de type P (d'après Salyers et Whitt, 1994).

A = sous-unité majeure
 G = adhésine
 E, F, H = sous-unités mineures
 C = protéine d'ancrage
 D, J = protéines chaperones

Déterminisme génétique (figure 2)

Les gènes codant pour les différentes sous-unités, pour la protéine d'ancrage et pour les protéines chaperones (D et J), ainsi que des gènes à fonction de régulation (B et I), sont regroupés sur le chromosome bactérien en deux ou trois opérons. Ces groupes de gènes ont reçu différents noms (Hacker, 1990; Fairbrother et Ngeleka, 1994; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999) :

- *fso* (*Fimbriae Seven One*) pour le fimbria F7.1 de la souche uropathogène AD110 (ou AD111, C1212, KS71);
- *fst* (*Fimbriae Seven Two*) pour le fimbria F7.2 de la souche uropathogène AD110;
- *fei* (*Fimbriae EIght*) pour le fimbria F8 de la souche d'origine fécale 2980;
- *fni* (*Fimbriae NIne*) pour le fimbria F9 de la souche uropathogène C1018;

- *fel* (*Fimbriae ELeven*) pour les fimbriae F11 de la souche uropathogène C1976 et des souches invasives aviaires;
- *ftw* (*Fimbriae TWelve*) pour le fimbria F12 de la souche 20025;
- *pap* (*Pyelonephritis-Associated Pili*) pour le fimbria F13 porteur de l'adhésine PapGI de la souche uropathogène J96;
- *prs* (*Pap-Related Sequence*) pour le fimbria F13 porteur de l'adhésine

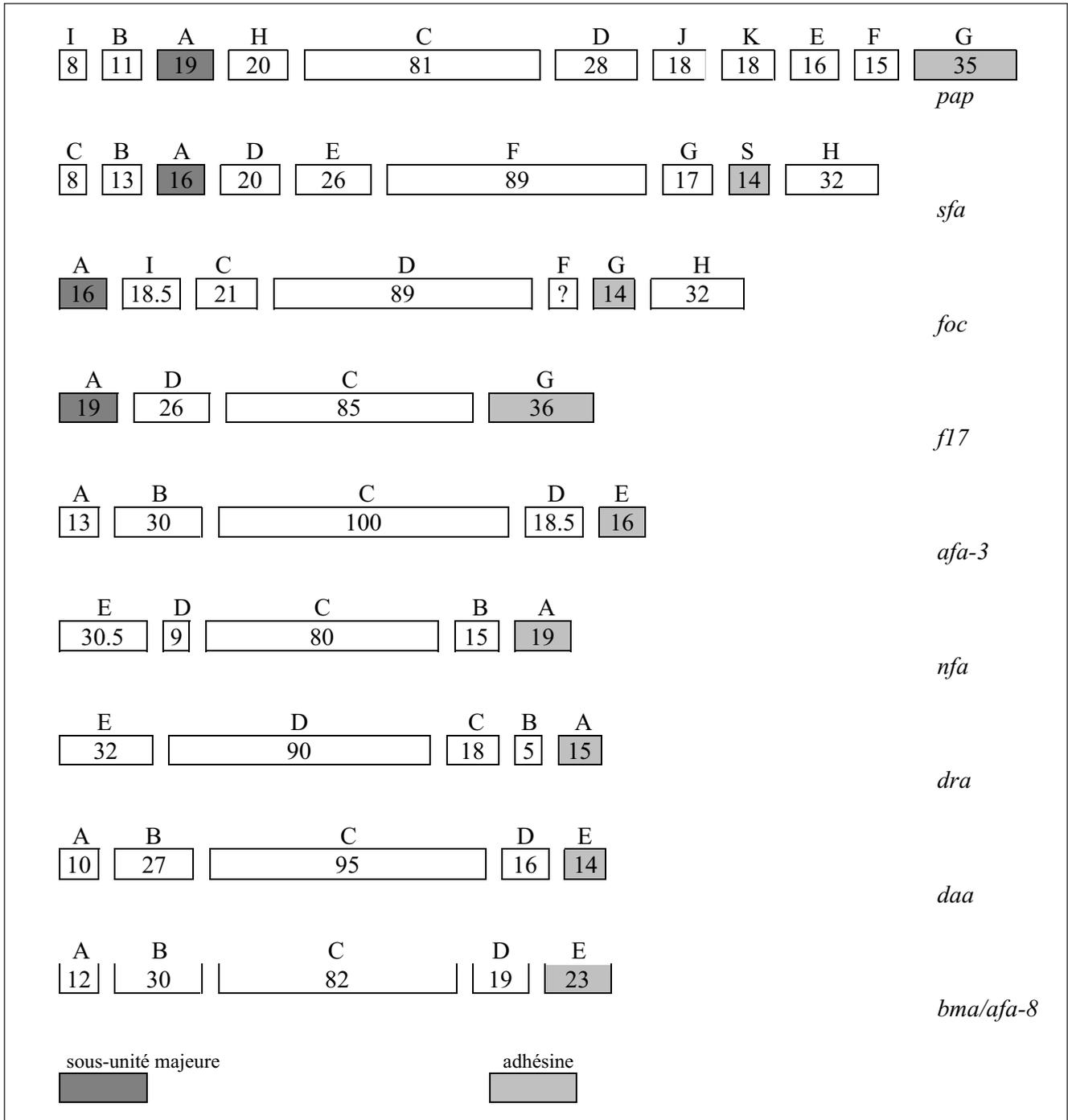


Figure 2 : Comparaison des gènes qui codent pour les fimbriae P (*pap*), S (*sfa*, *foc*) et F17 (*f17*) et pour des adhésines de la famille Afa (*afa*, *nfa*, *dra*, *daa*, *bma/afa-8*) (adapté de Ofek et Doyle, 1993; Smyth et al., 1994; Lalioui et al., 1999; Le Bouguéneq et Bertin, 1999; Starcic et al., 2002).

Les chiffres indiquent les poids moléculaires en kDa des protéines synthétisées.

PapGIII/PrsG de la souche uropathogène J96;

- *prf* (**P-Related Fimbriae**) pour un fimbria non baptisé de la souche uropathogène 536;
- *foo* (**Fimbriae One-hundred-sixty-five One**) pour le fimbria F11 de la souche septicémique porcine d'origine fécale 4787.

Les gènes qui codent pour les fimbriae F10, F14, F15 et F16 n'ont pas été clonés ou n'ont pas reçu de nom particulier (Orskov et Orskov, 1990). En effet, actuellement, le nom *pap* est attribué aux gènes qui codent pour des fimbriae P porteurs d'une adhésine Pap GI ou PapGII et le nom *prs* est attribué aux gènes qui codent pour des fimbriae P porteurs d'une adhésine PapGIII/PrsG.

Ces groupes comprennent les gènes suivants (figure 2) :

- *papA/prsA* qui codent pour la sous-unité majeure;
- *papG/prsG* qui codent pour l'adhésine;
- *papC/prsC* qui codent pour la protéine d'ancrage;
- *papE/papF/papH/papK/prsE/prsF/prsH/prsK* qui codent pour les sous-unités mineures;
- *papD/papJ/prsD/prsJ* qui codent pour les protéines chaperones;
- *papB/papI/prsB/prsI* qui codent pour les fonctions de régulation.

Une même bactérie peut héberger deux, voire trois, groupes de gènes *pap/prs* complets ou incomplets, qui peuvent différer dans un ou plusieurs de leurs gènes. La souche J96 renferme deux groupes de gènes *pap/prs* codant pour des fimbriae F13, l'un porteur d'une adhésine PapGI, l'autre porteur d'une adhésine PapGIII (Marklund *et al.*, 1992). Les groupes de gènes *pap/prs* peuvent être associés sur le chromosome bactérien à d'autres gènes tels que : *hly*, qui codent pour l'hémolysine α , et/ou *cnf1*, qui code pour la toxine CNF1; formant les îlots de pathogénicité (Pai) de type 2 (*hly*, *prf*) de la souche 536; de type 4 (*hly*, *pap*) de la souche J96; de type 5 (*hly*, *cnf1*, *prs*) de la souche J96; ou de type 6 (*hly*, *pap*) de la souche CFT703 (Dozois et Curtiss, 1999). Mais cette terminologie, comme souvent, peut varier : Pai-2 = PaiII 536, Pai-4 = PaiI J96, Pai-5 = PaiII J96, Pai-6 = PaiI CFT703 (Hacker et Kaper, 2000).

Cette observation et l'absence d'asso-

ciation exclusive entre les différents gènes *pap/prs* montrent que ces groupes de gènes ont évolué à la fois verticalement par duplication et accumulation de mutations et horizontalement par échange de matériel génétique. Ces mécanismes d'évolution ont permis des variations dans la spécificité d'hôte et de tissu de ces fimbriae, la principale pression de sélection étant la présence ou non de récepteurs spécifiques chez l'espèce hôte et le tissu infecté (Stroemberg *et al.*, 1990; Marklund *et al.*, 1992).

L'expression des gènes *pap/prs* est sujette à des variations de phase en fonction de l'état de méthylation de sites spécifiques situés entre les gènes *pap/prsB* et *pap/prsI* via un régulateur global sous l'influence de conditions extérieures, dont la température (Blyn *et al.*, 1989; Di Rita et Mekalanos, 1989; Dorman et Bhriain, 1997; Harel et Martin, 1999).

Biogenèse (figure 1)

Le modèle d'assemblage des fimbriae est basé sur des données expérimentales concernant surtout les fimbriae de type I et P, obtenues lors d'études utilisant des mutants alléliques dans les différents gènes (Hultgren *et al.*, 1991; Garcia et Le Bouguéneq, 1996; Jones *et al.*, 1996; Dodson *et al.*, 1997). La biogenèse des fimbriae implique le transport dans le cytoplasme des différentes sous-unités et la traversée de la membrane cytoplasmique via le système de sécrétion *sec* ou de type II. Dans le périplasme, les différentes sous-unités forment un complexe avec les protéines chaperones, afin d'éviter leur auto-assemblage précoce. Les complexes migrent vers la protéine d'ancrage qui a été incorporée dans la membrane externe. L'assemblage des différentes composantes du fimbria suit un ordre précis qui repose sur l'affinité des protéines chaperones pour les différentes sous-unités et sur celle de la protéine d'ancrage pour les complexes chaperone/sous-unité. Cet ordre fait que la construction du fimbria sur sa protéine d'ancrage commence par l'extrémité distale et se termine par la base. L'extrémité distale se trouve en quelque sorte poussée progressivement vers le milieu extérieur par l'ajout des sous-unités sous la partie du fimbria déjà formée.

Mise en évidence

La production des fimbriae P peut être mise en évidence par des tests d'agglutination des globules rouges humains et animaux appropriés. Cependant, ces tests exigent une très grande standardisation, car les résultats dépendent de nombreux paramètres, tels que la concentration bactérienne, la température et le système de détection utilisé. Jusqu'à récemment, des billes de latex recouvertes des différents récepteurs étaient disponibles commercialement pour démontrer leur présence. L'utilisation d'immunsérums polyclonaux et d'anticorps monoclonaux permet aussi leur mise en évidence plus ou moins spécifique, par agglutination sur lames et par immunofluorescence (Dozois *et al.*, 1997).

Des sondes génétiques et des tests PCR peuvent aussi être utilisés, pour mettre en évidence des gènes particuliers, avec une spécificité de famille ou de variant (Le Bouguéneq *et al.*, 1992; Marklund *et al.*, 1992; Johanson *et al.*, 1993; Maiti *et al.*, 1993; Yamamoto *et al.*, 1995; Donnenberg et Welch, 1996; Dozois *et al.*, 1997; Mainil *et al.*, 1997; 1998; 1999). Les tests PCR multiplexes pour mettre en évidence les variants des gènes *papA/prsA* et *papG/prsG* sont particulièrement efficaces pour un typage rapide, fiable et complet (Marklund *et al.*, 1992; Johnson et Brown, 1996; Dozois *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 2000; Mainil *et al.*, 2001), mais nombre de souches animales possèdent des variants non typables génétiquement (Dozois *et al.*, 1997; Mainil *et al.*, 1997; Bertin *et al.*, 2000; Girardeau *et al.*, 2003). Il faut aussi se souvenir de l'existence possible de plusieurs groupes de gènes *pap/prs* dans une même cellule bactérienne et de celle de groupes tronqués de gènes *pap/prs* (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999). Les résultats des tests génétiques doivent donc être interprétés avec prudence.

Fimbriae S

De nombreuses souches d'*E. coli* isolées d'infections du tractus urinaire chez l'homme possèdent des propriétés d'agglutination d'érythrocytes n'appartenant pas au groupe P. Ces adhésines, initialement dénommées X, comprennent des fimbriae de la famille S et de la famille F17, et les

adhésines afimbriaires de la famille Afa. Les fimbriae de la famille S ont, comme récepteurs, différentes parties des oligosaccharides de type "Sialylgalactoside" (Johnson, 1991; 1997; Fairbrother et Ngeleka, 1994; Smyth *et al.*, 1994; Donnenberg et Welch, 1996; Jones *et al.*, 1996; Mac Laren, 1997).

Rôle pathogène et récepteurs

Les fimbriae S sont produits par 20 % des souches d'*E. coli* associées aux infections du tractus urinaire chez l'homme, mais ils sont plus fréquents sur des souches responsables de septicémies, de bactériémies et de méningites chez le jeune enfant. Contrairement aux fimbriae P, la proportion de souches bactériémiques produisant des fimbriae S varie peu en fonction du site d'entrée (20 % à 40 %). Des fimbriae S sont également produits par des souches d'*E. coli* responsables de diarrhées et de septicémies chez le porcelet et le veau.

Le rôle des fimbriae S dans des pathologies a surtout été étudié par rapport au tractus urinaire, soit sur cultures de cellules épithéliales rénales, soit en modèles animaux. En modèles animaux, ils sont exprimés *in vivo* dans le tractus urinaire (ce qui ne paraît pas toujours être le cas chez l'homme) et des mutants spontanés ont un pouvoir colonisateur 2000 fois moindre par rapport à la souche sauvage d'origine. De plus, les anticorps spécifiques sont protecteurs. Mais, à ce jour, aucune expérience n'a été faite avec des mutants alléliques (Marre *et al.*, 1986; Donnenberg et Welch, 1996).

Par rapport aux fimbriae P, la famille de fimbriae S contient peu de membres. Les variants décrits diffèrent par leur spécificité de récepteur et leur tropisme tissulaire (Donnenberg et Welch, 1996). Elle comprend :

- les fimbriae S proprement dits, dont deux variants ont été décrits, SfaI et SfaII, produits par des souches associées à des infections du tractus urinaire ou des organes internes. Leur récepteur est l'acide N-acétylneuramique-(α 2-3)-galactose-(β 1-3)-N-acétyl-D-galactosamine, ou NeuAc-(α 2-3)-Gal-(β 1-3)-GalNAc. L'entité NeuAc-(α 2-3)-Gal porte le nom de "Sialylgalactoside", d'où l'appellation de fimbriae S. Ce récepteur est présent sur l'ensemble des cellules du tractus urinaire et

sur les globules rouges humains et de certaines espèces animales ;

- les fimbriae F1C, ou pseudo-type 1, ainsi appelés car ils sont très proches des fimbriae de type 1, produits par des souches isolées du tractus urinaire humain. Contrairement aux fimbriae Sfa, leur rôle n'a jamais été étudié en modèle animal. Leur récepteur est N-acétyl-galactosamine-(β 1-4)-Galactose, ou GalNAc-(β 1-4)-Galb (Smyth *et al.*, 1994; Khan *et al.*, 2000). Ils sont présents sur certaines cellules du tractus urinaire et sur des cellules épithéliales buccales, mais pas sur les globules rouges, expliquant l'absence de propriétés d'hémagglutination par ces fimbriae ;
- les fimbriae F1C-like, mieux connu sous le nom F165-2, produits par des souches bovines et porcines responsables de diarrhées et de septicémies (Harel *et al.*, 1991; 1995; Fairbrother, 1993);
- les fimbriae "S/F1C-related", peu caractérisés et peu étudiés (Pawelzik *et al.*, 1988).

De plus, des souches invasives, intestinales et urinaires bovines, canines, félines et porcines produisent des fimbriae S-like qui n'ont pas toujours été complètement caractérisés, ou en possèdent les gènes (Harel *et al.*, 1991; Broes, 1993; Maiti *et al.*, 1993; Fairbrother et Ngeleka, 1994; Mainil *et al.*, 1998; 1999; 2001). De même, des souches invasives aviaires produisent des fimbriae ACI ("Avian *E. coli* I"), proches des fimbriae SfaII (Babai *et al.*, 1997; Stordeur *et al.*, 2002).

Architecture

La structure des fimbriae S ne diffère pas fondamentalement de celle des fimbriae P (figure 1). Ils forment un cylindre creux de 7 nm de diamètre, dont la structure repose sur la répétition d'une sous-unité majeure A (SfaA et FocA pour les fimbriae Sfa et F1C, respectivement) et qui est rattaché à la protéine d'ancrage présente dans la membrane externe (SfaF et FocD, respectivement), via une sous-unité mineure (SfaD et FocI, respectivement). Deux variants antigéniques de la protéine SfaA ont été décrits : SfaAI, produite par des souches associées aux infections du tractus urinaire, et SfaAII, produite par des souches responsables de bactériémies et de méningites chez les enfants nou-

veau-nés. Le seul variant antigénique décrit à ce jour pour les sous-unités majeures des fimbriae F1C et S/F1C, est le variant F1C-like ou F165-2 (Dubreuil et Fairbrother, 1992). La sous-unité majeure SfaA montre des homologies de séquence aux extrémités NH₂ et COOH avec les sous-unités majeures des fimbriae P, F1C et de type 1.

L'extrémité des fimbriae S se prolonge aussi par un appendice de 40 à 80 nm de long, formé de diverses sous-unités mineures : SfaG, SfaH et SfaS pour les fimbriae Sfa; FocG, FocH et peut-être d'autres non encore décrites pour les fimbriae F1C. Les protéines SfaS et FocG, qui coiffent l'extrémité de ces appendices, représentent les adhésines. Un anticorps monoclonal dirigé contre SfaS est capable d'inhiber l'hémagglutination provoquée par les fimbriae S.

Déterminisme génétique (figure 2)

Les fimbriae S sont codés par des gènes regroupés sur le chromosome bactérien en deux ou trois opérons (Hacker, 1990; Hacker *et al.*, 1993; Harel *et al.*, 1995) :

- *sfaI* (*Sialylgalactoside Fimbrial Adhesin I*) pour le fimbria SfaI de la souche uropathogène 536;
- *sfaII* (*Sialylgalactoside Fimbrial Adhesin II*) pour le fimbria SfaII de la souche IHE 3034 isolée de méningite;
- *foc* (*Fimbriae One C*) pour les fimbriae F1C des souches uropathogènes AD110 (ou AD111, C1212, KS71) et 20025;
- *sfr* (*S/F1C-Related*) pour le fimbria "S/F1C-related" de la souche BK568 isolée d'une hémoculture;
- *fot* (*Fimbriae One-hundred-sixty-five Two*) pour le fimbria F1C-like de la souche septicémique porcine d'origine fécale 4787.

Les groupes *sfa* et *foc* comprennent les gènes suivants (figure 2) :

- *sfaA/focA* qui codent pour la sous-unité majeure;
- *sfaS/focG* qui codent pour l'adhésine;
- *sfaF/focD* qui codent pour la protéine d'ancrage;
- *sfaG/sfaD/sfaH/focF/focH* qui codent pour les sous-unités mineures;
- *sfaE/focC* qui codent pour les protéines chaperones;
- *sfaB/sfaC* qui codent pour les fonc-

tions de régulation des autres gènes *sfa*, sans équivalent *foc* ;
- *focI* dont la fonction reste inconnue.

En règle générale, les groupes de gènes *sfa/foc/sfr* sont présents en une seule copie sur le chromosome et ne paraissent pas liés à des gènes codant pour d'autres facteurs potentiels de virulence. Certaines souches, cependant, renferment plusieurs copies de ces gènes, dont certaines peuvent être liées à d'autres déterminants potentiels de virulence sur un îlot de pathogénicité: PaiIII de la souche 536, par exemple (Hughes *et al.*, 1987; Hacker, 1990; Hacker et Kaper, 2000).

L'expression des gènes *sfa/foc/sfr* est soumise à des régulations similaires à celle des gènes *pap/prs* entraînant des variations de phase (Blyn *et al.*, 1989; Di Rita et Mekalanos, 1989; Dorman et Bhriain, 1997; Harel et Martin, 1999). De plus, les gènes de régulation *sfaB* et *sfaC* sont très proches des gènes de régulation *papB/prsB* et *papI/prsI* et des compléments en trans peuvent être obtenues *in vitro*. Il a aussi été observé que la perte du Pai porteur des gènes *pap/prs* peut entraîner la répression de l'expression des gènes *sfa/foc/sfr* (Morschhäuser *et al.*, 1994; Dozois et Curtiss, 1999). Comme une majorité des souches qui produisent des fimbriae S, ou en contiennent l'information génétique, produisent également des fimbriae P, il est très probable que des phénomènes de régulation croisée existent aussi *in vivo*.

Mise en évidence

Les fimbriae S peuvent être mis en évidence par leurs propriétés d'adhésion à des cellules eucaryotes épithéliales en culture : cellules rénales pour les fimbriae Sfa et F1C ou buccales pour les fimbriae F1C; et par les propriétés d'hémagglutination des fimbriae Sfa. Des anticorps permettent aussi leur mise en évidence par agglutination et immunofluorescence (Dozois *et al.*, 1997). Les immunosérums polyclonaux dirigés contre la sous-unité majeure des fimbriae Sfa montrent des réactions croisées avec les fimbriae F1C et S/F1C. Par contre, ceux dirigés contre les sous-unités majeures des fimbriae F1C ou S/F1C ne montrent pas de réactions croisées. Les réactions les plus spécifiques sont bien sûr obtenues par l'utilisation d'anticorps monoclonaux.

Génétiquement, des sondes et des tests PCR de famille existent (Harel *et al.*, 1991; Le Bouguéneq *et al.*, 1992; Maiti *et al.*, 1993; Donnenberg et Welch, 1996), ainsi que des tests PCR spécifiques des variants des gènes *sfaA*, *sfaS*, *focA* et *focG* (Johnson *et al.*, 2000).

Fimbriae F17

Parmi les adhésines X des souches uropathogènes humaines, se trouve l'adhésine G (Rhen *et al.*, 1986), un membre de la famille des fimbriae F17 (Martin *et al.*, 1997). Les fimbriae F17, qui ont, comme récepteurs, différentes parties de molécules contenant une entité "N-Acétyl-D-Glucosamine" terminale dans leur portion saccharidique, sont en fait bien mieux connus chez les animaux, plus particulièrement chez les ruminants (Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

Rôle pathogène et récepteurs

Les fimbriae F17 sont donc exprimés essentiellement par des souches d'*E. coli* isolées chez des ruminants, en association ou non avec des troubles cliniques intestinaux ou septicémiques, surtout chez les nouveau-nés, mais parfois aussi chez des animaux adultes. Les proportions de souches positives varient entre quelques % à près de 50%, en fonction des techniques de détection, des variants détectés, des troubles cliniques et de la géographie. Chez les adultes, jusqu'à 50% des souches isolées de cas de mammites peuvent aussi produire des fimbriae F17 (Le Bouguéneq et Bertin, 1999). Des gènes codant pour des fimbriae F17 sont présents dans des souches invasives aviaires (Stordeur *et al.*, 2002), ainsi que dans certaines souches canines, félines, humaines et porcines d'origine systémique et intestinale (Mainil *et al.*, 1998; 1999). Des fimbriae F17, mieux connus sous le nom de fimbriae G (Rhen *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1997), sont aussi produits par une faible proportion des souches associées à des infections du tractus urinaire chez l'homme.

La famille des fimbriae F17 comprend quatre variants antigéniques qui diffèrent aussi quant à la spécificité de récepteur, à l'association avec d'autres facteurs de virulence et à la production de troubles cliniques. Tous ces variants permettent l'adhé-

sion aux entérocytes bovins, ovins et humains ainsi qu'aux cellules épithéliales d'origine mammaire, avec cependant certaines variations phénotypiques. Les récepteurs des différents fimbriae F17 diffèrent très certainement, mais tous contiennent du N-Acétyl-D-Glucosamine (ou GlcNAc) (Bertin *et al.*, 1996a). Seul le récepteur du variant F17a a été caractérisé plus en détails : il s'agit du GlcNAc-(β 1-3)-Gal β 1. Ces récepteurs sont présents sur les globules rouges, les entérocytes et, probablement, les cellules épithéliales mammaires des ruminants, ainsi que sur les entérocytes et les cellules uroépithéliales humaines.

Les rôles des fimbriae F17 *in vivo* sont loin d'être connus. Le variant F17a (ou FY ou Att25) a été associé à des troubles diarrhéiques causés par des souches entérotoxigènes, productrices de l'entérotoxine thermostable STa, chez des veaux et agneaux nouveau-nés, par divers auteurs (Girardeau *et al.*, 1979; Pohl *et al.*, 1982; 1984; Contrepois *et al.*, 1985; Morris *et al.*, 1987; Lintermans *et al.*, 1988), mais des résultats contradictoires sur ces souches ont été publiés par la suite (Pohl *et al.*, 1987; Pohl et Mainil, 1995). La présence d'anticorps spécifiques dirigés contre les fimbriae F17a, à côté de ceux dirigés contre les autres adhésines, augmente cependant la protection conférée contre les quelques souches ETEC bovines qui produisent les adhésines F17a, F5 et F41 (Contrepois et Girardeau, 1985).

Les variants F17b (ou Vir ou F17-like) et F17c (ou 20K) sont présents essentiellement sur des souches productrices de la toxine CNF2 ("Cytotoxic Necrotising Factor type 2") et de l'adhésine CS31A (Smith, 1974; Oswald *et al.*, 1991; El Mazouari *et al.*, 1984; Bertin *et al.*, 1996a; 1996b; Mainil *et al.*, 2000). Ces souches sont associées à des troubles digestifs et septicémiques chez les ruminants (Oswald *et al.*, 1991; Bertin *et al.*, 1996a), mais le rôle véritable de ces fimbriae F17b et F17c dans la colonisation intestinale n'a jamais été étudié, pas plus que ceux des fimbriae F17d (ou Att111 ou F111) et G (identifié au variant F17c) (Bertels *et al.*, 1989; Bertin *et al.*, 1996b; Martin *et al.*, 1997). Parmi les souches aviaires, humaines et porcines le variant F17c est le plus répandu, suivi du F17a (Mainil *et al.*,

2000; Stordeur *et al.*, 2002). Il est probable que d'autres variants existent, car certaines souches sont négatives par les tests PCR pour les quatre gènes *f17A* (Bertin *et al.*, 1996b; Mainil *et al.*, 2000; Stordeur *et al.*, 2002).

Architecture

Les fimbriae F17 sont des cylindres étroits (3,4 nm de diamètre) et rigides. Leur structure est basée sur la répétition d'une sous-unité majeure, F17A, dont quatre variants antigéniques ont été décrits : F17Aa (ou FY ou Att25) (Girardeau *et al.*, 1979; Pohl *et al.*, 1982), F17Ab (ou Vir ou F17-like) (Smith, 1974; El Mazouari *et al.*, 1994), F17Ac (ou 20K ou G) (Rhen *et al.*, 1986; Bertin *et al.*, 1996a; Martin *et al.*, 1997) et F17Ad (ou Att111 ou F111) (Bertels *et al.*, 1989). La grande majorité des souches ne produit qu'un variant, mais certaines souches d'origine bovine peuvent produire deux variants antigéniques différents.

La sous-unité mineure qui représente l'adhésine, F17G, est encore incomplètement caractérisée sur le plan fonctionnel. Les adhésines F17G des quatre variants antigéniques des fimbriae F17 montre des différences de séquence dans la moitié NH2 terminale, alors que ces séquences sont identiques dans la moitié COOH terminale. Les protéines F17G des fimbriae F17a et F17d montrent une homologie très élevée entre elles, de même que celles des fimbriae F17b et F17c. Deux variants d'adhésines ont ainsi été décrits : F17GI des fimbriae F17a et F17d et F17GII des fimbriae F17b et F17c. Il est aussi possible que d'autres variants existent, car certaines souches sont négatives par les tests PCR pour les deux gènes *f17G* (Bertin *et al.*, 1996b; Stordeur *et al.*, 2002).

Si des délétions en phase dans la moitié "NH2 terminale" du gène qui code pour la sous-unité F17G entraînent l'abolition des propriétés d'adhésion des fimbriae F17 produits, le même genre de mutations dans la partie "COOH terminale" empêche la synthèse de fimbriae F17 structurellement corrects. Ces données suggèrent que les protéines F17G sont des molécules bifonctionnelles : la partie NH2 terminale est impliquée dans la propriété d'adhésion tandis que la partie COOH terminale intervient dans la structure du fimbriae. Il est dès lors

tout à fait possible que les protéines F17G soient présentes en plusieurs exemplaires, non seulement à l'extrémité du fimbriae, mais aussi à différents endroits de sa longueur, voire à la base pour renforcer la connection avec la protéine d'ancrage, F17C. En ce cas, les protéines F17G rempliraient aussi les fonctions des sous-unités mineures de structure des fimbriae P et S, qui sont absentes des fimbriae F17.

Les fimbriae F17 sont ancrés sur une protéine de membrane externe, F17C.

Déterminisme génétique (figure 2)

Les fimbriae F17 sont codés par les gènes suivants (Le Bouguéneq et Bertin, 1999) :

- *f17a* pour le fimbria F17a de la souche intestinale bovine 25KH09;
- *f17b* pour le fimbria F17b de la souche septicémique ovine S5;
- *f17c* et *gaf* (*N*-Acétyl-*D*-Glucosamine Adherent Fimbriae) pour les fimbriae F17c des souches septicémique bovine d'origine fécale 31A et uropathogène humaine IH11165;
- *f17d* pour le fimbria F17d de la souche intestinale bovine 111KH86.

Les gènes qui codent pour les fimbriae F17 sont au nombre de quatre (figure 2) :

- *f17a/gafA* qui codent pour la sous-unité majeure;
- *f17G/gafD* qui codent pour la sous-unité mineure/adhésine;
- *f17C/gaf?* qui codent pour la protéine d'ancrage;
- *f17D/gaf?* qui codent pour une protéine chaperone.

Aucun gène impliqué dans des fonctions de régulation de l'expression n'a été mis en évidence à ce jour. Les gènes des différents variants F17a, F17b et F17c peuvent se compléter en *trans* (El Mazouari *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1997).

La localisation des gènes *f17* soit sur le chromosome bactérien, soit sur un plasmide, est partiellement fonction du variant : les gènes *f17a* et *gaf* sont chromosomiques, les gènes *f17b* sont à localisation plasmidique essentiellement et les gènes *f17c* et *f17d* sont chromosomiques ou plasmidiques. Sur les plasmides, les gènes *f17b* et *f17c* sont associés avec ceux qui codent pour la toxine CNF2 (= plas-

me Vir) (Smith, 1974) et la toxine CDT-III ("*Cytolethal Distending Toxin type III*"), ainsi qu'éventuellement avec ceux codant pour la production d'aérobactine et/ou la résistance à l'activité bactéricide du complément (Morris *et al.*, 1982; Oswald *et al.*, 1991; El Mazouari *et al.*, 1994; Bertin *et al.*, 1996b; Pérès *et al.*, 1997; Mainil *et al.*, 2000). Dans la grande majorité des souches, un seul exemplaire des gènes *f17* est présent. Certaines souches bovines, cependant, peuvent renfermer deux groupes complets de gènes *f17* qui codent pour deux variants différents.

L'expression des gènes *f17* est par ailleurs dépendante de paramètres extérieurs, dont le plus connu est la température, puisque les fimbriae F17 ne sont pas produits lorsque la bactérie croît à 18°C (Harel et Martin, 1999; Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

Mise en évidence

Les fimbriae F17 peuvent être mis en évidence par leurs propriétés d'adhésion à des entérocytes d'origine bovine, ovine ou humaine, et par celles d'hémagglutination. Des immunsérums polyclonaux et des anticorps monoclonaux permettent aussi leur mise en évidence par agglutination ou immunofluorescence. Les immunsérums polyclonaux sont spécifiques des variants de la sous-unité majeure F17A, mais les réactions les plus spécifiques sont obtenues avec des anticorps monoclonaux.

Génétiquement, des sondes et des tests PCR de famille existent (Lintermans *et al.*, 1988; Oswald *et al.*, 1991; Bertin *et al.*, 1996b), ainsi que des tests PCR multiplexes pour les variants des gènes codant pour la sous-unité majeure F17A et pour la sous-unité mineure/adhésine F17G (Bertin *et al.*, 1996b).

Adhésines Afa

Depuis 1955, diverses propriétés d'hémagglutination résistantes au mannose, non déterminées par des structures fimbriaires (= groupe III), ont été décrites et baptisées de différents noms, en fonction de critères aussi arbitraires que ceux utilisés pour les adhésines de type fimbriaire (Duguid *et al.*, 1955; 1979; Hacker, 1990; Le Bouguéneq et Bertin, 1999). Ces adhésines sont aussi responsables de l'agglutination des érythrocytes

humains n'appartenant pas au groupe P (adhésine X). Il a été récemment montré que nombre d'entre elles font partie d'une famille génomique dénommée Afa (Labigne-Roussel *et al.*, 1984; Hacker, 1990; Nowicki *et al.*, 1990; Johnson, 1991; 1997; Smyth *et al.*, 1994; Donnenberg et Welch, 1996; Garcia et Le Bouguéneq, 1996; Jones *et al.*, 1996; Le Bouguéneq et Bertin, 1999). Outre les adhésines afimbriaires Afa proprement dites, cette famille regroupe des hémagglutinines afimbriaires (Dr, ou O75X, et M), des adhésines non fimbriaires (Nfa) et même des adhésines fibrillaires (F1845).

Rôle pathogène et récepteurs

Les adhésines Afa sont produites par des souches d'*E. coli* humaines associées à des infections du tractus urinaire (cystites, parfois pyélonéphrites) et/ou à des infections du tractus intestinal. Les nombreux membres de cette famille partagent différentes similitudes et identités génétiques, mais diffèrent par bien des aspects de structure, de spécificité de récepteur et de pathologie associée. Les adhésines Afa et F1845 sont produites par des souches associées à des infections du tractus urinaire (souches UPEC) et à des infections intestinales chez l'homme (souches DAEC) (tableau 1). Ces souches DAEC pourraient représenter jusqu'à 20% des causes de diarrhée chez les enfants dans les pays en voie de développement. Les adhésines Dr, M et Nfa sont produites par des souches exclusivement associées à des infections du tractus urinaire (souches UPEC). Le rôle de l'adhésine Dr a été prouvé dans un modèle sur souris chez lesquelles des mutants alléliques colonisent moins fortement et moins longtemps le tractus urinaire et ne provoquent aucune pyélonéphrite, au contraire de la souche sauvage. Chez les animaux, la présence de gènes qui codent pour des adhésines Afa-like n'a été que récemment rapportée dans des souches invasives et intestinales aviaires, bovines, canines félines et porcines (Mainil *et al.*, 1997; 1998; 1999; 2001; Stordeur *et al.*, 2002). Ces adhésines Afa-like appartiennent à un nouveau variant appelé Afa-VIII, qui peut aussi être produit par des souches humaines (Lalioui *et al.*, 1999; Gérardin *et al.*, 2000; Stordeur *et al.*, 2002).

Les adhésines Afa, Dr et F1845 reconnaissent des sites distincts de la molécule appelée "Decay Accelerating Factor" ou DAF, une glycoprotéine membranaire qui régule la cascade du complément et protège les cellules eucaryotes contre une action mal dirigée de ce dernier. Le DAF est présent sur de nombreuses cellules, mais sa densité varie en fonction du tissu, de la cellule et du groupe sanguin : les globules rouges du groupe sanguin Dr, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales urinaires et intestinales en sont particulièrement riches. Le DAF est aussi présent sur la surface des cellules HeLa et HEp-II en culture, donnant par là l'image typique de l'adhésion diffuse des souches DAEC qui produisent ces adhésines (Scaletsky *et al.*, 1984; Levine, 1987). Le récepteur de l'adhésine Afa-VIII est différent du DAF, mais pourrait être proche de celui de l'adhésine M (Lalioui *et al.*, 1999; Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

L'adhésine M reconnaît un récepteur différent, à savoir la glycophorine A^M qui fait partie du groupe sanguin M. Les adhésines Nfa reconnaissent aussi un récepteur différent, à savoir l'entité N-acétyl-D-glucosamine, comme les adhésines fimbriaires F17 (Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

Architecture

Les membres de la famille Afa diffèrent entre eux par leur structure : fibrillae courts pour F1845 et l'hémagglutinine Dr ou absence de structure distincte pour Afa. La structure des adhésines Nfa, qui forment une structure ressemblant à une capsule autour de la cellule bactérienne, doit encore être élucidée. Les adhésines Afa et Nfa peuvent être assimilées à des fimbriae tronqués, dont la sous-unité majeure aurait totalement disparu et dont certaines sous-unités mineures de l'extrémité se retrouvent au contact direct de la protéine d'ancrage fixée dans la membrane externe.

Les propriétés d'adhésion sont sous la dépendance de l'une de ces sous-unités mineures, appelée adhésine, dont le rôle a été prouvé *in vitro* et *in vivo* : AfaE, NfaA, DraA (hémagglutinine Dr), BmaE (hémagglutinine M), DaaE (fimbriae F1845). Dans le cas des fibrillae F1845 et, probablement, de l'hémagglutinine Dr, l'adhésine a une double fonction de sous-unité majeure/adhésine. Des expériences de

construction de chimères recombinantes ont montré que la structure de ces adhésines est commandée par la sous-unité adhésine, elle-même, quelle que soit l'identité des autres gènes. Lorsque plusieurs variants de l'adhésine existent dans l'un des groupes, ils ont reçus un chiffre romain : Afa-I à Afa-VIII, Nfa-I à Nfa-VI, Dr, Dr-II; ou arabe : Drb121, Drb122, Nfa-111, Nfa-116 (Le Bouguéneq et Bertin, 1999). Les adhésines présentent des pourcentages d'identité entre elles inférieurs à 50%. Une seule exception a été observée à ce jour : les adhésines BmaE et AfaE-VIII (97% d'identité) (Lalioui *et al.*, 1999; Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

La sous-unité adhésine se rattache à une protéine d'ancrage présente dans la membrane externe de la bactérie : AfaC, NfaC, DraD (hémagglutinine Dr), BmaC (hémagglutinine M), DaaC (fimbriae F1845). Sur cette protéine d'ancrage, qui présente de nombreuses similitudes avec celles des structures fimbriaires, se rattache une autre sous-unité mineure à fonction d'adhésine/invasine : AfaD, NfaB, DraC (hémagglutinine Dr), BmaD (hémagglutinine M), DaaD (fimbriae F1845). Le rôle de AfaD dans l'internalisation de la bactérie dans la cellule eucaryote, a été prouvé *in vitro* sur culture cellulaire, mais pas encore *in vivo*. L'homologie entre invasines est plus élevée qu'entre adhésines. Le rôle des autres protéines est encore spéculatif et est basé sur les homologies de séquences (Le Bouguéneq et Bertin, 1999).

Déterminisme génétique (figure 2)

A l'instar des adhésines fimbriaires, les gènes qui codent pour les adhésines afimbriaires ont reçu différents noms (Bilge *et al.*, 1989; Hacker, 1990; Le Bouguéneq et Bertin, 1999):

- *afa* (**A**Fimbrial Adhesin) pour les adhésines Afa;
- *nfa* (**N**on Fimbrial Adhesin) pour les adhésines Nfa;
- *dra* (**D**r Agglutinin) pour l'hémagglutinine Dr de la souche uropathogène IH11128;
- *daa* (**D**iffuse Adherence Adhesin) pour l'adhésine F1845 de la souche diarrhéogène C1845;
- *bma* (**B**lood group **M** Agglutinin) pour l'hémagglutinine M de la souche uropathogène IH11165.

De plus, chaque variant a reçu un chiffre arabe : *afa-1*, *afa-2*, *afa-3*, *afa-5*, *afa-7*, *afa-8* (souches uropathogènes humaines KS52, A11, A30 et AL851 et souches invasives bovines 239KH89 et 262KH89, respectivement) pour les adhésines Afa-I à Afa-VIII (l'adhésine Afa-IV a été identifiée à Afa-II), *nfa-1* (souche uropathogène humaine 827) à *nfa-6* pour les adhésines Nfa-I à Nfa-VI et *dra-2* pour l'hémagglutinine Dr-II (souche uropathogène humaine 7732). Ces groupes contiennent les quatre à six gènes suivants (figure 2) :

- les gènes qui codent pour l'adhésine (*afaE*, *nfaA*, *bmaE*) ou la sous-unité majeure à fonction d'adhésine (*draA*, *daaE*);
- les gènes qui codent pour la protéine d'ancrage (*afaC*, *nfaC*, *draD*, *daaC*, *bmaC*);
- les gènes qui codent pour l'invasine prouvée ou potentielle (*afaD*, *nfaB*, *draC*, *daaD*, *bmaD*);
- les gènes qui codent pour la protéine chaperone (*afaB*, *nfaE*, *draE*, *daaB*, *bmaB*);
- les gènes qui codent pour des fonctions de régulation (*afaA*, *afaF*, *nfaD*, *daaA*, *bmaA*);
- des gènes à fonction inconnue (*draB*, *daaF*, *afaG-7*).

Lorsque plusieurs variants d'adhésine existent, la nomenclature des gènes correspondants est la suivante : *afaE-1* à *afaE-8* pour l'adhésine des variants des gènes *afa*; *nfaA-1* à *nfaA-6* pour l'adhésine des variants des gènes *nfa*...

Quatre parmi ces gènes sont présents de manière constante dans l'ensemble des variants décrits à ce jour, même si la fonction n'a pas toujours été démontrée expérimentalement : le gène qui code pour une protéine chaperone assurant le transport des autres constituants de l'adhésine dans le cytoplasme et l'espace périplasmique ; le gène qui code pour la protéine d'ancrage ; le gène qui code pour l'invasine ; le gène qui code pour l'adhésine. Tous les membres de la famille Afa présentent des homologues élevés sur le plan de la séquence des gènes à hauteur de ceux qui codent pour la protéine chaperone, la protéine d'ancrage et, quoiqu'à un moindre niveau, l'invasine. Par contre, les gènes qui codent pour l'adhésine proprement dite diffèrent fortement entre eux et représentent la partie responsable de la spécificité de récepteur. Une seule exception à cette

règle a été récemment observée : les gènes *bmaE* et *afaE-8* (Lalioui *et al.*, 1999 ; Le Bouguenec et Bertin, 1999).

Normalement, une copie d'un de ces groupes est présente dans une souche. Certaines souches cependant hébergent une copie de deux groupes différents : *afa-2* et *afa-3*, par exemple. La plupart de ces gènes sont localisés sur le chromosome bactérien. Mais les gènes *afa-3*, *afa-5*, *afa-8* et *daa* peuvent avoir une localisation plasmidique, selon la souche (Mainil *et al.*, 1997 ; Le Bouguenec et Bertin, 1999 ; Lalioui *et al.*, 1999 ; Gérardin *et al.*, 2000). Sur le plasmide, les gènes *afa-3* sont entourés de séquence d'insertion (IS1) en répétition directe et la transposition des gènes *afa-3* sur le chromosome a été observée *in vitro*. Sur les plasmides, les gènes *afa-8* sont associés avec ceux qui codent pour la toxine CNF2 (Mainil *et al.*, 1997 ; Gérardin *et al.*, 2000) et, probablement, pour la toxine CDT-III, ainsi, peut-être, qu'avec ceux qui codent pour la production d'aérobactine et/ou la résistance à l'activité bactéricide du complément. Sur le chromosome, mais apparemment pas sur les plasmides, des souches bovines et humaines, ces gènes *afa-8* sont présents sur un îlot de pathogénicité (Lalioui et Le Bouguenec, 2001).

L'expression des gènes *daa* est soumise à une régulation globale dont le mécanisme est proche de ceux qui régulent l'expression des gènes *pap/prs* et *sfa/foc/sfr* (Harel et Martin, 1999). De plus, les gènes *afaA-3* et *afaF-3* qui codent pour les fonctions de régulation sont proches des gènes *pap/prsB* et *pap/prsI*. Mais aucune fonction croisée de régulation n'a été mise en évidence à ce jour. Il est cependant étonnant de constater que des gènes *pap/prs* coexistent fréquemment avec des gènes *sfa/foc* ou *afa*, alors que ceux-ci ne sont que rarement présents ensemble dans la même bactérie (Le Bouguenec et Bertin, 1999 ; Mainil *et al.*, 1999 ; 2001).

Biogenèse

La biogenèse des adhésines afimbriaires de la famille Afa est semblable à celle des adhésines fimbriaires, mais s'arrête plus rapidement. Elle implique aussi des interactions entre les sous-unités, une protéine chaperone et la protéine d'ancrage (Garcia et Le Bouguenec, 1996 ; Le Bouguenec et Bertin, 1999).

Mise en évidence

Les adhésines de la famille Afa peuvent être mis en évidence par leurs propriétés d'hémagglutination et d'adhésion diffuse sur cellules HEp-II et HeLa en culture (Scaletsky *et al.*, 1984 ; Levine, 1987).

Génétiquement, des sondes et des tests PCR de famille existent (Le Bouguenec *et al.*, 1992 ; Maiti *et al.*, 1993 ; Mainil *et al.*, 1997 ; 1998 ; 1999), ainsi que des tests PCR spécifiques des adhésines de certains membres de la famille (Le Bouguenec et Bertin, 1999 ; Lalioui *et al.*, 1999 ; Gérardin *et al.*, 2000).

REMERCIEMENTS

Les travaux réalisés sur les souches invasives ont bénéficié de l'appui financier de la Commission Européenne (Action à frais partagés FAIR3-CT96-1335) de 1997 à 1999 et de la DGVI du Ministère fédéral de l'Agriculture (Convention de Recherches 5936) en 2000/2001

SUMMARY

Virulence factors and specific properties of invasive *Escherichia coli*:

1) Adhesins and colonisation factors

Escherichia coli bacterial species is subdivided into several strains that are pathogenic for man and animals, on the basis of their specific properties and factors which are responsible for their pathogenic characters. The pathogenic strains are classically subdivided into strains with intestinal tropism (enterotoxigenic, enteropathogenic, enterohaemorrhagic, verotoxigenic and enteroinvasive) and with extraintestinal tropism (uropathogenic and invasive). Invasive strains cause septicaemia and/or bacteraemia with localisations in different internal organs (systemic infections). If specific virulence properties and factors of strains with intestinal tropism are quite well known and

described, those of strains with extraintestinal tropism are much less characterised, especially in animals.

The purpose of this serie of review articles is to present the current knowledge on specific properties and factors of extraintestinal strains: adhesins and

colonisation factors, transmuco-
sal transfer and survival in blood
and internal organs, toxicity. The
fourth manuscript will deal with
the invasive strains themselves,
focusing on the necrotoxicogenic
strains.

This first manuscript presents
the current knowledge on the

receptors, roles in pathogenesis,
structures, genetic determinism
and identification methods of
fimbrial adhesins of P (Pap, Prs),
S (Sfa, F1C, Sfr) and F17 (Vir,
Att25, FY, 20K, G, Att111) fami-
lies and of afimbrial adhesins of
Afa family (Afa, Nfa, F1845,
Bma, Dr...).

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAHAM S.N., JAISWAL S. Type-1 fimbriae of *Escherichia coli*. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli: mechanisms of virulence*. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 169-192.
- ANONYME Special feature : *Escherichia coli*, 1885-1895. *J. Hyg. Camb.*, 1985, **95**, 521.
- BABAI R., BLUM-OEHLER G., STERN B.E., HACKER J., RON E.Z. Virulence patterns from septicemic *Escherichia coli* O78 strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1997, **149**, 99-105.
- BANN J.G., DODSON K.W., FRIEDEN C., HULTGREN S.J. Adhesive pili of the chaperone-usher family. In : Donnenberg M.S. (Ed), *Escherichia coli: virulence mechanisms of a versatile pathogen*. Academic Press: London, 2002, 289-306.
- BERGAN T. Classification of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.*, 1984, **14**, 1-41.
- BERGTHORSSON U., OCHMAN H. Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.*, 1998, **15**, 6-16.
- BERTELS A., POHL P., SCHLICKER C., VAN DRIESSCHE E., CHARLIER G., DE GREVE H., LINTERMANS P. Isolation of the F111 fimbrial antigen on the surface of a bovine *Escherichia coli* isolated out of calf diarrhea: characterization and discussion of the need to adapt recent vaccines against neonatal calf diarrhea. *Vl. Diergeneesk. Tijdschr.*, 1989, **58**, 118-122.
- BERTIN Y., GIRARDEAU J.P., DARFEUILLE-MICHAUD A., CONTREPOIS M. Characterization of 20K, a new adhesin of septicemic and diarrhea-associated *Escherichia coli* strains, that belongs to a family of adhesins with N-acetyl-D-glucosamine recognition. *Infect. Immun.*, 1996a, **64**, 332-342.
- BERTIN Y., MARTIN C., OSWALD E., GIRARDEAU J.P. Rapid and specific detection of F17-related pilin and adhesin genes in diarrheic and septicemic *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1996b, **34**, 2921-2928.
- BERTIN A., GIRARDEAU J.P., DARFEUILLE-MICHAUD A. Epidemiological study of *pap* genes among diarrheagenic or septicemic *Escherichia coli* strains producing CS31A and F17 adhesins and characterization of Pap_{31A} fimbriae. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 1502-1509.
- BETTELHEIM K.A. Biochemical characteristics of *Escherichia coli*. In : Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International: Wallingford, 1994, 3-30.
- BETTELHEIM K.A. *Escherichia coli* in the normal flora of humans and animals. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli: mechanisms of virulence*, Cambridge University Press: Cambridge, 1997, 85-110.
- BEUTIN L. *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 285-298.
- BILGE S.S., CLAUSEN C.R., LAU W., MOSELEY S.L. Molecular characterization of a fimbrial adhesin, F1845, mediating diffuse adherence of diarrhea-associated *Escherichia coli* to HEp-II cells. *J. Bacteriol.*, 1989, **171**, 4281-4289.
- BLYN L.B., BRAATEN B.A., WHITE-ZIEGLER C.A., ROLFSON D.H., LOW D.A. Phase variation of pyelonephritis-associated pili in *Escherichia coli*: evidence for transcriptional regulation. *EMBO J.*, 1989, **8**, 613-620.
- BRENNER D.J. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I : *Enterobacteriaceae*. In : Krieg N.R., Holt J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1. Williams & Wilkins: Baltimore, 1984, 408-420.
- BRINTON C.C. The structure, function, synthesis and genetic control of bacterial pili and a molecular model for DNA and RNA transport in Gram negative bacteria. *Trans. NY Acad. Sci. (Series II)*, 1965, **27**, 1003-1054.
- BROES A. Les *Escherichia coli* pathogènes du chien et du chat. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 377-384.
- CONTREPOIS M., GIRARDEAU J.P. Additive protective effects of colostral antipili antibodies in calves experimentally infected with enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1985, **50**, 947-949.
- CONTREPOIS M., MARTEL J.L., BORDAS C., HAYERS F., MILLET A., RAMISSE J., SENDRAL R. Fréquence des pili FY et K99 parmi des souches d'*Escherichia coli* isolées de veaux diarrhéiques en France. *Ann. Rech. Vét.*, 1985, **16**, 25-28.
- COOKE E.M. *Escherichia coli*: an overview. *J. Hyg. Camb.*, 1985, **95**, 523-530.
- CORNELIS G. Les transposons et séquences d'insertion. *Bull. Inst. Pasteur*, 1982, **80**, 3-59.
- COUTURIER M., BEX F., BERGQUIST P.L., MAAS W.K. Identification and classification of bacterial plasmids. *Microbiol. Rev.*, 1988, **52**, 375-395.

- DE GRAAF F.K., GAASTRA W. Fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli*. In: Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 193-212.
- DE RYCKE J., MILON A., OSWALD E. Necrotoxic *Escherichia coli* (NTEC) : two emerging categories of human and animal pathogens. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 221-233.
- DHO-MOULIN M. Les *Escherichia coli* pathogènes des volailles. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 353-360.
- DHO-MOULIN M., FAIRBROTHER J.M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.*, 1999, **30**, 299-316.
- DI RITA V.J., MEKALANOS J.J. Genetic regulation of bacterial virulence. *Annu. Rev. Genet.*, 1989, **23**, 455-482.
- DODSON K.W., JACOB-DUBUISSON F., STRIKER R.T., HULTGREN S.J. Assembly of adhesive virulence associated pili in Gram-negative bacteria. In: Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press: Cambridge, 1997, 213-236.
- DONNENBERG M.S., WELCH R.A. Virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli*. In: Mobley H.L.T., Warren J.W. (Eds), *Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management*. ASM Press: Washington D.C., 1996, 135-174.
- DORMAN C.J., BHRIAIN N.N. Co-ordinate regulation of virulence gene expression in *Escherichia coli*. In: Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press: Cambridge, 1997, 373-400.
- DOZOIS C.M., CURTISS R. III. Pathogenic diversity of *Escherichia coli* and the emergence of " exotic " islands in the gene stream. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 157-180.
- DOZOIS C.M., CLEMENT S., DESAUTELS C., OSWALD E., FAIRBROTHER J.M. Expression of P, S, and F1C adhesins by cytotoxic necrotizing factor 1-producing *Escherichia coli* from septicemic and diarrheic piglets. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1997, **152**, 307-312.
- DUBREUIL J.D., FAIRBROTHER J.M. Biochemical and serological characterization of *Escherichia coli* fimbrial antigen F1652. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1992, **95**, 219-224.
- DUGUID J.P., SMITH I.W., DEMPSTER G., EDMUNDS P.N. Non-flagellar filamentous appendages " Fimbriae " and haemagglutinating activity in *Bacterium coli*. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1955, **90**, 335-348.
- DUGUID J.P., CLEGG S., WILSON M.I. The fimbrial and non-fimbrial haemagglutinins of *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, 1979, **12**, 213-227.
- EL MAZOUARI K., OSWALD E., HERNALSTEENS J.P., LINTERMANS P., DE GREVE H. F17-like fimbriae from an invasive *Escherichia coli* strain producing CNF2. *Infect. Immun.*, 1994, **62**, 2633-2638.
- ESCHERICH T. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. *Fortschr. Med.*, 1885, **3**, 515-522.
- FAIRBROTHER J.M. Les colibacilloses du porc. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 369-375.
- FAIRBROTHER J.M., NGELEKA M. Extraintestinal *Escherichia coli* infection in pigs. In: Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International : Wallingford, 1994, 221-236.
- FALKOW S. Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Rev. Infect. Dis.*, 1988, **10**, S274-S276.
- FARMER J.J. III, DAVIS B.R., HICKMAN-BRENNER F.W., McWORTER A., HUNTLEY-CARTER G.P., ASBURY M.A., RIDDLE C., WATHE-GRADY H.G., ELIAS C., FANNING G.R., STEIGERWALT A.G., O'HARA C.M., MORRIS G.K., SMITH P.B., BRENNER D.J. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 1985, **21**, 46-76.
- GARCIA M.I., LE BOUGUENEC C. Role of adhesion in pathogenicity of human uropathogenic and diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *Bull. Inst. Pasteur*, 1996, **94**, 201-236.
- GERARDIN J., LALIOUI L., JACQUEMIN E., LE BOUGUENEC C., MAINIL J. The *afa*-related gene cluster in necrotoxic and other *Escherichia coli* from animals belongs to the *afa-8* variant. *Vet. Microbiol.*, 2000, **76**, 175-184.
- GIRARDEAU J.P., DUBOURGUIER H.C., CONTREPOIS M. Attachement des *Escherichia coli* entéropathogènes à la muqueuse intestinale. In: Espinasse J. (Ed.), *Gastro-entérites néonatales du veau* (Proceedings). Conférence Annuelle Société Française Buiatrie, Vichy, 1979, 53-66.
- GIRARDEAU J.P., LALIOUI L., OU SAID A.M., DE CHAMPS C., LE BOUGUENEC C. Extended virulence genotype of pathogenic *Escherichia coli* isolates carrying the *afa-8* operon : Evidence of similarities between isolates from humans and animals with extraintestinal infections. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 218-226.
- GIRON J.A., SUK YUE HO A., SCOOLNIK G.K. An inducible bundle forming pilus of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Science*, 1991, **254**, 710-713.
- HACKER J. Genetic determinants coding for fimbriae and adhesins of extraintestinal *Escherichia coli*. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 1990, **151**, 1-27.
- HACKER J., KAPER J.B. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2000, **54**, 641-679.
- HACKER J., KESTLER H., HOSCHUTZKY H., JANN K., LOTTSPREICH F., KORHONEN T.K. Cloning and characterization of the S fimbrial adhesin II complex of an *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 544-550.
- HAREL J., MARTIN C. Virulence gene regulation in pathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 131-156.
- HAREL J., DAIGLE F., MAITI S., DESEUTELS C., LABIGNE A., FAIRBROTHER J.M. Occurrence of *pap*, *sfa*-, and *afa*-related sequences among F165-positive *Escherichia coli* from diseased animals. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1991, **82**, 177-182.
- HAREL J., FORGET C., SAINT-AMAND J., DAIGLE F., DUBREUIL D., JACQUES M., FAIRBROTHER J.M. Molecular cloning of a determinant coding for fimbrial antigen F165-1, a Prs-like fimbrial antigen from porcine septicaemic *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.*, 1992, **138**, 1495-1502.
- HAREL J., JACQUES M., FAIRBROTHER J.M., BOSSE M., FORGET C. Cloning of determinants encoding F165-2 fimbriae from septicaemic *Escherichia coli* confirms their identity as F1C fimbriae. *Microbiology*, 1995, **141**, 221-228.

- HOLLAND R.E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1990, **3**, 345-375.
- HUGHES C., HACKER J., DUVAL H., GOEBAL W. Chromosomal deletions and rearrangements cause coordinate loss of hemolysis, fimbriation, and serum resistance in a uropathogenic strain of *Escherichia coli*. *Microb. Pathog.*, 1987, **2**, 227-230.
- HULTGREN S.J., NORMAK S., ABRAHAM S.N. Chaperone-assisted assembly and molecular architecture of adhesive pili. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1991, **45**, 383-415.
- JENSEN C.O. Ueber die Kälberruhr und deren Aetiologie. *Mh. Tierheilk.*, 1893, **4**, 97-124.
- JOHANSON I.M., PLOS K., MARKLUND B.I., SVANBORG C. *pap*, *papG* and *prsG* sequences in *Escherichia coli* from the fecal flora and the urinary tract. *Microb. Pathog.*, 1993, **15**, 121-129.
- JOHNSON J.R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991, **4**, 80-128.
- JOHNSON J.R. Urinary tract infection. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 495-549.
- JOHNSON J.R., BROWN J.I. A novel multiply primed polymerase chain reaction assay for the identification of variant *papG* genes encoding the Gal-(α 1-4)-Gal-binding Pap G adhesins of *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, 1996, **173**, 920-926.
- JOHNSON J.R., O'BRYAN T.T., LOW D.A., LING G., DELAVARI P., FASCHING C., RUSSO T.A., CARLINO U., STELLA L. Evidence of commonality between canine and human extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains that express *papG* allele III. *Infect. Immun.*, 2000, **68**, 3327-3336.
- JONES C.H., DODSON K., HULTGREN S.C. Structure, function and assembly of adherence P pili. In : Mobley H.L.T., Warren J.W. (Eds), *Urinary tract infections : molecular pathogenesis and clinical management*. ASM Press : Washington D.C., 1996, 175-220.
- KAECKENBEECK A. Le diagnostic des souches pathogènes d'*Escherichia coli* : petites et grande histoires. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 337-340.
- KAUFFMANN F. The serology of the coli group. *J. Immunol.*, 1947, **57**, 71-100.
- KHAN A.S., KNIEP B., OELSCHLAEGER T.A., VAN DIE I., KORHONEN T., HACKER J. Receptor structure for F1C fimbriae of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 2000, **68**, 3541-3547.
- KRAUSE R.M. Microbes and emerging infections : the compulsion to become something new. *ASM News*, 2001, **67**, 15-20.
- LABIGNE-ROUSSEL A., LARK D., SCHOOLNIK G., FALKOW S. Cloning and expression of an afimbrial adhesin (AFA-I) responsible for P blood group independent, mannose-resistant haemagglutination from a pyelonephritic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.*, 1984, **46**, 251-259.
- LALIOUI L., LE BOUGUENEC C. *afa-8* gene cluster is carried by a pathogenicity island inserted into the tRNAPhe of human and bovine pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.*, 2001, **69**, 937-948.
- LALIOUI L., JOUVE M., GOUNON P., LE BOUGUENEC C. Molecular cloning and characterization of the *afa-7* and *afa-8* gene clusters encoding afimbrial adhesins in *Escherichia coli* strains associated with diarrhea or septicemia in calves. *Infect. Immun.*, 1999, **67**, 5048-5059.
- LARUELLE L. Etude bactériologique sur les péritonites par perforation. *Cellule*, 1889, **5**, 61-122.
- LAW D. Adhesion and its role in the virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1994, **7**, 152-173.
- LE BOUGUENEC C., BERTIN Y. AFA and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 317-342.
- LE BOUGUENEC C., ARCHAMBAUD M., LABIGNE A. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1992, **30**, 1189-1193.
- LEVINE M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohaemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, 1987, **155**, 377-389.
- LINTERMANS P., POHL P., DELVECK F., BERTELS A., SCHLICKER C., VANDEKERCKHOVE J., VAN DAMME J., VAN MONTAGU M., DE GREVE H. Isolation and nucleotide sequence of the F17-A gene encoding the structural protein of the F17 fimbriae in bovine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1988, **56**, 1475-1784.
- LJOR H. Classification of *Escherichia coli*. In : Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International : Wallingford, 1994, 31-72.
- MAC LAREN D.M. Soft tissue infection and septicaemia. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 469-494.
- MAINIL J. Les colibacillooses dans l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 343-350.
- MAINIL J. Shiga/Verocytotoxins and Shiga/Verotoxigenic *Escherichia coli* in animals. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 235-257.
- MAINIL J. Le point des connaissances sur les entérites à *Escherichia coli* chez le veau. *Ann. Méd. Vét.*, 2000, **144**, 121-136.
- MAINIL J., JACQUEMIN E., HERAULT F., OSWALD E. Presence of *pap*-, *sfa*- and *afa*-related sequences in necrototoxic *Escherichia coli* isolates from cattle : evidence for new variants of the Afa family. *Vet. Microbiol.*, 1997, **61**, 193-199.
- MAINIL J., BEZ S., JACQUEMIN E., KAECKENBEECK A. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* chez les chiens et les chats : I) Détection des souches entérotoxigènes (ETEC), entérotoxigènes (EPEC), vérotoxigènes (VTEC), entérohémorragiques (EHEC) et nécrotoxigènes (NTEC). *Ann. Méd. Vét.*, 1998, **142**, 39-46.
- MAINIL J., JACQUEMIN E., POHL P., FAIRBROTHER J.M., ANSUINI A., LE BOUGUENEC C., BALL H.J., DE RYCKE J., OSWALD E. Comparison of necrototoxic

- Escherichia coli* isolates from farm animals and from humans. *Vet. Microbiol.*, 1999, **70**, 123-135.
- MAINIL J., GERARDIN J., JACQUEMIN E. Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesin-encoding (*f17A* and *f17G*) gene variants in necrotogenic *Escherichia coli* isolates from cattle, pigs and humans. *Vet. Microbiol.*, 2000, **73**, 327-335.
- MAINIL J., WILBAUX M., JACQUEMIN E., OSWALD E., IMBERECHTS H., VAN BOST S. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* chez les chiens et les chats : III) Données bactériologiques et cliniques sur les souches nécrotoxigènes et sur celles positives pour des adhésines. *Ann. Méd. Vét.*, 2001, **145**, 343-354.
- MAITI S.N., HAREL J., FAIRBROTHER J.M. Structure and copy numbers analyses of *pap*-, *sfa*-, and *afa*-related gene clusters in F165-positive bovine and porcine *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 2453-2461.
- MARKLUND B.I., TENNENT J.M., GARCIA E., HAMERS A., BAGA M., LINDBERG F., GAASTRA W., NORMAK S. Horizontal transfer of the *Escherichia coli* *pap* and *prs* pili operons as a mechanism for the development of tissue-specific adhesive properties. *Mol. Microbiol.*, 1992, **6**, 2225-2242.
- MARRE R., HACKER J., WENKEL W., GOEBEL W. Contribution of cloned virulence factors of *Escherichia coli* strains to nephropathogenicity in an experimental rat pyelonephritis model. *Infect. Immun.*, 1986, **54**, 761-767.
- MARTIN C., ROUSSET E., DE GREVE H. Human uropathogenic and bovine septicaemic *Escherichia coli* strains carry an identical F17-related adhesin. *Res. Microbiol.*, 1997, **148**, 55-64.
- MILON A., OSWALD E., DE RYCKE J. Rabbit EPEC: a model for the study of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 203-220.
- MOBLEY H.L.T., JARVIS K.G., ELWOOD J.P., WHITTLE D.I., LOCKATELL C.V., RUSSELL R.G., JOHNSON D.E., DONNENBERG M.S., WARREN J.W. Isogenic P-fimbrial deletion mutants of pyelonephritogenic *Escherichia coli*: the role of β -Gal(1-4) β -Gal binding in virulence of a wild-type strain. *Mol. Microbiol.*, 1993, **10**, 143-155.
- MORRIS J.A., THORNS C.J., SCOTT A.C., SOJKA W.J. Adhesive properties associated with the Vir plasmid: a transmissible pathogenic characteristics associated with strains of invasive *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.*, 1982, **128**, 2097-2103.
- MORRIS J.A., CHANTER N., SHERWOOD D. Occurrence and properties of FY(Att25)+ *Escherichia coli* associated with diarrhoea in calves. *Vet. Rec.*, 1987, **121**, 189-191.
- MORSCHHAUSER J., VETTER V., EMODY L., HACKER J. Adhesin regulatory genes within large, unstable, DNA regions of pathogenic *Escherichia coli*: cross-talk between different adhesin gene clusters. *Mol. Microbiol.*, 1994, **11**, 555-566.
- NAGY B., FEKETE P.Zs. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (EPEC) in farm animals. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 259-284.
- NATARO J.P., DENY Y., MANERVAL D.R., GERMAN A.L., MARTIN W.C., LEVINE M.M. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Escherichia coli* mediate adherence to HEp-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes. *Infect. Immun.*, 1992, **60**, 2297-2304.
- NATARO J.P., KAPER J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, **11**, 142-201.
- NETER E. Enteritis due to enteropathogenic *Escherichia coli*. *Am. J. Dig. Dis.*, 1965, **10**, 883-886.
- NGELEKA M., JACQUES M., MARTINEAU-DAUZE B., DAIGLE F., HAREL J., FAIRBROTHER J.M. Pathogenicity of an *Escherichia coli* O155:K'V165' mutant negative for F165-1 fimbriae in septicemia of gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 836-843.
- NOWICKI B., LABIGNE A., MOSELEY S., HULL R., HULL S., MOULDS J. The Dr haemagglutinin, afimbrial adhesins AFA-I and AFA-III, and F1845 fimbriae of uropathogenic and diarrhea-associated *Escherichia coli* belong to a family of hemagglutinins with Dr receptor recognition. *Infect. Immun.*, 1990, **58**, 279-281.
- OFEK I., DOYLE R.J. Bacterial adhesion to cells and tissues. Chapman & Hall: New-York, 1993, 240.
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE Les diarrhées à *Escherichia coli*. *Bull. OMS*, 1980, **58**, 813-847.
- ORSKOV F. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I: *Enterobacteriaceae*. Genus I: *Escherichia coli*. In: Krieg N.R., Holt J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1. Williams & Wilkins: Baltimore, 1984, 420-423.
- ORSKOV F., ORSKOV I. Serotyping of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.*, 1984, **14**, 43-112.
- ORSKOV F., ORSKOV I. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can. J. Microbiol.*, 1992, **38**, 699-704.
- ORSKOV I., ORSKOV F. Serologic classification of fimbriae. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 1990, **151**, 71-90.
- OSWALD E., DE RYCKE J., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K., MAINIL J., DAUBE G., POHL P. Virulence factors associated with cytotoxic necrotizing factor type 2 in bovine diarrheic and septicemic strains of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, **29**, 2522-2527.
- OTTOW J.C.G. Ecology, physiology and genetics of fimbriae and pili. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1975, **29**, 79-108.
- PAWELZIK M., HEESEMANN J., HACKER H., OFFERKUCH W. Cloning and characterization of a new type of fimbriae (S/F1C-related fimbria) expressed by an *Escherichia coli* O75:K1:H7 blood culture isolate. *Infect. Immun.*, 1988, **56**, 2918-2924.
- PEETERS J.E. *Escherichia coli* infections in rabbits, cats, dogs, goats and horses. In: Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International: Wallingford, 1994, 261-284.
- PERES S.Y., MARCHES O., DAIGLE F., NOUGAYREDE J.P., HERAULT F., TASCIA C., DE RYCKE J., OSWALD E. A new cytolethal distending toxin (CDT) from *Escherichia coli* producing CNF2 blocks HeLa cell division in G2/M phase. *Mol. Microbiol.*, 1997, **24**, 1095-1107.
- POHL P. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 325-333.

- POHL P., MAINIL J. F17-positive *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1995, **137**, 623-624.
- POHL P., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K., SCHOTTE M. Colibacilles entérotoxigènes de veau possédant un antigène d'attachement différent de l'antigène K99. *Ann. Méd. Vét.*, 1982, **126**, 569-571.
- POHL P., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K. Fréquence des adhésines K99 et Att25 chez les *Escherichia coli* du veau. *Ann. Méd. Vét.*, 1984, **128**, 555-558.
- POHL P., LINTERMANS P., MAINIL J., KAECKEN-BEECK A., BERTELS A. Etude des phénotypes et des facteurs de virulence des *Escherichia coli* Att25. *Ann. Méd. Vét.*, 1987, **131**, 429-439.
- RHEN M., KLEMM P., KORHONEN T.K. Identification of two new hemagglutinins of *Escherichia coli*, N-Acetyl-D-Glucosamine-specific fimbriae and a blood group M-specific agglutinin, by cloning the corresponding genes in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.*, 1986, **168**, 1234-1242.
- ROBERTS J.A., MARKLUND B.I., ILVER D., KAACK M.B., BASKIN G., LOUIS M., MOLLBY R., WINBERG J., NORMAK S. The Gal α (1-4)Gal-specific tip adhesin of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, **91**, 11889-11893.
- ROWE B., GROSS R.J. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I : *Enterobacteriaceae*. Genus II : *Shigella*. In : Krieg N.R., Holt J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1. Williams & Wilkins : Baltimore, 1984, 423-427.
- SALYERS A.A., WHITT D.D. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. ASM Press : Washington, D.C., 1994, 36.
- SAUNDERS J.R. Bacterial plasmids and their association with virulence. In : Duffy G., Garvey P., Coia J., Wasteson Y., Mc Dowell D.A. (Eds), *Verocytotoxigenic Escherichia coli* in Europe. 3. Pathogenicity and Virulence (Proceedings). Concerted Action CT98-3935, The National Food Centre : Dublin, 2000, 118-125.
- SCALETSKY I.C.A., SILVA M.L.M., TRABULSI L.R. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect. Immun.*, 1984, **45**, 534-536.
- SMITH H.W. A search for transmissible pathogenic characters in invasive strains of *Escherichia coli* : the discovery of a plasmid-controlled toxin and a plasmid-controlled lethal character closely associated, or identical, with Colicin V. *J. Gen. Microbiol.*, 1974, **83**, 95-111.
- SMYTH C.J., MARRON M., SMITH S.G.J. Fimbriae of *Escherichia coli*. In : Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International : Wallingford, 1994, 399-435.
- SNYDER L., CHAMPNESS W. Molecular Genetics of Bacteria. Chapter 4 : Plasmids. ASM Press : Washington D.C., 1997a, 105-128.
- SNYDER L., CHAMPNESS W. Molecular Genetics of Bacteria. Chapter 7 : Bacteriophages. ASM Press : Washington D.C., 1997b, 161-193.
- SNYDER L., CHAMPNESS W. Molecular Genetics of Bacteria. Chapter 8 : Transposition and non-homologous recombination. ASM Press : Washington D.C., 1997c, 195-214.
- SOJKA W.J. *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. Part I : General characteristics and biochemical behaviour of *Escherichia coli*. Commonwealth Agricultural Bureaux : Farnham Royal, 1965, 1-63.
- STARCIC M. JOHNSON J.R., STELL A.L., VEN DER GOOT J., HENDRICKS H.G., VAN VORSTENBOSCH C., VAN DIJK L., GAASTRA W. Haemolytic *Escherichia coli* isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxicogenic strains. *Vet. Microbiol.*, 2002, **85**, 361-375.
- STORDEUR P., MAINIL J. Les colibacilloses aviaires. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **146**, 11-18.
- STORDEUR P., MARLIER D., BLANCO J., OSWALD E., BIET F., DHO-MOULIN M., MAINIL J. Examination of *Escherichia coli* from poultry for selected adhesin genes important in disease caused by mammalian pathogenic *E. coli*. *Vet. Microbiol.*, 2002, **84**, 231-241.
- STROEMBERG N., MARKLUND B.I., LUND B., ILUER D., HAMERS A., GAASTRA W., KARLSSON K.A., NORMARK S. Host-specificity of uropathogenic *Escherichia coli* depends on differences in binding specificity to Gal alpha 1-4Gal-containing receptors. *EMBO J.*, 1990, **9**, 2001-2010.
- SUSSMAN M. *Escherichia coli* and human disease. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 3-48.
- TOTH I. Phages and their role in virulence of bacteria. In : Duffy G., Garvey P., Coia J., Wasteson Y., Mc Dowell D.A. (Eds), *Verocytotoxigenic Escherichia coli* in Europe. 3. Pathogenicity and Virulence (Proceedings). Concerted Action CT98-3935, The National Food Centre : Dublin, 2000, 1-10.
- WRAY C., WOODWARD M.J. *Escherichia coli* infections in farm animals. In : Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli* : mechanisms of virulence. Cambridge University Press : Cambridge, 1997, 49-84.
- YAMAMOTO S., TERAI A., YURI K., KURAZONO H., TAKEDA Y., YOSHIDA O. Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 1995, **12**, 85-90.