

# BACTÉRIOLOGIE

## Caractérisation de souches d'Escherichia coli isolées chez l'homme et dans le milieu marin.

B. Bouhaddioui (1), R. Ben Aissa (2) & A. Boudabous (1)

(1) Laboratoire de microbiologie, Faculté des sciences de Tunis, Campus universitaire, 1060, Tunis, Tunisie.

(2) Laboratoire de contrôle des eaux et des denrées alimentaires, Centre national des salmonelles, shigelles et vibrios, Institut Pasteur de Tunis, 13 Place Pasteur, 1002 Le Belvédère, Tunis, Tunisie.

Manuscrit n° 1922. "Bactériologie". Accepté le 15 juin 1998.

**Summary:** Characterization of Escherichia coli Isolated in Man and Seafood.

The collection of 100 Escherichia coli strains isolated in clinical samples (30), healthy carriers (30) and seafood (40), was characterized by conventional tests on API 20 E gallery and on specific reactive media. These strains were examined by full biotyping with 10 tests, serotyped using 12 monovalent sera and tested with 11 antibiotics. Six persons harboured higher percentages of resistant E. coli strains than seafood. Primary and secondary biotypes based on the use of four primary tests and six secondary tests were prospected. The most frequently encountered primary biotypes were: biotype 1 (42%), 11 (16%) and 9 (12%). These biotypes belonged to 32 secondary biotypes and 43 complete biotypes. The pathogenic serotypes isolated during this survey were O126B16 (3%), O26B6 (2%), O119B14 (2%), O86B7 (2%), O111B4 (2%), O55B5 (1%), O114K90 (1%) and O128B12 (1%). Two strains of E. coli were enteroinvasive by the test of SERENY. Results suggested that these typing methods may be used for discriminating strains of E. coli.

**Résumé :**

Une collection de 100 souches d'Escherichia coli isolées chez l'homme malade (30), porteurs sains (30) et chez les clovisses (40), a été caractérisée par 20 tests métaboliques et biochimiques, sur gallerie API 20E et sur milieux réactionnels spécifiques. Cette confirmation a été aussi complétée par une étude biotypique, sérologique et par une analyse de la résistance aux antibiotiques. Les souches isolées chez les malades présentent le nombre de résistances le plus élevé : résistance à la tétracycline, colistine et ticarcilline. Les souches isolées des clovisses sont sensibles à la presque totalité des antibiotiques testés. La biotypie primaire et secondaire, basée sur l'utilisation de quatre tests primaires et six tests secondaires, montre que les biotypes primaires les plus fréquents sont : le biotype 1 (42 %), 11 (16 %) et 9 (12 %). Ces biotypes se différencient en 32 biotypes secondaires et 43 biotypes complets. Les sérotypes pathogènes isolés lors de cette étude sont O126B16 (3 %), O26B6 (2 %), O119B14 (2 %), O86B7 (2 %), O111B4 (2 %), O55B5 (1 %), O114K90 (1 %), O128B12 (1 %). Ces sérotypes ont été isolés chez l'homme malade ou porteur sain et les clovisses. Deux souches d'E. coli sont entéroinvasives selon le test de SERENY. Ces résultats permettent d'envisager la possibilité de transmission des E. coli pathogènes entre porteur asymptomatique, homme malade et milieu environnemental.

**Key-words:** E.coli - Serotype - Biotype - Antibiotic resistance - Seafood - Man - Test - Resistance - Transmission - Hospital - Environment - Tunis - Tunisia - Africa

**Mots-clés :** E.coli - Sérotypie - Biotypie et antibiotypie - Clovisse - Homme - Test - Résistance - Transmission - Milieu hospitalier - Environnement - Tunis - Tunisie - Afrique

## Introduction

*Escherichia coli* demeure un indicateur des contaminations entériques. Cette bactérie est fréquente dans les eaux douces, marines et saumâtres et ses variants toxigènes sont responsables d'infections fréquentes chez l'enfant. Les diarrhées aiguës infectieuses sont considérées comme un important problème de santé publique à cause de leur fréquence et du taux élevé de mortalité infantile qui leur est imputable. Parmi les agents bactériens des diarrhées, les *Escherichia coli* entéropathogènes (ECEP) et entérotoxigènes (ECET) jouent un rôle prépondérant. Ce sont les *E. coli* entéroinvasives qui sont responsables de gastro-entérites infantiles (12). Le but de cette étude est de caractériser les souches d'*E. coli* isolées de patients hospitalisés, de porteurs sains et de clovisses par différentes méthodes de typage et de déterminer la fréquence des *E. coli* entéropathogènes dans les clovisses pour évaluer le risque de leur transmission à l'homme.

## Matériel et méthodes

### Origine des prélèvements

Soixante échantillons de selles, prélevés pour coproculture et provenant des services d'hygiène de la région de Tunis pour dépister des porteurs asymptomatiques adultes (30 sujets) et de l'hôpital d'enfants de Tunis (selles diarrhéiques de 30 enfants de moins de 10 ans), ont été analysés au laboratoire de contrôle des eaux et des denrées alimentaires, centre des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio cholerae* de l'Institut Pasteur de Tunis. De plus, 58 échantillons de clovisses ont été étudiés, dont 33 provenaient d'une station d'aquaculture (lac Ichkel) et 25 échantillons de l'Institut vétérinaire de Tunis.

### Identification

A partir des prélèvements de selles et de clovisses, l'isolement de souches d'*E. coli* a été effectué respectivement sur milieu

Tableau I.

Répartition des sérotypes dans les différents échantillons.  
Distribution of serotypes in different samples.

échantillons	nombre de souches	sérotypes
clovisées	2	O126B16
	1	O86B7
	1	O55B5
	1	O111B4
	1	O128B12
porteurs sains	2	O26B6
	1	O126B16
	1	O114K90
	1	O111B4
malades	2	O119B4
	1	O86B7
	1	O125B15

gélifié de DRIGALSKI et sur gélose au désoxycholate de lactose, à raison de cinq colonies par échantillon (1). La confirmation des souches d'*E. coli* isolées a été réalisée à l'aide de 20 tests métaboliques et biochimiques, sur galerie API 20E. Cette identification biochimique a été complétée par la sérotypie à l'aide de sérums nonavalents, trivalents et monovalents de Sanofi Diagnostics Pasteur pour la recherche des sérogroupes entéro-pathogènes.

#### *E. coli* entéro-pathogène (ECEP)

Les colonies suspectes d'ECEP ont été identifiées à l'aide de 12 sérums anti-*E. coli* monospécifiques, selon la méthode décrite par LE MINOR (11).

#### *E. coli* entéro-invasif (ECEI)

La recherche a été orientée par le test de SÉRÉNY ou kérato-conjonctivite du cobaye (2). Ce test a été effectué sur les 100 souches d'*E. coli* isolées.

#### *E. coli* entéro-toxinogène (ECET)

Deux déterminants de pathogénicité sont en cause chez les *E. coli* entéro-toxinogènes : les entérotoxines et les facteurs d'adhésion (6). Dans la présente étude, la recherche d'hémagglutinine (HA) a été faite sur lame en présence ou en absence de mannose avec des hématies humaines de groupe A. L'hémagglutination apparaît à température ambiante et à -4°C en quelques secondes (7).

#### Biotypie

Les souches isolées ont été examinées par quatre tests primaires (fermentation du raffinose, du sorbose, du dulcitol dans l'eau peptonée et décarboxylation de l'ornithine) et six tests secondaires (fermentation du rhamnose, décarboxylation de la lysine, hydrolyse de l'esculine, mobilité, recherche de *fimbriae* type 1 et exigence de facteurs de croissance) (7, 15).

Tableau III.

Les biotypes primaires d'*E. coli*.  
Primary biotypes of *E. coli*.

biotype primaire	résultats des test de biotypage de				nb de souches	origine
	raffinose	sorbose	ornithine	dulcitol		
1	+	+	+	+	42	(15H, 12H*, 15C)
2	+	+	+	-	4	(3H*, 1C)
3	+	+	-	+	8	(5H, 1H*, 2C)
4	+	+	-	-	3	(1H*, 2C)
5	+	-	+	+	2	(2C)
6	+	-	+	-	0	-
7	+	-	-	+	0	-
8	+	-	-	-	0	-
9	+	+	+	+	12	(3H, 2H*, 7C)
10	-	+	+	-	2	(1H*, 1C)
11	-	+	-	+	16	(3H, 7H*, 6C)
12	-	+	-	-	11	(4H, 3H*, 4C)
13	-	-	+	+	0	-
14	-	-	+	-	0	-
15	-	-	-	+	0	-
16	-	-	-	-	0	-

(+) : réponse positive, (-) : réponse négative, (H) : homme sain, (H\*) : homme malade (C) clovisée

Tableau II.

Types d'hémagglutination des souches isolées.  
Types of hemagglutination in isolated cultures.

échantillon	MRHA	MSHA
malades	13,3 %	13,3 %
porteurs asymptomatiques	6,7 %	0 %
clovisées	2,5 %	10 %

MRHA : hémagglutination résistante au mannose  
MSHA : hémagglutination sensible au mannose

#### Antibiotypie

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été étudiée pour 14 antibiotiques (tableau IV) sur milieu de MUELLER-HINTON à l'aide des disques d'antibiotiques de l'Institut Pasteur de Paris. L'incubation des cultures est de 16 à 18 h à 37°C et l'interprétation des résultats est faite selon le tableau de référence établi par le comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (17).

## Résultats

Cent souches d'*E. coli* ont été étudiées, 30 chez l'homme malade, 30 chez les porteurs asymptomatiques (groupe témoin) et 40 chez les clovisées.

#### *E. coli* entéro-pathogène

L'étude sérologique montre que 15 % des souches d'*E. coli* présentent des sérotypes pathogènes : O126B16 (trois souches), O86B7 (deux), O111B4 (deux), O26B6 (deux), O119B4 (deux), O55B5 (une), O128B12 (une), O125B15 (une) et O114K90 (une souche) (tableau I).

#### *E. coli* entéro-toxinogène

Parmi les *E. coli* isolées chez les malades, 13,3 % présentent une hémagglutination résistante au mannose (MRHA), alors que les porteurs asymptomatiques et les clovisées en présentent respectivement 6,7 % et 2,5 % ; 13,3 % et 10 % d'*E. coli* isolées respectivement chez les malades et les clovisées présentent une hémagglutination sensible au mannose (MSHA) (tableau II). La production d'hémagglutination sensible au mannose est un indicateur de la présence de *fimbriae* type 1. Chez *E. coli*, la fimbriation de type 1, contrôlée par des gènes chromosomiques, est une propriété relativement stable. Elle est souvent utilisée en association de biotypage pour la caractérisation des souches d'*E. coli* (3, 18).

#### *E. coli* entéro-hémorragique

L'examen endoscopique de selles n'a montré aucun aspect de colite hémorragique. Le sérotype O157H7 n'a pas été recherché. Deux souches O26B6 et une souche O128B12 ont été isolées, ces souches peuvent être entéro-hémorragiques.

Tableau IV.

Sensibilité des souches isolées en fonction des prélèvements.  
Sensitivity of isolated cultures according to samples.

antibiotiques	porteurs asymptomatiques			malades			clovisées		
	% S	% I	% R	% S	% I	% R	% S	% I	% R
ampicilline	63,3	30	6,7	23,3	13,3	63,3	45	50	5
amoxicilline	36,7	56,7	6,7	13,3	23,3	63,3	45	50	5
ticarcilline	56,7	33,3	10	26,7	3,3	70	65	30	5
céfalo-tine	36,7	63,3	0	23,3	53,3	23,3	37,5	62,5	0
céfotaxime	93,3	6,7	0	70	6,7	23,3	80	20	0
streptomycine	66,6	23,3	10	53,3	3,3	43,3	72,5	15	12,5
tobramycine	100	0	0	83,3	0	16,7	97,5	2,5	0
amikacine	96,7	3,3	0	86,7	6,7	6,7	100	0	0
gentamycine	100	0	0	83,3	0	16,7	100	0	0
chloramphénicol	83,3	13,3	3,3	80	3,3	16,7	92,5	5	2,5
tétracycline	13,3	40	46,7	46,7	30	23,3	35	40	25
colistine	43,3	0	56,7	63,3	0	36,7	75	0	25
ofloxacine	90	10	0	100	0	0	92,5	7,5	0
triméthoprime + sulfamide	80	16,7	3,3	63,3	3,3	13,3	90	10	0

% S : pourcentage des souches sensibles, %R : pourcentage de souches résistantes, % I : pourcentage de souches intermédiaires

### *E. coli* entéroinvasif

Deux souches isolées chez les clovisses ont été démontrées comme étant entéroinvasives, par le test de SÉRÉNY.

### Les biotypes

En fonction des réponses aux quatre tests primaires, 16 biotypes ont été établis (tableau III). Les biotypes 1, 11 et 9 sont les plus fréquents et représentent successivement 42 %, 16 % et 12 % des souches. Le biotype 1 a été isolé chez 50 % des porteurs asymptomatiques, 40 % des hommes malades et 37,5 % de clovisses. Ce biotype a été subdivisé en quatre biotypes secondaires chez les porteurs asymptomatiques et les malades et en trois chez les clovisses (tableau V).

Les biotypes 6, 7, 8, 13, 14, 15 et 16 n'ont été détectés chez aucun des trois types d'échantillons. Les résultats des tests secondaires différencient davantage les 16 biotypes primaires en 32 biotypes secondaires (10 biotypes secondaires chez les porteurs asymptomatiques, 12 chez les malades et 10 chez les clovisses). Toutes les souches isolées se répartissent en 43 biotypes complets.

Les souches isolées chez les porteurs asymptomatiques ont été subdivisées en 5 biotypes primaires (1, 3, 9, 11 et 12) et 10 biotypes secondaires. Celles qui ont été isolées chez les malades sont divisées en 8 biotypes primaires (1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 et 12) et 12 biotypes secondaires et, enfin, les souches isolées de clovisses sont subdivisées en 9 biotypes primaires (1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11 et 12) et 10 biotypes secondaires (tableau V).

### Fiabilité de la biotypie

L'utilisation des 10 tests pour la caractérisation des souches d'*E. coli* a révélé que la biotypie est hautement stable et reproductible non seulement quand plusieurs colonies sont biotypées après l'isolement d'une souche, mais aussi quand les souches sont retypées après conservation.

### Résistance aux antibiotiques

Le tableau IV montre que le pourcentage de souches résistantes aux antibiotiques est beaucoup plus élevé chez l'homme malade que chez les porteurs asymptomatiques et les clovisses. En effet, 63,3 % des souches isolées chez les malades sont résistantes à l'ampicilline contre respectivement 6,7 % et 5 % pour les porteurs asymptomatiques et les clovisses, alors que ces derniers n'ont montré de résistance que vis à vis des deux antibiotiques colistine et tétracycline (tableau IV).

## Discussion

Les 9 groupes O d'*E. coli* entéroinvasives ont été identifiés : O126, O86, O55, O111, O128, O114, O125, O26 et O119. Les sept premiers ont été confirmés par ORSKOV (14) et LECLERC (10) comme étant des sérogroupes patho-

gènes. Ces sérogroupes ont été isolés de diarrhées infantiles lors des études épidémiologiques effectuées par GERMANI *et al.* (5) et KHEMIRI *et al.* (8). Les 12 sérums monovalents utilisés ont été employés aussi dans les études épidémiologiques en France par LAFEUILLE *et al.* (9). Le nombre de sérums est limité en comparaison avec le nombre total d'antigènes O (173 sérotypes). Cependant, il est basé sur les sérotypes les plus fréquemment pathogènes. Parmi ces antigènes, 10 à 25, selon les régions géographiques, sont reconnus les plus fréquemment responsables d'infections entériques (16).

Parmi 70 souches isolées chez les clovisses (n = 40) et chez les malades (n = 30), 13 % à 15 % sont entéroinvasives. Ce taux se rapproche des résultats obtenus par ZOUKH (19) qui a démontré, dans des échantillons de coproculture, la présence de 17 % de souches entéroinvasives, représentées essentiellement par cinq sérotypes O128K67 et quatre sérotypes O111K58.

Le faible taux d'entéroinvasives dans la présente étude suggère que les diarrhées observées chez les malades pourraient être aussi d'origine parasitaire ou virale et, vu la faiblesse de l'effectif, il n'apparaît significativement pas plus d'EPEC chez les malades que chez les porteurs asymptomatiques ou les clovisses.

Les sérogroupes O126B16 et O111B4 sont rencontrés chez les clovisses et chez les porteurs asymptomatiques. Le sérotype O86B7 est isolé chez clovisses et malades. Les souches d'origine entérique semblent garder dans l'environnement le même profil de pathogénicité. Dans cette étude, cinq sérogroupes ont été les plus fréquents : O126B16, O26B6, O119B4, O86B7 et O111B4. En Tunisie, une étude épidémiologique semblable de KHEMIRI *et al.* (8) montre trois sérogroupes fréquents : O111B4 (30 %), O128B12 (21 %) et O86B7 (15 %).

Les souches non agglutinables isolées de cette étude s'expliquent par la gamme limitée des sérums utilisés et par la présence éventuelle d'antigènes K masquant les antigènes O et rendant certaines souches d'*E. coli* non agglutinables (10).

Nous avons remarqué que les souches qui présentent une hémagglutination résistante ou sensible au mannose sont plus fréquentes chez les malades que chez les porteurs asymptomatiques et les clovisses (tableau II).

Le test de SÉRÉNY effectué sur les 100 souches d'*E. coli* a révélé la présence des souches entéroinvasives chez les clovisses. Malgré le pouvoir entéroinvasif de ces souches, le mécanisme entéroinvasif pourrait être porté par d'autres facteurs de pathogénicité et il pourrait s'agir d'une contamination plasmidiale.

Sur les 16 biotypes primaires établis, les biotypes 1 (42 % des souches), 11 (16 %) et 9 (12 % des souches) sont les plus communs. Le biotype 1 présente une bonne répartition chez l'homme et dans l'environnement, ce résultat confirme les travaux de CRICHTON & OLD (4). Les souches présentant le biotype primaire ont été subdivisées davantage par les tests secondaires (quatre biotypes secondaires chez les porteurs asymptomatiques et trois chez les clovisses (tableau V)). Le biotype 5 n'a été rencontré que chez les clovisses (50 % des cas), alors que, chez l'homme, ce biotype était dominant selon CRICHTON et OLD (4).

Les biotypes 2, 4 et 9 sont présents seulement chez les souches isolées de l'environnement et chez l'homme malade. Le nombre des biotypes secondaires identifiés lors de cette étude est faible par rapport à celui qui a été observé par PAMELA *et al.* : 213 biotypes secondaires ont été distingués à l'intérieur de 16 biotypes primaires (15). Toutes les souches d'*E. coli* se répartissent en 43 biotypes.

Tableau V.

Désignation des 100 souches d'*E. coli* étudiées dans les biotypes secondaires et les sous-types définis par PAMELA *et al.* (15).

Designation of 100 cultures of *E. coli* studied in primary biotypes and sub-types defined by PAMELA *et al.* (15).

biotype primaire n°	nb de souches	sous-types observés dans les biotypes primaires (nb de souches dans le sous-type)	nb de biotypes secondaires
1	42	[cdf (11),df (13),d (7),f ( 11)]	4 (4H*,4H,3C)
2	4	[f (1),d (1),bf (1),cdf (1)]	4 (4H*,1C)
3	8	[bf (3),f (3),df (2)]	3 (4H,1H*,1C)
4	3	[df (2),f (1)]	2 (1H*,2C)
5	2	[f (2)]	1 (1C)
9	12	[f (8),bdf (1),a (2),df (1)]	4 (4H,1H*,4C)
10	2	[d (1),bdf (1)]	2 (1H*,1C)
11	16	[f (3),df (9),d (1),cf (2),cd (1)]	5 (1H,5H*,4C)
12	11	[f (3),bf (2),df (2),bdf (1),cf (1),bcf (1),a (1)]	7 (2H,3H*,4C)
total	100		32

(a) :résultats positif pour les 6 tests de biotypes primaires, (b):pas de fermentation de rhamnose en 24h,(c):pas de décarboxylation de lysine en 48h, (d):pas d'hydrolyse d'esculine en 72h,(f):pas de fimbriation type 1.

Les souches isolées chez l'homme malade et les clovises ont présenté les mêmes biotypes primaires, ce qui pourrait permettre de supposer le maintien du profil des *E. coli* dans le milieu environnemental et donc une nécessité de prévention sur les risques de consommation des fruits de mer contaminés.

Les biotypes secondaires ont permis de subdiviser davantage les souches du même biotype primaire en différents biotypes secondaires chez les souches isolées des trois types d'échantillons (tableau V).

Les observations sur la reproductibilité du biotype "in vivo" et "in vitro" indiquent que la biotypie est assez stable pour les analyses prospectives ; cependant, des variations peuvent être observées (3, 13 et 18).

Les résistances aux antibiotiques sont plus élevées chez les souches isolées chez l'homme malade que chez les porteurs sains et les clovises. Ceci suggère que les souches isolées chez les porteurs sains et dans le milieu environnant entrent dans le même cycle, alors que celles qui sont isolées chez les malades semblent sélectionnées. Les résistances multiples observées chez les malades pourraient être des résistances plasmidiques. En effet, la résistance à la céfalotine et à l'ampicilline est liée à une production de céphalosporinase chromosomique naturelle codée par le gène ampC. Ce phénotype se distingue par une moins bonne activité de certaines céphalosporinases (céfmandole, céfotaxime), ce qui peut expliquer que près du tiers des souches isolées chez les malades sont de sensibilité diminuée au céfotaxime (23,33 % de résistance). En comparaison avec d'autres travaux, lors d'une analyse d'eau contaminée, *E. coli* a montré une résistance à l'ampicilline, à la pénicilline et à la tétracycline (50 % des isolats résistants). Mais cette résistance varie selon les endroits de prélèvement, alors que la résistance au chloramphénicol était faiblement rencontrée, d'autres souches ne résistent à aucun des antibiotiques testés (7).

## Conclusion

Les méthodes de typage utilisées fournissent une discrimination intéressante des souches d'*E. coli*. Parmi 100 souches, 32 biotypes, 15 sérotypes et plusieurs résistances aux antibiotiques sont reconnus. La biotypie des souches d'*E. coli* par la série des tests biochimiques et physiologiques est une méthode efficace, même quand elle est utilisée indépendamment de la sérotypie. Dans cette étude, nous avons trouvé que la combinaison de la biotypie et de l'antibiotypie fournissent une bonne discrimination des souches d'*E. coli*. Les souches d'EPEC isolées de l'environnement et chez l'homme sont sensibles à la presque totalité des antibiotiques utilisés. Nous avons remarqué que les phénotypes de pénicillinase (résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines) et de céphalosporinase (résistance à la céfalotine et à l'ampicilline) ont été représentés essentiellement chez les souches d'*E. coli* isolées chez l'homme malade et beaucoup moins chez les porteurs asymptomatiques ou les clovises. On remarque aussi l'absence de corrélation entre le sérotype des souches et leur résistance aux antibiotiques.

Les tests de biotypes primaires choisis différencient les souches d'*E. coli* isolées chez les porteurs asymptomatiques, l'homme malade et les clovises et les résultats fournis par les tests de raffinose, sorbose, ornithine et dulcitol sont reproductibles après plusieurs tests sur la même souche. Par conséquent, toutes les souches sont typables par le plan proposé du biotype et les 16 biotypes théoriquement utilisés sont détectés. Les tests secondaires ont permis de subdiviser les souches du même biotype.

La présence des souches du même profil (biotype, sérotype et antibiotype) chez l'homme et les clovises pourrait suggérer qu'il s'agit de souches épidémiques et on pourrait envisager le passage de ces souches de l'homme malade aux porteurs asymptomatiques ou dans l'environnement d'élevage des clovises. Il en résulterait le risque de consommation des clovises contaminées qui peut nuire à la santé humaine. En plus, les résultats obtenus suggèrent que *E. coli* peut être utile pour distinguer des sources de contamination, en estimant la qualité des eaux ou fruits de mer.

Ce travail reste une approche qui doit être complétée prochainement par un typage moléculaire.

## Références bibliographiques

1. AFNOR - *Contrôle de la qualité des produits alimentaires, contrôle microbiologique. Recueil de mesures françaises*. 1990
2. AGBONLAHOR DE & ODUGBEMI TO - Enteropathogenic, enterotoxigenic and enteroinvasive *Escherichia coli* isolated from acute gastroenteritis patients in Lagos, Nigeria. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 1982, **76**, 265-267.
3. CRICHTON PB & OLD DC - Differentiation of strains of *Escherichia coli*: multiple typing app. *J Clin Microbiol*, 1980, **11**, 635 - 640.
4. CRICHTON PB & OLD DC - Numerical index of the discriminatory ability of biotyping and resistotyping for strains of *Escherichia coli*. *Epidemiol Infect*, 1992, **108**, 279-286.
5. GERMANI Y, RETHES B, REGAUD E & MOREAU JP - Etude comparative entre l'adhérence aux entérocytes de lapins, la présence des facteurs de colonisation CFA/I et CFA/II et la toxigénie de 55 souches de *Escherichia coli*. *Ann Inst Pasteur Microbiol*, 1985, **136 A**, 203-212.
6. GOTHEFORS L, AHRENE C, STOLL B, BARUA DK, ORSKOV F *et al.* - Presence of colonisation factor antigens on fresh isolates of fecal *Escherichia coli*: A prospective study. *J Infect Dis*, 1985, **152**, 1128-1133.
7. KASPAR CW, BURGESS JL, KNIGHT IT & GOLWELL RR - Antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. *Can J Microbiol*, 1990, **36**, 891-894.
8. KHEMIRI F, BEN AISSA R, SLIM L & GUEDDANA N - *Escherichia coli* dans les diarrhées aiguës d'une population de nourrissons. *Bull Soc Path Ex*, 1988, **81**, 705-711.
9. LAFEUILLE B, DAFEUILLE A, PETTI S, JOLY B & CLUZEL R - Etude de l'attachement aux entérocytes humains "in vitro" de *Escherichia coli* isolées de selles diarrhéiques chez l'enfant. *Ann Microbiol (Inst. Pasteur)*, 1981, **132**, 57-67.
10. LECLERC H & MOSSEL DAA - *Microbiologie, le tube digestif, l'eau et les aliments*. Ed. Kauffmann, 1989.
11. LE MINOR L, CHALON AM & VERON M - Recherche sur la présence de l'antigène commun des entérobactériaceae (antigène Kunin) chez les *Yersinia*, *Levinea*, *Aeromonas* et *Vibrio*. *Ann Inst Pasteur*, 1972, **123**, 761-774.
12. LE MINOR L, SANSONETTI PH, RICHARD CL, GRIMONT F, MOLLARET HH *et al.* - Les entérobactéries. In : *Bactériologie Médicale*. 2ème édition. Flammarion. 1984, p. 389-472.
13. OLD DC, CRICHTON PB, MUANDER AJ & WILSON ML - Discrimination of urinary strains of *Escherichia coli* by five typing methods. *J Med Microbiol*, 1980, **13**, 437-444.
14. ORSKOV F & ORSKOV I - *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol*, 1992, **38**, 699-704.
15. PAMELA B, CRICHTON PB & OLD DC - A biotyping schema for the subspecific discrimination of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol*, 1982, **15**, 233-242.
16. SACK RB - Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Ann Rev Microbiol*, 1975, **2**, 333-353.
17. Société Française de Microbiologie - Valeurs critiques pour l'antibiogramme. Comité de l'Antibiogramme. Communiqué. *Path Biol*, 1994, **42**, n°8, I-VIII.
18. WILSON ML, CRICHTON PB & OLD DC - Characterization of urinary isolates of *Escherichia coli* by multiple typing: a retrospective analysis. *J Clin Path*, 1981, **34**, 424-428.
19. ZOUKH K - Diarrhée bactérienne à Alger : résultats de 898 coprocultures (1977-1982). *Les colloques de l'INSERM: la diarrhée du jeune*. INSERM, 1984, **121**, 309-314.