

COLIBACILLOSE BIJ DE KIP

D. Vandekerchove¹, P. De Herdt², H. Laevens³, F. Pasmans⁴

¹Departement Kleinveeziekten, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Groeselenberg 99, B-1180 Brussel

²Intervet Belgium, Bedrijvenlaan 7, B-2800 Mechelen

³Coördinatiecentrum voor Diergeneeskundige Diagnostiek, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Groeselenberg 99, B-1180 Brussel

⁴Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten, Faculteit Diergeneeskunde, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke.

SAMENVATTING

Colibacillose is wereldwijd één van de belangrijkste oorzaken van economische verliezen in de pluimvee-industrie. Aviaire pathogene *Escherichia coli* (APEC) behoren tot verschillende O-serotypen maar vooral O78, O2 en O1 worden vaak aangetroffen. Er bestaan diverse door APEC veroorzaakte ziektebeelden bij verschillende leeftijdsgroepen, waarvan septicemie, cellulitis en dikke koppenziekte de belangrijkste zijn. Er werd reeds een groot aantal virulentiefactoren bij APEC gedetecteerd. Vooral adhesiefactoren zoals P-fimbriae, ijzercaptatiesystemen zoals aerobactine, en serumresistentie mechanismen zijn kenmerkend voor APEC. Deze factoren kunnen echter ook bij isolaten uit klinisch gezonde kippen worden gevonden. APEC zijn bovendien zowel fenotypisch als genotypisch zeer heterogeen, hetgeen een duidelijk onderscheid tussen pathogene en commensale *E. coli* sterk bemoeilijkt. Colibacillose wordt meestal als een secundaire ziekte beschouwd, die optreedt na verzwakking van de dieren door andere pathogenen of een ongunstig stalklimaat. Zoönotisch zijn APEC niet zo belangrijk, hoewel er reeds O157 verotoxigene *E. coli* (VTEC) uit braadkuikens werden geïsoleerd en er nauwe verwantschappen werden vastgesteld tussen O78- en O2-isolaten van humane oorsprong en pluimvee oorsprong. De behandeling gebeurt voornamelijk met antibiotica, het best na voorafgaande gevoeligheidsbepaling, gezien de sterk verspreide resistentie die bij de kiemen bestaat. Preventie is mogelijk door hygiënische voorzorgsmaatregelen, het beperken van mogelijkheden tot ziekte-insleep, het verzekeren van een optimaal stalklimaat en door de bescherming van de dieren tegen andere pathogenen door vaccinatie. Homologe bescherming tegen APEC kan bekomen worden door vaccinatie met levende, dode vaccins of subunit-vaccins.

INLEIDING

Colibacillose, veroorzaakt door aviaire pathogene *Escherichia coli* of APEC, is wereldwijd één van de belangrijkste oorzaken van economische verliezen in de intensieve pluimveehouderij (Morris, 1989; Dhoulouin, 1993; Yogaratnam, 1995; Elfadil *et al.*, 1996; Barnes en Gross, 1997). De verliezen worden veroorzaakt door ziekte van de dieren, een gebrek aan uniformiteit in een toom, een te lage productie, een verhoogde afkeuring in het slachthuis en door sterfte (Gross, 1991). Zowel eendagskuikens, braadkuikens als leghennen worden getroffen. Over het algemeen wordt colibacillose bij pluimvee als een secundaire infectie beschouwd (Barnes en Gross, 1997), hoewel sommige isolaten op zich in staat zijn ziekte te indu-

ceren (Cheville en Arp, 1978; Jorge *et al.*, 1988; Dhillon en Jack, 1996; Zanella *et al.*, 2000). In de literatuur is er voornamelijk sprake van studies bij braadkuikens, die gevoeliger geacht worden voor deze ziekte dan dieren van lichtere rassen (Goren, 1991; Foley *et al.*, 2000; Stordeur en Mainil, 2002). Nochtans worden ook bij leghennen belangrijke verliezen geleden (eigen observaties), maar hierover zijn nog onvoldoende gegevens beschikbaar.

ETIOLOGIE

Colibacillose wordt veroorzaakt door verschillende *Escherichia coli* stammen. Er zijn nog geen markers gevonden die een eenduidig onderscheid toelaten tussen APEC en commensale *E. coli*, ondanks

uitgebreid onderzoek op dit gebied. Vooral *E. coli* die beschikken over P-fimbriae, ijzercaptatiesystemen en factoren die de kiem toelaten in het bloed te overleven, lijken belangrijk als oorzaak van colibacillose (zie ook het hoofdstuk "Virulentiefactoren"). Aangezien O-serotypering nog steeds de meest gebruikte typeringsmethode is in de diagnostiek, gebruikt men vaak het O-type om APEC te omschrijven. O78, O2 en O1 worden door verschillende auteurs bij verschillende ziektebeelden (cellulitis, septicemie, luchtzakontsteking) als de belangrijkste serotypen vermeld; zij worden in een aantal studies bij 50 tot 60% van de gevallen geïsoleerd (Sojka en Carnaghan, 1961; Cloud *et al.*, 1985; Dozois *et al.*, 1992; Gomis *et al.*, 1997b). Vaak wordt echter ook een grote diversiteit van O-typen gevonden. Bisgaard en Dam onderzochten gevallen van salpingitis, vastgesteld bij braadkuikens (1980) en leghennen (1981) in het slachthuis. Bij de braadkuikens werden 22 en bij de leghennen 19 verschillende O-typen aangetroffen. Onderka *et al.* (1997) isoleerden 85 *E. coli* stammen uit gevallen van cellulitis, die tot 19 verschillende O-typen behoorden. Blanco *et al.* (1997b) onderzochten 458 stammen afkomstig van braadkuikens met septicemie, waarbij 62 verschillende O-typen werden gevonden. In de studie van Carvalho de Moura *et al.* (2001) behoorden 50 isolaten afkomstig van colisepticemie tot 20 verschillende O-typen.

VOORKOMEN

Net zoals bij zoogdieren is *E. coli* bij de vogels een normale bewoner van het distale deel van het spijsverteringskanaal. Men telt gewoonlijk 10^4 tot 10^7 kolonievormende eenheden (CFU) per gram darminhoud. *E. coli* is eveneens een normale kolonisator van de bovenste luchtwegen, namelijk de keelholte en de trachea. Verder zijn ze aanwezig op huid en veren. Het gaat steeds om zowel pathogene als niet-pathogene typen (Harry en Hemsley, 1965b). In de cecale flora van gezonde kippen kan 10 tot 15 % van de *E. coli* stammen tot een O-serotype behoren dat ook geïsoleerd kan worden uit colibacilloseletsels (Harry en Hemsley, 1965a).

Reeds in de eerste uren na het uitkippen beginnen de vogels hun *E. coli* flora uit te bouwen. De kiemen vermenigvuldigen zich snel in de darm. In één en dezelfde vogel is een groot aantal verschillende *E. coli* typen aanwezig, afkomstig van horizontale besmetting vanuit de omgeving, meer bepaald van andere vo-

gels, uitwerpselen, water en voeder (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999).

Hoewel bepaalde O-typen vaker gevonden worden bij APEC dan bij commensale *E. coli* (Blanco *et al.*, 1997b), zijn de isolaten zeer heterogeen, zowel in hun fenotype als genotype (Achtman *et al.*, 1986; Blanco *et al.*, 1997b; Carvalho de Moura *et al.*, 2001; Chansiri-pornchai *et al.*, 2001). Wel is de prevalentie van bepaalde O-serotypen afhankelijk van de geografische lokalisatie van een toom (Blanco *et al.*, 1998).

PATHOGENESE EN SYMPTOMEN

APEC zijn verantwoordelijk voor een groot aantal verschillende ziektebeelden op verschillende leeftijden.

Neonatale besmetting van kuikens kan horizontaal gebeuren, vanuit de omgeving, of verticaal, vanuit het moederdier. Een leghen met oöphoritis of salpingitis ten gevolge van *E. coli*, besmet het inwendige ei vóór de schaalvorming. Bij passage van het ei doorheen de cloaca en na het leggen, onder andere via het broedproces, is fecale contaminatie van de eischaal mogelijk. Deze laatste mogelijkheid wordt als de voornaamste besmettingsweg van het ei beschouwd (Barnes en Gross, 1997). Vóór het uitkippen veroorzaken APEC dooierzakinfecties en embryonale sterfte. Het kuiken kan ook besmet worden tijdens of kort na het uitkippen. Men ziet dooierrestontsteking, omphalitis, septicemie en sterfte van de jonge dieren tot drie weken ouderdom (Barnes and Gross, 1997).

Bij braadkuikens kan cellulitis of necrotische dermatitis optreden, gekenmerkt door chronische ontsteking van de onderhuid op de buik en de dijen (Barnes en Gross, 1997). Klinisch vertonen aangetaste dieren meestal geen symptomen en de letsels worden soms pas op de slachtlijn opgemerkt (Gomis *et al.*, 2001). De dieren besmetten zich via huidlaesies (Elfadil *et al.*, 1996), maar symptomen worden vermoedelijk pas gezien indien er een minimum infectiedruk van APEC en mogelijk ook andere predisponerende factoren in de stal aanwezig zijn (Onderka *et al.*, 1997). Glünder (1990) noemt cellulitis inderdaad eerder een gevolg van overbevolking en slechte stalhygiëne dan een specifieke ziekte.

In het geval van dikke koppenziekte of Swollen Head Syndrome (SHS), voornamelijk een probleem bij braadkuikens, ziet men oedeem van de kophuid en van periorbitale weefsels. SHS kan de oorzaak zijn van een reductie in de eierproductie van 2 tot 3 %, en van een sterfte van 3 tot 4 % (Morley en Thomson,

1984). De gegevens over deze ziekte zijn tegenstrijdig. Detectie van *E. coli* is een min of meer constant gegeven, maar de intercurrente infecties zijn niet steeds dezelfde. Picault *et al.* (1987) en Hafez en Löhren (1990) beschouwen SHS als een ziekte veroorzaakt door aviaire pneumovirus (APV), gewoonlijk gevolgd door een opportunistische *E. coli* infectie. Nakamura *et al.* (1998) melden echter dat APEC waarschijnlijk een significante rol spelen in dit syndroom, maar dat de rol van APV allerminst duidelijk is. Dit wordt bevestigd door Georgiades *et al.* (2001) die tijdens een veldstudie in geen enkele SHS-positieve toom APV detecteerden, maar wel een reeks van andere virale pathogenen, evenals mycoplasmen. Deze onderzoekers concluderen dat SHS een multifactoriële ziekte is die na infectie door een verscheidenheid van pathogenen in combinatie met gunstige omgevingsvoorwaarden kan optreden.

APEC zijn waarschijnlijk niet de oorzaak van darmziekten. Nochtans worden af en toe enterotoxigene *E. coli* (ETEC) aangetroffen bij pluimvee met diarree (Akashi *et al.*, 1993; Tsuji *et al.*, 1990; Dho-Moulin en Fairbrother, 1999) en diarree kon experimenteel geïnduceerd worden na intramusculaire toediening van APEC (Zanella *et al.*, 2000). Bij de kip werden enteropathogene *E. coli* (EPEC) geïsoleerd uit klinisch gezonde dieren (Kariuki *et al.*, 2002); bij kalkoenen kunnen experimenteel toegediende EPEC enkel enteritis veroorzaken in combinatie met coronavirus (Guy *et al.*, 2000).

Acute en chronische salpingitis kunnen zowel bij leghennen als bij braadkuikens en poeljen aangetroffen worden (Bisgaard en Dam, 1980 en 1981). Dit kan het gevolg zijn van een ascenderende infectie vanuit de cloaca (Bisgaard en Dam, 1980 en 1981) of van infectie van de linker abdominale luchtzak (Barnes en Gross, 1997), alhoewel Bisgaard en Dam (1980) dit veel minder waarschijnlijk achten dan de ascenderende infectie. Hierbij kan verlies van het vermogen tot eierleg optreden (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). Bij chronische salpingitis heeft het oviduct een geelgrijze, kaasachtige inhoud met concentrische structuur (Bisgaard en Dam, 1981). Bij leghennen kan salpingitis bij het optreden van buikleg aanleiding geven tot eiperitonitis, hetgeen gekenmerkt wordt door een sereus-fibrineuze ontsteking van de omliggende weefsels (Barnes en Gross, 1997).

Luchtzakontsteking, of aerosacculitis, komt op alle leeftijden voor. Het dier wordt besmet door inademing van met fecaal materiaal gecontamineerd stof, dat 10^6 CFU *E. coli* per gram kan bevatten (Harry,

1964). Bij dieren waarvan de weerstand van het ademhalingsapparaat verzwakt is door andere pathogenen of door een ongunstig stalklimaat (zie hoofdstuk "Predisponerende factoren") leidt dit tot luchtzakontsteking met sereus-fibrineus exsudaat (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). De luchtzakken zijn kwetsbaar wegens de beperkte afweermogelijkheden tegenover ingedemde stofdeeltjes (Pourbakhsh *et al.*, 1997a). De luchtzak- en longontsteking schept uiteindelijk een toegangspoort naar de bloedbaan. Het is vooral deze aërogene infectieroute die beschreven wordt als startpunt van systemische colibacillose of colisepticemie (Goren, 1991; Pourbakhsh *et al.*, 1997a; Dho-Moulin en Fairbrother, 1999).

Septicemie komt eveneens op alle leeftijden voor en is zeer belangrijk bij leghennen (eigen observaties), hoewel het ziektebeeld vooral beschreven wordt bij braadkuikens. Het is het belangrijkste met APEC-geassocieerde ziektesyndroom, gekenmerkt door polyserositis (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). Het gaat gepaard met depressie, koorts en vaak hoge sterfte. Hoewel de pathogenese niet duidelijk is, zijn er in principe verschillende infectieroutes mogelijk: neonatale infecties (Barnes en Gross, 1997), infecties via huidlaesies (Norton *et al.*, 2000), infectie van het eierlegapparaat (Bisgaard en Dam, 1980 en 1981), van de ademhalingswegen (Pourbakhsh *et al.*, 1997a) en zelfs infectie *per os* (Leitner en Heller, 1992). Wanneer de kiem de bloedbaan bereikt, wordt naast de andere inwendige organen ook het hart geïnfecteerd. De aantasting van het myocard leidt tot hartinsufficiëntie (Vandemaele *et al.*, 2002). Septicemie kan verder leiden tot synovitis en osteomyelitis (Dho-Moulin, 1993; Barnes en Gross, 1997) en in zeldzame gevallen tot panoftalmie (Barnes en Gross, 1997).

Coligranuloma, of Hjarre's disease, wordt gekenmerkt door granuloma's in lever, ceca, duodenum en mesenterium, maar niet in de milt. Het is een weinig voorkomende vorm van colibacillose maar kan in aangetaste tomen tot 75% sterfte veroorzaken (Barnes en Gross, 1997).

Predisponerende factoren

Reeds in 1968 meldden Carlson en Whenham dat het risico op colibacillose stijgt met stijgende infectiedruk vanuit de omgeving. Een goede stalhygiëne en het vermijden van overbevolking zijn zeer belangrijk. Andere belangrijke risicofactoren zijn de duur van de blootstelling, de virulentie van de stam, het ras en de immunstatus van de kip (Gross *et al.*, 1980; Rosenberger *et al.*, 1985; Gross, 1992; Pourbakhsh *et*

al., 1997a; McGruder en Moore, 1998). Dieren die worden blootgesteld aan stress, lopen verhoogd risico op colibacillose (Barnes en Gross, 1997). Leitner en Heller (1992) toonden aan dat stress infectie *per os* mogelijk maakt: zij konden bacteremie induceren na perorale toediening van APEC, door de dieren 36–48 uur te laten uitvasten of ze bloot te stellen aan hittestress.

Elke verzwakking van het ademhalingsapparaat vergemakkelijkt het aanslaan van een APEC-infectie, met luchtzak- en longontsteking en mogelijk septicemie tot gevolg (Barnes en Gross, 1997). Verschillende pathogenen, zoals Newcastle Disease virus (NDV), Infectieuze Bronchitis (IB) en *Mycoplasma gallisepticum* (Mg), maar ook vaccinaties, zoals tegenover NDV of IB, kunnen een rol spelen. Ook een ongunstig stalklimaat, zoals een teveel aan ammoniak of stof, maken het ademhalingsapparaat kwetsbaarder voor infectie met APEC door een deciliatie van de bovenste ademhalingswegen.

Bij braadkuikens wordt een duidelijke parentale resistentie waargenomen vóór vier weken ouderdom, die echter wel doorbroken kan worden na aantasting van het ademhalingsepitheel door andere pathogenen of door een ongunstig stalklimaat. Zo'n drie tot vier weken na de opzet van de toom wordt de parentale immuniteit minimaal en de bacteriële infectiedruk in het hok wordt maximaal. Virale ziekten treden vooral op rond de ouderdom van drie weken. De grootste verliezen worden dan ook geleden in de categorie van vijf tot twaalf weken oude braadkuikens (Goren, 1991; Foley *et al.*, 2000). Ook bij leghennen wordt een zekere leeftijdsresistentie gezien. Terwijl leghennen in de opfok vrij goed bestand zijn tegen colibacillose, worden vooral bij hennen die in de leg komen of bij hennen in piekproductie uitbraken van colibacillose vastgesteld (eigen observaties). Inderdaad meldde Kohlert (1968) een verminderde weerstand bij kippen na behandeling met progesteron en zij stelde dat er bij verhoogde eiprodukte een disproportie optreedt tussen de oestrogeen- en progesteronspiegel, hetgeen eveneens een lagere weerstand tot gevolg heeft.

Virulentiefactoren

Verschillende auteurs (Whittam en Wilson, 1988; White *et al.*, 1990 en 1993; Ngeleka *et al.*, 1996; Blanco *et al.*, 1997b) menen dat de APEC-isolaten behoren tot speciale groepen pathogene klonen. Hiermee ondersteunen ze de *special pathogenicity theory*, eerder dan de *prevalence theory*, die verkondigt dat serogroepen die vaak geïsoleerd worden uit extra-intesti-

nale infecties, fenotypen vertegenwoordigen die in het algemeen talrijk aanwezig zijn in het fecale reservoir. Desondanks bestaat er onder de APEC een grote genotypische en fenotypische diversiteit, die de identificatie van APEC-isolaten als zodanig sterk bemoeilijkt.

De virulentiemechanismen van APEC zijn nog niet duidelijk gekarakteriseerd. Dho-Moulin (1993) vat het mechanisme samen in drie stappen. Ten eerste is er adhesie, ten tweede vindt een vermenigvuldiging in de weefsels van de gastheer plaats en ten derde is er het neutraliseren van diens verdedigingsmechanismen. Er is dus een combinatie van verschillende virulentiefactoren nodig voor het aanslaan van de infectie en voor de definitie van APEC, aangezien de aanwezigheid van slechts één zulk kenmerk niet volstaat om het pathogeen vermogen van deze kiemen uit te leggen (Góes *et al.*, 1993). APEC blijken verschillende gradaties van pathogeniteit te bezitten, bepaald door het bezit van bepaalde genen. Het is echter niet altijd makkelijk te bepalen of er in vivo expressie is van de genetisch gedetecteerde virulentiefactoren. Daarenboven worden bepaalde pathogene kenmerken, zoals serumresistentie, door meer dan één gen bepaald, zodat de afwezigheid van één genetisch kenmerk niet noodzakelijk gepaard gaat met het verlies van de fenotypische eigenschappen (Gomis *et al.*, 2001).

Veel aandacht is reeds besteed aan de aanwezigheid van adhesiefactoren. Type 1 fimbriae, ook F1-fimbriae of mannosegevoelige pili genoemd omdat in aanwezigheid van mannose hun adhesief vermogen verdwijnt, worden vaker aangetroffen bij APEC dan bij commensale *E. coli*. Er zijn verschillende varianten van gevonden bij verschillende serotypen. De mogelijkheid tot aanhechting aan de gastheercellen via F1-fimbriae vergemakkelijkt het aanslaan van de infectie maar is niet noodzakelijk voor de kolonisatie van trachea en luchtzakken. Daarentegen zijn F1-fimbriae mogelijk wel essentieel voor de kolonisatie van de longen (Marc *et al.*, 1998). F1-fimbriae benadelen de kiem echter in de systemische fase, omdat ze de fagocytose door macrofagen vergemakkelijken (Orndorff en Bloch, 1990). Hoogpathogene APEC kunnen uit het bloed en het pericardiaalvocht worden geïsoleerd. De fasevariatie, waarbij APEC in de oppervlakkige luchtwegen F1 exprimeren maar in de diepere weefsels overschakelen op expressie van P-fimbriae, laat de kiem toe fagocytose te omzeilen (Pourbakhsh *et al.*, 1997b). Het *pap*-gen, dat deze P-fimbriae codeert, wordt vaker aangetroffen bij extra-intestinaal geïsoleerde stammen dan bij intestinale isolaten (Stordeur

et al., 2002). De rol van deze P-fimbriae is nog niet volledig gekend (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). Ze zijn verwant aan F11-fimbriae van uropathogene *E. coli* (UPEC) geïsoleerd uit mensen en honden en worden ook geassocieerd met stammen geïsoleerd uit septicemie bij varkens (Pourbakhsh *et al.*, 1997a). Een gen dat codeert voor een andere adhesiefactor, curli genaamd, komt voor bij de meeste APEC evenals bij commensale *E. coli*. Curli laten binding toe aan de extracellulaire matrix en aan serumproteïnen. De rol van deze factor is vooralsnog niet gekend (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). Isolaten zonder curli vertonen een lagere virulentie en een verminderde persistentie in het cecum, maar blijven wel invasief (La Ragione *et al.*, 1999).

Pfaff-McDonough *et al.* (2000) hebben APEC vergeleken met commensale *E. coli* om de aanwezigheid van een aantal kenmerken op te sporen. Enkel het *iss*-gen (*increased serum survival*) was significant meer aanwezig bij APEC dan bij commensale *E. coli*. Over het belang van de aanwezigheid van een kapsel zijn de gegevens tegenstrijdig. Het bezit van een kapsel beschermt de kiem tegen fagocytose (Horwitz en Silverstein, 1980). Nochtans waren in de studie van Pfaff-McDonough *et al.* (2000) significant vaker kapsels aanwezig bij commensale *E. coli* dan bij APEC. In de studie van Parreira *et al.* (1998) werd kapselantigeen K1 in slechts 14% van de onderzochte stammen afkomstig van kippen met swollen head syndrome (SHS) aangetroffen. Andere auteurs vermelden de aanwezigheid van een kapsel echter wel als kenmerkend voor APEC (Brée *et al.*, 1989; Wooley *et al.*, 1993).

De aanwezigheid van ijzercaptatiesystemen, zoals aërobactine, wordt geassocieerd met virulentie bij eendagskuikens. De meeste APEC bezitten aërobactine, terwijl dit siderofoor bij de meeste commensale *E. coli* niet gevonden wordt (Linggood *et al.*, 1987; Dozois *et al.*, 1992; Emery *et al.*, 1992). Czirók *et al.* (1990) meenden echter dat aërobactine als een minder goede virulentiemerker beschouwd moet worden dan K1. Andere ijzercaptatiesystemen die bij APEC worden aangetroffen, zijn *ferric yersiniabactin uptake* en *iron-repressible protein* (Janssen *et al.*, 2001).

Temperature sensitive hemagglutinin (Tsh), een gen dat weinig aangetroffen wordt bij commensale *E. coli* (Dho-Moulin *et al.*, 1997), komt het vaakst voor bij hoogpathogene APEC en helpt bij het vormen van de letsels in het vroege stadium van colibacillose, maar is niet noodzakelijk voor de daaropvolgende veralgemeende infectie (Dozois *et al.*, 2000).

Toxineproductie lijkt weinig belangrijk voor de virulentie bij APEC (Blanco *et al.*, 1997b; Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). *Chick Lethal Toxin (CLT)* is zeldzaam (Truscott, 1974). Twee verschillende *heat-labile toxins (LT)* werden reeds gerapporteerd (Emery *et al.*, 1992). Verocytotoxine wordt weinig (Fantinatti *et al.*, 1994) of niet gevonden (Irwin *et al.*, 1989; Blanco *et al.*, 1997b), tenzij bij SHS, waar een VT-variant wordt aangetroffen, die ook een toxisch effect heeft op HeLa-cellen (Parreira en Yano, 1998). ETEC die ST- (Akashi *et al.*, 1993) en LT-achtige enterotoxinen (Blanco *et al.*, 1997b; Tsuji *et al.*, 1990) produceren, werden geïsoleerd uit kippen met diarree en uit een kip met extra-intestinale colibacillose. In sommige APEC-stammen vindt men een voor muizen letaal oplosbaar product (Blanco *et al.*, 1997b). De *E. coli* vacuolating factor (ECVF), waarvan het toxisch effect enkel wordt waargenomen op cellijnen afkomstig van kippen, werd aangetroffen in stammen geïsoleerd uit cellulitis, septicemie en SHS (Salvadori *et al.*, 2001). Het effect was vergelijkbaar met dat van *Helicobacter pylori* cytotoxine op HeLa- en Vero-cellen.

De colicineproductie en de O-serogroep blijken geassocieerd te zijn met in vivo pathogeniteit (Blanco *et al.*, 1997b).

Kariuki *et al.* (2002) isoleerden enteropathogene *E. coli* (EPEC) uit klinisch gezonde kippen. EPEC worden gekenmerkt door de aanwezigheid van het *Locus for Enterocyte Effacement (LEE-locus)*.

ZOÖNOTISCH BELANG

Hoewel Hafez *et al.* (1997) een O157-besmetting vaststelden in een braadkuikenstal, wordt de kip niet beschouwd als een belangrijk reservoir voor dit zoönotisch vaak vermelde serotype. Er werd experimenteel vastgesteld dat kippen als reservoir kunnen fungeren: O157-stammen slaan goed aan bij jonge kippen, zelfs bij lage dosis, en kunnen tot drie maanden persistenten in het cecum (Chapman *et al.*, 1997). In de studie van Stavric *et al.* (1993) werd nagegaan of behalve braadkuikens ook leghennen na inoculatie *per os* gevoelig zijn voor de kolonisatie met O157:H7 en andere VTEC. Men stelde vast dat hoe hoger de inoculatie dosis, hoe meer de darm gekoloniseerd werd. Hoe ouder het dier, hoe lager de kolonisatie en persistentie waren. Alle dieren in dit experiment bleven klinisch gezond. Histologisch werden er wel *attachment and effacement (A/E)* laesies vastgesteld in het proximale deel van de ceca. In 1997 schreven Chapman *et al.* dat er op dat moment geen bacteriologisch beves-

tigde gevallen van O157-besmettingen bij mensen waren, afkomstig van gevogelte. Wel wordt af en toe kippenvlees positief bevonden (Doyle en Schoeni, 1987; Radu *et al.*, 2001).

Fenotypisch bestaat er een grote verwantschap tussen O2:K1 serotypen afkomstig van menselijke urine-weginfecties en deze geïsoleerd uit kippen met septicemie, waarbij een onderscheid tussen beide groepen enkel gemaakt kon worden door hun plasmideninhoud (Achtman *et al.*, 1986). Chérifi *et al.* (1994) bekwamen soortgelijke resultaten voor een reeks O78-isolaten en concludeerden dat kippen een mogelijke bron van infectie kunnen zijn voor septicemische O78-infecties bij mensen.

Omgekeerd heeft men bewezen dat isolaten afkomstig van mensen pathogeen kunnen zijn voor eendagskuikens na subcutane injectie. Het ging hierbij om stammen van serotype O1, O2, O18 en O78 (Czirók *et al.*, 1990).

DIAGNOSE

De diagnose wordt gesteld op basis van het klinische beeld en de typische macroscopische letsels. De bevestiging van colibacillose gebeurt door isolatie van *E. coli* uit cardiaal bloed en aangetaste weefsels, zoals lever, milt, hartzakje of beenmerg. Deze isolatie is in acute gevallen mogelijk van zes uur tot drie dagen na infectie; bij subacute gevallen is isolatie vanaf zeven dagen na infectie niet meer mogelijk (Gomis *et al.*, 1997a). Contaminatie vanuit de darm is zelden een probleem, indien vers materiaal wordt gebruikt en standaard bacteriologische technieken worden toegepast (Gross en Domermuth, 1975).

De isolatie gebeurt op selectieve media, zoals McConkey, eosine-methyleenblauw of drigalki agar. De verdere identificatie van de geïsoleerde kolonies is gebaseerd op biochemische reacties (indol productie, fermentatie van glucose met gasproductie, aanwezigheid van β -galactosidase, afwezigheid van waterstofsulfiet productie en urease, en de ongeschiktheid van citraat als koolstofbron) (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999).

O-serotypering is een veel gebruikte typeringsmethode, die niet zozeer nodig is voor de diagnostiek, maar wel mogelijkheden biedt voor epidemiologische studies, risicoanalyse en preventie. Het is een dure methode, waarbij vaak niet alle 173 O-typen beschikbaar zijn in het laboratorium en zelfs indien dit wel het geval is, moet een deel van de stammen als "niet-typeerbaar" ("rough" of auto-agglutinerend) geklas-

seerd worden. Bovendien bestaat er binnen éénzelfde serotype een grote variatie in virulent vermogen (Blanco *et al.*, 1997b; Carvalho de Moura *et al.*, 2001).

Er werden ELISA's ontwikkeld voor de detectie van contact met APEC op basis van gesoniceerde APEC (Leitner *et al.*, 1990) of fimbriëel antigeen (Bell *et al.*, 2002), maar deze hebben als nadeel dat ze enkel homologe typen van APEC kunnen detecteren.

Het reeds uitgevoerde onderzoek naar virulentiefactoren bij APEC heeft nog geen resultaten opgeleverd die ondubbelzinnig bruikbaar zijn voor de diagnostiek. Er werden ook reeds enkele pogingen ondernomen om APEC genetisch te definiëren, bijvoorbeeld met behulp van Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) en Repetitive Extragenic Palindromic (REP) PCR (Carvalho de Moura *et al.*, 2001) en Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analyse (Chansiripornchai *et al.*, 2001). In beide studies komt men tot de conclusie dat er een grote genetische diversiteit bestaat onder de onderzochte stammen, hetgeen reeds eerder gebleken was uit de resultaten van serotypering en uit andere resultaten (Achtman *et al.*, 1986; Blanco *et al.*, 1997b). Net zoals voor de detectie van virulentiefactoren moet ook hier verder onderzoek uitwijzen hoe deze technieken ingeschakeld zouden kunnen worden in de APEC-diagnostiek.

BEHANDELING

De behandeling van colibacillose gebeurt voornamelijk met antibiotica. De keuze ervan wordt sterk beperkt doordat alleen *per os* goed resorbeerbare producten in aanmerking komen die een effectieve bloedspiegel geven en houden. Veel stammen zijn daarbij nog resistent tegen één of meerdere substanties (Goren, 1991; Blanco *et al.*, 1997a; Vandemaele *et al.*, 2002). Vooral tegen tetracycline, sulfamiden, streptomycine, trimethoprim (al dan niet in combinatie met sulfamiden), nitrofurane, nalidixinezuur en ampicilline (amoxicilline) bestaat een hoge mate van resistentie. Ook tegen de fluoroquinolonen (flumequine, norfloxacin, ofloxacin, enrofloxacin, pefloxacin) is reeds 13–24% van de stammen resistent (Blanco *et al.*, 1997a). Specifiek voor België werd in de periode van 1997 tot 2000 een stijging gezien van de resistentie tegen ampicilline/amoxicilline van 49 naar 59%, flumequine van 28 naar 36% en tegen trimethoprim-sulfonamide van 34,5 naar 50%. De resistentiepercentages tegen tetracyclinen (63 – 69%) en enrofloxacin (13 – 16%) bleven in die periode rela-

tief stabiel (Vandemaele *et al.*, 2002). De betrouwbaarheid van de antibiogramonderzoeken wordt ernstig beperkt doordat in éénzelfde uitbraak, dikwijls zelfs bij éénzelfde dier, meestal meerdere stammen met verschillende antibioticumgevoeligheid aanwezig zijn. Men kan stellen dat alleen uitslagen die duiden op resistentie echt betrouwbaar zijn. Het is niet alleen belangrijk de isolaten te testen op hun antibioticaresistentie (Barnes en Gross, 1997; Blanco *et al.*, 1997a; Dho-Moulin en Fairbrother, 1999; Stordeur en Mainil, 2002), men moet er ook voor zorgen dat de dieren een voldoende hoge concentratie van het antibioticum krijgen toegediend en ook nog opnemen (zelfs als ze ziek zijn) om het gewenste therapeutische effect te bekomen (Barnes en Gross, 1997). Vaak wordt na stopzetting van de antibioticabehandeling een heropflakking van de ziekte gezien (Zanella *et al.*, 2000).

Stoffen die de efficiëntie van de fagocyten verbeteren, zoals ascorbinezuur, worden ook als behandelingsmogelijkheid vermeld (Gross en Domermuth, 1988).

Gezien de toenemende aandacht van de wetenschappelijke wereld en de publieke opinie voor antibioticaresistentie en de mogelijke overdracht van resistentie van dierlijke naar humane isolaten, is er een ernstige nood aan een efficiënt alternatief. Lytische bacteriofagen, virussen die bacteriën doden, zouden zo'n alternatief kunnen bieden. Er bestaat een uitgebreide Russische literatuur over het gebruik van lytische bacteriofagen voor de behandeling van humane ziekten. Recent is er in het Westen een hernieuwde belangstelling voor bacteriofagen ontstaan voor de behandeling en preventie van bacteriële ziekten, maar bij pluimvee zijn er nog weinig gegevens beschikbaar. Reeds gepubliceerd werk lijkt veelbelovend (Barrow *et al.*, 1998; Huff *et al.*, 2002a en b) maar er moet nog veel verkennend onderzoek verricht worden vóór het gebruik van bacteriofagen haalbaar zal zijn voor de preventie en behandeling van ziekten zoals colibacillose bij pluimvee.

PREVENTIE

Zolang er geen kenmerken gedefinieerd worden die ondubbelzinnig onderscheid toelaten tussen APEC en commensale *E. coli*, zijn epidemiologische studies moeilijk en bijgevolg is het ook moeilijk risicofactoren te bepalen en strategieën voor de preventie van colibacillose op te zetten (Foley *et al.*, 2000; Pfaff-McDonough *et al.*, 2000).

Een eerste stap is het voorkomen van besmetting van de eieren door ze te fumigeren binnen twee uur na de leg en door gebarsten of met mest besmeurde eieren te verwijderen. Er zijn geen methoden bekend die toelaten incubatoren en uitkipkasten tegen spreiding van infectie te beschermen. Het is echter aan te raden de kasten naar buiten te ventileren en zo weinig mogelijk reproductietomen per broeierijeenheid te gebruiken. Besmette kuikens hebben een betere kans om te overleven wanneer ze warm gehouden en bijtijds gevoederd worden. Een dieet met een hoog eiwitgehalte en voldoende vitamine E blijken overleving te bevorderen (Barnes en Gross, 1997). Verder is het essentieel om een besmetting met APEC vanuit de omgeving te voorkomen door de reductie en controle van intestinale besmetting. Dit kan door competitieve exclusie (CE) (Weinack *et al.*, 1981; La Ragione *et al.*, 2001; Hofacre *et al.*, 2002) waarbij aan eendagskuikens normale bacteriële flora van gezonde volwassen kippen of een monocultuur zoals van *Bacillus subtilis* wordt toegediend. CE steunt op vier principes die alleen of in combinatie het beoogde effect veroorzaken: het creëren van een fysiologisch restrictief milieu waarin pathogene bacteriën minder goed aanslaan, de competitie voor receptorsites, de productie van substanties met antibiotisch effect en de uitputting van essentiële substraten (Schneitz en Mead, 2000). Ook moeten de dieren beschermd worden tegen infecties die het aanslaan van APEC vergemakkelijken. Men moet werken met *Mycoplasma*-vrije kippen (Barnes en Gross, 1997) en de dieren beschermen tegen mycoplasmen en virale ziekten met behulp van vaccinatie (Goren, 1991). De insleep van ziekten moet eveneens voorkomen worden (Goren, 1991), hetgeen kan door een goede stalinfrastructuur, het correcte gebruik van een hygiënesluis en door de bestrijding van ongedierte: de uitwerpselen van knaagdieren zijn immers een bron van pathogene *E. coli* (Barnes en Gross, 1997). Het stalklimaat moet optimaal gehouden worden voor wat betreft hokbezetting, luchtvochtigheid, ventilatie, stof en ammoniak (Goren, 1991; Dho-Moulin en Fairbrother, 1999).

De grote diversiteit onder de APEC-stammen maakt vaccinatie problematisch, en vaccins worden dan ook niet op grote schaal gebruikt. Verschillende vaccins op basis van gedode of levend verzwakte bacteriestammen zijn experimenteel getest. Ze geven over het algemeen een goede bescherming tegen infectie met homologe stammen, maar de bescherming tegen heterologe stammen is minder efficiënt (Dho-Moulin en Fairbrother, 1999). Nochtans wordt er ook melding gemaakt van een geïnactiveerd vaccin dat naast homo-

logie een zekere mate van heterologe bescherming biedt (Melamed *et al.*, 1991). Passieve immunisatie van jonge dieren via de reproductiedieren is effectief gedurende twee weken (Heller *et al.*, 1990), indien de dieren enkel geïnfecteerd worden met homologe stammen. Voor vaccins op basis van virulentiefactoren, zoals pili, geldt eveneens dat ze een effectieve homologe bescherming bieden, dit wil zeggen tegen APEC die deze pili bezitten (Gyimah *et al.*, 1986). Een levend vaccin geproduceerd met een wildtype, niet-pathogene stam met pili (BT-7) was werkzaam wanneer het gebruikt werd bij kuikens ouder dan twee weken. Ook hier werden homologe bescherming en heterologe bescherming vastgesteld (Frommer *et al.*, 1994).

REFERENTIES

- Achtman M., Heuzenroeder M., Kusecek B., Ochman H., Caugant D., Selander R.K., Väisanen-Rhen V., Korhonen T.K., Stuart S., Ørskov F., Ørskov I. (1986). Clonal analysis of *Escherichia coli* O2:K1 isolated from diseased humans and animals. *Infection and Immunity* 51, 268-276.
- Akashi N., Hitotsubashi S., Yamanaka H., Fujii Y., Tsuji T., Miyama A., Joya J.E., Okamoto K. (1993). Production of heat-stable enterotoxin II by chicken clinical isolates of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters* 109, 311-316.
- Barnes H.J., Gross W.B. (1997). Colibacillosis. In: Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R., Saif Y.M. (ed), *Diseases of Poultry*, 10th edition, pp. 131-141. Ames, Iowa; Iowa State University Press.
- Barrow P., Lovell M., Berchieri A. Jr. (1998). Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 5, 294-298.
- Bell C.J., Finlay D.A., Clarke H.J., Taylor M.J., Ball H.J. (2002). Development of a sandwich ELISA and comparison with PCR for the detection of F11 and F165 fimbriated *Escherichia coli* isolates from septicaemic disease in farm animals. *Veterinary Microbiology* 85, 251-257.
- Bisgaard M., Dam A. (1980). Salpingitis in poultry. I. Prevalence, bacteriology and possible pathogenesis in broilers. *Nordisk Veterinaermedicin* 32, 361-368.
- Bisgaard M., Dam A. (1981). Salpingitis in poultry. I. Prevalence, bacteriology and possible pathogenesis in egg-laying chickens. *Nordisk Veterinaermedicin* 33, 81-89.
- Blanco J.E., Blanco M., Mora A., Blanco J. (1997a). Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 2184-2185.
- Blanco J.E., Blanco M., Mora A., Blanco J. (1997b). Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by *Escherichia coli* strains isolated from septicaemic and healthy chickens: relationship with *in vivo* pathogenicity. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 2953-2957.
- Blanco J.E., Blanco M., Mora A., Jansen W.H., Garcia V., Vazquez M.L., Blanco J. (1998). Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (Northwest Spain). *Veterinary Microbiology* 61, 229-235.
- Brée A., Dho M., Lafont J.P. (1989). Comparative infectivity for axenic and specific-pathogen-free chickens of O2 *E. coli* strains with or without virulence factors. *Avian Diseases* 33, 134-139.
- Carlson H.C., Whenham G.R. (1968). Coliform bacteria in chicken broiler house dust and their possible relationship to coli-septicemia. *Avian Diseases* 12, 297-302.
- Carvalho de Moura A., Irino K., Vidotto M.C. (2001). Genetic variability of avian *Escherichia coli* strains evaluated by enterobacterial repetitive intergenic consensus and repetitive extragenic palindromic polymerase chain reaction. *Avian Diseases* 45, 173-181.
- Chansiripornchai N., Ramasoota P., Sasipreeyajan J., Svenson S.B. (2001). Differentiation of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strains by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Veterinary Microbiology* 80, 75-83.
- Chapman P.A., Siddons C.A., Gerdan Malo A.T., Harkin M.A. (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection* 119, 245-250.
- Chérifi A., Contrpois M., Picard B., Goulet P., Ørskov I., Ørskov F. (1994). Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O78 isolates from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 32, 1197-1202.
- Chevillat N.F., Arp L.H. (1978). Comparative pathologic findings of *Escherichia coli* infection in birds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 173, 584-587.
- Cloud S.S., Rosenberger J.K., Fries P.A., Wilson R.A., Odor E.M. (1985). *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. I. Serotypes, metabolic activity, and antibiotic sensitivity. *Avian Diseases* 29, 1084-1093.
- Czirók E., Dho M., Herpay M., Gadó I., Milch H. (1990). Association of virulence markers with animal pathogenicity of *Escherichia coli* in different models. *Acta Microbiologica Hungarica* 37, 207-217.
- Dhillon A.S., Jack O.K. (1996). Two outbreaks of colibacillosis in commercial caged layers. *Avian Diseases* 40, 742-746.
- Dho-Moulin M. (1993). Les *Escherichia coli* pathogènes des volailles. *Annales de Médecine Vétérinaire* 137, 353-357.
- Dho-Moulin M., Brée A., Desautels C., Fairbrother J. (1997). Relationship between presence of the *tsh* and *csgA* genes and virulence in avian *Escherichia coli*. *Abstracts of the 97th General Meeting of the American Society for Microbiology*, 4-8 May, Miami Beach, FL, *American Society for Microbiology*, 75.

- Dho-Moulin M., Fairbrother J.M. (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research* 30, 299-316.
- Doyle M.P., Schoeni J.L. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 2394-2396.
- Dozois C.M., Fairbrother J.M., Harel J., Bosse M. (1992). Pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. *Infection and Immunity* 60, 2648-2656.
- Dozois C.M., Dho-Moulin M., Brée A., Fairbrother J.M., Desautels C., Curtiss R. (2000). Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the *tsh* genetic region. *Infection and Immunity* 68, 4145-4154.
- Elfadil A.A., Vaillancourt J.P., Meek A.H., Julian R.J., Gyles C.L. (1996). Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Diseases* 40, 690-698.
- Emery D.A., Nagaraja K.V., Shaw D.P., Newman J.A., White D.G. (1992). Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticaemia in chickens and turkeys. *Avian Diseases* 36, 504-511.
- Fantinatti F., Silveira W.D., Castro A.F.P. (1994). Characteristics associated with pathogenicity of avian septicemic *Escherichia coli* strains. *Veterinary Microbiology* 41, 75-86.
- Foley S.L., Horne S.M., Giddings C.W., Robinson M., Nolan L.K. (2000). Iss from a virulent avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 44, 185-191.
- Frommer A., Freidlin P.J., Bock R.R., Leitner G., Chaffer M., Heller E.D. (1994). Experimental vaccination of young chickens with a live, non-pathogenic strain of *Escherichia coli*. *Avian Pathology* 23, 425-433.
- Georgiades G., Iordanidis P., Koumbati M. (2001). Cases of swollen head syndrome in broiler chickens in Greece. *Avian Diseases* 45, 745-750.
- Glünder G. (1990). Dermatitis in broilers caused by *Escherichia coli*: isolation of *E. coli* from field cases, reproduction of the disease with *E. coli* O78:K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. *Journal of Veterinary Medicine B* 37, 383-391.
- Góes C.R., Gaziri L.C.J., Vidotto M.C. (1993). Cloned genes of the aerobactin system of virulent avian *Escherichia coli* do not confer virulence to recombinant strains. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 26, 261-275.
- Gomis S.M., Watts T., Riddell C., Potter A.A., Allan B.J. (1997a). Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. *Avian Diseases* 41, 234-240.
- Gomis S.M., Goodhope R., Kumor L., Caddy N., Riddell C., Potter A.A., Allan B.J. (1997b). Isolation of *Escherichia coli* from cellulitis and other lesions of the same bird in broilers at slaughter. *Canadian Veterinary Journal* 38, 159-162.
- Gomis S.M., Riddell C., Potter A.A., Allan B.J. (2001). Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens with simultaneous occurrence of cellulitis and other colibacillosis lesions. *Canadian Journal of Veterinary Research* 65, 1-6.
- Goren E. (1991). Colibacillose bij pluimvee: etiologie, pathologie en therapie. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 116, 1122-1129.
- Gross W.B. (1991). Colibacillosis. In: Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., Reid W.M., Yoder H.W. Jr (ed), *Diseases of Poultry*, 9th edition, pp. 138-144. Ames, Iowa; Iowa State University Press.
- Gross W.B. (1992). Effect of short-term exposure of chickens to corticosterone on resistance to challenge exposure with *Escherichia coli* and antibody response to sheep erythrocytes. *American Journal of Veterinary Research* 53, 291-293.
- Gross W.B., Domermuth C.H. (1975). Colibacillosis. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G., Williams J.E., Editorial Committee for the American Association of Avian Pathologists, Department of Veterinary Microbiology, Texas A&M University (ed.). *Isolation and Identification of Avian Pathogens*, pp. 34-37. Ithaca, New York; Arnold Printing Corporation.
- Gross W.B., Domermuth C.H. (1988). Factors influencing the severity of *Escherichia coli* and avian adenovirus group II infections in chickens. *Avian Diseases* 32, 793-797.
- Gross W.B., Siegel P.B., Hall R.W., Domermuth C.H., DuBoise R.T. (1980). Production and persistence of antibodies in chickens to sheep erythrocytes. 2. Resistance to infectious diseases. *Poultry Science* 59, 205-210.
- Guy J.S., Smith L.G., Breslin J.J., Vaillancourt J.P., Barnes H.J. (2000). High mortality and growth depression experimentally produced in young turkeys by dual infection with enteropathogenic *Escherichia coli* and turkey coronavirus. *Avian Diseases* 44, 105-113.
- Gyimah J.E., Panigrahy B., Williams J.D. (1986). Immunogenicity of an *Escherichia coli* multivalent pilus vaccine in chickens. *Avian Diseases* 30, 687-689.
- Hafez H.M., Löhren U. (1990). Swollen head syndrome: clinical observations and serology in West Germany. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 97, 322-324.
- Hafez H.M., Schulze D., Kösters J. (1997). Surveillance on verotoxin producing *E. coli* in broiler flocks and processing plants. *XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association, Budapest, 18-22 August 1997*, p. 101.
- Harry E.G. (1964). The survival of *E. coli* in the dust of poultry houses. *The Veterinary Record* 76, 466-470.
- Harry E.G., Hemsley L.A. (1965a). The association between the presence of septicaemia strains of *Escherichia coli* in the respiratory and intestinal tracts of chickens and the occurrence of coli septicaemia. *The Veterinary Record* 77, 35-40.
- Harry E.G., Hemsley L.A. (1965b). The relationship between environmental contamination with septicaemia strains of *Escherichia coli*. *The Veterinary Record* 77, 241-245.

- Heller E.D., Leitner G., Drabkin N., Melamed D. (1990). Passive immunisation of chicks against *Escherichia coli*. *Avian Pathology* 19, 345-354.
- Hofacre C.L., Johnson A.C., Kelly B.J., Froyman R. (2002). Effect of a commercial competitive exclusion culture on reduction of colonization of an antibiotic-resistant pathogenic *Escherichia coli* in day-old broiler chickens. *Avian Diseases* 46, 198-202.
- Horwitz M.A., Silverstein S.C. (1980). Influence of *Escherichia coli* capsule on complement fixation and on phagocytosis and killing by human phagocytes. *The Journal of Clinical Investigation* 65, 82-94.
- Huff W.E., Huff G.R., Rath N.C., Balog J.M., Xie H., Moore P.A. Jr., Donoghue A.M. (2002a). Prevention of *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). *Poultry Science* 81, 437-441.
- Huff W.E., Huff G.R., Rath N.C., Balog J.M., Donoghue A.M. (2002b). Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with a bacteriophage aerosol spray. *Poultry Science* 81, 1486-1491.
- Irwin R.J., McEwen S.A., Clarke R.C., Meek A.H. (1989). The prevalence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* and antimicrobial resistance patterns of nonverocytotoxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* in Ontario broiler chickens. *Canadian Journal of Veterinary Research* 53, 411-418.
- Janssen T., Schwarz C., Preikschat P., Voss M., Philipp H.-C., Wieler L.H. (2001). Virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from internal organs of poultry having died from colibacillosis. *International Journal of Medical Microbiology* 291, 371-378.
- Jorge M.A., da Silva E.N., de Castro A.F.P., de Oliveira R.L., de Resende J.S. (1988). Pathogenicity factors in *Escherichia coli* isolated from chicken. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootécnica* 40, 35-48.
- Kariuki S., Gilks C., Kimari J., Muyodi J., Getty B., Hart C.A. (2002). Carriage of potentially pathogenic *Escherichia coli* in chickens. *Avian Diseases* 46, 721-724.
- Kohlert R. (1968). Untersuchungen zur Ätiologie der Eileiterentzündung beim Huhn. *Monatshefte für Veterinärmedizin* 23, 392-395.
- La Ragione R.M., Casula G., Cutting S.M., Woodward M.J. (2001). *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry. *Veterinary Microbiology* 79, 133-142.
- La Ragione R.M., Collighan R.J., Woodward M.J. (1999). Non-curliation of *Escherichia coli* O78:K80 isolates associated with IS1 insertion in *csdB* and reduced persistence in poultry infection. *FEMS Microbiology Letters* 175, 247-253.
- Leitner G., Heller E.D. (1992). Colonization of *Escherichia coli* in young turkeys and chickens. *Avian Diseases* 36, 211-220.
- Leitner G., Melamed D., Drabkin N., Heller E.D. (1990). An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Escherichia coli*: association between indirect hemagglutination test and survival. *Avian Diseases* 34, 58-62.
- Linggood M.A., Roberts M., Ford S., Parry S.H., Williams P.H. (1987). Incidence of the aerobactin iron uptake system among *Escherichia coli* isolates from infections of farm animals. *The Journal of General Microbiology* 133, 835-842.
- Marc D., Arné P., Brée A., Dho-Moulin M. (1998). Colonization ability and pathogenic properties of a *fim*-mutant of an avian strain of *Escherichia coli*. *Research in Microbiology* 149, 473-485.
- McGruder E.D., Moore G.M. (1998). Use of lipopolysaccharide (LPS) as a positive control for the evaluation of immunopotentiating drug candidates in experimental avian colibacillosis models. *Research in Veterinary Science* 66, 33-37.
- Melamed D., Leitner G., Heller E.D. (1991). A vaccine against avian colibacillosis based on ultrasonic inactivation of *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 35, 17-22.
- Morley A.J., Thomson D.K. (1984). Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian Diseases* 28, 238-243.
- Morris M. (1989). Poultry Health Issue. *Poultry Times* 3, 11.
- Nakamura K., Mase M., Tanimura N., Yamaguchi S., Yuasa N. (1998). Attempts to reproduce swollen head syndrome in specific pathogen-free chickens by inoculating with *Escherichia coli* and/or turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathology* 27, 21-27.
- Ngeleka M., Kwaga J.K., White D.G., Whittam T.S., Riddell C., Goodhope R., Potter A.A., Allan B. (1996). *Escherichia coli* cellulitis in broiler chickens: clonal relationships among strains and analysis of virulence-associated factors of isolates from diseased birds. *Infection and Immunity* 64, 3118-3126.
- Norton R.A., Macklin K.S., McMurtrey B.L. (2000). The association of various isolates of *Escherichia coli* from the United States with induced cellulitis and colibacillosis in young broiler chickens. *Avian Pathology* 29, 571-574.
- Onderka D.K., Hanson J.A., McMillan K.R., Allan B. (1997). *Escherichia coli* associated cellulitis in broilers: correlation with systemic infection and microscopic visceral lesions, and evaluation for skin trimming. *Avian Diseases* 41, 935-940.
- Orndorff P.E., Bloch C.A. (1990). The role of type 1 pili in the pathogenesis of *Escherichia coli* infections: a short review and some new ideas. *Microbial Pathogenesis* 9, 75-79.
- Parreira V.R., Arns C.W., Yano T. (1998). Virulence factors of avian *Escherichia coli* associated with swollen head syndrome. *Avian Pathology* 27, 148-154.
- Parreira V.R., Yano T. (1998). Cytotoxin produced by *Escherichia coli* isolated from chickens with swollen head syndrome (SHS). *Veterinary Microbiology* 62, 111-119.
- Pfaff-McDonough S.J., Horne S.M., Giddings C.W., Ebert J.O., Doetkott C., Smith M.H., Nolan L.K. (2000). Complement resistance-related traits among *Escherichia coli* isolates from apparently healthy birds and birds with colibacillosis. *Avian Diseases* 44, 23-33.
- Picault J.P., Giraud P., Drouin P., Guittet M., Bennejean G., Lamande J., Toquin D., Gueguen C. (1987). Isolation of

- a TRTV-like virus from chickens with swollen-head syndrome. *The Veterinary Record* 121, 135.
- Pourbakhsh S.A., Boulianne M., Martineau-Doizé B., Dozois C.M., Desautels C., Fairbrother J.M. (1997a). Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens. *Avian Diseases* 41, 221-233.
- Pourbakhsh S.A., Boulianne M., Martineau-Doizé B., Fairbrother J.M. (1997b). Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens. *Veterinary Microbiology* 58, 195-213.
- Radu S., Ling O.W., Rusul G., Karim M.I., Nishibuchi M. (2001). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR and their characterization by plasmid profiling, antimicrobial resistance, RAPD and PFGE analyses. *Journal of Microbiological Methods* 46, 131-139.
- Rosenberger J.K., Fries P.A., Cloud S.S., Wilson R.A. (1985). *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. II. Factors associated with pathogenicity. *Avian Diseases* 29, 1094-1107.
- Salvadori M.R., Yano T., Carvalho H.F., Parreira V.R., Gyles C.L. (2001). Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 45, 43-51.
- Schneitz C., Mead G. (2000). Competitive exclusion. In: Wray C., Wray A. (eds), *Salmonella in Domestic Animals*. Wallingford; CAB International.
- Sojka W.J., Carnaghan R.B.A. (1961). *Escherichia coli* infection in poultry. *Research in Veterinary Science* 2, 340-352.
- Stavric S., Buchanan B., Gleeson T.M. (1993). Intestinal colonization of young chicks with *Escherichia coli* O157:H7 and other verotoxin-producing serotypes. *The Journal of Applied Bacteriology* 74, 557-563.
- Stordeur P., Mainil J. (2002). La colibacillose aviaire. *Annales de Médecine Vétérinaire* 146, 11-18.
- Stordeur P., Marlier D., Blanco J., Oswald E., Biet F., Dho-Moulin M., Mainil J. (2002). Examination of *Escherichia coli* from poultry for selected adhesin genes important in disease caused by mammalian pathogenic *E. coli*. *Veterinary Microbiology* 84, 231-241.
- Truscott R.B., Lopez-Alvarez J., Pettit J.R. (1974). Studies of *Escherichia coli* infection in chickens. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 38, 160-167.
- Tsuji T., Joya J.E., Honda T., Miwatani T. (1990). A heat-labile enterotoxin (LT) purified from chicken enterotoxigenic *Escherichia coli* is identical to porcine LT. *FEMS Microbiology Letters* 55, 329-332.
- Vandemaële F., Vereecken M., Derijcke J., Goddeeris B.M. (2002). Incidence and antibiotic resistance of pathogenic *Escherichia coli* among poultry in Belgium. *The Veterinary Record* 151, 355-356.
- Weinack O.M., Snoeyenbos G.H., Smyser C.F., Soerjadi A.S. (1981). Competitive exclusion intestinal colonization of *Escherichia coli* in chicks. *Avian Diseases* 25, 696-705.
- White D.G., Wilson R.A., Gabriel A.S., Saco M., Whittam T.S. (1990). Genetic relationships among strains of avian *Escherichia coli* associated with swollen-head syndrome. *Infection and Immunity* 58, 3613-3620.
- White D.G., Dho-Moulin M., Wilson R.A., Whittam T.S. (1993). Clonal relationships and variation in virulence among *Escherichia coli* strains of avian origin. *Microbial Pathogenesis* 14, 399-409.
- Whittam T.S., Wilson R.A. (1988). Genetic relationships among pathogenic strains of avian *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* 56, 2458-2466.
- Wooley R.E., Nolan L.K., Brown J., Gibbs P.S., Giddings C.W., Turner K.S. (1993). Association of K-1 capsule, smooth lipopolysaccharides, *traT* gene, and Colicin V production with complement resistance and virulence of avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 37, 1092-1096.
- Yogarathnam V. (1995). Analysis of the causes of high rates of carcass rejection at a poultry processing plant. *The Veterinary Record* 137, 215-217.
- Zanella A., Alborali G.L., Bardotti M., Candotti P., Guadagnini P.F., Anna Martino P., Stonfer M. (2000). Severe *Escherichia coli* O111 septicaemia and polyserositis in hens at the start of lay. *Avian Pathology* 29, 311-317.