

平成 28 年度人獣共通感染症調査報告書

名古屋市で飼育されている犬の糞便中の病原性大腸菌の保有調査

1. はじめに

大腸菌は健康な人や動物の腸管内に生息する細菌であるが、人における腸管出血性大腸菌 O157 など、ある種の大腸菌は人や動物に下痢などの症状を引き起こす人獣共通感染症として知られている。病原性大腸菌は下痢原性大腸菌（腸管内病原性大腸菌）と腸管外病原性大腸菌に大別される。病原性大腸菌の感染は、汚染された水や飲食物を介した経口感染がほとんどであり、家畜の排泄物に汚染された水や食肉などを介した腸管出血性大腸菌 O157 などの人への感染例がたびたび報告されている。一方、腸管外病原性大腸菌は非経口的に感染し、人や動物において感染臓器に障害を及ぼすことが知られている。

人の身近な存在である伴侶動物は人獣共通感染症の伝搬に寄与する可能性があるため、伴侶動物において病原性大腸菌の保有状況を知ることは重要である。伴侶動物である犬では糞便中に病原性大腸菌を保有していることは分かっているが、その保有状況や人への影響については十分に分かっていない¹⁻³。今回、効果的な人獣共通感染症対策に資することを目的に、名古屋市内で飼育されている犬の飼養実態調査とともに、下痢原性大腸菌および腸管外病原性大腸菌の分布状況について調査したので、その公衆衛生上の知見を報告する。

2. 材料と方法

2.1. 検体

平成 28 年 11 月 8 日～12 月 9 日の期間に、名古屋市内の動物病院に来院した犬の直腸スワブ 112 検体（各区 7 検体）を供試した。糞便中の病原性大腸菌検査は、鳥取大学農学部共同獣医学科に検査委託した。

2.2. 大腸菌の分離及び同定

スワブを DHL 寒天培地（栄研化学）に塗抹後に一晚培養し、典型的な性状を示す赤色コロニーを採取した。さらに、そのコロニーをクロモアガーオリエンタシオン培地（関東化学）に塗抹後培養し、典型的な性状を示す薄紫色コロニーを採取した。その後、市販の菌種同定キットである Api20E（シスメックス・ビオメリュー）を用いて、採取した菌株（1 菌株/検体）を大腸菌と同定した。同定後の菌株は 10% スキムミルクに浮遊させた後に、-80℃にて保管した。

2.3. PCR による病原性遺伝子の検出

保管しておいた菌株を寒天培地に塗抹し得られたコロニーを 3~4 個採取した。そのコロニーを滅菌蒸留水に浮遊させ 10 分間煮沸処理を行った。その後、12000 rpm で 5 分間遠心処理を行い得られた上清を DNA テンプレートとした。

下痢原性病原遺伝子の検出は、Fujioka らのプロトコール⁴に準拠したマルチプレックス PCR により行った。合計 25 µl の PCR 混合液とし、その組成には 5.0 µl の DNA テンプレート、1×ExTaq Buffer、2.0 mM MgCl₂、200 µM dNTP、0.25 µM *stx1* フォワード/リバープライマー (F/R)、0.20 µM *stx2* F/R、0.25 µM *eae* F/R、0.25 µM *bfpA* F/R、0.20 µM *aggR* F/R、0.10 µM *elt* F/R、0.20 µM *esth* F/R、0.5 µM

estp F/R、0.50 μ M *invE* F/R、0.25 μ M *astA* F/R 及び 1.25 U ExTaq (タカラバイオ) が含有された。PCR の条件は、初期熱変性 94°C 1 分の後、熱変性、アニーリングおよび伸長反応をそれぞれ 94°C で 1 分、55°C で 1 分、72°C で 1 分を 1 セットとして 35 サイクル行い、最終伸長は 72°C で 10 分実施した。全ての PCR 産物は、エチジウム・ブロマイドを添加した 2%アガロースゲルで電気泳動を行い、UV トランスイルミネーターを用いて目的とする遺伝子断片の増幅が確認されたものを陽性と判定した。各プライマーの遺伝子配列および産物の大きさは表 1 に示した通りである。

腸管外病原性遺伝子の検出は、Yamamoto らのプロトコール⁵に準拠したマルチプレックス PCR によ

表 1. 下痢原性病原遺伝子検出用プライマー

対象遺伝子	プライマー名	塩基配列 (5'末端から 3'末端)	PCR 産物の大きさ (bp)
<i>stx1</i>	<i>stx1</i> F	AGTTAATGTGGTGGCGAAGG	347
	<i>stx1</i> R	CACCAGACAATGTAACCGC	
<i>stx2</i>	<i>stx2</i> F	TTCGGTATCCTATTCCCGG	589
	<i>stx2</i> R	CGTCATCGTATACACAGGAG	
<i>eae</i>	<i>eae</i> F	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC	881
	<i>eae</i> R	CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCCG	
<i>bfpA</i>	<i>bfpA</i> F	AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC	324
	<i>bfpA</i> R	GCCGCTTTATCCAACCTGGTA	
<i>aggR</i>	<i>aggR</i> F	GTATACACAAAAGAAGGAAGC	254
	<i>aggR</i> R	ACAGAATCGTCAGCATCAGC	
<i>elt</i>	<i>elt</i> F	AACGTTCCGGAGGTCTTATG	511
	<i>elt</i> R	CAACCTTGTGGTGCATGATG	
<i>esth</i>	<i>esth</i> F	TTCACCTTTCCCTCAGGATG	172
	<i>esth</i> R	ATAGCACCCGGTACAAGCAG	
<i>estp</i>	<i>estp</i> F	ACTGAATCACTTGACTCTTCA	120
	<i>estp</i> R	TCACAGCAGTAAAATGTGTTGT	
<i>invE</i>	<i>invE</i> F	GCAGGAGCAGATCTTGAAG	208
	<i>invE</i> R	GAAAGGCACGAGTGACTTTC	
<i>astA</i>	<i>astA</i> F	CCATCAACACAGTATATCCG	101
	<i>astA</i> R	ACGGCTTTGTAGTCCTTCCA	

り行った。合計 25 μ l の PCR 混合液とし、その組成には 2.5 μ l の DNA テンプレート、1 \times ExTaq Buffer、1.25 mM MgCl₂、250 μ M dNTP、0.4 μ M *pap* F/R、0.4 μ M *sfa* F/R、0.4 μ M *afa* F/R、0.6 μ M *hly* F/R、0.4 μ M *aer* F/R、0.4 μ M *cnf* F/R 及び 1.0 U ExTaq (タカラバイオ) が含有された。PCR の条件は、初期熱変性 94°C 3 分の後、熱変性、アニーリングおよび伸長反応をそれぞれ 94°C で 1 分、63°C で 30 秒、72°C で 3 分を 1 セットとして 30 サイクル行い、最終伸長は 72°C で 7 分実施した。全ての PCR 産物は、エチジウム・ブロマイドを添加した 2%アガロースゲルで電気泳動を行い、UV トランスイルミネーター

を用いて目的とする遺伝子断片の増幅が確認されたものを陽性と判定した。各プライマーの遺伝子配列および産物の大きさは表 2 に示した通りである。

表 2. 腸管外病原性遺伝子検出用プライマー

対象遺伝子	プライマー名	塩基配列 (5' 末端から 3' 末端)	PCR 産物の大きさ (bp)
<i>pap</i>	<i>pap3</i>	GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT	336
	<i>pap4</i>	AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA	
<i>sfa</i>	<i>sfa1</i>	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	410
	<i>sfa2</i>	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA	
<i>afa</i>	<i>afa1</i>	GCTGGGCAGCAAACCTGATAACTCTC	750
	<i>afa2</i>	CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG	
<i>hly</i>	<i>hly1</i>	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	1177
	<i>hly2</i>	ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA	
<i>aer</i>	<i>aer1</i>	TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT	602
	<i>aer2</i>	AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG	
<i>cnf</i>	<i>cnf1</i>	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	498
	<i>cnf2</i>	CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT	

2.4. 調査対象犬の環境調査

調査対象となる犬について、以下の項目の調査を実施した

(1) 飼育動物

- ① 犬種
- ② 性別： 雄 雌 去勢雄 避妊雌
- ③ 年齢
- ④ マイクロチップ： 装着 装着無し 不明
- ⑤ 狂犬病ワクチン接種歴（今年度）： 接種 未接種 不明
- ⑥ 混合ワクチン接種歴： 接種（1年以内） 接種（3年以内） 未接種 不明
- ⑦ 消化器疾患以外の既往歴
- ⑧ 抗生物質の投与歴： 有 無 不明
- ⑨ 現在の食欲： 食欲あり 食欲なし
- ⑩ 便の状態： 良便 下痢便

(2) 飼育状況

- ① 飼育場所： 完全室内飼育 室内と屋外を出入り 完全屋外飼育
- ② 食餌内容： ドライフード 缶詰 ドライフードと缶詰 その他
- ③ トイレの場所： 室内 屋外 室内と屋外
- ④ 同居の動物： 犬 猫 犬と猫 その他 無

(3) 飼育者の住居

- ① 住居区
- ② 住居：□一戸建 □マンション・アパート □その他

(4) 飼育者と飼育動物との関係（これまで経験のあるものを回答）

- ① 飼育動物に咬まれる：□有 □無
- ② 飼育動物に引っかかる：□有 □無
- ③ 飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする：□有 □無
- ④ 飼育動物と同じ寝具で眠る：□有 □無

2.5. 統計

病原性大腸菌の陽性率に関連する因子の抽出として、陽性群と陰性群に分けて 2 群間の飼育動物と飼育状況の各調査項目について単変量解析で評価した。各因子は自然区分により 2 区分変数に変換し、フィッシャーの正確確率検定を行い、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

3. 結果

3.1. 犬糞便における大腸菌の保有状況

採取された犬直腸スワブ 112 検体のうち 109 検体から大腸菌が分離された。

3.2. 犬糞便由来大腸菌における下痢原性病原遺伝子の保有状況

下痢原性病原遺伝子の検出結果を表 3 に記載する。分離された 109 株の糞便由来大腸菌のうち、*stx2*（志賀毒素遺伝子）のみを保有する腸管出血性大腸菌（EHEC）が 2 株（1.8%）、*eae*（インチミン）のみを保有する腸管病原性大腸菌（EPEC）が 3 株（2.8%）、*astA*（耐熱性毒素遺伝子）のみを有するその他の病原性大腸菌が 4 株（3.7%）検出された。

表 3. 犬糞便由来大腸菌 109 株における下痢原性病原遺伝子の保有状況

EHEC		EPEC		EAggEC		ETEC		EIEC	Others
<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>bfpA</i>	<i>aggR</i>	<i>elt</i>	<i>esth</i>	<i>estp</i>	<i>invE</i>	<i>astA</i>
0 (0)	2 (1.8)	3 (2.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (3.7)

EHEC：腸管出血性大腸菌、EPEC：腸管病原性大腸菌、EAggEC：腸管凝集付着性大腸菌、EIEC：腸管侵入性大腸菌、Others：他の下痢原性大腸菌

3.3. 犬糞便由来大腸菌における腸管外病原性遺伝子の保有状況

腸管外病原性遺伝子の検出結果を表 4 に記載する。調査対象とした遺伝子のうち、*sfa*（S 線毛）が最も多く検出され、56 株（51.4%）が保有していた。次いで、*cnf*（細胞毒性壊死因子）が 37 株（33.9%）に、*pap*（腎盂腎炎関連線毛）が 33 株（30.3%）に、*aer*（エアロバクチン）が 25 株（22.9%）に、*hly*（ヘモリシン）が 23 株（21.1%）に、それぞれ検出された。

表 4. 犬糞便由来大腸菌 109 株における腸管外病原性遺伝子の保有状況

<i>pap</i>	<i>sfa</i>	<i>afa</i>	<i>hly</i>	<i>aer</i>	<i>cnf</i>
33 (30.3)	56 (51.4)	0 (0)	23 (21.1)	25 (22.9)	37 (33.9)

3.4. 調査票の集計

(1) 飼育動物

①犬種：トイ・プードル 19 頭、ミニチュア・ダックスフンド 13 頭、チワワ 11 頭、柴 8 頭、ゴールデン・レトリバー、雑種が各 6 頭、ポメラニアン、マルチーズ、シェットランド・シープドッグが各 4 頭、パピヨン、ジャック・ラッセル・テリア、パグ、ウェルッシュ・コーギーが各 3 頭、ヨークシャー・テリア、シーズー、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル、秋田、イタリアン・グレーハウンド、ミニチュア・ピンシャー、ミニチュア・シュナウザーが各 2 頭、イングリッシュ・スプリンガー・スパニエル、イングリッシュ・コッカー・スパニエル、ダルメシアン、ビーグル、ボストン・テリア、ドーベルマン、日本スピッツ、ボーダー・コリー、ラブラドル・レトリバー、スタンダード・プードル、フラット・コートド・レトリバーが各 1 頭であった。

②性別：雄 22 頭 (19.6%)、雌 19 頭 (17.0%)、去勢雄 34 頭 (30.4%)、避妊雌 37 頭 (33.0%) であった。

③年齢：中央値 8.7 歳 (範囲 0.3~17.8 歳) であった。

④マイクロチップ：装着 27 頭 (24.1%)、装着無し 80 頭 (71.4%)、不明 5 頭 (4.5%) であった。

⑤狂犬病ワクチン接種歴 (平成 28 年度)：接種 96 頭 (85.7%)、未接種 12 頭 (10.7%)、不明 4 頭 (3.6%) であった。

⑥混合ワクチン接種歴：接種 1 年以内 94 頭 (83.9%)、接種 3 年以内 5 頭 (4.5%)、未接種 11 頭 (9.8%)、不明 2 頭 (1.8%) であった。

⑦消化器疾患以外の既往歴：有 38 頭 (33.9%) で内訳は皮膚疾患 7 頭、アレルギー性疾患、泌尿器疾患 (結石症 4 頭、膀胱炎 1 頭) が各 5 頭、外耳炎、腫瘍疾患 (扁平上皮癌 2 頭、乳腺腫瘍、口腔内腫瘍各 1 頭)、心臓疾患が各 4 頭、肝疾患、脳神経疾患 (脊髄脳炎、椎間板ヘルニア各 1 頭)、膝蓋骨脱臼が各 2 頭、気管支炎、糖尿病、鼻炎、その他が各 1 頭であった。

⑧抗生物質の投与歴：有 65 頭 (58.0%)、無 34 頭 (30.4%)、不明 13 頭 (11.6%) であった。

⑨現在の食欲：食欲あり 107 頭 (95.5%)、食欲なし 5 頭 (4.5%) であった。

⑩便の状態：良便 104 頭 (92.9%)、下痢便 8 頭 (7.1%) であった。

(2) 飼育状況

①飼育場所：完全室内飼育 92 頭 (82.1%)、室内と屋外を出入り 18 頭 (16.1%)、完全屋外飼育 2 頭 (1.8%) であった。

②食餌内容：ドライフード 81 頭 (72.3%)、缶詰 6 頭 (5.4%)、ドライフードと缶詰 11 頭 (9.8%)、その他 14 頭 (12.5%) であった。

③トイレの場所：室内 40 頭 (35.7%)、屋外 34 頭 (30.4%)、室内と屋外 38 頭 (33.9%) であった。

④同居の動物：犬 30 頭 (26.8%)、猫 10 頭 (8.9%)、犬と猫 8 頭 (7.1%)、その他 22 頭 (19.6%)、無 42 頭 (37.5%) であった。

(3) 飼育者の住居

①住居区：各区 7 頭であった。

②住居：一戸建 78 頭 (69.6%)、マンション・アパート 34 頭 (30.4%) であった。

(4) 飼育者と飼育動物との関係（これまで経験のあるものを回答）

①飼育動物に咬まれる：有 81 頭 (72.3%)、無 31 頭 (27.7%) であった。

②飼育動物に引っかかる：有 94 頭 (83.9%)、無 18 頭 (16.1%) であった。

③飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする：有 85 頭 (75.9%)、無 27 頭 (24.1%) であった。

④飼育動物と同じ寝具で眠る：有 65 頭 (58.0%)、無 47 頭 (42.0%) であった。

3.5. 犬糞便由来大腸菌における下痢原性病原遺伝子および腸管外病原性遺伝子の保有状況と環境要因

下痢原性病原遺伝子および腸管外病原性遺伝子の保有状況と環境要因との関連を表 5 に示す。下痢原性病原遺伝子において、3 年を超えて混合ワクチン接種の無い犬のオッズ比は 5.81 と有意に陽性率が高かった (95%信頼区間：1.22-27.74、 $p=0.045$)。

4. 考察

名古屋市の飼い犬 112 頭のうち下痢原性病原遺伝子が検出されたのは 9 頭 (8.0%) と、下痢原性大腸菌の保有率は非常に低いことが今回の調査で明らかとなった。したがって、少なくとも名古屋市の飼い犬は下痢原性大腸菌の人にとって主要なリザーバーではないことが示唆される。同様の調査は、これまで国内では東京都で犬の糞便における下痢原性大腸菌の保有状況が報告されているだけである¹。この報告では腸管毒素原性大腸菌 (EPEC) のみが 10.3%の割合で検出されており、EPEC に加え腸管出血性大腸菌 (EHEC) などが検出された今回の結果と比較するとやや傾向が異なる。このような傾向の違いの要因として、地域差によるもの (東京都と名古屋市) や調査対象施設 (主として動物飼養施設と動物病院) が異なることが挙げられる。また、同報告の中では動物飼養施設内 (ブリーダーなど) の犬間で下痢原性大腸菌の水平伝播が生じることも併せて報告されている。こうした水平伝播は病原性大腸菌の保有率に大きな影響を与えると思われるが、今回の調査では同居犬の存在が保有率に影響を与えない傾向がみられたことから、伴侶動物の環境下では水平伝播の影響はそれほど重要ではない可能性が高い。しかしながら、今後、名古屋市でもブリーダーなどで同様の調査を行い今回の結果と比較検討することで、地域差や水平伝播についての意義のある知見が得られるかもしれない。他に病原性大腸菌の保有率に影響を与える因子としては、下痢の犬で高率に病原性大腸菌がみられるとの報告がある⁶。今回の調査では、下痢の犬は 8 頭と少ないものの、いずれの動物でも下痢原性病原遺伝子は検出されなかった。一方で、ワクチン未接種の動物ではオッズ比 5.81 と高率に下痢原性病原遺伝子が検出されることが明らかになった。これは犬へのワクチン接種が病原性大腸菌の保有に影響するというよりは、ワクチン接種をしない動物の飼育環境要因がこの結果に影響を与えたのかもしれない。このように、これまでの研究はサンプル数が少なく交絡因子の影響を加味されていないため、特定の影響要因を決定するにはいずれの結果の信頼性は高くないと思われる。この解明のためには集積された大規模調査が必要であろう。

表 5. 下痢原性病原遺伝子のおよび腸管外病原性遺伝子の保有状況と環境要因

要因	頭数	下痢原性病原遺伝子			腸管外病原性遺伝子			
		陽性数		<i>p</i> 値	陽性数		<i>p</i> 値	
飼育動物								
性別	雄	56	2	12.5%	0.16	41	73.2%	1.00
	雌	56	7	3.6%		42	75.0%	
中性化	無	41	5	12.2%	0.28	30	73.2%	1.00
	有	71	4	5.6%		53	74.6%	
年齢	≤8 歳	56	4	7.1%	1.00	45	80.4%	0.20
	>8 歳	56	5	8.9%		38	67.9%	
マイクロチップ	無	80	8	10.0%	0.44	59	73.8%	0.80
	有	27	1	3.7%		21	77.8%	
ワクチン：狂犬病	無	12	2	16.7%	0.21	6	50.0%	0.08
	有	96	6	6.3%		73	76.0%	
ワクチン：混合	無 (>3 年)	11	3	27.3%	0.045 [†]	10	90.0%	0.28
	有	99	6	6.1%		72	72.7%	
既往疾患	無	74	6	8.1%	1.00	58	78.4%	0.18
	有	38	3	7.9%		25	65.8%	
抗生物質の使用歴	無	35	3	8.6%	0.69	27	77.1%	0.64
	有	65	4	6.2%		46	70.8%	
食欲	無	5	0	0.0%	-	3	60.0%	0.60
	有	107	9	8.4%		80	74.8%	
下痢	無	104	9	8.7%	-	79	76.0%	0.20
	有	8	0	0.0%		4	50.0%	
飼育状況								
飼育環境	完全室内	92	8	8.7%	1.00	71	77.2%	0.16
	他	20	1	5.0%		12	60.0%	
食餌	完全ドライ	81	7	8.6%	1.00	61	75.3%	0.64
	他	31	2	6.5%		22	71.0%	
トイレ環境	完全室内	40	5	12.5%	0.27	30	75.0%	1.00
	他	72	4	5.6%		53	73.6%	
同居動物・他の犬	無	74	7	9.5%	0.72	51	68.9%	0.11
	有	38	2	5.3%		32	84.2%	

† 有意水準、 $p < 0.05$

名古屋市の飼い犬では腸管外病原性遺伝子を 83 頭 (74.1%) が保有しており、下痢原性病原遺伝子よりも高率に保有することが明らかとなった。これまで犬由来大腸菌において、下痢原性病原遺伝子と腸管外病原性遺伝子を同時に調査した報告はないが、過去の報告でもやはり犬糞由来大腸菌における腸管外病原性遺伝子の保有率は比較的高い。国内の犬の糞由来大腸菌 (n=30) における *pap*, *hly*, *cnf*, *sfa*, 及び *aer* の保有率はそれぞれ 32%、31%、30%、27% 及び 6% であったとの報告や²、健康犬 (n=34) の糞由来大腸菌で、*sfa*, *pap*, *hly*, *cnf* 及び *aer* の保有率はそれぞれ 32.4%、26.5%、26.5%、26.5% 及び 11.8% であったとの報告がある³。これらの報告と比較すると、今回の病原遺伝子検出率はほぼ同等な傾向にあ

ると言える。犬が保有する腸管外病原性大腸菌が家族に伝播し感染症を発症させたことを直接的に証明した報告は現時点では存在しないが、飼い犬と家族間の共有化を証明した報告は少なからず存在している³⁷。今回の調査でも、飼育者と飼育動物との関係の調査項目はいずれも高い割合で過度な接触を示すものであった。家庭内での伝播を可能な限り低減させるためにも、日々の家庭内での衛生管理（手指消毒やこまめなトイレの清掃など）はもちろんのこと、飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をすることや同じ寝具で眠るなど、動物との過度な接触を避けることを心がけることが推奨される。

5. 参考文献

1. 畠山薫、奥野ルミ、小西典子、下島優香子、尾畑浩魅、遠藤美代子、柳川義勢. ペット動物における病原大腸菌の保有実態調査. 東京健安研セ年報. 57: 77-81, 2006.
2. Yuri K, Nakata k, Katae H, Yamamoto S, Hasegawa A. Distribution of uropathogenic virulence factors among *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats. J Vet Med Sci. 60: 287-290, 1998.
3. Harada K, Okada E, Shimizu T, Kataoka Y, Sawada T, Takahashi T. Antimicrobial resistance, virulence profiles, and phylogenetic groups of fecal *Escherichia coli* isolates: A comparative analysis between dogs and their owners in Japan. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 35: 139-144, 2012.
4. Fujioka M, Otomo Y, Ahsan CR (2013) A novel single-step multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli*. J Microbiol Methods. 92: 289-92, 2013.
5. 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.12: 85-90, 1995.
6. Hammermueller J, Kruth S, Prescott J, Gyles C. Detection of toxin genes in *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. Can J Vet Res. 59:265-70, 1995.
7. Johnson JR, Clabots C. Sharing of virulent *Escherichia coli* clones among household members of a woman with acute cystitis. Clin Infect Dis. 2006, 43: e101-108.