



HAL
open science

ROLE DES SOUCHES D'ESCHERICHIACOLI NON ENTEROTOXINOGENES (K99-, ST-) DANS LA PATHOLOGIE-NEONATALE DU VEAU

J. de Rycke

► **To cite this version:**

J. de Rycke. ROLE DES SOUCHES D'ESCHERICHIACOLI NON ENTEROTOXINOGENES (K99-, ST-) DANS LA PATHOLOGIE-NEONATALE DU VEAU. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1984, 15 (1), pp.75-95. hal-00901480

HAL Id: hal-00901480

<https://hal.science/hal-00901480>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

**RÔLE DES SOUCHES D'ESCHERICHIA COLI
NON ENTEROTOXINOGENES (K99⁻, ST⁻)
DANS LA PATHOLOGIE-NEONATALE DU VEAU.**

J. DE RYCKE

Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Pathologie de la Reproduction, Nouzilly, 37380 Monnaie, France

Summary

ROLE OF NON-ENTEROTOXIGENIC (K 99⁻, ST⁻) STRAINS OF *ESCHERICHIA COLI* IN THE NEWBORN CALF. REVIEW. — Enterotoxigenic strains of *Escherichia coli* have been extensively studied over the last ten years, especially in the calf. On the other hand, septicemic strains have received much less attention during the same period, in spite of a lack of information about their pathogenicity in the calf and about the attributes of their virulence. Virulence of septicemic *E. coli* includes invasion from the portal entry into the blood, multiplication in blood and organs, resistance to phagocytosis and lethal action of serum, and production of lesions by toxins. Most information obtained recently concerns the last phases of microbial pathogenicity, i.e. multiplication and production of lesions. Antigens K are considered to be mainly responsible for the resistance to phagocytosis. Antigens O would play the major role, qualitatively and quantitatively, in the resistance to bactericidal effect of serum. The ability to grow in iron-deficient medium would constitute a decisive advantage. This ability is attributed to proteins of the outer membrane, some of them being coded by plasmids. Endotoxin is the basic toxic principle that accounts for the production of lesions in the host. It is generally admitted that its toxic effect is due to the lipid A portion of LPS. The biochemical composition of lipid A being very homogeneous in *Enterobacteriaceae*, its pathological effect is considered to be directly related to the concentration in serum, i.e. without specific endotoxic activity exerted by some serotypes. Numerous clinical and experimental arguments suggest the occurrence of an enterotoxemic form of colibacillosis in calves. Enterotoxemic colibacillosis would result from the strictly intestinal multiplication of some strains of *E. coli* and the systemic diffusion of corresponding endotoxins. Such a syndrome has been well-documented in piglets, namely œdema disease. Œdema disease is attributed to a limited number of serotypes. Experimental reproduction has led to the evidence that two toxic principles are needed to fully produce the disease: the endotoxin and a neurotoxin, called EDP. These results, together with observations on humans and other animal species, raise two major questions: 1) what are the circumstances that favour the passage of endotoxins through intestinal epithelium? 2) could a specific endotoxic activity be attributed to some serotypes of *E. coli*?

Plan

Les souches à caractères septicémique

1. *Les données classiques chez le veau*
 - 1.1. Description clinique et nécropsique
 - 1.2. Facteurs liés à la bactérie
 - 1.3. Facteurs liés à l'hôte
 - 1.3.1. *l'âge*
 - 1.3.2. *l'état immunitaire*
2. *Analyse du pouvoir pathogène des souches septicémiques*
 - 2.1. Structure de la membrane externe d'*E. coli*
 - 2.2. Multiplication dans l'organisme
 - 2.2.1. *résistance à la phagocytose*
 - 2.2.2. *résistance à l'action bactéricide du sérum*
 - 2.2.3. *aptitude à capter le fer*
 - 2.2.4. *étude particulière de la virulence associée au plasmide colV*
 - 2.3. Le pouvoir toxique
 - 2.3.1. *les endotoxines*
 - 2.3.2. *les hémolysines*
 - 2.3.3. *la toxine Vir*
 - 2.4. Synthèse

L'hypothèse entérotoxémique

1. *L'entérotoxémie colibacillaire du porc, comme modèle d'étude*
2. *Les arguments concernant le veau*

Conclusions

Escherichia coli est une bactérie commensale du tube digestif de l'homme et des animaux, en général dépourvue de virulence. Néanmoins, certaines souches sont capables d'exercer une action pathogène envers l'hôte qui les héberge. Les modalités du pouvoir pathogène de *E. coli* sont très diversifiées et, si l'on s'en tient au veau, on peut en distinguer trois (Gay, 1965; Sojka, 1965, 1971; Fey, 1972; Moon, 1974) :

— la septicémie, où la bactérie, à partir d'une porte d'entrée qui est en général le tube digestif, envahit l'organisme et s'y multiplie en provoquant un syndrome caractérisé, dans sa phase aiguë, par un état de toxémie et d'hyperthermie,

— l'entérite, caractérisée par la multiplication strictement locale de souches possédant une entérotoxine ST et un antigène d'attachement à la muqueuse intestinale K99, et provoquant une diarrhée très liquide entraînant la déshydratation et l'acidose.

— l'entérotoxémie, où la souche pathogène, résidant strictement dans l'intestin, sécrète une toxine qui diffuse dans l'organisme et provoque des symptômes généraux.

Cette classification bien tranchée occulte une certaine confusion clinique. Il est en effet souvent bien difficile de définir le type d'action pathogène à partir des seuls éléments cliniques. Il faut pour cela isoler les souches de *E. coli* suspectes et démontrer leur pouvoir pathogène. En suivant cette démarche, des progrès importants ont été accomplis dans deux directions complémentaires :

— la démonstration du pouvoir pathogène de souches de *E. coli* isolées du sang ou des organes d'animaux atteints de septicémie. L'argument décisif a été la reproduction expérimentale du syndrome chez les veaux de moins de 48 h n'ayant pas absorbé de colostrum (Schœnaers, 1970; Fey, 1972).

— la mise en évidence et la caractérisation des souches entérotoxigènes, à partir des travaux de Smith et Halls, en 1967, montrant que ces souches étaient capables de dilater des anses intestinales ligaturées.

Les progrès les plus importants de ces dernières années ont été obtenus dans l'étude des souches entérotoxigènes de l'homme et des animaux (Dubourguier *et al.*, 1978; Raskova et Raska, 1980). Cette avance rapide a eu pour corollaire le ralentissement des travaux concernant le déterminisme du pouvoir pathogène des souches septicémiques animales et l'abandon de l'hypothèse entérotoxémique.

Cette synthèse bibliographique a un double objectif: resituer l'importance des souches à caractère septicémique dans la pathologie néonatale, notamment du veau, et définir des modalités d'étude de leur pouvoir pathogène à la lumière des travaux récents accomplis sur les souches humaines, et également argumenter l'hypothèse d'un mode d'action entérotoxémique et notamment entéro-endotoxémique, chez le veau, à partir des données éparses, et quelquefois anciennes, fournies par la littérature, et par comparaison à la maladie de l'œdème du porc, type de maladie entérotoxémique à *E. coli*.

Les souches à caractère septicémique

Les concepts classiques sur la septicémie des veaux ont été exposés dans la revue de Gay en 1965, et de Fey en 1972. Ils ont assez peu évolué depuis lors, sauf en ce qui concerne le rôle des endotoxines chez le veau et l'analyse des attributs de la virulence des souches septicémiques. Nous résumerons donc de manière succincte les données classiques (en général, antérieures à 1970) de manière à développer les travaux plus récents.

1. Les données classiques chez le veau (Gay, 1965; Fey, 1972)

L'existence de souches de *E. coli* à caractère septicémique s'appuie sur deux solides arguments expérimentaux:

— la mise en évidence, en culture pure, de certaines souches de *E. coli* dans le sang ou les organes d'animaux de moins de quatre jours, morts brutalement,

— la reproduction expérimentale du syndrome chez les nouveau-nés privés de colostrum.

La commodité du modèle expérimental a permis de définir l'entité clinique et d'analyser les facteurs, liés à l'hôte et à la bactérie, qui concourent à l'expression du syndrome (Schœnaers, 1970).

1.1. Description clinique et nécropsique

La maladie a le plus souvent une évolution aiguë. Elle se traduit essentiellement par des signes généraux (abattement, anorexie), rarement accompagnés de signes locaux (méningite, entérite, arthrite). L'évolution est le plus souvent fatale.

Les lésions ne sont pas caractéristiques. On observe en général une légère congestion de la rate avec des pétéchies disséminées à la surface de certains organes, notamment le péricarde. Il peut y avoir une légère entérite catarrhale avec congestion modérée des ganglions mésentériques.

Lors d'évolution plus longue, les signes et lésions associés à la localisation des souches peuvent prédominer: arthrites avec exsudat fibrineux, méningites, voire péritonites et pyélonéphrites (Fankhauser, 1960; Renault *et al.*, 1968).

1.2. Facteurs liés à la bactérie

Un nombre assez limité de sérotypes permettent de reproduire la maladie, dont les principaux sont: O15, O55, O78, O86, O115, O137 (Ørskov et Ørskov, 1979).

La dose d'inoculation dépend de la souche et de divers facteurs liés à l'hôte. Cependant, lorsqu'on utilise des veaux de moins de 48 h n'ayant pas pris le colostrum, des doses modérées suffisent. Ainsi, Schœnaers (1970) indique que l'inoculation orale de $2,5 \times 10^8$ bactéries associées à 3 ml d'endotoxine (suspension dense de colibacilles traités par les ultrasons et phéniquée) a permis de reproduire la septicémie, pendant plus de dix ans sur 80% des sujets. L'analyse des attributs contribuant à la virulence des souches septicémiques constitue une voie de recherche plus récente. Elle fera l'objet du paragraphe 2. Cependant, on a remarqué assez tôt que les souches isolées des organes ou du sang avaient un pouvoir pathogène sur la souris par voie intrapéritonéale supérieur à celui des souches isolées de l'intestin (Jacks et Glantz, 1967), et qu'elles étaient, pour la plupart, capables de se multiplier dans du sérum de veau dépourvu d'immunoglobulines colostrales (Smith, 1962).

1.3. Facteurs liés à l'hôte

1.3.1. L'âge

La plupart des auteurs réussissent à reproduire la maladie chez les veaux âgés de moins de 48 h. La réceptivité diminue rapidement par la suite, même en l'absence de prise de colostrum. Kaackenbeeck et Schœnaers (1969) l'ont clairement démontré en inoculant par voie orale 47 veaux âgés de 0 à 6 jours avec la souche RVC 1787. L'acquisition rapide de cet état de résistance ne peut s'expliquer, dans les cas cités, par la présence d'immunoglobulines sériques spécifiques puisque

les animaux n'ont pas pris de colostrum. Deux explications peuvent être retenues:

- la diminution de l'activité de pinocytose de la muqueuse intestinale vis-à-vis des bactéries,
- le développement d'une flore intestinale de barrière empêchant l'implantation des souches pathogènes.

1.3.2. L'état immunitaire

Les infections expérimentales échouent en général chez les animaux ayant reçu du colostrum, même si l'immunité n'est pas spécifique (Schœnaers et Kaeckenbeek, 1965). Cette observation a été déterminante pour la prévention de la maladie dont l'incidence a pu être significativement réduite par la prise de colostrum précoce, associée à la vaccination maternelle par les sérotypes pathogènes.

2. Analyse du pouvoir pathogène des souches septicémiques

La septicémie peut être définie comme la présence de germes dans le sang et les organes, associée à des signes généraux évoquant un état de toxémie (fièvre, tachycardie, choc, leucocytose) (Tilton, 1982). Le stade clinique de l'infection est l'aboutissement d'une succession d'étapes préalables comprenant l'entrée de la bactérie dans l'hôte, la multiplication dans le sang et les tissus, la résistance aux mécanismes de résistance, spécifiques ou non spécifiques, et, enfin, la production de lésions (Smith, 1977).

En regroupant les données acquises sur les souches d'origine humaine et animale, on dispose actuellement d'un certain nombre d'explications sur l'action pathogène des souches septicémiques. Ces données concernent essentiellement les stades terminaux de la virulence, à savoir la multiplication dans l'hôte et la production de lésions (pouvoir toxique). En revanche, il existe fort peu de données sur les stades préliminaires (multiplication à la porte d'entrée, pénétration). Il est permis de penser que l'implantation digestive des souches septicémiques suit des règles analogues à celles des souches entéropathogènes, à savoir: adhérence (Ofek et Beachey, 1980), compétition avec la flore commensale (Ducluzeau et Raibaud, 1979), résistance aux mécanismes de défense du mucus (Mac Nabb et Tomasi, 1981).

Le pouvoir pathogène des souches de *E. coli* septicémiques repose sur la structure et les propriétés de la membrane externe. Il paraît indispensable, dans un premier temps, d'en rappeler les caractères principaux, puis d'examiner le rôle des divers constituants en regard des deux critères de virulence que sont l'aptitude à la multiplication dans le sang et le pouvoir toxique. Un paragraphe particulier sera consacré aux relations entre un caractère phénotypique particulier, la production

de colicine V, et la virulence. Cette liaison a en effet été mise en évidence à l'origine sur des souches animales (Smith, 1974) et a fait l'objet de nombreux développements récents (Elwell et Shipley, 1980).

2.1. Structure de la membrane externe de *E. Coli* (Ørskov et Ørskov, 1978)

Les différents constituants de la paroi bactérienne participent, à titres divers, à l'expression du pouvoir pathogène des souches de *E. coli* septicémiques.

Le terme de paroi bactérienne (ou membrane externe) regroupe toutes les structures extérieures à la membrane cytoplasmique (ou membrane interne). La structure la plus interne de cette paroi est le peptidoglycane (PGC). Elle en assure en particulier la rigidité et ne semble pas avoir de rôle particulier dans l'expression du pouvoir pathogène. En revanche, la plupart des structures extérieures au PGC ont, à des degrés divers, un rôle dans l'expression du pouvoir septicémique. Ce sont, de l'intérieur vers l'extérieur: le lipopolysaccharide (LPS), encore appelé antigène O, la capsule polysaccharidique, ou antigène K, des protéines membranaires (porines) et des structures protéiques de surface (pili).

Bien étudié chez *Salmonella* et *E. coli*, le LPS obtenu par la méthode phénol-eau de Westphal, encore appelé endotoxine, comprend trois régions distinctes:

- le lipide A, de nature lipophile, permet l'ancrage du LPS dans la membrane externe; c'est sur lui que repose l'essentiel du pouvoir endotoxique; sa structure est très homogène au sein de la famille des entérobactéries, avec cependant des variations.

- le lipopolysaccharide de base ou «core», formé d'unités saccharidiques unies au lipide A par un trisaccharide spécifique du LPS, le KDO; sa structure est identique pour toutes les bactéries d'une même espèce.

- les polysides des chaînes latérales, formés de plusieurs unités tétra ou pentasaccharidiques, variables entre souches d'une même espèce; ils constituent l'antigène O, porteur de spécificité immunologique. Les formes lisses des bactéries (ou S, pour smooth) possèdent des chaînes latérales complètes; les formes rugueuses (ou R pour rough) sont celles qui ont perdu tout ou partie de leurs chaînes latérales.

Les capsules polysaccharidiques de surface sont facultatives. Elles constituent l'antigène K, d'une extrême diversité qualitative (spécificité immunologique) et quantitative (épaisseur de la capsule). Il s'agit en général de polysaccharides linéaires acides. La substance capsulaire est plus ou moins liée à la surface bactérienne et peut constituer une structure visqueuse et lâche, en

partie solubilisée dans le milieu, que les auteurs anglo-saxons appellent «slime».

A ces deux structures de base s'ajoutent des protéines de la membrane externe participant au transport du fer et des composés ferriques, des filaments protéiques entourant le corps bactérien et rendant compte des phénomènes de reconnaissance spécifique entre cellules, les pili, et également des phospholipides situés à la jonction de la membrane externe et de la membrane interne.

2.2. Multiplication dans l'organisme

Une fois parvenues dans la circulation générale, les souches virulentes sont capables de s'y multiplier. Cette aptitude repose d'une part sur des mécanismes de résistance à la phagocytose et à l'action bactéricide du sérum, et d'autre part sur leur capacité à la croissance dans le milieu pauvre en fer que constitue le sérum.

2.2.1. Résistance à la phagocytose

Les données classiques sur les mécanismes de «clearance» des microorganismes par l'hôte ont été rassemblées dans une revue de Rogers (1960). Pour les infections systémiques, la phagocytose, ou défense cellulaire, est assurée essentiellement au niveau des organes du système réticulo-endothélial (SRE). En effet lorsqu'on injecte de grandes quantités de bactéries viables par voie intraveineuse, l'évolution de la concentration sanguine en bactéries peut être décomposée en trois phases successives :

- une «clearance» rapide, durant de 10 min à 5 h et aboutissant à la disparition de 99,9 % des bactéries; cette phase initiale se retrouve pour n'importe quel germe, inoculé à n'importe quel animal, et sans préjuger de l'issue de l'infection;
- une stase relative, avec persistance ou légère diminution du nombre de bactéries; cette phase peut durer plusieurs heures, voire plusieurs jours;
- une issue caractérisée soit par la disparition complète des bactéries, soit par une multiplication brutale aboutissant à la mort de l'animal.

Ces trois phases se retrouvent avec la plupart des bactéries pathogènes. Au sein d'une même espèce bactérienne, les souches plus virulentes se caractérisent par une «clearance» moins marquée et par une multiplication terminale.

Le phénomène de phagocytose résulte en effet le plus souvent d'une coopération entre cellules et composants humoraux. Ces composants humoraux sont les immunoglobulines et le complément. Les immunoglobulines intervenant dans la phagocytose appartiennent à la classe des IgG. Elles se fixent par leur fraction Fc sur les récepteurs correspondants des cellules phagocytaires et permettent donc une phagocytose spécifique des bactéries. Parmi les nombreuses protéines constituant le système du complément, c'est la fraction

C3 qui joue le rôle essentiel dans la phagocytose. Cette fraction C3 se fixe à la surface des bactéries et favorise la phagocytose par les macrophages qui possèdent un récepteur spécifique de C3 (Horwitz, 1982).

Les sites les plus importants de phagocytose sont le foie et la rate. On estime que 60 à 95 % des bactéries du sang sont phagocytées par le SRE de ces deux organes pendant la phase initiale. La démonstration en a été faite sur des animaux de laboratoire (chiens, lapins) en comparant les concentrations bactériennes du sang entrant et sortant de ces organes, soit *in vivo*, soit après isolement et perfusion des organes.

Pour la septicémie du veau à *E. coli*, l'importance du rôle de la phagocytose a été mise en évidence par Smith et Halls (1968). Ces auteurs ont observé que, chez les veaux ayant reçu des anticorps colostraux, l'absence de multiplication de la souche O78:K80 était associée à la présence de cette souche en grande quantité dans le foie et la rate, peu de temps après l'inoculation. De plus, en comparant l'évolution du nombre de bactéries dans le sang d'un animal inoculé, et *in vitro* dans le sang du même animal, ils ont constaté que la diminution était nettement plus rapide *in vivo*. Ceci corrobore l'hypothèse d'une action prépondérante de la phagocytose par le SRE, par rapport aux mécanismes bactéricides du sérum.

Plus récemment, Arp (1982) a confirmé l'ensemble de ces observations en étudiant l'effet d'une immunisation passive sur la phagocytose de *E. coli* par le foie et la rate des dindons. Comme dans certaines des expériences antérieures, il y est clairement démontré que l'efficacité de cette phagocytose est directement liée à la présence d'anticorps spécifiques.

Le rôle respectif des antigènes O et K dans la résistance à la phagocytose a été étudié essentiellement dans deux modèles expérimentaux: d'une part *in vitro* avec la mesure de l'index phagocytique de Biozzi *et al.* (1954) et d'autre part, *in vivo* par inoculation intrapéritonéale à la souris (Rowley, 1954). Dans ce dernier modèle, la virulence des souches de *E. coli* est directement liée à leur pouvoir de multiplication dans la cavité péritonéale, lui-même corrélé au niveau de résistance à la phagocytose par les macrophages péritonéaux (Whitby et Rowley, 1959; Medearis et Kenny, 1968).

On a su assez tôt que la résistance de *E. coli* à la phagocytose était liée à la présence de l'antigène capsulaire K (Wolberg et De Witt, 1969; Howard et Glynn, 1971). Une démonstration très claire du mécanisme de résistance a été récemment effectuée avec une souche de *E. coli* capsulée de sérotype O9:K29:H⁻ et un variant de cette souche dépourvu de capsule (Horwitz et Silverstein,

1980). La souche non capsulée fixe le complément sur sa membrane externe, riche en LPS en l'absence d'anticorps spécifiques. La bactérie est alors phagocytée. La capsule, en l'absence d'anticorps spécifique, empêche la fixation du complément au niveau du LPS. Il n'y a donc pas d'opsonisation et, partant, pas de phagocytose. En revanche, si on fournit des anticorps O, K spécifiques, ceux-ci se fixent sur la capsule et le complexe antigène-anticorps ainsi formé fixe le complément. La phagocytose se produit alors. La présence d'une capsule impose donc la présence d'anticorps spécifiques pour que la phagocytose se produise.

Il existe cependant certaines données tendant à minimiser le rôle de l'antigène K dans la résistance des souches de *E. coli* à la phagocytose. Ainsi dans l'infection intrapéritonéale de la souris, des variants K⁻ de souches pathogènes ont eu une virulence identique aux souches d'origine (Jacks et Glantz, 1967). Toutefois, il n'est pas dit si le caractère K⁻ a persisté durant la multiplication intrapéritonéale. Par ailleurs, on a démontré que la présence ou l'absence de certains sucres spécifiques dans la composition du LPS détermine la capacité de résistance à la phagocytose (Medearis *et al.*, 1968). Ces rares arguments ont peu de poids par rapport aux nombreuses publications mettant l'accent sur le rôle prépondérant de l'antigène K dans la résistance à la phagocytose.

Des informations récentes suggèrent une liaison entre la résistance à la phagocytose et la possession de pili provoquant une hémagglutination résistante au mannose. En utilisant une épreuve d'inoculation intraveineuse à la souris, Evans *et al.* (1980) ont pu établir une hiérarchie dans la virulence des souches basée sur leur schéma d'agglutination de globules rouges de diverses espèces. Les souches les plus virulentes avaient pour caractéristique une hémagglutination résistante au mannose des globules rouges d'homme et de porc et une hémagglutination non-résistante au mannose des globules rouges de bovin et de cobaye. Plus récemment, Blumenstock et Jann (1982) ont démontré que les souches présentant une hémagglutination résistante au mannose des globules rouges humains n'adhéraient pas aux macrophages péritonéaux de rat et aux polynucléaires humains, au contraire des souches présentant une hémagglutination sensible au mannose.

2.2.2. Résistance à l'action bactéricide du sérum

On a vu que la phagocytose est le moyen de défense principal de l'organisme en cas d'infection systémique par *E. coli* et que, corollairement, les souches virulentes sont résistantes à la phagocytose. Il existe cependant un certain nombre d'arguments épidémiologiques suggérant que la résistance à l'action bactéricide du sérum est

également un facteur de virulence. On a observé en effet que les souches isolées de septicémies étaient plus fréquemment résistantes au sérum que les souches d'origine différente, tant chez l'homme (Vosti et Randall, 1970; Mac Cabe *et al.*, 1975) que chez les veaux (Smith, 1962). Il existe un nombre considérable de publications sur l'analyse *in vitro* de l'action bactéricide du sérum vis-à-vis de *E. coli*. Cette abondance d'informations peut paraître disproportionnée par rapport aux preuves attestant de l'importance réelle de ce mode de défense *in vivo*.

L'action bactéricide du sérum sur les bactéries Gram-négative résulte de l'action du complexe terminal du complément C₅ à C₉ sur les membranes bactériennes. La formation de ce complexe peut résulter de deux suites d'événements distinctes: la voie classique et la voie alternative. La voie classique (C142) est activée par la réaction antigène-anticorps. La voie alternative, encore appelée système properdine, est activée par la partie polysaccharidique du LPS (Woolcock, 1979). Récemment, on a montré que même la voie classique peut être activée, en l'absence d'anticorps, par le lipide A du LPS (Morrison et Kline, 1977; Loos *et al.*, 1978). Le site de lésion du complexe terminal du complément est double: d'une part, au niveau de la membrane externe, d'autre part, au niveau de la membrane interne (Feingold *et al.*, 1968a,b). Les lésions de la membrane externe et de la membrane interne apparaissent étroitement couplées, ce qui suggère que l'action du complexe terminal s'exerce en un site contigu aux deux membranes (Wright et Levine, 1981a,b).

Les techniques d'étude de la résistance des souches de *E. coli* au sérum sont des variantes d'une méthode générale consistant à calculer le degré d'inhibition (ou de croissance) d'un inoculum déterminé dans un sérum total, après un certain temps d'inoculation ou en plusieurs temps régulièrement espacés. Ce système est étroitement dépendant des conditions de milieu, variables suivant les auteurs, ce qui rend certaines comparaisons hasardeuses (Muschel et Treffers, 1956 a,b; Rowley et Wardlaw, 1958; Landy *et al.*, 1962; Davis et Wedgwood, 1965; Taylor, 1978). Une méthode de détection rapide sur gélose a été mise au point (Fierer *et al.*, 1972). L'utilisation du sérum total permet de disposer de l'ensemble des réactifs nécessaires à la réaction de bactéricidie. Mais elle masque l'interférence éventuelle de phénomènes intercurrents synergiques ou, au contraire, antagonistes tels qu'une meilleure aptitude à la croissance en milieu pauvre en fer.

Compte tenu du mode d'action du complément, une souche sera d'autant plus résistante qu'elle empêchera le complexe terminal actif d'atteindre le site lésionnel potentiel (Rowley, 1971). Théori-

quement, cette condition peut être réalisée dans deux cas :

— si le LPS forme une barrière suffisamment «étanche» entre le milieu extérieur et le site d'action,

— s'il existe des phénomènes concurrentiels ou inhibiteurs de l'action du complément dans la membrane externe : c'est le mode d'action hypothétique de certaines protéines membranaires.

Selon Rowley (1971), la concentration du complexe terminal actif du complément au niveau du site lésionnel est inversement proportionnelle au cube de la distance au point d'activation initial. Donc, plus ce point d'activation initial est éloigné du site lésionnel, plus la bactérie est résistante à l'action bactéricide du sérum. Or, on a vu que l'activation du complément pouvait se faire tant au niveau du polysaccharide du LPS, c'est-à-dire en partie externe, qu'au niveau du lipide A, c'est-à-dire en partie interne. La résistance à la bactéricidie serait donc favorisée par la présence d'un LPS complet, recouvrant la totalité du corps bactérien. Il existe de nombreux arguments expérimentaux montrant le bien-fondé de cette thèse. On peut les classer en arguments qualitatifs, concernant la composition chimique du LPS, et les arguments quantitatifs, concernant sa masse totale. Ainsi, on a montré que des mutants ayant perdu tout ou partie de leurs chaînes latérales O sont plus sensibles au sérum que les souches d'origine (Taylor *et al.*, 1979). Cette observation est à relier avec la sensibilité quasi générale des souches «rough». L'importance de la quantité totale de LPS a été démontrée par Feingold (1969) sur des variants phénotypiques d'une souche résistante au sérum obtenus après croissance dans des concentrations sublétales de diphénylamine. Ces variants étaient sensibles au sérum et cette sensibilité a été attribuée à une réduction importante des chaînes latérales O. De même Reynolds et Pruul (1971) ont montré que lorsque la réaction était effectuée en présence d'une forte concentration de cations monovalents, les souches résistantes devenaient sensibles. Cet effet a été relié à une désorganisation du LPS. A l'inverse, Lai-Tee et Scott (1980) ont obtenu un mutant résistant d'une souche sensible après cultures répétées dans du sérum. Ils ont analysé qualitativement et quantitativement les différents constituants de la membrane externe. La différence résidait dans la quantité de LPS, deux fois plus importante chez la souche résistante.

Si la présence d'un LPS complet est le plus souvent un préalable indispensable à la résistance bactéricide du sérum, ce n'est souvent pas suffisant. En effet, en comparant le contenu total en LPS de souches résistantes et de souches sensibles, Taylor (1976) n'a pas trouvé de différences significatives. En revanche, selon le même

auteur, les souches sensibles ayant un LPS complet se comportent, vis-à-vis du complément, différemment des souches déficientes. L'action bactéricide est en effet différée, l'inoculum diminuant très peu pendant la première heure, au contraire des souches rough ou semi-rough. Le même auteur a comparé une souche de *E. coli* rough, sensible au sérum, à un recombinant smooth de cette souche obtenu après conjugaison avec un donneur Hfr de sérogroupe O8 ayant une chaîne latérale O complète. Le recombinant, pourvu d'une chaîne latérale complète, avait une sensibilité différée, tandis que la souche rough d'origine était très sensible (Taylor, 1975). Pour l'auteur, la présence d'un LPS complet provoque donc une sensibilité de type différée mais la résistance est due à d'autres facteurs.

Parmi ces facteurs figurent des protéines de la membrane externe. Ainsi un mutant résistant d'une souche de *E. coli* sensible se distinguait de la souche d'origine par la production d'un polypeptide (PM 46 000) de la membrane externe. Un mutant rough de la souche résistante produisait également le polypeptide mais était sensible au sérum (Taylor et Parton, 1976). Selon les auteurs, le polypeptide est impliqué dans la résistance, mais il n'est fonctionnel que si le LPS est complet.

Plus récemment, on a pu démontrer que l'acquisition de certains plasmides par des souches sensibles diminuait leur sensibilité. Dans tous les cas, ce phénomène ne se produit que dans certaines souches réceptrices, ce qui corrobore l'hypothèse d'un rôle préalable du LPS (Reynard et Beck, 1976, 1978; Fietta *et al.*, 1977; Taylor et Hugues, 1978; Ogata et Levine, 1980). L'augmentation de résistance a été attribuée à la synthèse de protéines membranaires, codées par les plasmides en question. Deux gènes plasmidiques ont été particulièrement étudiés : le gène *traT* du plasmide R6-5, qui code pour une protéine de la membrane externe impliquée dans l'exclusion de surface (Moll *et al.*, 1980) et le gène *iss* du plasmide Col V, I-K94 (Binns *et al.*, 1979). La protection conférée à des souches réceptrices par ces deux plasmides est identique (Binns *et al.*, 1982). La consommation de complément (C6 à C9) a été la même avec ou sans le gène transféré, ce qui prouve, selon les auteurs, que c'est l'action finale du complexe qui est inhibée et non pas sa formation. L'augmentation de résistance conférée par ces plasmides pourrait donc être due à un phénomène d'inhibition du complexe final du complément au niveau du site lésionnel.

On a également examiné le rôle des antigènes capsulaires K dans la résistance de certaines souches. Classiquement, les antigènes capsulaires K, de même que les antigènes Vi de *Salmonella* empêchent l'agglutination O. Glynn et Howard (1970) ont étudié la capacité d'extraits

bruts de souches de *E. coli* sensibles et résistantes à inhiber l'agglutination de globules rouges par un sérum anti-globule rouge de lapin. Cette aptitude est en effet directement liée à la résistance au complément. Ils ont montré ainsi que l'inhibition de l'hémagglutination était supérieure avec les souches résistantes et ont attribué cette inhibition à l'antigène K. De plus, l'antigène K purifié d'une souche résistante a eu un effet inhibiteur plus important qu'une quantité égale d'antigène K d'une souche sensible. Malgré ces travaux, la plupart des expérimentateurs accordent une importance mineure à l'antigène K dans la résistance à l'action bactéricide du sérum.

Enfin, le rôle des phospholipides situés entre la membrane externe et la membrane interne a été évoqué. Akiyama et Inouye (1977) ont isolé des mutants résistants d'une souche sensible caractérisés par une concentration supérieure en acides gras à longue chaîne, ainsi qu'en acides gras saturés, dans les membranes externes et internes. Cette composition différente dans les phospholipides conférerait aux membranes une structure plus rigide, capable d'empêcher l'insertion du complexe terminal du complément.

L'ensemble de ces résultats ne permet pas de conclure à l'existence d'un mécanisme unique de résistance à l'action bactéricide du sérum. Lorsqu'on étudie, pour une souche donnée, les variations de sensibilité provoquées par l'altération de tel ou tel constituant membranaire, des hypothèses partielles peuvent être formulées. Mais le mécanisme de résistance apparaît plutôt plurifactoriel. Néanmoins, on peut dégager deux étapes dans l'expression de cette résistance au sérum. La première permet à la bactérie de différer l'action bactéricide; elle serait liée à l'action protectrice d'un LPS complet, du point de vue biochimique et architectural. La seconde constituerait la résistance proprement dite et reposerait sur la présence de protéines de la membrane externe inhibant l'insertion du complexe C6 à C9 au niveau du site lésionnel potentiel.

Dans de nombreux cas, la méthodologie utilisée, qui consiste à mettre la souche en présence d'un sérum total, ne permet pas de conclure de manière formelle que seul le complément agit dans le résultat global. Les contre-épreuves consistant à inhiber spécifiquement la voie classique ou la voie alternative sont rarement utilisées. Il est donc possible que les phénomènes observés, et assimilés sous le vocable d'action bactéricide, soient en fait la résultante de plusieurs mécanismes incluant, outre l'action du complément, les propriétés métaboliques des souches dans ce milieu particulier que constitue le sérum. Il existe d'ailleurs de multiples observations, corollaires aux expériences rapportées ici, qui montrent l'importance cruciale des conditions de culture

préalable des bactéries. Parmi les facteurs déterminants figurent: la phase de croissance de l'inoculum (résistance accrue pour les souches en phase stationnaire) (Taylor, 1978), la température (Glynn et Howard, 1970), la concentration en ions divalents (Reynolds et Pruul, 1971). Ces facteurs sont liés aux conditions expérimentales, donc standardisables. En revanche, il existe un caractère propre aux bactéries, et donc irréductible sur le plan expérimental, qui, en favorisant leur croissance, interfère largement avec l'action bactéricide du sérum: l'aptitude à capter le fer.

2.2.3. Aptitude à capter le fer

L'effet bactéricide du sérum peut être aboli par l'addition d'ions ferriques (Schade et Caroline, 1946) ou de composés hémiques (Bullen et Rogers, 1969; Bullen *et al.*, 1971). Ce phénomène s'explique par le fait que le fer est un facteur limitant pour la croissance bactérienne dans le sérum. Donc l'effet bactéricide global du sérum est la résultante d'au moins deux mécanismes concomitants: l'action du complément sur les membranes bactériennes et la capacité de la bactérie à croître dans un milieu pauvre en fer. Les sérums animaux sont en effet pauvres en fer. Dans le sérum humain, la concentration totale de fer ferrique (Fe^{3+}) est de $18 \mu\text{M}$. Or, une grande partie de ce fer est liée à une protéine de transport, la transferrine, qui, à l'état normal, est saturée à 25-35%. Finalement, la concentration de Fe^{3+} libre donc disponible pour les bactéries, est de l'ordre de 10^{-18}M , c'est-à-dire 10^8 fois moins que ce qui est exigé pour une croissance normale (Weinberg, 1978). Les bactéries capables de se multiplier dans le sérum possèdent donc des mécanismes spécifiques d'acquisition du fer, à partir de la transferrine partiellement saturée (Bullen *et al.*, 1978). Deux mécanismes peuvent être invoqués: une action directe entre la bactérie et la transferrine par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques de la surface bactérienne, ou bien la sécrétion par la bactérie de chélateurs de faible poids moléculaire capables de prendre des ions Fe^{3+} à la transferrine (Bullen *et al.*, 1978).

L'importance de ce phénomène sur la virulence réelle d'*E. coli* a été démontrée lors de l'inoculation simultanée de bactéries et de composés ferriques. Chez le cobaye, par exemple, l'injection intrapéritonéale de 2×10^4 à 7×10^4 *E. coli* O111 n'a eu aucun effet et le nombre de bactéries a diminué rapidement. Par contre, l'injection simultanée de citrate d'ammonium ferrique (5 mg Fe/kg), de globules rouges lysés (170 mg d'hémoglobine) ou d'hématine (100 mg) a entraîné une multiplication microbienne rapide et la mort dans les 24 h (Bullen *et al.*, 1968).

Cet effet a été reproduit plus récemment sur des rats en associant à la bactérie pathogène de petites quantités d'hémoglobine (Eaton *et al.*,

1982). Il a bien été démontré que l'hémoglobine ne réduit en rien la phagocytose intrapéritonéale et que l'exaltation de la virulence réside dans une multiplication accrue des bactéries.

Plusieurs mécanismes permettent à *E. coli* de capter le fer du milieu extérieur. Le mécanisme le plus répandu est la synthèse active et l'excrétion d'un composé chélateur du fer, appelé entérocholine. Cette synthèse se produit lorsque le milieu de croissance est déficient en fer. L'entérocholine est un trimère cyclique de la déhydroxy N benzoyl-L sérine (DSS). Il se forme alors un complexe stable entérocholine-fer, qui est transporté à travers la membrane externe vers le cytoplasme (Langman *et al.*, 1972). Ce système implique la synthèse active par la bactérie de ligands spécifiques. Il existe deux autres systèmes qui nécessitent l'intervention de ligands non fabriqués par la bactérie mais qui sont activement transportés à travers les membranes. Ces systèmes agissent quand les ligands sont présents dans le milieu de croissance, que le milieu soit ou non pauvre en Fe^{3+} . Il s'agit des systèmes citrate (Frost et Rosenberg, 1973) et ferrichrome (Hantke et Braun, 1975). Enfin, plus récemment, un système nouveau a été mis en évidence, qui peut avoir un déterminisme plasmidique: le système hydroxamate. Ce système a été découvert simultanément par deux équipes différentes (Stuart *et al.*, 1980; Williams, 1979) sur des souches porteuses du plasmide col V. Il s'agit d'un système actif, comme l'entérocholine, déréprimé en milieu déficient en fer. Bien que codé par le plasmide col V, le mécanisme n'implique pas la synthèse de la colicine V elle-même. Le chélateur, qui est un composé de la famille des hydroxamates, ressemble à l'aérobactine, un sidérophore fabriqué par *Aerobacter aerogenes*. A partir d'une épreuve de détection simple de l'hydroxamate (Czaky, 1948), Stuart *et al.* (1982) ont étudié les fréquences des souches possédant ce mécanisme en fonction de l'origine. Il apparaît que les souches isolées des animaux et des humains sont plus souvent porteuses de ce mécanisme que les souches de l'environnement, et que le caractère n'est pas toujours lié à la présence de colicine V.

2.2.4. Étude particulière de la virulence associée au plasmide col V

Lorsque le transfert d'un plasmide confère à une souche à l'origine non pathogène certains caractères de virulence, on peut associer de manière certaine la virulence au plasmide. Cette démarche a pris son essor depuis la découverte du caractère transmissible des entérotoxines et des antigènes d'attachement des souches d'*E. coli* entéro-pathogènes (Smith et Lingwood, 1972).

Cette méthodologie a été appliquée par Smith (1974) aux souches à caractère septicémique isolées chez les animaux. En recherchant si les

souches septicémiques isolées d'une épidémie chez les poulets possédaient des caractères transmissibles, Smith (1974) a trouvé une souche portant le plasmide col V. Il a montré que le transfert de ce plasmide à des réceptrices originellement avirulentes leur conférait une certaine virulence vis-à-vis du poulet et de la souris. Inversement, en curant des souches pathogènes de leur plasmide col V, on diminuait leur virulence, qui leur était restituée après réintroduction du même plasmide (Smith et Huggins, 1976). Mais l'ensemble des résultats suggère que l'apport du plasmide col V dans la virulence des souches est d'ordre quantitatif et non qualitatif. En effet, lorsque l'auteur veut mettre en évidence le pouvoir pathogène des transconjugants *E. coli* K12 (col V) et *E. coli* H209 (col V) sur le poulet et la souris, il est contraint d'utiliser des doses de bactéries supérieures aux doses de référence définissant les souches pathogènes typiques. Il apparaît donc que le plasmide col V confère aux souches qui l'hébergent un surcroît de viabilité *in vivo*. Ce surcroît de viabilité se caractérise par une augmentation du temps de survie dans le sang, le péritoine et également le tube digestif (Smith et Huggins, 1976). La colicine V ne semble pas avoir d'action toxique pour Smith qui a inoculé des ultrasonicates stériles de *E. coli* H309 (col V) et *E. coli* K12 (col V) à des poulets, sans qu'aucune mortalité ne se produise. En revanche Ozanne *et al.* (1977) ont observé une augmentation de perméabilité vasculaire et une réponse inflammatoire après inoculation intradermique de surnageants de culture à des lapins et des cobayes. Cette réaction vasculaire résulte, selon les auteurs, d'une synergie entre endotoxine et colicine V car elle est beaucoup moins importante avec un dialysat contenant seulement de la colicine V.

Quoiqu'il en soit, l'augmentation de virulence conférée par le plasmide Col V n'est pas due à la colicine V elle-même. C'est ce qu'ont démontré Quackenbush et Falkow (1979) en comparant la virulence de deux souches isogéniques dont l'une portait le plasmide col V et l'autre le même plasmide où la synthèse de colicine avait été inhibée par l'insertion du transposon *Tn1*.

Il restait à élucider par quels mécanismes précis le plasmide col V augmente la virulence des souches qui l'hébergent. Deux approches différentes et complémentaires ont été faites: la résistance aux mécanismes bactéricides du sérum et l'aptitude à croître en milieu déficient en fer. La première approche a été celle de Binns *et al.*, (1979). En utilisant les techniques du génie génétique, ces auteurs ont montré que les déterminants génétiques d'augmentation de la virulence et de résistance au sérum étaient situés sur le même fragment du plasmide col V, I-K94. La deuxième approche a été effectuée concurrem-

ment par une équipe anglaise (Williams et George, 1979) et une équipe australienne (Stuart *et al.*, 1980). Leurs résultats indiquent que la présence du plasmide col V confère aux souches qui l'hébergent une meilleure aptitude à capter le fer en cas de croissance en milieu déficient. Cette aptitude est liée à la synthèse d'un agent chélateur de la famille des hydroxamates (cf. paragraphe 2.2.3.). On ne sait pas encore quelle est la part respective de la résistance au sérum et de l'aptitude à capter le fer dans l'augmentation globale de virulence procurée par le plasmide col V. Peut-être ces deux caractères, qui interfèrent dans l'effet global, pourront-ils être dissociés à l'aide des techniques de génie génétique.

Enfin, un autre caractère phénotypique associé au plasmide col V a été mis en évidence par Clancy et Savage (1981): l'adhérence à l'épithélium intestinal de souris. En utilisant deux épreuves différentes de mesure de l'adhérence, ces auteurs ont montré que la souche *E. coli* K12 porteuse du plasmide col V adhère deux à trois fois plus que la souche K12 sans plasmide. La même conclusion a été obtenue en comparant une souche col V⁺ et la même souche, curée de son plasmide col V. Cette adhérence était associée à la présence de pili particuliers. Pour les auteurs, cette propriété associée au plasmide col V favoriserait la colonisation de la muqueuse intestinale par les souches à caractère septicémique.

Si la possession du plasmide col V confère un avantage dans l'expression du pouvoir pathogène, quelle est l'incidence exacte de ces souches? De nombreuses enquêtes de détection de la colicine V ont été effectuées. Néanmoins, les résultats sont difficiles à comparer en raison de la disparité des méthodes utilisées. Le principe de base est l'inhibition d'une souche sensible à la colicine par les souches colicinogènes (Gratia, 1925).

Si une souche possède une colicine V, elle inhibera la souche indicatrice universelle, mais pas un mutant spécifique de cette souche à la colicine V (résistance par perte de récepteur) ni un trans-conjugué de cette même souche possédant le plasmide col V (résistance par immunité) (Hamon et Peron, 1964). Le problème est qu'il existe plusieurs types de colicine V et que chacun de ces types a une immunité croisée avec des colicines appartenant à d'autres classes (Hamon et Peron, 1964). Par ailleurs, les souches sauvages du terrain peuvent avoir une ou plusieurs colicines. Davies *et al.* (1981) ont en effet montré que 63,6 % des souches col V⁺ produisaient en plus au moins une autre colicine. La méthode de détection utilisée par ces auteurs nous semble la plus rigoureuse. Les critères qu'ils adoptent pour la détermination de la colicine V comprennent d'une part, l'inhibition d'une souche indicatrice résistante à toutes les colicines sauf la colicine V et d'autre part l'inef-

ficacité vis-à-vis d'une souche résistante à la colicine V. En utilisant cette méthode, ils ont détecté, chez l'homme, 31,6 % de souches col V⁺ dans le sang contre 13,6 % dans les fèces. Ces résultats sont plus élevés que ceux de Minshew *et al.* (1978b) qui ont trouvé 12 % de souches col V⁺ dans le sang. Chez les animaux, Smith et Huggins (1976) ont trouvé 25 col V⁺ sur 31 souches O78:K80 d'origine bovine, 36 sur 44 souches du même sérotype d'origine aviaire, 40 sur 54 souches O2:K1 d'origine aviaire, 50 sur 68 souches aviaires non typées et 10 sur 45 souches humaines non typées. Pohl *et al.* (1981) ont comparé les fréquences de détection de la colicine V pour les souches septicémiques, entérotoxigènes et non pathogènes. Pour ces auteurs, cette fréquence est supérieure pour les souches entérotoxiques.

En outre, une enquête récente sur les relations entre la résistance au sérum et la possession de divers caractères (antigène O, colicine, résistance aux antibiotiques), a montré que les souches col V⁺ ne sont pas significativement plus résistantes au sérum que les autres (Hughes *et al.*, 1982).

Le caractère disparate et souvent contradictoire de ces résultats souligne la nécessité d'une standardisation préalable de l'ensemble des épreuves de détection, et notamment, de mise en évidence de la colicine V.

2.3. Le pouvoir toxique

A partir d'un certain niveau de multiplication, les souches exercent un pouvoir toxique sur l'hôte, c'est-à-dire qu'elles sont capables de produire des lésions. L'administration de divers extraits bactériens a permis de mettre en évidence trois principes toxiques: l'un a une action non spécifique et appartient à toutes les souches de *E. coli*: l'endotoxine, (LPS), les deux autres ont été identifiés chez certaines souches seulement: l'hémolysine et la toxine *Vir*.

2.3.1. Les endotoxines

— propriétés biologiques générales (Parant, 1978).

Les propriétés biologiques des endotoxines sont extrêmement variées et parfois paradoxales. Toutes les réactions endotoxiques peuvent pratiquement être reproduites par le lipide A dans sa forme soluble, ce qui suggère que c'est lui qui est responsable de l'essentiel du pouvoir endotoxique.

En ce qui concerne les seuls effets pathologiques, il est possible de distinguer, d'une part une toxicité primaire et, d'autre part, une toxicité secondaire liée à des manifestations d'hypersensibilité immédiate (Chédid et Parent, 1971). La toxicité primaire se manifeste par un effet léthal sur les animaux de laboratoire et l'embryon de poulet,

après inoculation parentérale. Le chien et le lapin sont les espèces les plus sensibles (DL50 d'environ 0,025 mg/kg), tandis que l'embryon de poulet peut être tué par de très faibles doses injectées par voie veineuse (DL50 de 0,003 mg/kg). Cet effet toxique s'accompagne d'un cortège de réactions physiopathologiques: effet pyrogène, surtout chez l'homme et le lapin; troubles vasculaires (hypotension, diminution de la circulation veineuse); avortement; leucopénie; troubles métaboliques; augmentation de la sensibilité à l'adrénaline. La toxicité secondaire résulterait de phénomènes immunologiques d'hypersensibilité immédiate aux endotoxines. De nombreux arguments corroborent cette hypothèse, dont deux semblent prépondérants: d'une part, la similarité des effets physiopathologiques des chocs endotoxique et anaphylactique, vis-à-vis desquels les corticoïdes exercent une action favorable; d'autre part, l'existence de nombreuses réactions immunologiques croisées entre endotoxines d'espèces différentes.

— toxicité chez le veau

Le veau est très sensible à l'action des endotoxines. Berczi *et al.* (1966) l'ont montré en comparant les effets de l'injection intrapéritonéale de l'endotoxine de Westphal d'une souche de *E. coli* O78:K80 à plusieurs espèces animales à sang chaud et à sang froid. L'administration d'une dose de 0,025 mg/kg a provoqué la mort des quatre veaux de l'expérience, alors que la DL50 pour les autres animaux très sensibles (lapins, chiens et porcs) se situait entre 3 et 5 mg/kg. Les espèces à sang chaud étaient moins sensibles, tandis que les espèces à sang froid (grenouille, poisson) étaient quasiment réfractaires. Les conséquences physiopathologiques étaient similaires chez toutes les espèces sensibles: fièvre, diarrhée, adynamie et troubles vasculaires (hyperpnée, cyanose, tachycardie) avec lésions d'œdème et d'hémorragie. Toutefois, les veaux ayant une réceptivité particulière au sérotype O78:K80, fréquemment incriminé dans les septicémies, on peut se demander si la même échelle de sensibilité aurait été observée avec des endotoxines provenant d'autres sérotypes.

Wray et Thomlinson (1972a) ont étudié de manière plus approfondie l'action des endotoxines sur le veau. Dans une première série d'expériences, ils ont administré par voie intra-veineuse, sous-cutanée ou orale, différentes doses de l'endotoxine de Westphal d'une souche de sérotype O115:K ? (RVC 58) à des veaux, privés ou non de colostrum, et âgés de trois à sept jours. Ils ont observé de grandes différences individuelles dans la sensibilité. Néanmoins, la dose de 0,1 mg/kg a été constamment létale lors d'injections intraveineuses. L'administration orale de doses de 0,4 à 1 mg/kg n'a pas été mortelle mais

a provoqué des symptômes et des lésions semblables à ceux des veaux inoculés par voie veineuse. Dans les formes aiguës mortelles, les symptômes étaient les suivants: hyperpnée, adynamie, décubitus, diarrhée pâteuse puis mucoïde, convulsions et mort, 9 à 10 h après l'injection. Les formes non-mortelles se caractérisaient par de l'hyperpnée, des tremblements, une fièvre biphasique (à 30 min et à 5-6 h) et un retour à la normale à 12 h environ. Les animaux ont été autopsiés aussitôt après la mort ou 24 h après l'administration en cas de survie. Les lésions dominantes, de gravité inégale suivant les animaux, consistaient en une inflammation des tractus pulmonaire et digestif (congestion, œdème, pétéchies). En raison de l'analogie entre ce tableau clinique et lésionnel et celui du choc anaphylactique provoqué par l'albumine de blanc d'œuf (Wray et Thomlinson, 1969), les auteurs ont émis l'hypothèse que l'action endotoxique résulterait d'un phénomène d'anaphylaxie. Leur hypothèse est renforcée, d'une part par le fait que le choc endotoxique est plus violent chez les animaux ayant pris du colostrum et possédant des anticorps spécifiques, et d'autre part, par les importantes variations individuelles. En revanche, cette hypothèse est contredite par l'existence d'un choc endotoxique chez les veaux privés de colostrum, chez lesquels aucun anticorps n'a été détecté par les méthodes usuelles.

Afin de mettre à l'épreuve l'hypothèse anaphylactique, les mêmes auteurs ont étudié la corrélation entre la réaction dermique et la sensibilité à l'administration intraveineuse des endotoxines de Westphal de *E. coli* O78:K80 et *E. coli* O115:K ?, pathogènes chez le veau, et de *E. coli* O138:K81 et *Salmonella gallinarum*, non pathogènes (Wray et Thomlinson, 1972b). Les quatre endotoxines ont été administrées simultanément à chaque animal par voie intra-dermique, à la dose de 0,1 µg (16 veaux privés de colostrum et 36 veaux ayant pris du colostrum). L'inoculation a provoqué, dans la plupart des cas, une réaction cutanée, d'intensité variable, maximale après 2 ou 3 h, et régressant après 12 h. L'observation la plus remarquable a été la variation des sensibilités individuelles. L'influence de l'origine de l'endotoxine a eu les effets attendus pour les souches de *E. coli*, puisque l'endotoxine de O138:K81 a été moins toxique que les deux autres. En revanche, la réactivité vis-à-vis de l'endotoxine de *S. gallinarum* a été importante, ce que les auteurs expliquent par la présence d'anticorps contre *S. dublin* qui possède des déterminants antigéniques communs avec *S. gallinarum*. Certains veaux de cette expérience ont été inoculés par voie intraveineuse avec l'une des endotoxines étudiées à la dose de 1 µg/kg. Une corrélation positive entre l'intensité de la réaction cutanée et la sensibilité à l'inocula-

tion veineuse a été ainsi observée chez les animaux privés de colostrum, c'est-à-dire dépourvus d'anticorps spécifiques détectables. Par contre, chez les veaux ayant pris du colostrum, cette corrélation était beaucoup moins évidente. Ces résultats ne démontrent donc pas de manière formelle l'hypothèse anaphylactique. D'une part, en effet, l'existence d'une réaction dermique avec l'endotoxine de Westphal n'implique pas forcément le LPS. Cet extrait contient en effet des impuretés, notamment protéiques, qui peuvent provoquer le phénomène (Chédid et Parent, 1971). D'autre part, la corrélation positive entre le pouvoir toxique intraveineux et la réactivité cutanée chez les veaux sans anticorps tendrait à infirmer la réalité d'un processus de type immunologique, tel que l'anaphylaxie. Néanmoins, les auteurs émettent l'hypothèse que même les veaux privés de colostrum auraient des anticorps dès la naissance, à la suite soit d'un passage placentaire, soit d'une stimulation des mécanismes immunitaires fœtaux par des antigènes d'origine maternelle. Cette hypothèse s'inspire des travaux effectués sur des porcelets nouveau-nés élevés en axénie (Setcavage et Kim, 1976).

Dans les expériences précédentes, Wray et Thomlinson (1972c) ont étudié les effets d'une injection unique d'endotoxine en expliquant l'anaphylaxie par l'existence préalable d'anticorps spécifiques, détectables ou non par leurs méthodes sérologiques. Dans les expériences suivantes, ils ont d'abord sensibilisé les animaux, soit par une dose non létale d'endotoxine (anaphylaxie active) soit par des antisérums spécifiques obtenus sur veaux (anaphylaxie passive). Après 48 h, ils ont administré l'endotoxine par voie intraveineuse à deux reprises, espacées d'environ 2 h. Le faible nombre de veaux utilisés et la difficulté d'apprécier l'intensité des signes cliniques en cas de choc non mortel, rend délicate, à notre avis, l'interprétation des résultats. Cependant, les auteurs indiquent, chez les veaux privés de colostrum, une corrélation positive entre le degré de sensibilisation, observé par la réaction dermique, et la sensibilité à l'injection intraveineuse d'endotoxine, ce qui corroborerait l'hypothèse anaphylactique.

Ces résultats ne permettent pas de conclure de manière formelle, à notre avis, sur le mode d'action des endotoxines chez le veau. Quelle est, en particulier, la part respective de l'action toxique propre et des phénomènes d'anaphylaxie? L'un des arguments de l'hypothèse anaphylactique est l'existence d'une relation entre le sérotype et la virulence. Cette spécificité ne pourrait pas, selon les tenants de cette hypothèse, être associée au lipide A, donc aux effets strictement endotoxiques, puisque le lipide A a peu de spécificité immunologique. Toutefois, la notion d'homogénéité structu-

rale du lipide A chez les entérobactéries est de plus en plus remise en question (Westphal *et al.*, 1983). Il conviendrait donc de savoir si l'effet pathogène des endotoxines des souches septicémiques de veau est spécifique ou non, à doses égales, dans un système où l'anaphylaxie ne peut être invoquée (souris, embryon de poulet).

2.3.2. Les hémolysines

Certaines souches de *E. coli* possèdent une hémolysine capable de lyser les globules rouges *in vitro*. L'aptitude à produire l'hémolysine a pu, dans certains cas, être transférée et, inversement, on a pu «curer» des souches de cette aptitude. Ces observations indiquent que la production d'hémolysine peut être codée par des plasmides (Smith et Halls, 1967b; Waalwijk *et al.*, 1982). Chez l'homme, des arguments épidémiologiques (Cooke et Ewins, 1975; Minshew *et al.*, 1978a,b) et expérimentaux (Emödy *et al.*, 1980; Van den Bosch *et al.*, 1981, 1982) suggèrent que ce facteur favorise la virulence dans les infections extra-intestinales, notamment urinaires.

Chez les animaux, le caractère hémolytique est fréquent chez les souches entéropathogènes du porc (Renault *et al.*, 1965), mais n'est pas responsable du pouvoir pathogène (Smith et Linggood, 1971). Chez les bovins, et en particulier chez le veau, il n'est jamais fait mention de souches hémolytiques. En fait, il est très rare d'en isoler dans cette espèce, notamment à partir des fèces. Toutefois, nous avons suspecté la participation de souches hémolytiques dans deux cas pathologiques observés chez la vache laitière. Dans le premier cas, il s'agissait d'une néphrite grave ayant nécessité l'abattage; dans le second cas, d'une entérite hémorragique mortelle (De Rycke, résultats non publiés). Ces observations justifieraient une recherche plus systématique des caractères hémolytiques chez les souches d'*E. coli* isolées chez les bovins.

2.3.3. La toxine Vir

En recherchant des caractères transférables éventuellement porteurs de virulence, Smith (1974) a mis en évidence le plasmide *Vir* dans une souche d'*E. coli* isolée de septicémie d'agneau. Ce plasmide code pour un antigène de surface ainsi que pour une toxine pathogène pour le lapin, la souris et le poulet. Cette toxine est thermolabile, et non dialysable. L'inoculation d'ultrasonicates de souche *Vir*⁺ par voie intraveineuse est mortelle chez le poulet, le lapin et la souris et provoque des lésions hépatiques similaires dans ces trois espèces. L'inoculation d'ultrasonicates de souches *Vir*⁻, par contre, n'entraîne aucune mortalité. En utilisant la séro-agglutination par l'antisérum spécifique *Vir*, Smith (1978) a recherché ce caractère chez 130 souches supplémentaires, d'origine animale et humaine. Parmi elles, une seule était

Vir⁺. Elle provenait également d'une septicémie d'agneau et avait le même sérotype que la souche d'origine.

A la suite des travaux précédents, Lopez-Alvarez et Gyles (1980) ont recherché la présence de la toxine *Vir* sur 46 souches d'*E. coli* provenant d'infections systémiques animales ou humaines, selon deux critères: la toxicité chez le poulet et l'antigène de surface spécifique. Ils ont détecté la toxine, sans l'antigène, sur deux souches humaines et trois souches de veau et la toxine associée à l'antigène sur deux souches de veau. Deux plasmides *Vir* d'origine géographique différente ont été partiellement caractérisés sur le plan génétique. Bien qu'apparentés, ils n'étaient pas identiques (Lopez-Alvarez *et al.*, 1979).

2.4. Synthèse

Cette analyse montre qu'il n'existe pas en fait un attribut de virulence unique et spécifique. Vu du côté de la bactérie, le pouvoir pathogène résulte de l'expression simultanée de plusieurs caractères potentiels dont les effets s'ajoutent. Ces aptitudes particulières peuvent s'exercer soit lors de la pénétration dans l'organisme (adhérence, compétition microbienne), soit dans la phase de multiplication systémique (résistance à la phagocytose, résistance à l'action bactéricide du sérum, aptitude à capter le fer), soit dans l'effet toxique (endotoxines, hémolysines, toxine *Vir*).

Il existe cependant une hiérarchie dans l'importance de ces divers facteurs. Cette hiérarchie est importante à connaître si l'on veut lutter efficacement contre de telles infections. Pour cela, il faut mettre en regard l'ensemble des facteurs pathogènes potentiels des bactéries et les moyens de résistance de l'hôte éventuel.

En ce qui concerne les données strictement bactériologiques, elles peuvent être classées en deux groupes: d'une part, la comparaison des fréquences des caractères pathogènes ou supposés tels, sur des effectifs suffisants de souches provenant de sujets malades ou de sujets sains; d'autre part, la virulence comparée de variants phénotypiques ou de mutants d'une souche pathogène particulière dans un modèle d'infection expérimentale.

La première approche, de type épidémiologique, a été largement utilisée sur les souches humaines. Elle tend à relativiser l'importance de certains facteurs à déterminisme plasmidique (colicine V, facteurs de résistance aux antibiotiques) et à redonner une place majeure à l'antigène O et à l'antigène capsulaire K (Mac Cabe *et al.*, 1975, 1978; Davies *et al.*, 1981; Hughes *et al.*, 1982). La plupart des auteurs attribuent un rôle prépondérant à l'antigène O. On peut se demander si cette conclusion ne comporte pas un biais. En

effet, l'importance accordée à l'antigène O provient de l'utilisation, souvent exclusive, de la résistance au sérum comme épreuve de référence. Dans cette épreuve, effectivement, le rôle de l'antigène O est prédominant. Mais on sait que l'un des attributs essentiels de la virulence *in vivo*, c'est la résistance à la phagocytose. Or, cet attribut est lié à la possession d'une capsule. C'est pour cette raison, qu'à notre avis, l'inoculation intrapéritonéale à la souris ou la mesure de l'index phagocytaire (Biozzi *et al.*, 1954) seraient plus appropriées que l'épreuve de résistance au sérum.

La deuxième approche a été utilisée tout particulièrement dans l'analyse des déterminants du pouvoir pathogène de *E. coli* K1, fréquemment isolé dans les septicémies et les méningites humaines (Cabello, 1979; Smith et Huggins, 1980). Ces études montrent l'importance de la possession de l'antigène capsulaire K1 pour une pleine expression du pouvoir pathogène. Cet antigène particulier protège la bactérie non seulement contre la phagocytose, mais aussi contre l'action bactéricide du sérum. En revanche, la possession du plasmide col V produit une légère augmentation de virulence, uniquement si l'antigène K1 est présent.

L'autre aspect à prendre en considération est constitué par les mécanismes de résistance de l'hôte. Quelle importance aurait en effet la résistance aux effets bactéricides du sérum dans le pouvoir pathogène si ce mécanisme de défense était secondaire ou négligeable *in vivo*? On a vu que dans les infections systémiques l'hôte se défendait surtout en phagocytant les bactéries dans le SRE du foie et de la rate. *In vitro*, le sérum de veau nouveau-né n'ayant pas pris de colostrum est aussi inhibiteur que le sérum des adultes (Reiter *et al.*, 1975; Reiter et Brock, 1975). Son action inhibitrice est liée au complément, d'une part, et à la présence de transferrine, d'autre part. Néanmoins, on ne connaît pas l'importance exacte de ce phénomène *in vivo*.

Des arguments immunologiques indirects permettent également d'apprécier l'importance relative des antigènes K ou O. Il a été prouvé, par exemple, que la protection conférée par la vaccination anticolibacillaire chez le veau était directement liée à la teneur du colostrum en anticorps anti K (Fey, 1972). Cette observation corrobore les données expérimentales indiquant que l'opsonisation des souches pourvues de capsule n'était possible qu'en présence d'anticorps anti-K spécifiques (Horwitz et Silverstein, 1980).

Il existe enfin une lacune importante dans nos connaissances sur les stades préalables des infections septicémiques, notamment à la porte d'entrée intestinale. Si l'on est en droit de penser que la colonisation intestinale des souches septi-

cémiques suit les mêmes règles que les souches entéropathogènes, mieux étudiées sur ce plan, en revanche on ne sait à peu près rien de la phase de pénétration dans l'organisme. Or la connaissance de cette phase semble cruciale pour expliquer la diminution rapide de réceptivité des veaux nouveau-nés après la naissance. Cette diminution ne semble pas en effet devoir être attribuée à une résistance de type immunologique puisqu'elle se produit chez des animaux privés de colostrum. L'hypothèse la plus plausible est la perméabilité particulière de la muqueuse intestinale pendant les premières heures (Kaeckenbeeck et Schœnaers, 1969).

L'hypothèse entérotoxémique

La distinction entre colibacillose septicémique et colibacillose intestinale est commode sur le plan pathogénique. Néanmoins, elle ne reflète pas véritablement la réalité. Il existe en effet de nombreuses observations, concernant des cas spontanés ou des infections expérimentales, où l'on a pu mettre en évidence la dualité — intestinale/septicémique — de l'infection colibacillaire. Par ailleurs, cette dichotomie a conduit à l'abandon de l'hypothèse entérotoxémique, évoquée dès 1925 par Smith et Orcutt.

Il existe une forme d'entérotoxémie colibacillaire chez le porc. Les progrès réalisés dans la connaissance de la pathogénie de cette maladie peuvent servir de base méthodologique à l'étude du syndrome chez le veau.

1. L'entérotoxémie colibacillaire du porc comme modèle d'étude (Nielsen, 1981)

La prolifération intestinale de certaines souches de *E. coli* est associée à un syndrome apparaissant chez le porc à la suite du sevrage et caractérisé principalement par des troubles nerveux et un œdème important de la sous-muqueuse gastrique. Cette maladie est appelée « maladie de l'œdème du porc ».

On a pu reproduire ce syndrome, soit en injectant par voie veineuse des extraits de culture de ces souches, soit en inoculant par voie orale les souches viables. Le nombre de sérotypes incriminés est restreint; les plus fréquents sont O138:K81, O139:K82, O141:K85. La plupart des souches sont hémolytiques et certaines d'entre elles possèdent, en plus, une entérotoxine.

L'injection parentérale de diverses fractions de bactéries tuées a permis de mettre en évidence deux toxines: l'endotoxine (préparation phénol-eau de Westphal) et une neurotoxine, appelée EDP par les Anglo-saxons (rupture mécanique ou extraction alcaline) (Schimmelpfennig et Weber, 1979).

Les signes cliniques dominants sont de type nerveux (incoordination, parésie, paralysie, décubitus, tremblements, convulsions, pédalage) et circulatoire (œdème sous palpébral de 12 à 36 h avant les signes neurologiques). La mort survient moins de 24 h après le début des premiers signes neurologiques, en général précédée d'une sévère dyspnée. Les signes digestifs précèdent en général les signes nerveux, notamment lorsque les souches responsables ont aussi une potentialité entérotoxigène. Ils se traduisent par une diarrhée plus ou moins sévère.

Les lésions macroscopiques sont caractérisées par un œdème de la sous-muqueuse gastrique, notamment dans la région du cardia, de la vessie, des ganglions mésentériques. Les lésions microscopiques sont plus spécifiques et c'est sur leur interprétation que reposent les diverses hypothèses pathogéniques de cette maladie. Il s'agit principalement de lésions vasculaires des petites artères et des artérioles. Ces lésions sont visibles chez les animaux ayant survécu à la phase aiguë, ce qui est loin d'être le cas général. Elles consistent en une nécrose fibrineuse de la musculature des vaisseaux. Par ailleurs, on observe des foyers de thrombose disséminés, de même qu'un œdème cérébral avec, éventuellement, des zones d'encéphalomalacie.

Les signes cliniques et lésionnels prédominants suggèrent que la maladie est provoquée par un choc endotoxique (Johannsen, 1974, 1977; Johannsen et Schoppmeyer, 1975a,b; Kurtz et Short, 1976). Pourtant certains auteurs pensent que l'EDP constitue le principe toxique majeur (Nielsen et Clugston, 1971). Leur démonstration repose sur deux observations: d'une part, l'injection d'endotoxine sans EDP ne permet pas de reproduire la lésion, selon eux spécifique, de nécrose fibrineuse vasculaire des petites artères et artérioles; d'autre part, alors que les conséquences de l'injection d'endotoxine se manifestent rapidement l'EDP a des effets retardés débutant 18 à 24 h après l'injection, comme dans certaines infections expérimentales par voie orale (Smith et Halls, 1967a). Kurtz et Quast (1982) ont pensé que l'absence de lésions vasculaires spécifiques dans le choc endotoxique pouvait être dû à l'injection d'une dose unique et massive d'endotoxine, précipitant l'évolution de la maladie. Ils ont alors administré l'endotoxine en perfusion, à doses variables. Même de cette manière, ils n'ont pas pu reproduire les lésions caractéristiques de nécrose fibrineuse vasculaire. Ils en ont conclu que l'endotoxine à elle seule ne provoquait pas tous les signes de la maladie de l'œdème et ils semblent se rallier à l'hypothèse d'une action concomitante de l'endotoxine et de l'EDP.

Une autre hypothèse pathogénique a été émise par Shreeve et Thomlinson (1971), celle d'une

hypersensibilité immédiate aux antigènes de *E. coli*. On considère que les porcelets ont pu acquérir des anticorps anti-*E. coli in utero*, dans le colostrum ou ultérieurement. La multiplication intestinale conduirait à l'absorption d'antigènes, à l'origine de la réaction d'anaphylaxie.

Les preuves expérimentales décisives portent essentiellement sur le pouvoir toxique d'extraits bactériens par voie parentérale. Or, la démonstration de l'entérotoxémie nécessite la mise en évidence du passage de la toxine de l'intestin dans la circulation générale. L'inoculation orale d'extraits bactériens provoque en général des signes d'intensité très modérée, difficilement assimilables à ce qu'on observe dans les cas spontanés ou après injection parentérale des mêmes extraits (Pickrell *et al.*, 1969 a,b). Des expériences faites sur les rats ont montré que, même en se plaçant dans des conditions très drastiques (sensibilisation aux endotoxines avec l'acétate de plomb, irradiation), la quantité d'endotoxine absorbée est extrêmement faible (Berczi *et al.*, 1968; Gans et Matsumoto, 1974). On sait pourtant que chez le rat les endotoxines ne sont pas inactivées dans l'intestin (Berczi, 1968). Par contre, chez le porc, Johannsen et Schoppmeyer (1975a,b) ont augmenté la fréquence de reproduction du choc endotoxique par voie orale en associant aux extraits bactériens, soit du diméthylsulfoxyde, agent solubilisateur, soit du bleu trypan qui inhibe l'action du SRE. Ces travaux montrent qu'il existe au moins deux barrières à l'endotoxine: la muqueuse intestinale et le système réticuloendothélial, principalement le foie. En ce qui concerne la barrière intestinale, deux causes pourraient favoriser le passage des endotoxines: d'une part, des lésions intestinales provoquées par des bactéries, mais surtout des virus et des parasites; d'autre part, la solubilisation des endotoxines sous une forme absorbable par l'intestin. Ce deuxième aspect pourrait peut-être rendre compte de la spécificité d'action de certaines endotoxines. Pourquoi, en effet, seuls certains sérotypes d'*E. coli* exercent-ils une action endotoxique alors que le pouvoir endotoxique est considéré comme non spécifique? Certaines endotoxines seraient plus solubles que d'autres et l'on a prouvé que les composants polysaccharidiques, porteurs de spécificité, agissent comme facteurs de solubilisation (Parant, 1978).

Les observations faites par les cliniciens en pathologie humaine et vétérinaire fournissent des arguments convaincants sur le rôle de ces deux barrières dans le déclenchement des syndromes entérototoxiques. En pathologie équine, par exemple, le choc endotoxique est une manifestation majeure de troubles à point de départ digestif: coliques, diarrhées, atteinte hépatique (Meyers *et al.*, 1982; Patrick, 1982). Chez

l'homme, le syndrome de Reye, qui se traduit par une encéphalopathie associée à une dégénérescence graisseuse des viscères, est attribuée à une défaillance hépatique dans la détoxification des endotoxines d'origine intestinale (Cooperstock *et al.*, 1975).

2. Les arguments concernant le veau

On peut distinguer trois types d'arguments corroborant l'hypothèse entérotoxémique, ou plus exactement, entéro-endotoxémique chez le veau:

- l'administration orale de certains sérotypes peut provoquer soit une septicémie chez des veaux privés de colostrum, soit une entérite, sans infection systémique chez des veaux ayant bu du colostrum (Gay *et al.*, 1964a,b);

- les lésions générales chez les animaux septiciémiques et les animaux diarrhéiques sont de même type (Osborne, 1967; Logan et Penhale, 1971; Wray et Thomlinson, 1974) et,

- ces lésions sont semblables à celles qui sont produites par l'administration parentérale, voie orale, d'endotoxines (Osborne, 1967; Wray et Thomlinson, 1972a).

Cet ensemble d'observations indique que les endotoxines ont une part importante dans le déterminisme du pouvoir pathogène y compris lorsque ces souches se multiplient exclusivement dans le tube digestif. L'endotoxémie semble pouvoir se produire tant avec des souches à caractère septicémique (Gay *et al.*, 1964) qu'avec des souches entérotoxinogènes (Logan et Penhale, 1971). Il n'existe aucune donnée concernant la spécificité éventuelle du pouvoir endotoxique pour une souche donnée. Mais il semble que l'expression finale du pouvoir endotoxique soit extrêmement tributaire des conditions de résistance de l'hôte.

Dans une récente étude expérimentale, nous avons établi une corrélation entre un syndrome caractérisé par une entérite mucoïde et un état d'abattement intense (suggérant un choc endotoxique), et la présence de souches d'*E. coli* très virulentes pour la souris (De Rycke *et al.*, 1982). Les animaux atteints avaient pour la plupart plus d'une semaine, ce qui ne correspond pas à l'âge de réceptivité optimum pour la septicémie classique. Cette corrélation significative confirme la dualité de certaines souches, pourvues de propriétés leur conférant un pouvoir de résistance aux mécanismes de défense systémiques de l'hôte et un pouvoir de colonisation intestinale, voire un pouvoir entéropathogène. Toutefois, la démonstration de l'hypothèse d'une forme entérotoxémique chez le veau nécessite des preuves expérimentales supplémentaires, notamment la reproduction expérimentale du syndrome.

Accepté pour publication le 8 juillet 1983

Résumé

La septicémie des veaux nouveau-nés est provoquée par des souches d'*E. coli* appartenant à un nombre restreint de sérotypes. Sa pathogénie est assez mal connue, notamment en ce qui concerne les modalités d'invasion de l'organisme à partir de l'intestin et les attributs de virulence des souches pathogènes. On sait néanmoins que le système réticulo-endothélial a une importance primordiale dans la défense de l'hôte et que les immunoglobulines colostrales renforcent considérablement cette résistance. L'analyse de la virulence a été effectuée principalement sur les souches septicémiques d'origine humaine. Cette étude porte presque exclusivement sur la phase de multiplication dans le sang et sur l'action toxique. La virulence résulte de l'association de plusieurs facteurs agissant conjointement. Certains antigènes K permettraient aux bactéries de résister à la phagocytose ; le rôle de l'antigène O serait important, qualitativement et quantitativement, dans la résistance à l'action bactéricide du sérum. Par ailleurs, l'aptitude à la croissance dans un milieu pauvre en fer constituerait un avantage décisif. Cette aptitude repose sur des protéines de la membrane externe, dont certaines sont codées par des plasmides. Le principe toxique des souches septicémiques est l'endotoxine. Il est admis que l'action endotoxique repose exclusivement sur le lipide A du LPS. Le lipide A étant considéré comme identique quel que soit le sérotype, la virulence serait en relation directe avec la quantité d'endotoxine circulante, c'est-à-dire avec l'aptitude des souches à se multiplier dans le sang. De nombreux arguments cliniques et expérimentaux suggèrent l'existence d'une forme entérotoxémique de colibacillose chez le veau. La démonstration de l'existence d'une forme entérotoxémique chez le veau pourrait emprunter la méthodologie utilisée pour la maladie de l'œdème du porc. Chez le porcelet, la forme entérotoxémique est provoquée par quelques sérotypes d'*E. coli*. L'action toxique est due, d'une part, à l'endotoxine, d'autre part, à une neurotoxine, spécifique puisqu'on la trouve uniquement chez les souches pathogènes. Cette maladie a pu être reproduite par l'inoculation intraveineuse d'extraits bactériens ; en revanche, l'inoculation orale de ces mêmes extraits a eu des effets beaucoup plus réduits.

Références

- AKIYAMA H., INOUE K., 1977. Isolation and properties of complement-resistant strains of *Escherichia coli* K12. *Infect. Immun.*, **18**, 446-453.
- ARP L.H., 1982. Effect of passive immunization on phagocytosis of blood-borne *E. coli* in spleen and liver of turkeys. *Am. J. Vet. Res.*, **43**, 1034-1040.
- BERCZI I., 1968. Stability of *E. coli* endotoxin in the rat gastro-intestinal tract. *J. Pathol. Bacteriol.*, **96**, 487-491.
- BERCZI I., BERTOK L., BEREZNAI T., 1966. Comparative studies on the toxicity of *E. coli* lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. *Can. J. Microbiol.*, **12**, 1070-1071.
- BERCZI I., BERTOK L., BAINTRNER K., VERESS B., 1968. Failure of oral *E. coli* endotoxin to induce either specific tolerance or toxic symptoms in rats. *J. Pathol. Bacteriol.*, **96**, 481-486.
- BINNS M.M., DAVIES D.L., HARDY K.G., 1979. Cloned fragments of the plasmid col V, I-K94 specifying virulence and serum resistance. *Nature*, **279**, 778-781.
- BINNS M.M., MAYDEN J., LEVINE R.P., 1982. Further characterization of complement resistance conferred on *Escherichia coli* by the plasmid genes *tra T* of R 100 and *iss* of col V, I-K94. *Infect. Immun.*, **35**, 654-659.
- BIOZZI G., BENACERRAF B., STIFFEL C., HALPERN B.N., 1954. Étude quantitative de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial chez la souris. *C.R. Soc. Biol.*, **148**, 431-435.
- BLUMENSTOCK E., JANN K., 1982. Adhesion of pillated *E. coli* strains to phagocytes : differences between bacteria with mannose-sensitive pili and those with mannose-resistant pili. *Infect. Immun.*, **35**, 264-269.
- BULLEN J.J., LEIGH L.C., ROGERS H.J., 1968. The effect of iron compounds on the virulence of *E. coli* for guinea pigs. *Immunology*, **15**, 581-588.
- BULLEN J.J., ROGERS H.J., LEWIN J.E., 1971. The bacteriostatic effect of serum on *Pasteurella septica* and its abolition by iron compounds. *Immunology*, **20**, 391-406.
- BULLEN J.J., ROGERS H.J., GRIFFITHS E., 1978. Role of iron in bacterial infection. *Curr. Top. Microbiol.*, **80**, 1-35.
- BULLEN J.J., ROGERS H.J., 1969. Bacterial iron metabolism and immunity to *Pasteurella septica* and *E. coli*. *Nature*, **224**, 380-382.
- CABELLO F.C., 1979. Determinants of pathogenicity of *E. coli* K1, In: K.N. Timmis et A. Pühler (eds) : *Plasmids of medical, environmental and commercial importance*, pp 155-160, Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- CHEDID L., PARENT M., 1971. Hypersensitivity and tolerance to endotoxins, in S. Kadis, G. Weinbaum et S.J. Aji (eds) *Microbial toxins*, volume V (*bacterial endotoxins*), 415-457. Academic Press, New-York.
- CLANCY J., SAVAGE D.C., 1981. Another colicine V phenotype: *in vitro* adhesion of *E. coli* to mouse intestinal epithelium. *Infect. Imm.*, **32**, 343-352.

- COOKE E.M., EWINS S.P., 1975. Properties of strains of *E. coli* isolated from a variety of sources. *J. Med. Microbiol.*, **8**, 107-111.
- COOPERSTOCK M.S., TUCKER R.P., BAUBLIS J.V., 1975. Possible pathogenic role of endotoxin in Reye's syndrome. *Lancet*, **1**, (7919) 1272-1274.
- CZAKY T.Z., 1948. On the estimation of bound hydroxylamine in biological materials. *Acta Chem. Scand.*, **2**, 450-454.
- DAVIES D.L., FALKINER F.R., HARDY K.G., 1981. Colicin V production by clinical isolates of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **31**, 574-579.
- DAVIS S.D., WEDGWOOD R.J., 1965. Kinetics of the bactericidal action of normal serum on Gram-negative bacteria. *J. Immunol.*, **95**, 75-79.
- DE RYCKE J., BOIVIN R., LE ROUX Ph. 1982. Mise en évidence des souches d'*E. coli* à caractère septicémique dans les fèces des veaux atteints d'entérite mucoïde. *Ann. Rech. Vét.*, **13**, 385-397.
- DUBOURGUIER H.C., GOUET Ph., CONTREPOIS M., GIRARDEAU J.P., 1978. Diarrhée du nouveau-né : propriétés et mécanismes d'action des *Escherichia coli* entéropathogènes chez le veau et le porcelet. *Ann. Rech. Vét.*, **9**, 129-152.
- DUCLUZEAU R., RAIBAUD P., 1979. *Écologie microbienne du tube digestif*. Masson, Paris.
- EATON J.W., BRANDT P., MAHONEY J.R., LEE J.T., 1982. Haptoglobine : a natural bacteriostat. *Nature*, **215**, 691-692.
- ELWELL L.P., SHIPLEY P.L., 1980. Plasmid-mediated factors associated with virulence of bacteria to animals. *Ann. Rev. Microbiol.*, **34**, 465-496.
- EMÖDY L., PALT T., SAFONOVA H.V., KUCH B., GOLUTVA N.K., 1980. Alpha-haemolysin : an additive virulence factor in *Escherichia coli*. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, **27**, 333-342.
- EVANS D.J., EVANS D.G., CLEGG S., 1980. Lethality of bacteremia-associated *E. coli* for mice in relation to serotype and hemagglutination (HA) type. *FEMS Microbiol. Lett.*, **9**, 171-174.
- FANKHAUSER R., 1960. Meningo-encephalitis bei Colisepsis des Kalbes. *Monatsh. Veterinaermed.*, **15**, 614-618.
- FEINGOLD D.S., 1969. The serum bactericidal reaction. IV. Phenotypic conversion of *E. coli* from serum resistance to serum sensitivity by diphenylamine. *J. Infect. Dis.*, **120**, 437-444.
- FEINGOLD D.S., GOLDMAN J.N., KURITZ H.M., 1968a. Locus of the action of serum and the role of lysozyme in the serum bactericidal reaction. *J. Bacteriol.*, **96**, 2118-2126.
- FEINGOLD D.S., GOLDMAN J.N., KURITZ H.M., 1968b. Locus of the lethal event in the serum bactericidal reaction. *J. Bacteriol.*, **96**, 2127-2131.
- FEY H., 1972. *Colibacillosis in calves*. Hans Huber, Bern.
- FIERER J., FINLEY F., BRAUDE A.I., 1972. A plaque assay on agar for detection of gram-negative bacilli sensitive to complement. *J. Immunol.*, **109**, 1156-1158.
- FIETTA A., ROMERO E., SICCARDI A.G., 1977. Effect on some R factors on the sensitivity of rough *Enterobacteriaceae* to human serum. *Infect. Immun.*, **18**, 278-282.
- FROST G.E., ROSENBERG H., 1973. The inducible citrate-dependent iron transport system in *E. coli* K12. *Biochem. Biophys. Acta*, **330**, 90-101.
- GANS H., MATSUMOTO K., 1974. Are enteric endotoxins able to escape from the intestine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **147**, 736-739.
- GAY C.C., 1965. *Escherichia coli* and neonatal disease of calves. *Bacteriol. Rev.*, **29**, 75-101.
- GAY C.C., MAC KAY K.A., BARNUM D.A., 1964a. Studies on colibacillosis of calves. II. A clinical evaluation of the efficiency of vaccination of the dam as a means of preventing colibacillosis of the calf. *Can. Vet. J.*, **5**, 297-308.
- GAY C.C., MAC KAY K.A., BARNUM D.A., 1964b. Studies on colibacillosis of calves. III. The experimental reproduction of colibacillosis. *Can. Vet. J.*, **5**, 314-325.
- GIRARDEAU J.P., 1980. A new *in vitro* technique for attachment to intestinal villi using enteropathogenic *Escherichia coli*. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, **131 B**, 31-37.
- GLYNN A.A., HOWARD C.J., 1970. The sensitivity to complement of strains of *Escherichia coli* related to their K antigens. *Immunology*, **18**, 331-346.
- GRATIA A., 1925. Sur un remarquable exemple d'antagonisme entre deux souches de colibacilles. *C.R. Soc. Biol.*, **93**, 1041-1041.
- HAMON Y., PERON Y., 1964. Description de sept nouveaux types de colicines. État actuel de la classification de ces antibiotiques. *Ann. Inst. Pasteur*, **107**, 44-54.
- HANTKE K., BRAUN V., 1975. Membrane receptor dependent iron transport in *E. coli*. *FEBS Letters*, **49**, 301-305.
- HORWITZ M.A., 1982. Phagocytosis of microorganisms. *Rev. Infect. Dis.*, **4**, 104-123.
- HORWITZ M.A., SILVERSTEIN S.C., 1980. Influence of the capsule on complement fixation and on phagocytosis and killing by human phagocytes. *J. Clin. Invest.*, **65**, 82-94.
- HOWARD C.J., GLYNN A.A., 1971. The virulence for mice of strains of *Escherichia coli* related to the effects of K antigens on their resistance to phagocytosis and killing by complement. *Immunology*, **20**, 767-777.

- HUGHES C., PHILLIPS R., ROBERTS A.P., 1982. Serum resistance among *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection in relation to O type and the carriage of hemolysin, colicin and antibiotic resistance determinants. *Infect. Immun.*, **35**, 270-275.
- JACKS T.M., GLANTZ P.J., 1967. Virulence of *E. coli* serotypes for mice. *J. Bacteriol.*, **93**, 991-995.
- JOHANNSEN U., 1974. Untersuchungen zur Pathologie und Pathogenese der spontanen Kolienterotoxämie und des experimentellen Koliendotoxinsyndroms der Schweine. 8. Mitteilung: Gesamtauswertung und Schlußfolgerungen. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, **28**, 889-903.
- JOHANNSEN U., 1977. Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Kolienterotoxämie der Schweine. IX. Die Wirkung von Lipopolysaccharidendotoxin bei Absatzferkeln nach parenteraler Applikation. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, **31**, 191-202.
- JOHANNSEN U., SCHOPPMAYER K., 1975a. Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Kolienterotoxämie der Schweine. II. Mitteilung: Darstellung und Auswertung von Versuchen mit intraenteraler Applikation von Kolitoxin. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, **29**, 48-62.
- JOHANNSEN U., SCHOPPMAYER K., 1975b. Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Kolienterotoxämie der Schweine. I. Mitteilung: Vergleich der Wirkungen des Toxins von zwei unterschiedlichen *E. coli* Serotypen nach parenteraler Toxinapplikation. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, **29**, 33-47.
- KAECKENBEECK A., SCHÆNAERS F., 1969. Age et sensibilité du veau nouveau-né à une infection expérimentale par *E. coli* RVC 1787. *Ann. Méd. Vét.*, **113**, 219.
- KURTZ H.J., SHORT E.C., 1976. Pathogenesis of edema disease in swine: pathologic effects of hemolysin, autolysate and endotoxin of *E. coli* (O141). *Am. J. Vet. Res.*, **30**, 791-806.
- KURTZ H.J., QUAST J., 1982. Effects of continuous intravenous infusion of *E. coli* endotoxin into swine. *Am. J. Vet. Res.*, **43**, 262-268.
- LAI TEE G., SCOTT K.G., 1980. Analysis of outer membrane components of *Escherichia coli* ML 308 225 and of a serum-resistant mutant. *Infect. Immun.*, **28**, 387-392.
- LANDY M., MICHAEL J.G., WHITBY J.L., 1962. Bactericidal method for the measurement in normal serum of antibody to Gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.*, **83**, 631-640.
- LANGMAN L., YOUNG I.G., FROST G.E., ROSENBERG H., GIBSON F., 1972. Enterocholin system of iron transport in *E. coli*: mutations affecting ferric-enterocholin sterase. *J. Bacteriol.*, **112**, 1142-1149.
- LOGAN E.F., PENHALE W.J., 1971. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. I. The influence of colostrum whey and immunoglobulin fractions on experimental colisepticaemia. *Vet. Rec.*, **88**, 222-228.
- LOOS M., WELLEK B., THESEN R., OPFERKUCH W., 1978. Antibody-independent interaction of the first component of complement with Gram-negative bacteria. *Infect. Imm.*, **22**, 5-9.
- LOPEZ-ALVAREZ J., GYLES C.L., SHIPLEY P., FALKOW S., 1979. Characterization of the *Vir* plasmids of septicemic *E. coli*. *Abstr. 79th Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol.*, **139**, H (H) 17.
- LOPEZ-ALVAREZ J., GYLES C.L., 1980. Occurrence of the *Vir* plasmid among animal and human strains of invasive *E. coli*. *Am. J. Vet. Res.*, **41**, 769-774.
- LOVELL R., HUGHES D.L., 1935. Diseases of young calves: a bacteriological examination of 100 cases. *J. Comp. Pathol. Therap.*, **48**, 267.
- MAC CABE W.R., CARLING P.C., BRUINS S., GREELY A., 1975. The relation of K-antigen to virulence of *E. coli*. *J. Infect. Dis.*, **131**, 6-10.
- MAC CABE W.R., KAIJSER B., OLLING S., UWAYDAH M., HANSON L.A., 1978. *Escherichia coli* in bacteremia: K and O antigens and serum sensitivity of strains from adults and neonates. *J. Infect. Dis.*, **138**, 33-41.
- MAC NABB P.C., TOMASI T.P., 1981. Host defence mechanisms at mucosal surface. *Ann. Rev. Microbiol.*, **35**, 477-496.
- MEDEARIS D.N., CAMITTA B.N., HEATH E.C., 1968. Cell-wall composition and virulence in *Escherichia coli*. *J. Exp. Med.*, **128**, 399-414.
- MEDEARIS D.N., KENNY J., 1968. Observations concerning the pathogenesis of *E. coli* infections in mice. *J. Immunol.*, **101**, 534-540.
- MEYERS K., REED S., KECK M., CLEM M., BAYLY W., 1982. Circulating endotoxin-like substance(s) and altered hemostasis in horses with gastro intestinal disorders: an interim report. *Am. J. Vet. Res.*, **43**, 2233-2238.
- MINSHEW B.H., JORGENSEN J., COUNTS G.W., FALKOW S., 1978a. Association of hemolysin production, hemagglutination of human erythrocytes, and virulence for chicken embryos of extraintestinal *E. coli* isolates. *Infect. Immun.*, **20**, 50-54.
- MINSHEW B.H., JORGENSEN J., SWANSTRUM M., GROOTES-REUVE CAMP G.A., FALKOW S., 1978b. Some characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal infections of humans. *J. Infect. Dis.*, **137**, 648-654.
- MOLL A., MANNING P.A., TIMMIS K.N., 1980. Plasmid-determined resistance to serum bactericidal activity: a major outer membrane protein, the *tra* I gene product, is responsible for plasmid-specified serum resistance in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **28**, 359-367.
- MOON H.W., 1974. Pathogenesis of enteric diseases caused by *Escherichia coli*. *Adv. Vet. Comp. Med.*, **18**, 179-211.

- MORRISON D.C., KLINE L.F., 1977. Activation of the classical and properdin pathways of complement by bacterial lipopolysaccharides (LPS). *J. Immunol.*, **118**, 362-368.
- MUSCHEL L.H., TREFFERS H.P., 1956a. Quantitative studies on the bactericidal actions of serum and complement. I. A rapid photometric growth assay for bactericidal activity. *J. Immunol.*, **76**, 1-10.
- MUSCHEL L.H., TREFFERS H.P., 1956b. Quantitative studies on the bactericidal actions of serum and complement. II. Some implications for the mechanism of the bactericidal reaction. *J. Immunol.*, **76**, 11-19.
- NIELSEN N.O., 1981. Edema disease, *In*: A.D. Leman, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny, E. Scholl, B. Straw (eds): *Diseases of swine*, 5th ed. Iowa State University Press, Ames, USA, pp. 478-490.
- NIELSEN N.O., CLUGSTON R.E., 1971. Comparison of *E. coli* endotoxin shock and acute experimental edema disease in young pigs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **176**, 176-189.
- OFEK I., BEACHEY E.H., 1980. General concepts and principles of bacterial adherence in animals and man. *In*: E.H. Beachey (eds): *Bacterial adherence*, Chapman et Hall, Londres, pp. 3-29.
- OGATA R.T., BEVINE R.P., 1980. Characterization of complement resistance in *Escherichia coli* conferred by the antibiotic resistance plasmid R 100. *J. Immunol.*, **125**, 1494-1498.
- ØRSKOV F., ØRSKOV I., 1978. Serotyping of *Enterobacteriaceae* with special emphasis on K antigen determination. *In*: *Methods in Microbiology*, **11**, 1-77, Academic Press. London.
- ØRSKOV F., ØRSKOV I., 1979. Special *E. coli* serotypes from enteropathics in domestic animals and man, *in*: *Escherichia coli infections in domestic animals*. Suppl. *Zentralbl. Veterinarmed.*, **29**, 7-14.
- OSBORNE J.C., 1967. *Escherichia coli* serotypes orally. I. Induced gastroenteritis and pathological changes in neonatal calves. *Cornell Vet.*, **57**, 204-237.
- OZANNE G., MATHIEU L.G., BARIL J.P., 1977. Production of colicin V *in vitro* and *in vivo* and observations on its effects in experimental animals. *Infect. Immun.*, **17**, 497-503.
- PARANT M., 1978. *Les endotoxines*. Cours de Microbiologie systématique. Institut Pasteur, Paris.
- PATRICK D.H., 1982. Systemic effects of *E. coli* lipopolysaccharide-induced endotoxic shock in the horse. *Diss. Abst. Int.*, **B 42**, 2732-2733.
- PICKRELL J.A., SIMON J., LINK R.P., RHOADES H.E., GOSSLING J., 1969a. An attempt to experimentally produce edema disease in swine by oral administration of *E. coli* serotype O139:K82:H1. *Can. J. Comp. Med.*, **33**, 72-75.
- PICKRELL J.A., LINK R.P., SIMON J., RHOADES H.E., GOSSLING J., 1969b. Attempts to produce experimental edema disease in swine by parenterally injecting *E. coli* serotype O139:K82:H1. *Can. J. Comp. Med.*, **33**, 76-80.
- POHL P., LINTERMANS P., MOURY J., 1981. Colicinogénie chez les colibacilles pathogènes des mammifères domestiques. *Ann. Méd. Vét.*, **125**, 567-570.
- QUACKENBUSH R.L., FALKOW S., 1979. Relationship between colicin V activity and virulence in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **24**, 562-564.
- RASKOVA H., RASKA K., 1980. Enterotoxins from gram-negative bacteria relevant for veterinary medicine. *Vet. Res. Comm.*, **4**, 195-224.
- REITER B., BROCK J.H., STEEL E.D., 1975. Inhibition of *E. coli* by bovine colostrum and post-colostral milk. II. The bacteriostatic effect of lactoferrin on a serum susceptible and serum resistant strain of *E. coli*. *Immunology*, **28**, 83-95.
- REITER B., BROCK J.H., 1975. Inhibition of *E. coli* by bovine colostrum and post-colostral milk. I. Complement-mediated bactericidal activity of antibodies to a serum susceptible strain of *E. coli* of the serotype O111. *Immunology*, **28**, 71-82.
- RENAULT L., VALLEE A., QUINCHON C., 1965. Principaux sérotypes d'*E. coli* isolés chez le porc en France (souches hémolytiques). *Bull. Acad. Vét.*, **38**, 465-476.
- RENAULT L., VALLEE A., GAUTHIER J., MAIRE C., 1968. Diagnostic de la colibacillose du veau. *Recl Méd. Vét.*, **144**, 316-321.
- REYNARD A.M., BECK M.E., 1976. Plasmid-mediated resistance to the bactericidal effects of normal rabbit serum. *Infect. Immun.*, **14**, 848-850.
- REYNARD A.M., BECK M.E., CUNNINGHAM R.K., 1978. Effects of antibiotic resistance plasmids on the bactericidal activity of normal rabbit serum. *Infect. Immun.*, **19**, 861-866.
- REYNOLDS B.L., PRUUL H., 1971. Sensitization of complement-resistant smooth gram-negative bacterial strains. *Infect. Immun.*, **3**, 365-372.
- ROGERS D.E., 1960. Host mechanisms which act to remove bacteria from the blood stream. *Bacteriol. Rev.*, **24**, 50-66.
- ROWLEY D., 1954. The virulence of strains of *Bacterium coli* for mice. *Br. J. Exp. Pathol.*, **35**, 528-538.
- ROWLEY D., 1971. Endotoxins and bacterial virulence. *J. Infect. Dis.*, **123**, 317-327.
- ROWLEY D., WARDLAW A.C., 1958. Lysis of Gram-negative bacteria by serum. *J. Gen. Microbiol.*, **18**, 529-533.
- SCHADE A.L., CAROLINE L., 1946. An iron-binding component in human blood plasma. *Science*, **104**, 340-341.
- SCHIMMELPFENNIG H., WEBER R., 1979. Studies on the oedema disease producing toxin of *Escherichia coli* (*E. coli*-neurotoxin). *In*: H. Willinger et A. Weber (eds): *E. coli infections in domestic animals*, Verlag Paul Parey, Berlin, pp. 25-32.

- SCHENAERS F., 1970. Reproduction expérimentale de la colibacillose du veau. *Colloque sur la diarrhée des veaux nouveau-nés*, Clermont-Ferrand, 13-14-15 octobre 1970. Éditions SEI, CNRA Versailles.
- SCHENAERS F., KAECKENBEECK A., 1965. Pathogénie et prophylaxie de la colibacillose du veau. *Ann. Méd. Vét.*, **109**, 88-104.
- SETCAVAGE T.M., KIM Y.B., 1976. Variability of the immunological state of germ-free colostrum-deprived Minnesota miniature piglets. *Infect. Immun.*, **13**, 600-607.
- SHREEVE B.J., THOMLINSON J.R., 1971. Hypersensitivity of young piglets to *E. coli* endotoxin. *J. Med. Microbiol.*, **4**, 307-318.
- SMITH H.W., 1962. Observations on the aetiology of neonatal diarrhoea in calves. *J. Pathol. Bacteriol.*, **84**, 147-167.
- SMITH H.W., 1974. A search for transmissible pathogenic characters in invasive strains of *E. coli*: the discovery of a plasmid-controlled toxin and a plasmid controlled lethal character closely associated, or identical, with colicine V. *J. Gen. Microbiol.*, **83**, 95-111.
- SMITH H., 1977. Microbial surfaces in relation to pathogenicity. *Bacteriol. Rev.*, **41**, 475-500.
- SMITH H.W., 1978. Transmissible pathogenic characteristics of invasive strains of *Escherichia coli*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **173**, 601-607.
- SMITH H.W., HALLS S., 1967a. The production of oedema disease and diarrhoea in weaned pigs by the oral administration of *E. coli*: factors that influence the course of the experimental disease. *J. Med. Microbiol.*, **1**, 45-59.
- SMITH H.W., HALLS S., 1967b. The transmissible nature of the genetic factor in *E. coli* that controls hemolysin production. *J. Gen. Microbiol.*, **47**, 153-161.
- SMITH H.W., HALLS S., 1968. The experimental infection of calves with bacteraemia-producing strains of *E. coli*: the influence of colostrum. *J. Med. Microbiol.*, **1**, 61-78.
- SMITH H.W., HUGGINS M.B., 1976. Further observations on the association of the colicine V plasmid of *E. coli* with pathogenicity and with survival in the alimentary tract. *J. Gen. Microbiol.*, **92**, 335-350.
- SMITH H.W., HUGGINS M.B., 1980. The association of the O18, K1 and H7 antigens and the col V plasmid of a strain of *E. coli* with its virulence and immunogenicity. *J. Gen. Microbiol.*, **121**, 387-400.
- SMITH H.W., LINGWOOD M.A., 1971. Observations on the pathogenic properties of the K88, Hly and Ent plasmids of *E. coli* with particular reference to porcine diarrhoea. *J. Med. Microbiol.*, **4**, 467-485.
- SMITH H.W., LINGWOOD M.A., 1972. Further observations on *E. coli* enterotoxins with particular regard to those produced by atypical piglet strains and by calf lamb strains: the transmissible nature of these enterotoxins and of K antigen possessed by calf and lamb strains. *J. Med. Microbiol.*, **5**, 243-250.
- SMITH T., ORCUTT M.L., 1925. The bacteriology and the intestinal tract of young calves with special reference to early diarrhoea. *J. Exp. Med.*, **41**, 89-106.
- SOJKA W.J., 1965. *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal, Bucks.
- SOJKA W.J., 1971. Enteric diseases in newborn piglets, calves and lambs due to *E. coli* infection. *Vet. Bull.*, **41**, 509-522.
- STUART S.J., GREENWOOD K.T., LUKE R.K.J., 1980. Hydroxamate-mediated transport of iron controlled by col V plasmids. *J. Bacteriol.*, **143**, 35-42.
- STUART S.J., GREENWOOD K.T., LUKE R.K.J., 1982. Iron-suppressive production of hydroxamate by *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.*, **36**, 870-875.
- TAYLOR P.W., 1975. Genetical studies of serum resistance in *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.*, **89**, 57-66.
- TAYLOR P.W., 1976. Immunochemical investigations on lipopolysaccharides and acidic polysaccharides from serum-sensitive and serum-resistant strains of *Escherichia coli* isolated from urinary-tract infections. *J. Med. Microbiol.*, **9**, 405-421.
- TAYLOR P.W., 1978. The effect of the growth environment on the serum sensitivity of some urinary *Escherichia coli* strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, **3**, 119-122.
- TAYLOR P.W., HUGHES C., ROBINSON M., 1979. Plasmids and the serum-resistance of enterobacteria, in: K.N. Timmis et A. Pühler: *Plasmids of medical, environmental and commercial importance*, Elsevier-North Holland Medical press Amsterdam, pp. 135-143.
- TAYLOR P.W., PARTON R., 1976. A protein factor associated with serum-resistance in *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, **10**, 225-232.
- TAYLOR P.W., HUGHES C., 1978. Plasmid carriage and the serum sensitivity of enterobacteria. *Infect. Immun.*, **22**, 10-17.
- TEE G.L., SCOTT G.K., 1980. Analysis of outer membrane components of *E. coli* ML 308 225 and of a serum-resistant mutant. *Infect. Immun.*, **28**, 387-392.
- TILTON R.C., 1982. The laboratory approach to the detection of bacteremia. *Ann. Rev. Microbiol.*, **36**, 467-493.
- TIMMIS K.N., MOLL A., DANBARA H., 1979. Plasmid gene that specifies resistance to the bactericidal activity of serum, in: K.N. Timmis et A. Pühler (eds): *Plasmids of medical, environmental and commercial importance*, Elsevier-North Holland Medical Press Amsterdam, pp. 145-153.
- VAN DEN BOSCH J.F., POSTMA P., DE GRAAF J., MAC LAREN D.M., 1981. Haemolysis by urinary *Escherichia coli* and virulence in mice. *J. Med. Microbiol.*, **14**, 321-331.

- VAN DEN BOSCH J.F., EMÖDY L., I. KETTYI, 1982. Virulence of haemolytic strains of *Escherichia coli* in various animal models. *FEMS Microbiol. Lett.*, **13**, 427-430.
- VOSTI K.L., RANDALL E., 1970. Sensitivity of serologically classified strains of *Escherichia coli* of human origin to the serum bactericidal system. *Am. J. Med. Sci.*, **259**, 114-119.
- WAALWIJK C., VAN DEN BOSCH J.F., MAC LAREN D., DE GRAAF J., 1982. Plasmid content and virulence properties of urinary *Escherichia coli* strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, **14**, 171-175.
- WESTPHAL O., JANN K., HIMMELSPACH K., 1983. Chemistry and immunochemistry of bacterial lipopolysaccharides as cell wall antigens and endotoxins, in: L.A. Hanson, O. Kallos et O. Westphal (eds): *Host Parasite relationships in Gram-negative infections*, *Prog. Allergy.*, **33**, 9-39.
- WHITBY J.L., ROWLEY D., 1959. The role of macrophages in the elimination of bacteria from the mouse peritoneum. *Br. J. Exp. Pathol.*, **40**, 358-370.
- WEINBERG E.D., 1978. Iron and infection. *Microbiol. Rev.*, **42**, 45-66.
- WILLIAMS P.H., 1979. Novel iron uptake system specified by col V plasmids: an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **26**, 925-932.
- WILLIAMS P.H., GEORGE H.K., 1979. Col V plasmid-mediated iron uptake and the enhanced virulence of invasive strains of *Escherichia coli*, in: K.N. Timmis et A. Pühler (eds): *Plasmids of medical, environmental and commercial importance*, Elsevier-North Holland Biomedical Press Amsterdam, pp. 161-172.
- WOLBERG G., DE WITT C.N., 1969. Mouse virulence of K (L) antigen containing strains of *E. coli*. *J. Bacteriol.*, **100**, 730-737.
- WOOLCOCK J.B., 1979. Host defence mechanisms against bacterial infections, in: J.P. Woolcock (ed.): *Bacterial infection and immunity in domestic animals*. pp. 1-12. Elsevier. Amsterdam.
- WRAY C., THOMLINSON J.R., 1969. Anaphylaxis in calves and the development of gastro-intestinal lesions. *J. Pathol.*, **98**, 61-73.
- WRAY C., THOMLINSON J.R., 1972a. The effects of *E. coli* endotoxin in calves. *Res. Vet. Sci.*, **13**, 546-553.
- WRAY C., THOMLINSON J.R., 1972b. Dermal reactions to endotoxins in calves: their significance in the pathogenesis of colibacillosis. *Res. Vet. Sci.*, **13**, 554-562.
- WRAY C., THOMLINSON J.R., 1972c. Anaphylactic shock to *E. coli* endotoxin in calves. *Res. Vet. Sci.*, **13**, 563-569.
- WRAY C., THOMLINSON J.R., 1974. Lesions and bacteriological findings in colibacillosis of calves. *Br. Vet. J.*, **130**, 189-197.
- WRIGHT S.D., LEVINE R.P., 1981a. How complement kills *E. coli*. I. Location of the lethal lesion. *J. Immunol.*, **127**, 1146-1151.
- WRIGHT S.D., LEVINE R.P., 1981b. How complement kills *E. coli*. II. The apparent two-hit nature of the lethal event. *J. Immunol.*, **127**, 1152-1156.