

Description de 70 souches d'*Escherichia coli* d'origine bovine possédant les gènes des vérotoxines

POHL P.¹, DAUBE G.², LINTERMANS P.¹, KAECKENBEECK A.², MAINIL J.²

¹ Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles.

² Faculté de médecine vétérinaire Ulg, rue des Vétérinaires 45, B-1070 Bruxelles.

Manuscrit déposé le 31/01/1991.

INTRODUCTION

En 1971, H.W. Smith décrit la souche d'*Escherichia coli* H19 qui avait été isolée en 1967 à partir des selles d'un nourrisson souffrant de diarrhée. Cette souche appartient au sérotype 026:K60:H11. Elle contient trois plasmides; le premier code pour la résistance aux sulfamides et à la streptomycine, le deuxième code pour la production d'une colicine et le dernier pour la production d'une entérotoxine. L'activité biologique de cette toxine est semblable à celle de la toxine thermolabile (ou LT) des colibacilles entérotoxigènes classiques. Toutefois elle se différencie de la toxine LT en ce que son activité n'est pas neutralisée par un sérum anti-LT (Smith H.W. et Linggood, 1971). De plus, alors que la toxine LT est cytotoxique pour les cellules Vero, la toxine de la souche H19 les détruit (Konowalchuck *et al.*, 1977). Elle fut appelée dès lors vérotoxine.

La vérotoxine est produite par des souches colibacillaires d'origine humaine ou animale (Konowalchuck *et al.*, 1977). Très tôt, des essais de neutralisation et des essais biologiques ont montré qu'il existe au moins trois types de vérotoxines différents (cfr tableau 1). La toxine VT-I est très proche de la toxine produite par la souche de *Shigella* 60 R (O'Brien *et al.*, 1982). D'où elle fut désignée comme «Shiga-like» toxine ou SLT-I. Par analogie la toxine VT-II fut désignée comme SLT-II et une troisième vérotoxine : VT-II v fut désignée comme SLT-II v (Scotland *et al.*, 1985. Marques *et al.*, 1987).

Chez l'homme les colibacilles qui produisent les vérotoxines I et II sont responsables des syndromes hémolytiques urémiques et de colites hémorragiques (Revue par Kamali, 1989). Chez le porc, les souches productrices de la toxine VT-II v sont responsables de la ma-

RESUME

Septante souches de VTEC (Verotoxigenic *E. coli*) sont décrites. Elles proviennent de veaux âgés de un jour à trois mois souffrant de diarrhée. Cinquante-quatre souches répondent à la sonde correspondant aux gènes de la toxine SLT-I, huit souches répondent à la sonde SLT-II et huit souches répondent simultanément à SLT-I et à SLT-II. Aucune n'est reconnue par les sondes STaP, STaH, STb, LTp, LT-II, INV, EAF, K99, F41, K88 ni 987P.

Elles appartiennent aux groupes sérologiques 05; 08; 09; 015; 020; 026; 0101; 0111; 0113; 0118; 0128; 0138; 0171 ou ne sont pas typables.

Quarante-sept des souches SLT-I, trois des souches SLT-II et six des souches SLT-I + SLT-II produisent une entérohémolysine (soit 87 %, 38 % et 75 %). Par contre parmi 100 souches d'*E. coli* qui ne répondent à aucune des sondes citées, une seule produit une entérohémolysine.

Tableau 1
Vérocytotoxines des *E. coli* et *Pseudomonas*

| Toxines | Souches productrices | Espèces cibles | Propriétés | Références |
|------------------------|---|------------------------|---|---|
| VT-I = SLT-I | H30 de Konowalchuk (026:H11) EHEC 026 EHEC 0157:H7 (souche 933) souches bovines 026 et 0111 | Homme Bovin Chat | — toxique pour Véro et Hela pas pour Y1 — antigénique — létale pour souris — très proche de Shiga toxine 60R — endocellulaire | Konowalchuk <i>et al.</i> , 1977 O'Brien <i>et al.</i> , 1982 |
| VT-II = SLT-II | EHEC 933 (0157:H7) E32511 (0157:H-) bovine 211 Mainil (rough:H7) | Homme Bovin | — exocellulaire — non neutralisées par anti H30 | Scotland <i>et al.</i> , 1985 |
| VT-Porc E57 | E57 (0138:K81) | Porc | — active sur Véro, pas sur Hela — irrégulière sur Y1 — peu antigénique — non neutralisée par anti-H30 — neutralisée par anti EDP — non létale pour la souris | Dobrescu, 1983 |
| EDP = SLT-IIv | CPU 330 (0141:K85*) E68 II (0141:K85*) 157KP8 0139:K82) (0138:K81) souches des entérotoxémies | Porc | — active sur Véro, pas sur Hela — irrégulière sur Y1 — antigénique — létale pour la souris (Dobrescu) ou non (Blanco) | Dobrescu, 1983 Smith <i>et al.</i> , 1983 Pohl <i>et al.</i> , 1989 |
| VT- <i>Pseudomonas</i> | <i>Ps. aeruginosa</i> | | — thermostable, contrairement aux précédentes | Smith <i>et al.</i> , 1983 |

VT = vérotoxine
SLT = shiga-like toxine
EDP = edema disease principe

Konowalchuk *et al.*, 1977. *Infect. Immun.* 18, 775
O'Brien *et al.*, 1982. *Infect. Immun.*, 35, 1151
Scotland *et al.*, 1985. *Lancet*, Oct. 19, 885
Dobrescu, 1983. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 31
Pohl *et al.*, 1989. *Ann. Méd. Vét.*, 133, 31
Smith *et al.*, 1983. *J. Gen. Microbiol.*, 129, 3121.

ladie de l'oedème (Dobrescu, 1983. Marques *et al.*, 1987). Chez les bovins, leur rôle est moins connu. Toutefois, l'inoculation expérimentale de souches productrices de VT-I ou de VT-II à des veaux privés ou non de colostrum, provoque des lésions d'«attachement et d'effacement» au niveau du colon et l'apparition de sang et de mucus dans les fèces (Chanter *et al.*, 1984 et 1986. Hall *et al.*, 1985. Schoonderwoerd *et al.*, 1988. Wray *et al.*, 1989). Elles méritent donc de retenir l'attention.

La description de 70 souches d'*E. coli* VT-I et/ou VT-II isolées en Belgique à partir de bovins fait l'objet de ce travail. De plus nous avons tenté de préciser si elles répondaient à un phénotype facile à démontrer et qui les distinguerait des souches non toxigènes. Enfin, nous les avons comparées aux souches VT-I et VT-II observées chez l'homme, afin de déceler une éventuelle piste épidémiologique.

MATERIEL ET METHODES

1. Souches étudiées

Trois mille sept cent cinquante-trois souches d'*E. coli* ont été testées par hybridation (cfr 2). Elles ont été isolées en Belgique, entre 1967 et 1990, à partir des fèces ou d'intestins de veaux souffrant de diarrhée.

Parmi elles, 147 ont été reconnues par les sondes SLT-I et/ou SLT-II.

Septante de ces souches ont été retenues pour une étude plus approfondie.

2. Hybridations

On a recherché par hybridation sur colonies au moyen de sondes d'ADN marquées au P32, la présence des gènes qui codent pour :

- les entérotoxines : STaP, STaH, STb, LTp et LTIIa
- les cytotoxines : VT-I (ou SLT-I) et VT-II (ou SLT-II)
- les adhésines : K99, F41, 987P et EAF

- la propriété INV (Mainil *et al.*, 1989 et 1990 Boileau *et al.*, 1984. Nataro *et al.*, 1985).

Les sondes sont présentées au tableau 2.

3. Sérotypie

Les antigènes O ont été recherchés par agglutination lente en tube de cultures en bouillon des bactéries, chauffées à 100 °C pendant 1 h. (Sojka, 1956). Nos résultats ont été contrôlés par ¹³¹I. et I. Ørskov (Statens Serum Institut — Copenhague) qui ont également déterminé les antigènes K et H de nos souches.

4. Biotypie

Les biotypes ont été précisés au moyen de galeries API-50 CH.

5. Colicine

La production de colicines a été détectée en utilisant les méthodes de Frédéricq (Frédéricq, 1957).

Tableau 2
Dérivation des sondes génétiques utilisées

| Nom de la sonde | Nom du plasmide | Endonucléase(s) à utiliser | Taille de la sonde | Souche d'origine | Espèce d'origine |
|-----------------|-----------------|-------------------------------|--------------------|------------------|------------------|
| STaP | pRIT10130 | <i>Hinf</i> I | 157pb | P310 | porcine |
| STaH | pRIT10250 | <i>EcoR</i> I | 540pb | CRL25090 | humaine |
| STb | pRAS1 | <i>Hinf</i> I | 460pb | P307 | porcine |
| LTp | pEWD299 | <i>Hind</i> II | 800pb | P307 | porcine |
| K99 | pFK99 | <i>Hpa</i> I | 1700pb | B41 | bovine |
| K88 | pMK005 | <i>EcoR</i> I | 1300pb | G7 | porcine |
| 987P | pPK150 | <i>Hpa</i> I + <i>Bgl</i> II | 1100pb | H868 | porcine |
| F41 | pDGA17 | <i>Pst</i> I + <i>Hinc</i> II | 700pb | VAC 1676 | porcine |
| LTIa | pCP2725 | <i>Hind</i> II + <i>Pst</i> I | 800pb | SA53 | buffle d'eau |
| SLT-I | pJN37-19 | <i>Bam</i> H I | 1142pb | 933 | humaine |
| SLT-II | pNN111-19 | <i>Pst</i> I | 842pb | 933 | humaine |
| INV | pS4033 | <i>EcoR</i> I | 17kb | M90T | humaine |
| EAF | pMAR22 | <i>Bam</i> H I + <i>Sal</i> I | 1000pb | E2348/69 | humaine |

6. Hémolysine

La production d'hémolysines a été recherchée après ensemencement et incubation à 37 °C sur trois milieux différents :

1. brain heart infusion Difco (BHI) réparti en tube à raison de 10 ml, préchauffé à 37 °C. Le milieu est ensemencé par 0,1 ml d'une culture de la souche à tester cultivée pendant une nuit dans le même bouillon. La culture est incubée pendant 6 h. puis on y ajoute 50 ml de sang défibriné de mouton et on réincube jusqu'au lendemain.
2. gélose au sang, préparée à partir de blood agar base Gibco additionné de 5 % de sang de mouton défibriné (gs).
3. même gélose additionnée de CaCl₂ 10 mM et d'érythrocytes de mouton lavés trois fois en SPT (Na Cl 0.15 M, Na H₂PO₄·2N₂O 0.008 M, KH₂ PO₄ 0.0015 M, pH 7.2) en quantité équivalente à 5 % de sang dans le milieu (gsl).

Quatre types de réactions sont observées :

- hémolyse sur les deux géloses et hémolyse en bouillon. Ce phénotype correspond à la production d'une alpha-hémolysine extra-cellulaire (Smith H.W., 1963)
- apparition d'une hémolyse sur les deux géloses, mais sédimentation des globules rouges sans hémolyse dans le bouillon. Ce phénotype correspond à une bêta-hémolysine (Smith H.W., 1963)

— apparition d'une hémolyse après 24 heures d'incubation, uniquement sur la gélose contenant les érythrocytes lavés. Ce phénotype correspond à l'entéro-hémolysine (Beutin *et al.*, 1988)

— absence d'hémolyse quel que soit le milieu utilisé.

A titre de comparaison, la production d'hémolysine par cent souches d'*E. coli* non toxigènes a été recherchée.

Nos résultats ont été contrôlés par Beutin (BGA, Berlin).

RESULTATS

Un certain nombre des souches possèdent les gènes STaP et K99; elles correspondent aux colibacilles entérotaxinogènes classiques (ETEC) déjà bien connus et ne méritent pas de commentaires particuliers.

Une vingtaine de souches répondent à la sonde LT-II a et possèdent des adhésines différentes de celles qui ont été observées jusqu'à présent chez les colibacilles des animaux. Elles ont été désignées comme «ETEC-like» et décrites précédemment (Pohl *et al.*, 1989).

Nous ne présentons, ici, que les résultats concernant les *E. coli* qui ont répondu aux sondes SLT-I ou SLT-II.

Ils sont résumés au tableau 3.

1. Réponses aux sondes

Cinquante-quatre souches ont répondu à la sonde SLT-I (77 % des souches SLT+); huit à la sonde SLT-II (11 %) et huit simultanément à SLT-I et SLT-II (11 %). Aucune de ces 70 souches n'est reconnue par les autres sondes.

2. Groupes sérologiques

Les résultats sont résumés au tableau 3. On constate que les souches se répartissent en au moins 14 groupes O différents dont les plus nombreux sont 026 (7 souches) et 0118 (9 souches). Seize souches ne possèdent pas d'antigène H; parmi les autres, celles qui possèdent l'antigène H11 (15 souches) ou H16 (13 souches) sont les plus nombreuses. Il est vraisemblable que les souches rough : H11 étaient à l'origine de type 026:H11, et que les souches rough H16 étaient à l'origine de type 0118:H16 (Ørskov, communication personnelle).

Il est à remarquer que nous avons diagnostiqué 16 souches comme appartenant au groupe 0157 (Pohl *et al.*, 1989b). Ces résultats n'ont pas été confirmés par Ørskov; en fait ces 16 souches appartiennent à d'autres sérogroupes.

3. Biotypie et colicinotypie

La biotypie réalisée au moyen des galeries 50 CH ne permet pas de distinguer les groupes sérologiques entre eux.

Trente-huit souches sont colicinogènes; dans 36 cas la colicine produite est de type CoIV. Les souches coliconogènes se répartissent parmi tous les sérogroupes.

4. Hémolysines

Quarante-sept des 54 souches SLT-I+ (soit 87 %) produisent une entérohémolysine. Trois des huit souches SLT-II+ et six des huit souches SLT-I/SLT-II+ produisent cette même hémolysine. Par contre,

Tableau 3
Sérotypes et hémolysines d'*E. coli* bovines répondant aux sondes SLT

| Référence | Sérotype | Réponses aux sondes | Hémolyse |
|-----------|--------------------|---------------------|----------|
| 330S89 | 05:H - | SLT-I | Ent * |
| 337 | 05:H - | SLT-I | Ent |
| 339 | 05:H - | SLT-I | — |
| 343 | 05:K16/H16 | SLT-I | — |
| 376 | 08:H8 | SLT-I | — |
| 374 | 08:KX105:H8 | SLT-I | — |
| 375 | 08:KX105:H8 | SLT-I | — |
| 320 | 09:K32:H4 | SLT-II | Ent |
| 335 | 015:H11 | SLT-I | Ent |
| 309 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Ent |
| 311 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Ent |
| 312 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Ent |
| 313 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Ent |
| 314 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Alpha |
| 315 | 020:K57:H19 | SLT-I et II | Ent |
| 338 | 026:H- | SLT-I | Ent |
| 331 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 332 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 344 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 346 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 357 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 379 | 026:H11 | SLT-I | Ent |
| 369 | 0101:K103:H4 | SLT-I | — |
| 372 | 0101:K103:H4 | SLT-I | — |
| 336 | 0103:H2 | SLT-I | Ent |
| 310 | 0111:H- | SLT-I et II | Ent |
| 355 | 0111:H- | SLT-I | Ent |
| 358 | 0111:H- | SLT-I | Ent |
| 323 | 0113:H4 | SLT-II | — |
| 328 | 0113:H4 | SLT-I | Ent |
| 324 | 0113:H21 | SLT-II | — |
| 340 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 341 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 342 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 347 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 363 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 364 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 365 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 366 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 367 | 0118:H16 | SLT-I | Ent |
| 318 | 0128ac:H- | SLT-II | — |
| 321 | 0171:H2 | SLT-II | — |
| 345 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 349 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 350 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 351 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 352 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 354 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 356 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 360 | rough:H- | SLT-I | Ent |
| 322S89 | rough:H4 | SLT-II | — |
| 317 | rough:H2 | SLT-II | Ent |
| 359 | rough:H2 | SLT-I | Ent |
| 362 | rough:H2 | SLT-I | Ent |
| 329 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 333 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 334 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 370 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 371 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 377 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 380 | rough:H11 (026 ?) | SLT-I | Ent |
| 361 | rough:H16 (0118 ?) | SLT-I | Ent |
| 368 | rough:H16 (0118 ?) | SLT-I | Ent |
| 373 | rough:H16 (0118 ?) | SLT-I | Ent |
| 378 | rough:H16 (0118 ?) | SLT-I | Ent |
| 348 | rough:H? | SLT-I | Ent |
| 353 | 0 ? :H11- | SLT-I | Ent |
| 319 | 0 ? :H11 | SLT-I | Ent |
| 316 | 0 ? :H19 | SLT-I et II | Bêta |
| 1459 | Non déterminé | SLT-I | Ent |

* Ent = entéro-hémolysine.

elle n'est produite que par une seule des 100 souches qui n'ont répondu à aucune des sondes (cfr tableaux 3 et 4).

5. Anamnèses

Nous possédons les anamnèses de 37 des veaux à partir desquels les *E. coli* SLT ont été isolées.

Dix-sept d'entre eux étaient âgés de 1 à 7 jours; quinze étaient âgés de 2 à 3 semaines et cinq étaient âgés de 1 à 3 mois. Dans tous les cas ils avaient souffert de diarrhée, parfois associée à des troubles pulmonaires ou articulaires.

6. Fréquence des *E. coli* SLT+ et des veaux infectés

Les proportions des souches SLT+ et les pourcentages des veaux infectés sont présentés au tableau 5.

En moyenne, 3,6 % des veaux examinés portent des *E. coli* SLT+.

Les pourcentages varient considérablement au cours du temps : de 0 % en 1977, 1979 et 1982 à 12 % en 1984.

DISCUSSION

L'infection de veaux par des souches de colibacilles SLT+ a été démontrée dans différents pays d'Europe et d'Asie (revue Karmali, 1989). Elle existe également en Belgique depuis au moins 1967 (ce travail ; Pohl *et al.*, 1989c). En fait elle y est endémique et le nombre des cas diagnostiqués est probablement très inférieur au nombre réel. Ils ne reflètent vraisemblablement qu'une partie de la prévalence réelle de l'infection. En effet, jusqu'à présent nous ne possédions pas de milieu de diagnostic présumé qui permette de détecter les colibacilles SLT+ parmi une flore saprophyte banale. Dans bien des cas, ces germes représentent moins de 10 % de la flore colibacillaire fécale des malades (Smith H.R. *et al.*, 1987). Or nous avons examiné au plus cinq souches par échantillon. Bon nombre de souches

Tableau 4Types d'hémolysines produites par les souches d'*Escherichia coli* SLT+ et par des souches ne répondant à aucune des sondes

| Réponses aux sondes | Nombre de souches | Hémolysines | | | |
|---------------------|-------------------|-------------|------|-----------|---------|
| | | Alpha | Bêta | Entéro | Absence |
| SLT-I + | 54 | — | — | 47 (87 %) | 7 |
| SLT-II + | 8 | — | — | 3 | 5 |
| SLT-I et II + | 8 | 1 | 1 | 6 | — |
| Aucune (a) | 100 | — | 2 | 1 | 97 |

a = absence de réponse aux sondes SLT-I, SLT-II, STaP, STaH, STb, LTp, LT-II, INV, EAF, K99, F41, K88 et 987 P.

Tableau 5Proportion de souches d'*E. coli* SLT+ et de veaux chez lesquels de telles souches ont été isolées

| Périodes | Nombres de souches | | Nombre de veaux | |
|-------------------------|--------------------|------|-----------------|------------|
| | Testées | SLT+ | Testées | SLT+ (%) |
| Fin 1967/ début 1968 | 419 | 12 | 396 | 12 (3 %) |
| 1977 | 15 | — | 15 | — |
| 1979 | 51 | — | 13 | — |
| 1981 | 79 | 1 | 34 | 1 (3 %) |
| 1982 | 112 | — | 60 | — |
| 1983 | 105 | 3 | 60 | 2 (3.3 %) |
| 1984 | 67 | 18 | 43 | 5 (12 %) |
| 1985 | 37 | 1 | 23 | 1 (4.3 %) |
| 1986 | 693 | 19 | 149 | 6 (4 %)- |
| 1987 | 320 | 17 | 106 | 7 (6.6 %) |
| 1988 | 239 | 8 | 126 | 3 (2.4 %) |
| 1989 | 1 058 | 46 | 544 | 27 (5 %)- |
| 1990 | 558 | 22 | 445 | 8 (1.8 %) |
| Totaux | 3 753 | 147 | 2 014 | 72 (3.6 %) |

SLT+ ont donc dû échapper au diagnostic.

Septante-sept pour cent des souches SLT+ sont de type SLT-I, 11 % de type SLT-II et 11 % de type SLT-I + SLT-II. Elles ne produisent aucune des entérotoxines connues et ne produisent non plus aucune des adhésines «classiques» des colibacilles entérotoxigènes pour le veau ou le porcelet.

Elles se répartissent en au moins 14 groupes sérologiques différents qui peuvent encore être subdivisés par la biotypie et la colicinogénie. De ces points de vue elles forment donc un groupe très hétérogène.

Leur diagnostic est basé sur la mise en évidence, soit des gènes corres-

pondant aux toxines SLT-I et SLT-II, soit des toxines elles-mêmes. Ces recherches exigent l'utilisation de sondes d'ADN marquées ou de cultures de cellules Vero. Toutefois, comme il existe une très bonne corrélation entre la production d'une entéro-hémolysine et la présence des gènes SLT-I, on peut se baser sur ce phénotype simple à détecter pour poser un diagnostic de présomption raisonnable.

Ce nouveau type d'hémolysine a été découvert par Beutin (Beutin *et al.*, 1988) qui a démontré qu'elle était associée à la production des toxines SLT-I et/ou SLT-II (Beutin *et al.*, 1989 ; Beutin et Montenegro, 1990).

Dans notre étude nous avons observé 16 *E. coli* SLT-II (ou SLT-I + SLT-II). Neuf d'entre elles soit 56 % produisent une entéro-hémolysine. Cette proportion est inférieure à celles signalées par Beutin. Nous attribuons cette divergence au fait que les sérotypes des souches qu'il a étudiées sont différents des nôtres. Toutefois, il semblerait que les *E. coli* SLT-II du groupe 0113 ne produisent pas d'entérohémolysine (cette étude; Beutin *et al.*, 1989).

On observe également des *E. coli* SLT+ chez les bovins sains. Mais il semblerait qu'elles appartiennent généralement à des groupes sérologiques différents de celles qui sont isolées chez les animaux malades (Karmali 1989; Montenegro *et al.*, 1990). Ces observations demandent à être confirmées.

Les *E. coli* SLT que nous avons pu typer se répartissent entre 13 groupes O, différents : 05; 08; 09; 015; 020; 026; 0101; 0111; 0113; 0118; 0128; 0138 et 0171. Six de ces groupes O, à savoir 05; 026; 0111; 0113; 0118 et 0128 ont été également observés chez les *E. coli* SLT d'origine humaine (Karmali, 1989). Il est dès lors possible que les bovins puissent être une des sources de la contamination de l'homme. Dans quelque cas ponctuels cette hypothèse a pu être démontrée (Borczyk *et al.*, 1987).

REMERCIEMENTS

Nous remercions F. et I. Ørskov qui ont contrôlé les antigènes O de nos souches et en ont déterminé les antigènes K et H.

Nous remercions L. Beutin qui a vérifié les phénotypes entéro-hémolysine.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à E. Jacquemin et K. Van Muylem pour leur précieuse assistance technique.

SUMMARY

Description of 70 bovine Verotoxigenic *E. coli* strains.

Seventy Verotoxigenic *E. coli* (VTEC) strains are described. The strains were isolated out of diarrheal calves aged between 1 day and 3 months. Fifty four strains did react with the DNA probe specific

for SLT-I toxin, 8 strains reacted with the SLT-II probe and 8 strains reacted simultaneously with both SLT-I and SLT-II DNA probes. No VTEC strains reacted with the STaP, STaH, STb, LTp, LT-II, INV, EAF, K99 (F5), F41, K88 (F4) nor 987P (F6) probes.

The tested VTEC strains belonged to the serogroups O₅; O₆; O₉; O₁₅;

O₂₀; O₂₆; O₁₀₁; O₁₁₁; O₁₁₃; O₁₁₈; O₁₂₈; O₁₃₈; O₁₇₁ or could not be typed.

Forty seven SLT-I strains, 3 SLT-II strains and 6 SLT-I + SLT-II strains produced an enterohemolysine (87 %, 38 % and 75 % respectively). In contrast, only 1 out of 100 *E. coli* strains tested negative for all DNA probes mentioned, produced an enterohemolysin.

REFERENCES

- BEUTIN L., PRADA J., ZIMMERMAN S., STEPHAN B., ØRSKOV I. and ØRSKOV F. Enterohemolysin, a new type of hemolysin produced by some strains of enteropathogenic *E. coli* (EPEC). *Zbl. Bakt. Hyg.A.*, 1988, **267**, 576-588.
- BEUTIN L., MONTENEGRO M.A., ØRSKOV I., ØRSKOV F., PRADA J., ZIMMERMAN S. and STEPHAN R. Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, **27**, 2559-2564.
- BEUTIN L. and MONTENEGRO M.A. Enterohaemolysin and Shiga-like toxin genes in *E. coli*. *Vet. Rec.*, 1990, **127**, 316.
- BOILEAU C.R., D'HAUTEVILLE H.M., SANSONETTI P.J. DNA hybridization technique to detect Shigella species and enteroinvasive *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 1984, **20**, 959-961.
- BORCZYK A.A., KARMALI M.A., LIOR H. and DUNCAN L.M.C. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* 0157:H7. *Lancet*, 1987, Jun 10, 98.
- CHANTER N., MORGAN J.H., BRIDGER J.C., HALL G.A., REYNOLDS D.J. Dysentery in gnotobiotic calves caused by atypical *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1984, **114**, 71.
- CHANTER N., HALL G.A., BLAND A.P., HAYLE A.J. and PARSONS K.R. Dysentery in calves caused by an atypical strain of *Escherichia coli* (S102-9). *Vet. Microbiol.*, 1986, **12**, 241-253.
- DOBRESCU L. New biological effect of edema disease principle (*Escherichia coli* - neurotoxin) and its use as an in vitro assay for this toxin. *Am. J. vet. Res.*, 1983, **44**, 31-34.
- FREDERICQ P. Colicins. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1957, **11**, 7-21.
- HALL G.A., REYNOLDS D.J., CHANTER N., MORGAN J.H., PARSONS K.R., DEBNEY T.G., BLAND A.P. and BRIDGER J.C. Dysentery caused by *Escherichia coli* (S102-9) in calves: natural and experimental disease. *Vet. Pathol.*, 1985, **22**, 156-163.
- KARMALI M.A. Infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1989, **2**, 15-38.
- KONOWALCHUK J., SPEIRS J.L. and STAVRIC S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1977, **18**, 775-779.
- MAINIL J., DAUBE G., DEPPEZ P., KAECKENBEECK A. and POHL P. Detection and identification of pathotypes of verocytotoxic *Escherichia coli* isolated from weaned piglets using gene probes for seven *E. coli* toxins. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1989, **59**, 345-350.
- MAINIL J.G., BEX F., JACQUEMAIN E., POHL P., COUTURIER M., KAECKENBEECK A. Prevalence of four enterotoxin (STaP, STaH, STb and LT) and four adhesin subunit (K99, K88, 987P and F41) genes among *Escherichia coli* isolates from cattle. *Amercian J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 187-190.
- MARQUES L.R.M., PEIRIS J.S.M., CRYZ S.J. and O'BRIEN A.D. *Escherichia coli* strains isolated from pigs with edema disease produce a variant of Shiga-like toxin II. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1987, **44**, 33-38.
- MONTENEGRO M.A., BÜLTE M., TRUMPF T., AILEKSIC S., REUTER G., BULLING E. and HELMUTH R. Detection and characterization of faecal verotoxin - producing *Escherichia coli* form healthy cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 1417-1421.
- NATARO J.P., SCALETSKY I.C.A., KAPER J.B., LEVINE M.M. and TRABULSI L.R. Plasmid-mediated factors conferring diffuse and localized adherence of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1985, **48**, 378-383.
- O'BRIEN A.D., LA VECK G.D., THOMPSON M.R. and FORMAL S.D. Production of *Shigella dysenteriae* type 1 - like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, 1982, **146**, 763-769.
- POHL P., LINTERMANS P., MAINIL J., DAUBE G. and KAECKENBEECK A. ETEC-like strains from cattle. *Vet. Rec.*, 1989 (a), **125**, 382.
- POHL P., DAUBE G., LINTERMANS P., VAN MUYLEM K., KAECKENBEECK A. et MAINIL J. Description de 21 souches d'*Escherichia coli* 0157 isolées de bovins et d'une chèvre. *Ann. Méd. Vét.*, 1989 (b), **133**, 673-680.
- POHL P., MAINIL J., LINTERMANS P., DAUBE G., KAECKENBEECK A. Découverte en Belgique de quatre souches d'*Escherichia coli* toxigènes de type S102-9. *Ann. Méd. Vét.*, 1989 (c), **133**, 619-621.
- SCHOONDERWOERD M., CLARKE R.C., VAN DREUMEL A.A. and RAWLUK S.A. Colitis in calves: natural and experimental infection with a verotoxin-producing strain of *Escherichia coli* 0111:NM. *Canad. J. Vet. Res.*, 1988, **52**, 484-487.
- SCOTLAND S.M., SMITH H.R. and ROWE B. Two distinct toxins active on vero cells from *Escherichia coli* 0157. *Lancet*, 1985, Oct. 19, 885-886.
- SMITH H.R., ROWE B., GROSS R.J., FRY N.K. and SCOTLAND S.M. Haemorrhagic colitis and verocytotoxin producing *Escherichia coli* in England and Wales. *Lancet*, 1987, **1**, 1026-1065.
- SMITH H.W. The haemolysins of *Escherichia coli*. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1963, **85**, 197-211.
- SMITH H.W. and LINGGOOD. The transmissible nature of enterotoxin production in a human enteropathogenic strain of *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, 1971, **4**, 301-309.
- SOJKA W.J. *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. Review series n° 7 of the Commonwealth bureau of animal health. Weybridge 1965.
- WRAY C., MCLAREN I. and PEARSON G.R. Occurrence of 'attaching and effacing' lesions in the small intestine of calves experimentally infected with bovine isolates of verocytotoxic *E. coli*. *Vet. Rec.*, 1989, **125**, 365-368.