

Bull. Acad. Vét. de France, 1985, 58, 161-166

Identification des antigènes d'attachement K 99 et 987 P d'*Escherichia coli* chez le porc en France

par L. RENAULT et Elizabeth LE BOURHIS*

RÉSUMÉ

Les auteurs font état de l'identification en France des antigènes d'attachement K 99 et 987 P, à partir de souches d'*Escherichia coli* responsables de diarrhée du porcelet nouveau-né. Ils discutent à ce propos des difficultés du diagnostic, des enquêtes épidémiologiques et de l'intérêt de l'incorporation de ces nouvelles valences dans les vaccins.

Mots clés : Antigènes d'attachement d'*Escherichia coli* - Colibacillose du porcelet nouveau-né.

SUMMARY

IDENTIFICATION OF K 99 AND 987 P ATTACHING ANTIGENS OF ESCHERICHIA COLI IN THE PIG IN FRANCE

The authors relate the detection of K 99 and 987 P pilus antigens on *Escherichia coli* enteropathogens for piglets in France. They discuss about the difficulty of the diagnostic and the prevalence of these pilus antigens and the interest of their incorporation in the vaccines.

Key words : Pilus antigens *Escherichia coli* - Colibacillosis of piglets.

INTRODUCTION

Depuis la découverte en 1964 par ORSKOV et coll. [11] des antigènes d'attachement K 88 ab et K 88 ac sur les souches d'*Escherichia coli* entérotoxigènes d'origine porcine, on connaît leur rôle essentiel dans le mécanisme d'apparition de la diarrhée colibacillaire du porcelet nouveau-né et du porc au moment du sevrage.

* Laboratoires Vétérinaires Sanders, B.P. 32 - 91201 Athis-Mons cedex.

Ces antigènes d'attachement, encore appelés pili ou fimbriae, correspondent à des appendices filamenteux, de nature protéique, non flagellaires, et représentent un des facteurs de virulence des *Escherichia coli* entérotoxigènes. En effet, ils facilitent l'adhésion à l'épithélium intestinal et aussi la colonisation de l'intestin grêle, qui favorisent le passage de l'entérotoxine, second facteur de virulence.

Puis, de nouvelles structures d'attachement sont suspectées dès 1976 par NAGY et coll. [9] sur des souches entérotoxigènes d'origine porcine, dépourvues de l'antigène K 88. Ainsi sont mis en évidence en 1977 sur des souches d'*Escherichia coli* responsables de diarrhée néonatale du porcelet, l'antigène d'attachement K 99, identique à celui des souches entérotoxigènes du veau nouveau-né, et l'antigène 987 P, par MOON et coll., NAGY et coll., ISAACSON et coll. [4, 6, 10].

Ces deux nouvelles familles d'antigène d'attachement sont signalées au Royaume-Uni en 1982, par MORRIS et coll. [8].

Donc, après la mise en évidence depuis 1975 et 1976 en France [13, 14] des antigènes K 88 sur les souches d'*Escherichia coli* responsables de colibacillose néonatale et de colibacillose du sevrage par nous-mêmes, il nous a paru intéressant de faire état de l'identification de ces deux autres antigènes d'attachement K 99 et 987 P sur des souches d'*Escherichia coli* de porcelets nouveau-nés.

MATERIEL ET METHODES

Les deux antigènes K 99 et 987 P des deux souches d'*Escherichia coli* référencées Y 4403 et Z 4232, proviennent des deux élevages respectifs suivants :

- Elevage naisseur-multiplicateur, de 48 truies de l'Aveyron, dont 100 % des portées sont atteintes de diarrhée, dans les 24 à 72 h après la naissance, avec une mortalité de 5 %, en décembre 1983.

- Elevage naisseur-engraisseur, de 100 truies de la Sarthe, dont l'ensemble de 21 portées, en décembre 1984, est atteint de diarrhée dans les premiers jours de la naissance pour 5 à 35 % des animaux, sans mortalité.

Les cultures sont effectuées à partir du contenu de l'intestin grêle (iléon), de deux porcelets malades, sur deux milieux simultanément, le milieu Minca-Isovitalex et une gélose trypticase soja à 5 % de sang de mouton. Après 24 h d'incubation à 37° C pour le premier et 48 h pour le second, trois colonies de chaque culture font l'objet, après confirmation de l'appartenance à *Escherichia coli*, d'une agglutination rapide sur lame dans des sérums anti-K 99 et anti 987 P.

Les sérums anti-K 99 correspondent à des sérums préparés sur lapin vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* K 12 - K 99 et 0 101.

Le sérum anti 987 P est un sérum de référence préparé par PITMAN-MOORE et aimablement fourni par notre confrère JEANCLAUDE des Laboratoires Janssen.

RESULTATS

La souche du premier élevage, référencée Y 4403, révèle la présence de l'antigène K 99 à partir de colonies de taille normale, prélevées sur Minca-Isovitalex. Elle n'est pas hémolytique et correspond au groupe somatique 0 141.

La souche du second élevage, référencée Z 4232, révèle la présence de l'antigène 987 P à partir de colonies de petite taille (0,5 mm), grisâtres, prélevées sur gélose au sang de mouton. Elle n'est, classiquement, pas hémolytique. La présence de l'antigène d'attachement 987 P est confirmée par le Dr P.A.M. GUINÉE du Rijksinstitut de Bilthoven, Pays-Bas, que nous remercions très vivement.

Toujours d'après ce dernier, cette souche appartient au séro-groupe :

0 141 : K 85 ab, 987 P

DISCUSSION

La mise en évidence aussi tardive de ces deux antigènes d'attachement K 99 et 987 P, depuis leur découverte en 1977, de même que le peu de renseignements épidémiologiques dont nous disposons, nécessitent des commentaires sur la difficulté de leur diagnostic.

La révélation de leur existence, à côté des antigènes classiques d'attachement K 88 et les premiers décrits, appelle également un commentaire concernant la prophylaxie médicale de la colibacillose néonatale du porcelet par la vaccination [15].

1. DIAGNOSTIC DES ANTIGÈNES D'ATTACHEMENT

1.1. *Difficulté de leur mise en évidence*

Tous les auteurs, MOON et coll. en 1977 et en 1980 [6, 7], GUINÉE et coll. [3] en 1979, insistent sur la difficulté de leur mise en évidence. Elle nécessite impérativement :

- l'isolement sur milieu Minca-Isovitalex pour l'antigène K 99, sur gélose à 5 % de sang de mouton pour l'antigène 987 P ;
- la sélection de petites colonies, pour l'antigène 987 P surtout ;
- des passages aveugles en bouillon trypticase soja, chaque semaine, deux fois, des souches négatives jusqu'à l'obtention d'un voile en surface, pour l'antigène 987 P ;

— l'isolement à partir de l'intestin d'animaux malades et vivants, les souches entérotoxigènes exprimant préférentiellement leurs pili *in vivo*. Cette nécessité conduit d'ailleurs FRANCIS en 1983 [2] à considérer la technique par immunofluorescence sur calque d'intestin comme supérieure (91 % de résultats positifs) aux techniques de séro-agglutination des cultures et des coupes histologiques d'intestin (84 % de résultats positifs).

1.2. Existence d'autres antigènes d'attachement

En dehors des trois antigènes d'attachement K 88, 987 P et K 99, que nous venons de décrire, existeraient des souches entérotoxigènes, dites 3 P- pourvues d'antigènes d'attachement différents. Il s'agirait pour To en 1984 [17] de l'antigène F 41 décelé sur les souches porteuses déjà de l'antigène K 99, d'origine porcine comme d'origine bovine.

Il s'agirait également pour BRINTON et coll. en 1983 [1], de l'antigène type 1 (F 1 dans la classification de ORSKOV I. et ORSKOV F. 1983) [12].

1.3. Existence de souches possédant à la fois plusieurs antigènes d'attachement

Le travail de BRINTON et coll. [1] en particulier indique, pour les 72 cas de colibacillose néonatale étudiés, que :

— 11 % des souches d'*Escherichia coli* entérotoxigènes ne possèdent des pilus que de l'une des quatre principales familles : type 1 (F1), K 88 (F4), K 99 (F5), 987 (F6).;

— 38 % des souches possèdent des pilus de deux familles et plus particulièrement : type 1 + 987 ;

— 39 % des souches possèdent des pilus de trois familles et plus spécialement : type 1 + 987 + K 88 ; type 1 + 987 + K 99 ;

— 11 % des souches possèdent des pilus des quatre principales familles.

2. RÉPARTITION DES DIFFÉRENTS ANTIGÈNES D'ATTACHEMENT

Dans ces conditions, il n'est pas difficile de comprendre que nous ne disposions que de peu de renseignements sur la répartition et sur l'importance des différents antigènes d'attachement des souches entérotoxigènes d'*Escherichia coli* du porc. Le travail de MORRIS et coll en 1982 [8] au Royaume-Uni en particulier correspond à l'isolement et à la reproduction de la maladie pour une souche O 8 : K 85, K 99 et pour cinq souches O 9 : K 103, 987 P : H- ou O ? : K 103, 987 P : H-.

Toutefois, il est possible de faire état de l'enquête de GUINÉE et coll. [3] en 1979 aux Pays-Bas et de l'enquête de MOON et coll

en 1980 aux Etats-Unis [7]. La répartition des souches, en fonction des antigènes d'attachement considérés séparément, est la suivante :

	K 88	K 99	987 P	3 P-
GUINEE*	52	7	6	36
MOON**	31	5,7	35,4	27,6

* En nombre de souches pour un total de 101 souches.

** En pourcentage pour un total de 111 souches, hormis les K 88.

3. VACCINATION

L'existence d'antigènes d'attachement, autres que K 88 responsables de diarrhée à la naissance chez le porcelet, conduit tout naturellement à penser que des vaccins mixtes, faisant appel à d'autres antigènes, comme K 99 et 987 P, devraient encore réduire l'incidence, et la gravité des colibacilloses néonatales en élargissant leur spectre d'activité.

Le principe de l'immunisation des mères et de la transmission à leurs porcelets par le colostrum d'anticorps spécifiques, a été apporté dès 1973 par RUTTER et JONES [16] à propos des antigènes K 88 ab, K 88 ac.

D'autres auteurs, comme MORGAN et coll. en 1978 [5], ont pu montrer que cette protection homologue, non croisée, pouvait également être obtenue à partir des antigènes K 99 et 987 P.

Les éleveurs devraient donc disposer, dans un avenir très proche de vaccins polyvalents faisant appel aux différentes familles de pilus, pour combattre les différentes souches d'*Escherichia coli* entérotoxigènes, responsables de la colibacillose néonatale du porcelet.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRINTON (C.C.), FUSCO (P.), WOOD (S.), JAYAPPA (H.), GOODNOW (R.A.), STRAYER (J.G.). — A complete vaccine for neonatal swine colibacillosis and the prevalence of *Escherichia coli* pili on swine isolates. *Veterinary Medicine / Small Animal Clinician*, 1983, juin, 962-965.
- [2] FRANCIS (D.H.). — Use of immunofluorescence, Gram's staining, histologic examination and seroagglutination in the diagnosis of porcine colibacillosis. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 44, 1884-1888.
- [3] GUINEE (P.A.M.), JANSEN (W.H.). — Detection of enterotoxigenicity and attachment factors in *Escherichia coli* strains of Human, Porcine and Bovine Origin ; a comparative study. *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A*, 1979, 243, 245-257.
- [4] ISAACSON (R.E.), NAGY (B.), MOON (H.W.). — Colonization of porcine small intestine by *Escherichia coli*: colonization and adhesion factors of pig enteropathogens that lack K 88. *J. Infect. Dis.*, 1977, 135, 531-539.

- [5] MORGAN (R.L.), ISAACSON (R.E.), MOON (H.W.), BRINTON (C.C.), To (C.C.). — Immunization of suckling pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* induced diarrheal disease by vaccinating dams with purified 987, or K 99 pili : protection correlates with pilus homology of vaccine and challenge. *Inf. Imm.*, 1978, 22, 771-777.
 - [6] MOON (H.W.), NAGY (B.), ISAACSON (R.E.), ORSKOV (Ida). — Occurrence of K 99 antigen on *Escherichia coli* isolated from pigs and colonization of pig, ileum by K 99 + enterotoxigenic *E. coli* from calves and pigs. *Inf. and Imm.*, 1977, 15, 614-620.
 - [7] MOON (H.W.), KOHLER (E.M.), SCHNEIDER (R.A.), WHIPP (S.C.). — Prevalence of pilus antigens, enterotoxin types and enteropathogenicity among K 88-negative enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. *Inf. Imm.*, 1980, 27, 222-230.
 - [8] MORRIS (J.A.), SOJKA (W.J.), WELLS (G.A.H.). — K 99 and 987 P adhesins on *Escherichia coli* enteropathogenic for piglets. *Vet. Rec.*, 1982, 111, 165-166.
 - [9] NAGY (B.), MOON (H.W.), ISAACSON (R.E.). — Colonization of porcine small intestine by *Escherichia coli* : ileal colonization and adhesion by pig enteropathogens that lack K 88 antigen and by some acapsular mutants. *Inf. Imm.*, 1976, 13, 1214-1220.
 - [10] NAGY (B.), MOON (H.W.), ISAACSON (R.E.). — Colonization of porcine intestine by enterotoxigenic *Escherichia coli* : selection of piliated forms in vivo, adhesion of piliated forms to epithelial cells in vitro and incidence of a pilus antigen among porcine enteropathogenic *E. coli*. *Infect. Immun.*, 1977, 16, 344-352.
 - [11] ORSKOV (I.), ORSKOV (F.), SMITH (W.I.), WITTING (W.K.). — Antigens K 88^{ab} (L) and K 88^{ac} (L) in *Escherichia coli*. *Acta Path. Microbiol. Scandinav.*, 1964, 62, 439-447.
 - [12] ORSKOV (I.), ORSKOV (F.). — Serology of *Escherichia coli* fimbriae. *Prog. Allerg.*, 1983, 33, 80-105.
 - [13] RENAULT (L.), LE BOURHIS (E.), MAIRE (C.), VAISSAIRE (J.). — Enquête sur la colibacillose du porcelet nouveau-né. *Bull. Acad. Vét.*, 1975, 48, 397-403.
 - [14] RENAULT (L.), LE BOURHIS (E.), MAIRE (C.), VAISSAIRE (J.). — Enquête sur la colibacillose du porcelet au moment du sevrage. *Bull. Acad. Vét.*, 1976, 49, 221-226.
 - [15] RENAULT (L.), TOURNUT (J.). — Prophylaxie de la colibacillose du porcelet nouveau-né. *Rev. Méd. Vét.*, 1985, 136, 269-281.
 - [16] RUTTER (J.M.), JONES (G.W.). — Protection against enteric disease caused by *Escherichia coli*. A model for vaccination with a virulence determinant. *Nature*, 1973, 242, 531-532.
 - [17] To (S.C.M.). — F41 antigen among porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* strains lacking K 88, K 99 and 987 P pili. *Inf. Imm.*, 1984, 43, 549-554.
-