

MECANISMO DE ACCION PATOGENA DE LOS *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGENICOS (ETEC): REVISION

Autores: J. M. Rey Pérez, J. M. Alonso Rodríguez, J. Hermoso de Mendoza, M. C. Gil Anaya y M. Hermoso de Mendoza.

Dirección: Cátedra de Enfermedades Infecciosas y Epidemiología. Facultad de Veterinaria. UNNEX. 10071 Cáceres. España.

Durante mucho tiempo *E. coli* ha sido considerado como un componente habitual de la flora intestinal de los animales de sangre caliente. Sin embargo, recientemente se ha evidenciado la relación existente entre determinadas cepas y el establecimientos de proceso patógenos concretos. Todas las cepas implicadas tienen en común poseer diversos factores de virulencia, característicos de las mismas, y diferenciadores respecto a otras cepas apatógenas.

Dentro de este grupo patógeno se encuentran los denominados *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ETEC), responsables de graves procesos diarreicos en animales recién nacidos. Estas cepas se caracterizan por la presencia de un factor adherente, que les permite fijarse a la mucosa y proliferar en el intestino delgado resistiendo el arrastre peristáltico, unido a la capacidad de sintetizar enterotoxinas, causantes de alteraciones en el intercambio hídrico y electrolítico a nivel intestinal.

Habría que tener en cuenta que, independientemente de los caracteres específicos de virulencia de *E. coli*, existen diversos factores relacionados con el hospedador que condicionan en cierta medida la capacidad de los ETEC para adherirse a la mucosa, multiplicarse y desarrollar su acción patógena. Para Pearson y Logan (1979), estos factores están representados por la edad, pH gástrico, y la presencia a nivel intestinal de anticuerpos específicos frente a ETEC.

Las distintas especies animales se ven afectadas de forma prioritaria durante la

primera semana de vida (2), si bien en el caso concreto del cerdo este período puede hacerse extensivo hasta dos semanas con posterioridad al destete (3). En el mismo sentido, la escasa síntesis de ácidos gástricos por parte de los neonatos, unido a la ingestión de grandes volúmenes de leche, reducen considerablemente el efecto bactericida en el interior del estómago, favoreciendo así la multiplicación de microorganismos. Finalmente, la presencia a nivel local de anticuerpos específicos frente a ETEC, impiden o al menos disminuyen la instauración, multiplicación y posterior producción de toxinas por parte de estos gérmenes.

La penetración de los *E. coli* enterotoxigénicos se realiza de forma exclusiva por vía oral. Una vez producida, el germen atraviesa el estómago aprovechando el pH neutro existente en la víscera del recién nacido y se asienta en el intestino delgado (4).

Todo el proceso desarrollado por ETEC puede englobarse en dos fases: a) colonización del intestino delgado por las cepas que poseen el factor de colonización bacteriano y b) producción de enterotoxinas una vez establecida la adhesión a la mucosa entérica (5).

COLONIZACION DE LA MUCOSA ENTERICA POR LAS CEPAS QUE POSEEN EL FACTOR DE COLONIZACION BACTERIANO

A este respecto cabe señalar que cuando un número suficiente de ETEC acceden al intestino, se adhieren a la mucosa entérica y multiplican gracias a la presencia de dis-

Tabla I.—Características principales de los factores de colonización de *E. coli*.

Factor de colonización	Morfología (\emptyset)	Peso molecular	MRHA	Ubicación genética
K88	Fibrilar (2,1 nm)	25000-27540 d	Co, Po	Plásmido
K99	Fimbrial (5 nm)	19500 d	Hu, Ov, Eq	Plásmido
P987	Fimbrial (7 nm)	18900 d	Po	Cromosoma
F41	Fibrilar (3,2 nm)	29500 d	Hu, Co	Indeterminado
PCFO141	Fimbrial (5 nm)	17000 d	—	Plásmido
CS1541	Fibrilar (3-5 nm)	18000-19000 d	—	Indeterminado
F42	Fimbrial (5-7 nm)	31000 d	Hu, Eq	Indeterminado
Att25	Fibrilar (3-4 nm)	20000 d	—	Plásmido
CS31A	Fibrilar (2 nm)	29000 d	—	Plásmido

MRHA: Hemaglutinación resistente a la Manosa.

Eritrocitos de distintas especies: Hu (Humano), Co (Cobaya), Ov (Ovino), Eq (Equino), Po (Porcino).

tintas adhesinas (5). Así, mientras que el número de *E. coli* presentes en la zona media intestinal de animales sanos es del orden de 10^4 gérmenes/gr, el existente en animales con diarrea es superior a 10^9 (6, 3).

Para que pueda llevarse a cabo la adhesión bacteriana y posterior multiplicación, el factor de colonización juega un papel crítico en el ataque de ETEC, al impedir la eliminación de estos gérmenes hacia tramos posteriores donde la toxina elaborada no sería efectiva (5).

La denominación «factor de colonización» o «adhesina» es genérico y hace referencia a cualquier componente de la superficie bacteriana que medie el ataque a la membrana celular de las células eucariotas, sin presuponer ningún tipo de estructura.

El término «fimbria» se usa para describir los apéndices filamentosos de naturaleza proteica y estructura rígida de *E. coli* (7), mientras que la denominación «fibrilla» se relaciona con una multitud de filamentos flexibles y finos, con un diámetro que oscila entre 2-3 nm, y en número significativamente superior al descrito con anterioridad (8, 9).

Los distintos factores de colonización bacterianos se diferencian entre sí por su morfología, sus características hemaglutinantes y su especificidad para el receptor celular utilizado (3). Entre las distintas adhesinas detectadas en ETEC animales, cabe señalar las siguientes:

Adhesina K88:

Fue la primera adhesina descubierta en animales (10), aislándose en lechones con diarrea. Se trata de una proteína fibrilar de unos 2,1 nm de \emptyset (11), integrada por aminoácidos comunes y un peso molecular comprendido entre 25000-27540 d.

El antígeno K88 hemaglutina los eritrocitos de cobaya y pollo en presencia de D-manosa (7, 12). Se han descubierto hasta tres variedades serológicas distintas del antígeno K88 — K88 ab, K88 ac y K88 ad—, diferentes entre sí por su secuencia aminoacídica (13), que pudieran ser el resultado de la presión inmunológica ejercida por la frecuente utilización de vacunas que contienen el antígeno (9).

La síntesis de la adhesina es codificada por un plásmido conjugativo (14), que puede ser fácilmente transferido de unas cepas a otras.

Las cepas K88⁺ se adhieren a la porción basal de las vellosidades del intestino delgado anterior, pero no así a la criptas (15), si bien otros autores consideran que esta colonización puede llevarse a cabo en la práctica totalidad de las vellosidades del tracto intestinal (16).

Para que se verifique esta adhesión es necesaria la presencia de un receptor específico de membrana, que en el caso concreto de la adhesina K88 está representado a nivel

Tabla II.—Animales afectados, lugar de colonización y serogrupos más frecuentemente detectados entre las cepas con factores de colonización.

Factor de colonización	Animales afectados	Serogrupos principales	Lugar de colonización
K88	Porcino	08, 09, 020, 045, 0138 0141, 0149, 0157	Vellosidades tercio anterior intestino delgado
K99	Ternero, Cordero Porcino	08, 09, 020, 064, 0101	Vellosidades tercio posterior intestino delgado
P987	Porcino	08, 09, 020, 064 0141, 0149	Vellosidades tercio posterior intestino delgado
F41	Ternero, Cordero Porcino	09, 064, 0101	Vellosidades intestinales
PCFO141	Porcino	0141	Vellosidades intestinales
CS1541	Porcino	08	Vellosidades intestinales
F42	Porcino	?	Vellosidades intestinales
Att25	Bovino	0101, 0141	Vellosidades intestinales
CS31A	Bovino	08	Vellosidades intestinales

de la mucosa entérica por una glicoproteína (12).

La adhesina K88 es específica de ETEC porcinos, no afectando a corderos o a terneros (9). Esta especificidad está determinada por el fenotipo del hospedador y la identidad serológica de la adhesina K88 (17, 18, 19). Han sido identificados hasta 5 fenotipos porcinos distintos dependiendo de la existencia o no de receptores específicos para las variedades ab, ac y ad del K88 (19).

Diversos estudios (20) han puesto de manifiesto que una gran proporción de los ETEC pertenecen a un grupo reducido de serotipos, los cuales a su vez son raramente

encontrados en cepas no enterotoxigénicas. La mayoría de los ETEC K88⁺ pertenecen a los serogrupos 08, 09, 020, 045, 0138, 0141, 0149 y 0157 (9).

Adhesina K99:

Smith y Linggood (21) fueron los primeros en describir un antígeno adherente presente en ETEC de terneros y corderos, al que denominaron «Kco». Posteriores trabajos han evidenciado su presencia en ETEC porcinos carentes del antígeno K88 (22).

Este antígeno, posteriormente denominado K99 (23), está integrado por una proteína fimbrial de 5 nm de diámetro (24, 25), con

Tabla III.—Propiedades de las enterotoxinas de *E. coli*.

Propiedades	LT	ST
Peso molecular	86500	1500-5000
Subunidades	5 B + 1 A	No indentificadas
Propiedades inmunolog.....	Muy similar a la toxina del colera	No inmunógena
Receptor	Gangliosido GM ₁	No identificado
Acción bioquímica	Activación de la adenilato ciclase	Activación de la guanilato ciclase
Acción física	Hipersecreción sostenida de fluidos	Hipersecreción de fluidos corta duración
Control genético	Plásmido	Plásmido

un peso molecular de 19500 d, y codificada por un plásmido conjugativo.

La adhesina, particularmente frecuente entre los serogrupos 08, 09, 020, 064 y 0101 (9), hemaglutina en presencia de D-manosa eritrocitos humanos, ovinos y equinos (26, 27), y se adhiere de forma preferente a las vellosidades intestinales del íleon y en menor proporción a zonas anteriores del intestino (16).

Aunque la adhesina es fundamental en la instauración y posterior proliferación de ETEC en intestino, el glicocálix bacteriano coopera en la instauración de vínculos entre bacterias, y entre bacterias y epitelio intestinal (28). De esta forma, se considera que el K99 facilita el ataque inicial al epitelio entérico, mientras que el glicocálix se encarga de mantener la adherencia una vez producido éste (29). Un mecanismo de adherencia similar puede ser aplicado a las adhesinas K88, 987P y F41.

Adhesina P987:

El antígeno fimbrial P987 fue detectado en cepas porcinas causantes de diarreas y carentes del antígeno K88 y K99 (30, 31), aunque puede ser expresado de forma conjunta con el K88 (32). Es de naturaleza proteica y está constituido por una fimbria de 7 nm de \emptyset , e integrado por subunidades de un peso molecular de 18900 d. Químicamente está constituido por aminoácidos y un amino azúcar no identificado.

Este antígeno adherente es incapaz de hemaglutinar eritrocitos de las mayoría de especies (33), aunque desarrolla una ligera hemaglutinación frente a hematíes de pollo en presencia de D-manosa (34).

Se desconoce exactamente la ubicación de los genes que lo codifican, si bien se sospecha una ubicación cromosómica (9).

Esta adhesina faculta a los ETEC porcinos para colonizar las vellosidades del íleon, aunque no así las criptas (35, 36).

Adhesina F41:

Fue en principio detectada en la cepa enterotoxigénica bovina B41 conjuntamente con el antígeno fimbrial K99 (37). Se trata de una fibrilla de 3,2 nm \emptyset sintetizada por ETEC de origen porcino, bovino y ovino (38, 39), antigénicamente distinta al K99 (37), y asociada normalmente a los serogrupos 09, 064 y 0101 (39, 40). Presenta un peso molecular de 29500 d (37), encontrándose usualmente ligada al antígeno K99, si bien puede presentarse de forma independiente (41).

La localización de los genes que la codifican permanece indeterminada. Presenta características hemaglutinantes frente a hematíes humanos y de cobayo en presencia de D-manosa, mientras que esta reacción es mucho más débil o prácticamente ausente con eritrocitos ovinos o equinos (42).

En los últimos años han sido identificados 5 factores de colonización nuevos procedentes de ETEC animales, de entre los cuales 3 están presentes en cepas porcinas (PCFO141, CS1541 y F42), y otros dos en bovinas (Att25 y CS31A).

La fimbria PCFO141 ha sido aislada en cepas porcinas obtenidas a partir de cerdos diarreicos destetados (43). Posee composición proteica (\emptyset de unos 5 nm), y está integrada por subunidades de peso molecular 17000 d. Carece de actividad hemaglutinante en presencia de D-manosa.

Por su parte el antígeno CS1541 fue detectado en ETEC porcinos productores de LT y STb (44, 45). Se trata de una fibrilla con un \emptyset de 3-5 nm e integrada por subunidades proteicas de 18000-19000 d.

En estos mismos animales se identificó en Brasil (46) otro antígeno fimbrial de carácter hemaglutinante resistente a la D-manosa, denominado F42. Presenta naturaleza proteica y está integrado por subunidades con un peso molecular de 31000 d (47).

Finalmente las fibrillas Att25 (48) y CS31A (49) se han aislado en terneros diarreicos,

quedando constituidas por subunidades proteicas de peso molecular que oscila entre 20000-29000 d (50, 51). Aunque las cepas que desarrollan estas adhesinas presentan hemaglutinación resistente a la manosa, se considera que esta circunstancia puede relacionarse con la existencia de otra fimbria desconocida hasta el momento (50, 51). La primera de ellas puede presentarse de forma independiente o asociada a ETEC K99⁺ (52, 53), sugiriéndose que su actuación puede incrementar las propiedades adhesivas de este último. En el mismo sentido, la fibrilla CS31A puede ser aislada en cepas enterotoxigénicas y no enterotoxigénicas, por lo que su protagonismo en el proceso estudiado no parece claro.

ELABORACION DE ENTEROTOXINAS

Conjuntamente a la capacidad de adherirse a los enterocitos y multiplicarse de forma adecuada, los ETEC han de tener la capacidad genética de sintetizar enterotoxinas.

De esta forma, se ha constatado que ETEC puede sintetizar dos tipos de enterotoxina, una termolábil (LT) y otra termoestable (ST), encontrándose ambas codificadas por plámidos específicos (54, 55, 56). A pesar de su acción similar, LT y ST son muy diferentes tanto desde el punto de vista estructural como funcional.

A) *Toxina termolábil (LT)*

La toxina LT es notablemente similar desde el punto de vista inmunológico y funcional con la toxina del colera (57, 58).

La molécula de LT es una proteína de peso molecular entre 85000 y 90000 d, y constituida por una subunidad A, donde residen sus propiedades tóxicas, y 5 subunidades B, unidas entre si por enlaces no covalentes, y responsables de la unión específica al gangliósido GM1 o a las glicoproteínas de la superficie epitelial (58, 59). Ambas subunidades son sintetizadas independientemente como precursores inactivos en la bacteria (60), desconociéndose

el lugar donde se produce exactamente el ensamblaje (61).

El modo de acción de la LT de *E. coli* es similar al de la toxina del cólera, no haciéndose patente su efecto hasta transcurridos como mínimo unos 30 m, pero manteniéndose con posterioridad durante un largo período.

La unión de la toxina a los receptores específicos de la membrana, es seguido por la translocación de la subunidad A a través de la membrana y su posterior división en los fragmentos A₁ y A₂ (62). El fragmento A₁ es un enzima que, posiblemente en colaboración con determinados factores citoplasmáticos, se une covalentemente a la molécula ADP-ribosa, provocando la activación de la adenilato ciclasa y elevación del nivel del AMPc (63). Esta circunstancia se traduce en una inhibición de la absorción del Na⁺ por parte de las vellosidades, y consecuentemente del Cl⁻, del NaHCO₃ y del H₂O, mientras que a nivel de las criptas actúa estimulando activamente su secreción (63). El resultado final es el acúmulo de gran cantidad de electrolitos y agua en la luz intestinal, sin provocar en ningún momento lesiones estructurales.

Con posterioridad se ha demostrado la existencia de otra toxina LT (LT II) (64), con idéntica actividad biológica a la toxina termolábil clásica aunque inmunológicamente distinta. Presenta estructura proteica y un peso molecular de 87000 d (65), ubicándose los genes que la codifican en cromosomas bacterianos.

B) *Toxina termoestable (ST)*

A diferencia del efecto retardado pero sostenido e irreversible de LT, la acción de ST es siempre instantánea, de relativa corta duración y reversible (66, 67, 68). Han sido detectadas dos enterotoxinas termoestables (Sta y STb). La toxina termoestable de *E. coli* (Sta) es una proteína de bajo peso molecular y reducida actividad inmunógena, que provoca la acumulación de agua y electrolitos en la luz intestinal debido al bloqueo en la

absorción de Na⁺, Cl⁻ y H₂O en las vellosidades. Esta circunstancia se relaciona con la estimulación de la guanilato-ciclasa y posterior incremento de los niveles de GMPc intracelular.

La enterotoxina STa es producida por cepas de origen humano, bovino y porcino, siendo codificada por plásmidos que pueden contener genes para LT, para los factores de colonización y para la resistencia antibiótica (69, 70, 71).

Por su parte la STb es sintetizada exclusivamente por algunos ETEC porcinos y se detecta raramente en humanos (72). Su mecanismo de acción se desconoce pero parece actuar también a nivel del AMPc o del GMPc.

Bien sea a partir de un mecanismo patológico u otro, el resultado final del proceso es el acúmulo de gran cantidad de electrolitos (Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻) y agua en la luz intestinal, con la instauración del consiguiente síndrome diarreico.

Si las pérdidas de electrolitos y agua a partir de los compartimentos cardiovasculares son superiores a las tomas, se hace patente un importante cuadro de deshidratación y acidosis (73), con posterior desarrollo del colapso (74).

La muerte se relaciona frecuentemente con el fallo cardíaco producido al desequilibrarse las concentraciones intracelulares de potasio, circunstancia esta vinculada a la diarrea y acidosis presente en la totalidad de animales afectados (75, 76).

BIBLIOGRAFIA

- (1) PEARSON, G.R.; LOGAN, E.F. (1979): The pathogenesis of enteric colibacillosis in neonatal unsuckled calves. *Vet. Rec.* **105**: 159-164.
- (2) ACRES, S.D. (1985): Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in newborn calves: A review. *J. Dair. Sci.* **68**: 229-256.
- (3) GYLES, C.L. (1979): Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa State University Press. Ames.
- (4) SMITH, H. (1978): The influence of plasmid determined and other characteristic of enteropathogenic *Escherichia coli* on their ability to proliferate in the alimentary tracts of piglets, calves and lambs. *J. Med. Microbiol.* **11**:471-492.
- (5) MOON, H.W.; NAGY, B.; ISAACSON, R.E.; ØRSKOV, I. (1983): Occurrence of K99 antigen on *Escherichia coli* isolated from pigs and colonization of pig ileum by K99⁺ enterotoxigenic *E. coli* from calves and pigs. *Inf. Immun.* **15**: 614-620.
- (6) CONTREPOIS, M.; GOUET, PH. (1977): La flore normale det pathogène du veau de moins de 15 jours. *L'aliment et la vie* **65**: 61-75.
- (7) DUGUID, J.P.; SMITH, I.W.; DEMPSTER, G.; EDMUNDS, P.N. (1955): Non flagellar filamentous appendages («fimbriae») and haemagglutinating activity in *Bacterium coli*. *J. Pathol. Bacteriol.* **70**: 335-348.
- (8) JONES, G.W. (1977): The attachment of bacteria to the surfaces of animal cells. In: Microbial interactions (Ed. J. L. Reissig), Receptors and Recognition Series B, Vol. **3**, pp 139-176. Chapman and Hall, London.
- (9) GAASTRA, W.; DE GRAAF, F.K. (1982): Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiol. Rev.* **46**: 129-161.
- (10) ØRSKOV, I.; ØRSKOV, F.; SOJKA, W.J.; LEACH, J.M. (1961): Simultaneous occurrence of *E. coli* B and L antigens in strains from disease swine. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect B* **53**: 404-422. (94).
- (11) WADSTRÖM, T.; SMYTH, C.J.; FARIS, A.; JOHNSSON, P.; FREER, J.H. (1979): Hydrophobic adsortive and haemagglutinating properties of enterotoxigenic *Escherichia coli* with different colonizing factors: K88, K99 and colonization factor antigens and adherence factor. In: Proceedings of the International Symposium on Neonatal Diarrhoea (Ed. S. D. Acres), pp. 29-55. Stuart Brandle Publishing Service, Edmonton, Canada.
- (12) JONES, G.W.; RUTTER, J.M. (1974): Role of the K88 antigen with haemagglutinating activity in porcine strains of *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* **84**: 135-144.
- (13) GUINEE, P.A.M.; JANSEN, W.H. (1979): Behaviour of *E. coli* antigen K88ab, K88ac and K88ad in immunoelectrophoresis, double diffusion, and hemagglutination. *Infect. Immun.* **23**: 700-705.
- (14) STIRM, S.; ØRSKOV, F.; ØRSKOV, I.; BIRCH-ANDERSEN, A. (1967): Episome-carried surface antigen K88 of *E. coli*. *Morphol. J. Bacteriol.* **93**: 740-748.
- (15) HOHMANN, A.; WILSON, M.R. (1975): Adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to intestinal epithelium «in vivo». *Infect. Immun.* **12**: 866-880.
- (16) MOON, H.W.; ISAACSON, R.E.; POHLENZ, J. (1979): Mechanisms of association of enteropa-

- thogenic *Escherichia coli* with intestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**:119-127.
- (17) RUTTER, J.M.; BURROWS, M.R.; SELWOOD, R.; GIBBONS, R.A. (1975): A genetic basis for resistance to enteric disease caused by *Escherichia coli*. *Nature* **257**: 135-136.
- (18) SELLWOOD, R.; GIBBONS, R.A.; JONES, G.W.; RUTTER, J.M. (1975): Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to pig intestinal brush borders: The existence of two pig phenotypes. *J. Med. Microbiol.* **8**:405-411.
- (19) BIJLSMA, I.G.W.; DE NIJS, A.; FRIK, J.F. (1981): Adherence of *Escherichia coli* to porcine intestinal brush borders by means of serological variants of the K88 antigen. *Antonie van Leeuwenhoek* **47**: 467-468.
- (20) ØRSKOV, I.; ØRSKOV, F. (1977): Special O:K:H serotypes among enterotoxigenic *E. coli* strains from diarrhoea in adults and children. Occurrence of the CF (colonization factor) antigen and of hemagglutinating abilities. *Med. Microbiol. Immunol.* **163**: 99-110.
- (21) SMITH, H.W.; LINGGOOD, M.A. (1972): Further observations on *Escherichia coli* enterotoxins with particular regard to those produced by atypical piglet strains and by calf and lamb strains: the transmissible nature of these enterotoxin and of a K antigen possessed by calf and lamb strains. *J. Med. Microbiol.* **5**: 243-250.
- (22) MOON, H.W.; NAGY, B.; ISAACSON, R.E.; ØRSKOV, I. (1977): Occurrence of K99 antigen on *E. coli* isolated from pigs and colonization of pig ileum by K99 positive enterotoxigenic *E. coli* from calves and pigs. *Infect. Immun.* **15**: 614-620.
- (23) ØRSKOV, F.; ØRSKOV, I.; SMITH, H.W.; SOJKA, W.J. (1975): The establishment of K99 a thermolabile, transmissible *E. coli* K antigen, previously called «Kco» possessed by calf and lamb enteropathogenic strains. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B* **83**: 31-36.
- (24) DE GRAAF, F.W.; WIENTJES, F.B.; KLAASENBOOR, P. (1980): Production of K99 antigen by enterotoxigenic *E. coli* strains of antigens groups 08, 09, 020 and 0101 grown at different conditions. *Infect. Immun.* **27**: 694-699.
- (25) ISAACSON, R.E. (1977): K99 surface antigen of *E. coli*: purification and partial characterization. *Infect. Immun.* **15**: 272-279.
- (26) TIXIER, G.; GOUET, P. (1975): Mise en évidence d'une structure agglutinante les hématies de cheval en présence de mannose et spécifique des souches d'*Escherichia coli* enterotoxiques d'origine bovine. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Serie D* **281**: 1641-1644.
- (27) BURROWS, M.R.; SELWOOD, R.; GIBBONS, R.A. (1976): Haemagglutinating and adhesive properties associated with the K99 antigen of bovine strains of *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* **96**: 269-275.
- (28) SMITH, H.W.; HUGGINS, M.B. (1978): The influence of plamid-determined and other characteristic of enteropathogenic *E. coli* on their ability to proliferate in the alimentary tracts of piglets, calves and lambs. *J. Med. Microbiol.* **11**: 471-492.
- (29) CHAN, R.; ACRES, S.D.; COSTERTON, J.W. (1982): Use of specific antibody to demonstrate glycoalyx, K99 pili and the spatial relationships of K99⁺ enterotoxigenic *Escherichia coli* in the ileum of colostrum-fed calves. *Infect. Immun.* **37**: 1170-1180.
- (30) NAGY, B.; MOON, H.W.; ISAACSON R.E. (1977): Colonization of porcine intestine by enterotoxigenic *E. coli*: selection of pilliated cells «in vivo», adhesion of pilliated forms to epithelial cells «in vitro», and incidence of a pilus antigen among porcine enteropathogenic *E. coli*. *Infect. Immun.* **16**: 344-352.
- (31) ISAACSON, R.E.; NAGY, B.; MOON, H.W. (1977): Colonization of porcine small intestine by *E. coli*: colonization and adhesion factor of pig enteric pathogens that lack K88. *J. Infect. Dis.* **135**: 531-539.
- (32) SCHNEIDER, R.A.; TO, S.C.M. (1982): Enterotoxigenic *Escherichia coli* strains that express K88 and 987P pilus antigens. *Infect. Immun.* **36**: 417-418.
- (33) ISAACSON, R.E.; RITCHER, P. (1981): *Escherichia coli* 987P pilus: Purification and partial characterization. *J. Bacteriol.* **146**: 784-789.
- (34) AWAD-MASALMEH, M.; MOON, H.W.; RUNNELS, P.L.; SCHNEIDER, R.A. (1982): Pilus production, haemagglutination and adhesion by porcine strains of enterotoxigenic *Escherichia coli* lacking K88, K99 and 987P antigens. *Infect. Immun.* **35**: 305-313.
- (35) NAGY, B.; MOON, H.W.; ISAACSON, R.E. (1976): Colonization of porcine small intestine by *Escherichia coli*: Ileal colonization and adhesion by pig enteropathogens that lack K88 antigen and by some acapsular mutants. *Infect. Immun.* **13**: 1214-1220.
- (36) ISAACSON, R. E.; NAGY, B.; MOON, H. W. (1977): Colonization of porcine small intestine by *Escherichia coli*: Colonization and adhesion factors of pigs enteropathogens that lack K88. *J. Infect. Dis.* **135**: 531-539.
- (37) MORRIS, J. A.; THORNS, C.; SCOTT, A. C.; SOJKA, W. J.; WELLS, G. A. (1982): Adhesion in vitro and in vivo associated with an adhesive antigen (F41) produced by a mutant of the reference strain *E. coli* B41. *Infect. Immun.* **36**: 1146-1153.
- (38) FAIRBROTHER, J. M.; LARIVIERE, S.; JOHNSON, W. M. (1988): Prevalence of fimbrial antigens and

- enterotoxins in nonclassical serogroups of *E. coli* isolated from newborn pigs with diarrhoea. *Am. J. Vet. Res.* **49**: 1325-1328.
- (39) MAINIL, J. G.; BEX, F.; JACQUEMIN, E.; POHL, P.; COUTURIER, M. (1992): Prevalence of four enterotoxins (STaP, STaH, STb, and LT) and four adhesin subunit (K99, K88, 987P, and F41) genes among *E. coli* isolates from cattle. *Am. J. Vet. Res.* **51**: 187-190.
- (40) WILSON, R. A.; FRANCIS, D. H. (1986): Fimbriae and enterotoxins associated with *E. coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am. J. Vet. Res.* **47**: 213-217.
- (41) SODERLIN, O.; THAFVELIN, B.; MOLLBY, R. (1988): Virulence factors in *E. coli* strains isolated from Swedish piglets with diarrhoea. *J. Clin. Microbiol.* **26**: 879-884.
- (42) DE GRAAF, F. K.; ROORDA, I. (1982): Production, purification and characterization of the fimbrial adhesive antigen F41 isolated from the calf enteropathogenic *Escherichia coli* strain B41M. *Inf. Immun.* **36**: 751-758.
- (43) KENNAN, R. M.; MONCKTON, R. P. (1992): Adhesive fimbriae associated with porcine enterotoxigenic *E. coli* of the 0141 serotype. *J. Clin. Microbiol.* **28**: 2006-2011.
- (44) BROES, A.; FAIRBROTHER, J. M.; JACQUES, M.; LARIVIERE, S. (1988): Isolation and characterization of a new fimbrial antigen (CS1541) from a porcine enterotoxigenic *E. coli* 08:KX105 strain. *FEMS Microbiol Lett* **55**: 341-348.
- (45) BROES, A.; FAIRBROTHER, J. M.; JACQUES, M.; LARIVIERE, S. (1989): Requirement for capsular antigen KX105 and fimbrial antigen CS1541 in the pathogenesis of porcine enterotoxigenic *E. coli* 08:KX105 strains. *Can. J. Vet. Res.* **53**: 43-47.
- (46) YANO, T.; LEITE, D. S.; CAMARGO, I. J.; PESTAÑA DE CASTRO, A. F. (1990): A probable new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic *E. coli* isolated from pigs. *Microbiol. Immunol.* **30**: 495-508.
- (47) LEITE, D. S.; YANO, T.; PESTAÑA DE CASTRO, A. F. (1988): Production, purification and partial characterization of a new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic *E. coli* isolated from pigs. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol* **139**: 295-306.
- (48) POHL, P.; LINTERMANS, P.; KAECKENBEECK, A.; DE MOL, P. (1983): Existence de differents types d'*E. coli* pathogènes pour l'intestin du veau. *Ann. Med. Vet.* **127**: 37-41.
- (49) CONTREPOIS, M.; DUBOURGUIER, H. C.; PARODI, A. L.; GIRARDEU, J. P. (1986): Septicaemic *E. coli* and experimental infection of calves. *Vet. Microbiol.* **12**: 109-118.
- (50) GIRARDEAU, J. P.; DER VARTANIAN, M.; OLLIER, J. L.; CONTREPOIS, M. (1988): CS31A a new K88-related fimbrial antigen on bovine enterotoxigenic and septicemic *E. coli* strains. *Infec Immun.* **56**: 2180-2188.
- (51) LINTERMANS, P. F.; POHL, P.; BERTELS, A.; CHARLIER, G.; VANDEKERCKHOVE, J. (1988): Characterization and purification of the F17 adhesin on the surface of bovine enteropathogenic and septicemic *E. coli*. *Am. J. Vet. Res.* **49**: 1794-1799.
- (52) CONTREPOIS, M.; MARTEL, J. L.; BORDAS, C.; HAYERS, F.; MILLET, A.; RAMISSE, J.; SENDRAL, R. (1985): Frequence des pili FY et K99 parmi des souches de *E. coli* de veaux diarrhéiques en France. *Ann. Rech. Vet.* **16**: 25-28.
- (53) POHL, P.; LINTERMANS, P.; MAINIL, J.; KAECKENBEECK, A.; BERTELS, A. (1987): Etudes des phénotypes et des facteurs de virulence des *E. coli* Att25. *Ann. Méd. Vét.* **131**: 429-439.
- (54) ECHEVERRIA, P.; MURPHY, J. R. (1980): Enterotoxigenic *E. coli* carrying plasmids coding for antibiotic resistance and enterotoxin production. *J. Infect. Dis.* **142**: 273-278.
- (55) LEKSOMBOON, V.; ECHEVERRIA, P.; SU-VONGSE, C.; DUANGMANI, C. (1981) Viruses and bacteria pediatric diarrhea in Thailand: a study of multiple antibiotic-resistant enteric pathogens. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **30**: 1281-1290.
- (56) STIEGLITZ, H.; FONSECA, R.; OLARTE, J. (1980): Linkage of heat-stable enterotoxin activity and ampicillin resistance in a plamid isolated from an *E. coli* strain of human origin. *Inf. Immun.* **28**: 617-620.
- (57) GILL, D. M.; ENOMOTO, K. (1980) Intracellular, enzymatic action of enterotoxin: The biochemical basis of cholera. En: Cholera and Related Diarrhea (Eds. Ö. Ouchterlony and J. Holmgren) pp. 104-114. Karger, Basel.
- (58) HOLGREN, J. (1981): Actions of cholera toxin and the prevention and treatment of cholera. *Nature* **292**: 413-417.
- (59) HOLGREN, J.; FREDMAN, P.; KINDBLAD, M.; SVENNERHOLM, A.M.; SVENNERHOLM, L. (1982): Rabbit intestinal glycoprotein receptor for *Escherichia coli* heat labile enterotoxin lacking affinity for cholera toxin. *Infect. Immun.* **38**: 424-433.
- (60) PALVA, E.T.; HIRST, T.R.; HARDY, S.J.S.; HOLMGREN, J.; RANDALL, L. (1981): Synthesis of a precursor to the B subunit to heat-stable enterotoxin in *E. coli*. *J. Bacteriol.* **146**: 325-330.
- (61) WENSINK, J.; GANKENA, H.; JANSEN, W. H.; GUINEE, P.A.M.; WITHOLT, B. (1978): Isolation of membranes of an enterotoxigenic strain of *E. coli* and distribution of enterotoxin activity in different subcellular fractions. *Biochim Biophys Acta* **514**: 128-136.
- (62) MOSS, J.; GARRISON, S.; FISHMAN, P. H.; RICHARDSON, S. H. (1979): Gangliosides

- sensitize unresponsive fibroblast to *E. coli* heat-labile enterotoxin. *J.Clin. Invest.* **64**: 381-384.
- (63) GILL, D.M.; RICHARDSON, S.H. (1980): Adenosine diphosphate-ribosylation of adenylate cyclase catalysed by heat-labile enterotoxin of *E. coli*: comparison with cholera toxin. *J. Infect. Dis.* **141**: 64-70.
- (64) PICKETT, C. L.; TWIDDY, E. M.; BELISLE, B. W.; HOLMES, R. K. (1986): Cloning of genes that encode a new heat-labile enterotoxin of *E. coli*. *J. Bacteriol.* **165**: 348-352.
- (65) HOLMES, R. K.; TWUDDY, E. M.; PICKETT, C. L. (1986): Purification and characterization of type II heat-labile enterotoxin of *E. coli*. *Infect Immun* **53**: 464-477.
- (66) FIELD, M.; GRAF, L. H.; LAIRD, W. J.; SMITH, T. L. (1978): Heat-stable enterotoxin of *E. coli*: In vitro effects on adenylate cyclase activity, cyclic GMP concentration, and ion transport in small intestine. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA* **75**: 2800-2804.
- (67) HUGHES, J. N.; MURAD, F.; CHANG, B.; GUERRANT, R. L. (1978): Role of cyclic GMP in the action of heat-stable enterotoxin of *E. coli*. *Nature* **271**: 755-756.
- (68) GUERRANT, R. L.; HUGUES, J. M.; CHANG, B.; ROBERTSON, D. C.; MURAD, F. (1980): Activation of intestinal guanylate cyclase by heat-stable enterotoxin of *E. coli*: Studies of tissue specificity, potential receptors, and intermediates. *J. Infect. Dis.* **142**: 220-228.
- (69) ECHEVERRIA, P.; BLACKLOW, N. R.; SMITH, D. H. (1975): Role of heat-labile toxigenic *E. coli* and reovirus-like agent in diarrhoea in Boston children. *Lancet* **2**: 1113-1116.
- (70) ECHEVERRIA, P.; VERHAERT, L.; ULYANGCO, V.; KOMALARINI, S.; ØRSKOV, I. (1978): Antimicrobial resistance and enterotoxin production among isolates of *E. coli* in the Far East. *Lancet* **2**: 589-592.
- (71) GONZALEZ, E. A.; BLANCO, J. (1985): Relation between antibiotic resistance and number of plasmids in enterotoxigenic non-enterotoxigenic *E. coli* strains. *Med Microbiol. Immunol.* **174**: 257-265.
- (72) ECHEVERRIA, P.; SERIWATA, J.; PATOMOROJ, U.; MOSELEY, S.L.; MCFARLAND, A.; CHITYOTHIN, O.; CHAICUMPA, W. (1984): Prevalence of heat-stable II enterotoxigenic *E. coli* in pigs, water, and people at farms in Thailand as determined by DNA hybridization. *J. Clin. Microbiol.* **19**: 489-491.
- (73) NAYLOR, J.M. (1987): Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and one week of age. *Can. Vet. J.* **28**: 168-173.
- (74) PHILLIPS, R. W.; LEWIS, L. D.; KNOX, K. L. (1971): Alterations in body water turnover and distribution in neonatal calves with acute diarrhea. *Ann. NY Acad. Sci.* **176**: 231-243.
- (75) FISHER, E. W. (1967): Death in neonatal calf diarrhoea. *Br. Vet. J.* **121**: 132-138.
- (76) FISHER, E. W.; MCEWAN, A. D. (1967): Death in neonatal calf diarrhoea. Part II. The role of oxygen and potassium. *Br. Vet. J.* **23**: 4-7.