

## MISE EN ÉVIDENCE DE *ESCHERICHIA COLI* K99<sup>+</sup> DANS LES FÈCES DES VACHES ET DE LEURS VEAUX

G. MOULIN<sup>1</sup>, J.L. MARTEL<sup>1</sup>, J.F. GUILLOT<sup>2</sup> et M. LIBMANN<sup>3</sup>

1 : Ministère de l'Agriculture, Direction de la Qualité, Services Vétérinaires,  
Laboratoire National de Pathologie Bovine, 5, Avenue Jules-Carteret,  
69342 Lyon cedex 07, France

2 : Station de Pathologie Aviaire et de Parasitologie, INRA, Centre de Recherches de Tours,  
37380 Monnaie, France

3 : Docteur Vétérinaire, 66800 Bourg-Madame, France

### Summary

NUMERATION OF K99<sup>+</sup> *ESCHERICHIA COLI* IN THE FAECES OF COWS AND OF THEIR CALVES. — Enteropathogenic antibiotic resistant *E. coli* (K99<sup>+</sup>, ST<sup>+</sup>) were selected and numbered in the faeces of cows and their newborn calves from a farm where outbreaks of neo-natal diarrhoea occurred occasionally. K99<sup>+</sup> *E. coli* were resistant to nalidixic acid. This resistance rarely encountered, enabled to number selectively these bacteria.

In the eight affected calves, the K99<sup>+</sup> strains were simultaneously resistant to nalidixic acid, ampicillin, streptomycin, kanamycin, chloramphenicol, tetracyclines and sulphonamides. In the cases of severe diarrhoea, these K99<sup>+</sup> *E. coli* predominated in the faecal flora. Strains presenting the same characters were also isolated from the faeces of the mothers, where they were generally found in lesser numbers.

When calves were prophylactically treated with gentamicin or when their mothers had been vaccinated against enteropathogenic *E. coli*, clinical signs of diarrhoea did not appear or were mild, but carriage of K99<sup>+</sup> *E. coli* persisted.

These first results contribute to a better understanding of the epidemiology of neonatal colibacillosis in calves.

La découverte d'une entérotoxine thermostable chez les colibacilles du veau en 1967 (Smith et Halls) suivie par celle de l'antigène Kco (Smith et Linggood, 1972) identifié à l'anti-

gène K99<sup>+</sup> par Ørskov *et al.* (1975) ont été le point de départ d'une série importante d'études fondamentales qui ont permis d'affiner les connaissances relatives au pouvoir pathogène

de ces entérobactéries (Dean *et al.*, 1972 ; Burrows *et al.*, 1976 ; Guinée *et al.*, 1976).

De même, de nombreuses enquêtes épidémiologiques effectuées en France (Contrepois et Gouet, 1972 ; Martel et Perrin, 1980, 1981) et à l'étranger (Thomas, 1975 ; Moon *et al.*, 1976) ont simultanément révélé l'importance de l'antibiorésistance des *E. coli* entéropathogènes.

Cependant peu d'études visent à déterminer l'origine de la contamination des veaux par *E. coli* K99<sup>+</sup>, ceci étant dû en grande partie à l'absence de marqueurs permettant une détection aisée de ces souches.

L'apparition des diarrhées dues à *E. coli* K99<sup>+</sup> est précoce ; en effet, 73 % des veaux malades ont moins de quatre jours (Martel *et al.*, 1981) suggérant ainsi l'éventualité d'une contamination du veau par sa mère.

Les diagnostics réalisés au Laboratoire National de Pathologie Bovine de Lyon nous ont permis de mettre en évidence au printemps 1982, dans un élevage traditionnel, une souche de *E. coli* K99<sup>+</sup> ayant la particularité de résister à l'acide nalidixique (Nal). Cette propriété, peu fréquente chez les entérobactéries (Martel et Moulin, 1982), constitue un marqueur permettant de sélectionner facilement les *E. coli* résistants dans les fèces des vaches et des veaux.

## Matériel et Méthodes

### 1. Protocole expérimental

A la suite de l'apparition des premiers cas de diarrhée, huit couples mère-veau ont pu être suivis dans la même exploitation en avril et mai 1982.

Les couples ont constitué trois groupes en fonction des symptômes diarrhéiques :

- 1<sup>er</sup> groupe : couple mère-veau, dont le veau a présenté une diarrhée persistante avec déshydratation (MDP-VDP).
- 2<sup>e</sup> groupe : couple mère-veau, dont le veau a présenté une diarrhée temporaire avec faible déshydratation (MDT-VDT).
- 3<sup>e</sup> groupe : couples mère-veau sans diarrhée (MSD-VSD).

La vache MSD2 a reçu une injection d'une dose d'un vaccin anticolibacillaire comprenant l'antigène K99 (Imocolibov ND, Iffa-Mérieux, Lyon) trois semaines avant le vêlage. Son veau VSD2 n'a reçu aucun antibiotique.

Trois veaux (VSD1, VDT1, VDT2) ont fait l'ob-

jet d'une antibioprévention à la naissance avec de la gentamicine.

Six veaux présentant une diarrhée (VDT1, VDT2, VDP1, VDP2, VDP3, VDP4) ont reçu une réhydratation par voie intra-veineuse ainsi que le traitement antibiotique suivant : ampicilline-colistine-fluméquine.

Les prélèvements de fèces ont été réalisés simultanément sur les vaches et les veaux 24 ou 48 h après le vêlage. Deux vaches, MSD2 et MDT2, ont été prélevées respectivement deux jours avant le vêlage et au moment du vêlage. Les vaches MDT1, MSD2 et les veaux VDT1, VSD1 et VSD2 ont été prélevés trois, six ou vingt jours après le vêlage pour suivre la persistance éventuelle des *E. coli* K99<sup>+</sup>.

Les prélèvements ont été expédiés au laboratoire sous couvert du froid, sans avoir subi de congélation.

### 2. Animaux

Les vaches laitières appartenant à la même exploitation et les vêlages ont eu lieu, soit à l'étable dans plusieurs locaux différents, soit au pré (veaux VSD2 et VDT2). Tous les veaux ont tété le colostrum de leur mère. Ils ont été séparés de leur mère dès la naissance et n'ont donc été en contact avec elle qu'au moment du vêlage et lors des tétées.

### 3. Techniques bactériologiques

#### 3.1. Numération des bactéries résistantes

Après homogénéisation des fèces, les numérations bactériennes sont effectuées par la technique de dilution étalement sur différents milieux gélosés : Drigalski (Institut Pasteur Production, Marnes-la-Coquette, France) Minca + Polyvitex (ND Biomérieux Marcy-l'Etoile, France), additionnés ou non des antibiotiques suivants :

- Ampicilline (Ap) : 20 µg/ml, (Beecham, Brentford, Grande-Bretagne).
- Streptomycine (Sm) : 12,5 µg/ml, (Boehringer, Mannheim, Allemagne).
- Kanamycine (Km) : 12,5 µg/ml, (Boehringer, Mannheim, Allemagne).
- Chloramphénicol (Cm) : 12,5 µg/ml, (Boehringer, Mannheim, Allemagne).
- Tétracycline (Tc) : 12,5 µg/ml, (Boehringer, Mannheim, Allemagne).
- Acide nalidixique (Nal) : 40 µg/ml, (Boehringer, Mannheim, Allemagne).

La limite de détection de *E. coli* est de 10<sup>2</sup> bactéries par gramme de fèces.

### 3.2. Séquences de résistance

Les séquences de résistance aux antibiotiques ou antibiotype sont déterminées par la technique des répliques sur velours en utilisant les milieux suivants : Minca + Polyvitex (ND Biomérieux), Mueller Hinton (Difco) additionnés des antibiotiques précédents aux mêmes concentrations. Pour chaque prélèvement la séquence de résistance de 50 clones est déterminée. Chaque antibiotype mis en évidence est confirmé par antibiogramme déterminé par la technique des disques (Institut Pasteur production, Marnes-la-Coquette, France).

### 3.3. Identification des souches

L'étude des souches de colibacilles résistants à l'acide nalidixique a été complétée d'une recherche du caractère K99+ par agglutination rapide sur lame et par la mise en évidence de l'entérotoxine thermostable par le test sur souris nouveau-né (Dean *et al.*, 1972).

## Résultats

L'étalement des fèces de vaches et de veaux sur un milieu contenant de l'acide nalidixique a permis de sélectionner *E. coli* K99+ Nal à l'état pur. De même, lors de numérations sur des milieux ne contenant pas cet antibiotique, l'aspect muqueux des colonies permet une reconnaissance aisée de *E. coli* K99+. L'antibiogramme de cette souche révèle les résistances suivantes : Ap, Sm, Km, Cm, Tc, Su, Nal. La recherche de l'entérotoxine s'est avérée positive dans tous les cas.

### *E. coli* K99+ Nal chez les mères

La flore colibacillaire totale présente chez les vaches se situe autour de  $10^6$  bactéries par gramme de fèces. Bien que composée majoritairement de *E. coli* sensibles, *E. coli* K99+ Nal a été isolé des fèces de toutes les vaches, que le veau soit malade ou apparemment sain (tabl. 1).

Chez les vaches dont le veau n'a pas présenté de diarrhée grave les *E. coli* K99+ Nal sont en position sous-dominante. Par contre, la population de *E. coli* K99+ Nal atteint une taille de population dominante chez trois des vaches ayant produit des veaux diarrhéiques.

Le nombre de souches résistantes aux différentes familles antibiotiques est peu différent du nombre de souches résistantes à l'acide nalidixique et ceci chez toutes les mères.

*E. coli* K99+ Nal a été isolé deux jours avant le vêlage chez la vache MSD2 et chez la vache MDT1. *E. coli* K99+ Nal est présent trois semaines après la mise-bas.

### *E. coli* K99+ Nal chez les veaux

La flore colibacillaire totale de tous les veaux est élevée, de l'ordre de  $10^8$ – $10^9$  bactéries par gramme de fèces (fig. 1).

*E. coli* K99+ Nal est présent dans les fèces des veaux dès le lendemain de la naissance et il a été isolé de tous les prélèvements, que les veaux soient diarrhéiques ou non. Chez les veaux malades, au moment de l'épisode diarrhéique, *E. coli* K99+ Nal est nettement dominant dans les fèces de tous les veaux, excepté le veau VDPI.

Chez les veaux sains, les *E. coli* sensibles aux antibiotiques dominant et *E. coli* K99+ Nal occupe une taille de population plus réduite dans la flore colibacillaire. Après six jours (veau VSD2) et 20 jours (veau VSD1) les animaux restent porteurs de la souche en position sous-dominante.

### Séquences de résistance

A chaque prélèvement la séquence de résistance des cinquante colonies d'*E. coli* K99+ Nal, étudiées par la technique des répliques, a toujours été la même : toutes les souches résistaient simultanément à l'ampicilline, la streptomycine, la kanamycine, le chloramphénicol, la tétracycline et l'acide nalidixique (antibiotype : Ap, Sm, Km, Cm, Tc, Nal).

Chez les vaches les répliques de cinquante colonies de *E. coli* de la flore dominante ont confirmé la présence généralement majoritaire de *E. coli* sensibles. La population antibiorésistante est principalement constituée de *E. coli* K99+ Nal. Les rares *E. coli* K99- antibiorésistants présentent les séquences de résistance suivantes : Ap Sm Km Cm Tc et Sm Tc.

Chez les veaux, les résultats des répliques confirment la fréquence de *E. coli* K99+ Nal en position dominante mais révèlent que des *E. coli* K99- présentant la séquence de résistance Ap Sm Km Cm Tc sont aussi présents en position dominante dans la flore colibacillaire de tous les veaux. La séquence Sm Tc n'a été retrouvée qu'une seule fois. Chez les veaux sains les *E. coli* sensibles aux antibiotiques dominant contrairement aux veaux diarrhéiques ; ceci est confirmé par les résultats des répliques.

Tableau 1. — Numération de *E. coli* dans les fèces des vaches

Numération <i>E. coli</i> par gramme de fèces des mères	Etat sanitaire des veaux							
	Avec diarrhée persistante				Diarrhée temporaire		Sans diarrhée	
	MDP1	MDP2	MDP3	MDP4	MDT1	MDT2	MSD1	MSD2
<i>2 jours avant et jour du vêlage</i>								
<i>E. coli</i> K99 <sup>+</sup> Nal	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	2,7 × 10 <sup>4</sup>
<i>E. coli</i> totaux	...	...	...	...	...	2,1 × 10 <sup>6</sup>	...	2 × 10 <sup>7</sup>
Résistants à :								
ampicilline	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	3,2 × 10 <sup>4</sup>
streptomycine	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	3 × 10 <sup>4</sup>
kanamycine	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	3,6 × 10 <sup>4</sup>
chloramphénicol	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	3,3 × 10 <sup>4</sup>
tétracycline	...	...	...	...	...	<10 <sup>2</sup>	...	3,2 × 10 <sup>4</sup>
<i>1 jour et 2 jours après vêlage</i>								
<i>E. coli</i> K99 <sup>+</sup> Nal	4,1 × 10 <sup>4</sup>	4,7 × 10 <sup>5</sup>	1,1 × 10 <sup>5</sup>	0,7 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	1,3 × 10 <sup>6</sup>	6 × 10 <sup>3</sup>	...
<i>E. coli</i> totaux	4 × 10 <sup>6</sup>	6,8 × 10 <sup>6</sup>	3,5 × 10 <sup>5</sup>	3,1 × 10 <sup>7</sup>	2,8 × 10 <sup>5</sup>	4,9 × 10 <sup>7</sup>	1,3 × 10 <sup>6</sup>	...
Résistants à :								
ampicilline	1,7 × 10 <sup>6</sup>	5 × 10 <sup>5</sup>	1,2 × 10 <sup>5</sup>	2,7 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	...	0,8 × 10 <sup>3</sup>	...
streptomycine	2,2 × 10 <sup>6</sup>	1 × 10 <sup>5</sup>	1,4 × 10 <sup>5</sup>	1,6 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	...	1,2 × 10 <sup>3</sup>	...
kanamycine	3 × 10 <sup>6</sup>	6 × 10 <sup>5</sup>	1,8 × 10 <sup>5</sup>	2,5 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	...	1 × 10 <sup>3</sup>	...
chloramphénicol	7 × 10 <sup>5</sup>	1 × 10 <sup>5</sup>	1,1 × 10 <sup>5</sup>	3 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	...	1,2 × 10 <sup>3</sup>	...
tétracycline	1,5 × 10 <sup>6</sup>	5 × 10 <sup>5</sup>	1,8 × 10 <sup>5</sup>	2,8 × 10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	...	1 × 10 <sup>3</sup>	...
<i>6 jours et + après vêlage</i>								
<i>E. coli</i> K99 <sup>+</sup> Nal	...	...	...	...	0,9 × 10 <sup>4</sup>	...	...	1,1 × 10 <sup>3</sup>
<i>E. coli</i> totaux	...	...	...	...	1,7 × 10 <sup>6</sup>	...	...	3,5 × 10 <sup>5</sup>
Résistants à :								
ampicilline	...	...	...	...	5 × 10 <sup>4</sup>	...	...	3,5 × 10 <sup>3</sup>
streptomycine	...	...	...	...	6 × 10 <sup>4</sup>	...	...	3,4 × 10 <sup>3</sup>
kanamycine	...	...	...	...	6 × 10 <sup>4</sup>	...	...	3,4 × 10 <sup>3</sup>
chloramphénicol	...	...	...	...	7 × 10 <sup>3</sup>	...	...	2,9 × 10 <sup>3</sup>
tétracycline	...	...	...	...	1 × 10 <sup>4</sup>	...	...	2 × 10 <sup>3</sup>

## Discussion

La recherche de *E. coli* K99<sup>+</sup> dans les fèces des vaches en l'absence de marqueurs sélectionnant directement ces souches s'avère difficile. L'antibiorésistance constitue un marqueur intéressant pour sélectionner et suivre dans les flores des animaux, les colibacilles présentant des phénotypes de résistance déterminés (Borden et Guillot, 1981 ; Chaslus-Dancla *et al.*, 1979).

Les différentes enquêtes ont montré que généralement, les *E. coli* K99<sup>+</sup> isolés chez les veaux diarrhéiques étaient pratiquement toujours multirésistants aux antibiotiques (Pohl *et al.*, 1977 ; Dubourguier *et al.*, 1980 ; Ramisse, 1980 ; Martel *et al.*, 1981).

Cette association des gènes codant pour l'antibiorésistance et le facteur d'attachement K99 nous a permis d'isoler parmi les colibacilles sensibles dominants de la flore fécale des vaches les *E. coli* K99<sup>+</sup> antibiorésistants. Les résultats des numérations et des répliques montrent que *E. coli* K99<sup>+</sup> Ap Sm Km Cm Tc Nal est généralement, dans notre échantillon limité, l'unique représentant de la flore colibacillaire résistante des vaches.

Par contre, chez les veaux, nous observons que les *E. coli* multirésistants sont fréquents dans la flore fécale. La présence d'une résistance rare à l'acide nalidixique associée au caractère K99<sup>+</sup> s'est révélée précieuse pour sélectionner ce type de colibacille parmi les *E. coli* multirésistants dominants. L'émergence

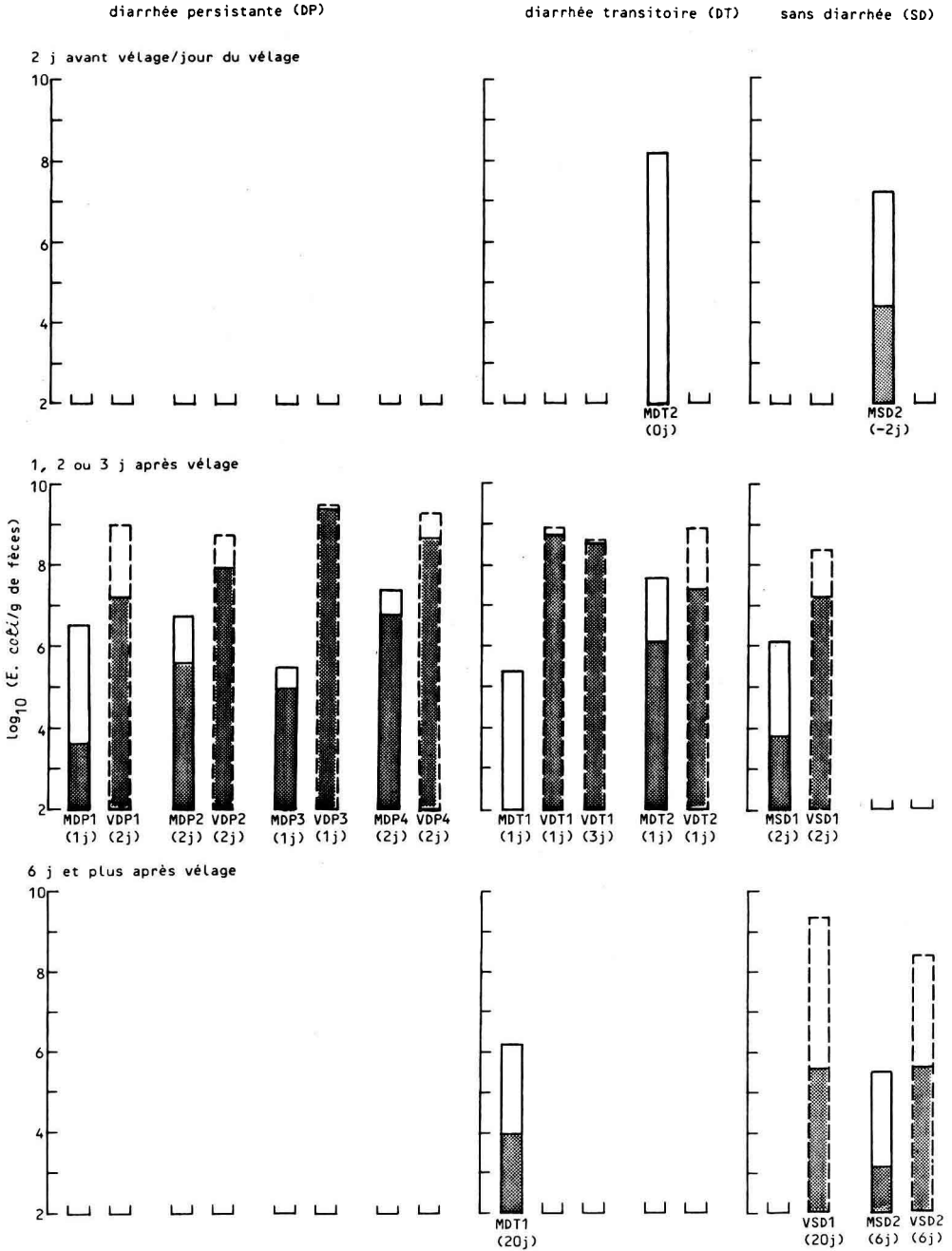
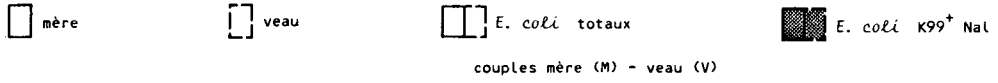


Fig.1. — Numération de *E. coli* dans les fèces des vaches et de leur veaux.

dans ce foyer de la résistance à l'acide nalidixique peut résulter de l'utilisation thérapeutique fréquente sur les veaux diarrhéiques d'un agent anti-infectieux appartenant à la famille des quinolones (Makino *et al.*, 1981 ; Martel et Moulin, 1982).

Les souches de *E. coli* K99<sup>+</sup> isolées des vaches et des veaux présentent un phénotype de résistance identique et l'étude des plasmides qu'elles hébergent permettra de préciser ces similitudes.

Chez les veaux, on observe que lors de l'épisode diarrhéique *E. coli* K99<sup>+</sup> se trouve en position dominante dans la flore fécale (10<sup>8</sup> à 10<sup>9</sup> bactéries par gramme), alors que chez les veaux apparemment sains *E. coli* K99<sup>+</sup> est toujours présent mais en position sous-dominante. La seule présence dans le tube digestif de colibacilles entéro-pathogènes n'est donc pas suffisante pour que l'on ait apparition de signes cliniques. La position dominante des *E. coli* K99<sup>+</sup> lors de diarrhée pourrait conduire à une synthèse suffisante d'entérotoxine responsable de l'épisode diarrhéique. Il convient cependant

de remarquer que les résultats des numérations colibacillaires dans les fèces ne reflètent pas obligatoirement les populations de *E. coli* entéro-pathogènes dans les parties proximales de l'intestin grêle, niveau d'action des entérotoxines.

La présence, durant les deux mois d'observation, d'une souche *E. coli* K99<sup>+</sup> phénotypiquement semblable chez toutes les vaches et les veaux nouveau-nés montre la persistance de ce germe dans le foyer. De même la détection de *E. coli* K99<sup>+</sup> chez une vache deux jours avant le vêlage, permet d'envisager la contamination du veau par sa mère.

Les méthodes de prophylaxie, antibioprévention à la gentamicine et vaccination, ont généralement fortement réduit les symptômes cliniques, mais le portage à un niveau sous-dominant de *E. coli* K99<sup>+</sup> a persisté dans les deux cas. Le maintien de ce portage sur des animaux plus âgés est actuellement étudié pour déterminer son rôle dans la pérennité des infections.

*Accepté pour publication, le 14 janvier 1983.*

### Résumé

Dans une exploitation où sévissaient périodiquement des diarrhées néonatales, les *E. coli* entéro-pathogènes (K99<sup>+</sup>, TS<sup>+</sup>) ont été sélectionnés et dénombrés dans la flore fécale de huit veaux et celle de leurs mères. Cette sélection a été possible car les *E. coli* K99<sup>+</sup> résistaient à l'acide nalidixique, résistance habituellement rare.

Chez les huit veaux atteints, les *E. coli* K99 isolés résistaient simultanément à l'acide nalidixique, à l'ampicilline, à la streptomycine, à la kanamycine, au chloramphénicol, aux tétracyclines et aux sulfamides. Lors de diarrhée sévère, ces *E. coli* dominaient nettement dans la flore fécale. Des *E. coli* présentant les mêmes caractères ont aussi été isolés des fèces des mères chez lesquelles ils atteignaient des tailles de population généralement sous-dominantes.

Lors d'un traitement préventif des veaux par la gentamicine ou d'une vaccination anticolibacillaire des mères les symptômes diarrhéiques ne sont pas apparus ou ont été discrets, mais le portage de *E. coli* K99<sup>+</sup> Nal subsiste.

Ces premiers résultats devraient permettre de préciser l'épidémiologie des colibacillooses du veau.

### Références

- BORDERON J.C., GUILLOT J.F., 1981. Conséquences de l'antibiothérapie sur l'écologie du tube digestif du nouveau-né. *In Journées Parisiennes de Pédiatrie*, 1981, 17-29. Flammarion Médecine Sciences, Paris.
- BURROWS M.R., SELLWOOD R.G., GIBBONS R.A., 1976. Haemagglutinating and adhesive properties associated with the K99 antigen of bovine strains of *E. coli*. *J. Gen. Microbiol.*, **96**, 269-275.
- CHASLUS-DANCLA E., GUILLOT J.F., LAFONT J.P., 1979. Evolution de l'antibiorésistance bactérienne dans des élevages avicoles. *Ann. Rech. Vét.*, **10**, 77-86.
- CONTREPOIS M., GOUET P., 1972. Importance de *E. coli* dans l'étiologie de la diarrhée néonatale du veau et efficacité de quelques mesures prophylactiques et thérapeutiques. *Bull. Tech. CRZV de Theix, INRA*, **9**, 41-54.
- DEAN A.G., CHING Y.G., WILLIAMS R.G., HARDEN L.B., 1972. Test for *E. coli* enterotoxin using infant mice : application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *J. infect. Dis.*, **125**, 407-411.

- DUBOURGUIER H.C., CONTREPOIS M., GOUET P., 1980. Antibiorésistance des *E. coli* isolés de veaux sains et diarrhéiques. *Bull. GTV*, n° 4, 61-69.
- GUINEE P.A.M., JANSEN W.H., AGTERBERG C.M., 1976. Detection of the K99 antigen by means of agglutination and immunoelectrophoresis in *E. coli* isolated from calves and its correlation with enterotoxigenicity. *Infect. Immun.*, 13, 1369-1377.
- MAKINO S., ISHIGURO N., SATO G., 1981. Change of drug resistance patterns and genetic properties of R plasmids in *Salmonella typhimurium* of bovine origin isolated from 1970 to 1979 in Northern Japan. *J. Hyg. Camb.*, 87, 257-269.
- MARTEL J.L., CONTREPOIS M., DUBOURGUIER H.C., GIRARDEAU J.P., GOUET P., BORDAS C., HAYERS F., QUILLERET-ELIEZ A., RAMISSE J., SENDRAL R., 1981. Fréquence de l'antigène K99 et antibiorésistance chez les *Escherichia coli* d'origine bovine en France. *Ann. Rech. Vét.*, 12, 253-257.
- MARTEL J.L., MOULIN G., 1982. Etude de l'antibiorésistance *in vitro* des principales Entérobactéries pathogènes chez le veau. *Bull. Soc. Vét. Prat. Fr.*, 66, 633-649.
- MARTEL J.L., PERRIN B., 1980. *Escherichia coli* K99<sup>+</sup> et Rotavirus dans le syndrome diarrhée néonatale du veau en France. *Bull. Soc. Vét. Prat. Fr.*, 64, 729-753.
- MARTEL J.L., PERRIN B., 1981. Incidence en France des *E. coli* K99<sup>+</sup> et des Rotavirus. Méthodes pratiques de diagnostic. *Bull. GTV*, 4 bis, 45-54.
- MOON H.W., WHIPP S.C., SKARTVEDT S.M., 1976. Etiologic diagnosis of diarrheal diseases of calves : frequency and methods for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *E. coli*. *Am. J. Vet. Res.*, 37, 1025-1029.
- ØRSKOV I., ØRSKOV F., 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.*, 88, 31-36.
- POHL P., THOMAS J., VAN MUYLEM K., 1977. Fréquence de l'association du plasmide K99 et de facteurs R chez des colibacilles entéropathogènes. *Ann. Méd. Vét.*, 121, 503-505.
- RAMISSE J., 1980. Résultats d'une enquête départementale : la diarrhée des veaux. *Point Vét.*, 11, (53), 53-61.
- SMITH H.W., HALLS S., 1967. Studies on *E. coli* enterotoxin. *J. Pathol. Bact.*, 93, 531-543.
- SMITH H.W., LINGGOOD M.A., 1972. Further observations on *E. coli* enterotoxins with particular regard to those produced by atypical piglet strains and by calf and lamb strains : the transmissible nature of these enterotoxins and of a K antigen possessed by calf and lamb strains. *J. Med. Microbiol.*, 5, 243-250.
- THOMAS J., 1975. General assessment of the situation in Belgium. In : *Perinatal Ill-Health in calves*. 7-9, Commission of the European Communities.