



WORLD HEALTH ORGANIZATION
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

WHO/DDC/EPE/79.1

ORIGINAL : ANGLAIS

PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DIARRHEIQUES

INDEXED

LES DIARRHEES A ESCHERICHIA COLI

Rapport d'un sous-groupe du groupe
de travail scientifique sur l'épidémiologie et l'étiologie

(Copenhague, 15-16 janvier 1979)



Ce rapport exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts
et ne représente pas nécessairement les décisions ou la politique
officiellement adoptée par l'Organisation mondiale de la Santé

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs.

1. INTRODUCTION

La diarrhée est une cause importante de mortalité et de morbidité chez les nourrissons et les jeunes enfants des pays en développement. Jusque tout récemment, l'étiologie de la diarrhée ne pouvait être déterminée que dans environ 20 % des cas. Au cours des dix dernières années, des recherches intensives sur les causes des diarrhées aiguës ont abouti notamment à la conclusion, aujourd'hui très généralement reconnue, qu'il existe trois groupes d'Escherichia coli et que ces trois groupes sont d'importants agents pathogènes des maladies diarrhéiques : 1) les souches d'E. coli productrices d'entérotoxines, qui sont une des causes importantes des maladies diarrhéiques chez les nourrissons, les enfants et les adultes des pays en développement, ainsi que chez les voyageurs qui se rendent dans ces pays; 2) les souches d'Escherichia coli entéropathogènes, qui ont été responsables de fréquentes poussées de maladie diarrhéique dans de nombreuses parties du monde, plus particulièrement de la fin des années 40 au début des années 60 et dont on sait qu'elles appartiennent à des stéréotypes spécifiques; et 3) les souches d'Escherichia coli entéroenvahissantes, dont la pathogénie ressemble à celle de la shigellose.

Il importe de mieux connaître la pathogénie et les facteurs de virulence de ces différents types d'E. coli afin que l'on puisse mettre au point des moyens spécifiques de traitement et de prévention des maladies diarrhéiques que ces souches provoquent. Le besoin se fait également sentir de disposer de moyens simples de détection de ces micro-organismes afin de faciliter les recherches indispensables à une meilleure connaissance de l'épidémiologie de ces trois groupes d'E. coli. De telles données épidémiologiques aideront à identifier les groupes de population les plus exposés aux maladies diarrhéiques et à déterminer comment se transmettent ces agents pathogènes, afin que l'on puisse mettre au point et utiliser des traitements spécifiques (notamment des vaccins) pour lutter contre la maladie.

L'objectif de la réunion était de passer en revue les informations disponibles sur l'épidémiologie, les aspects cliniques et les données de laboratoire concernant ces trois groupes de colibacilles, et de déterminer les priorités de la recherche dans ces domaines. En raison de leur importance possible pour la mise au point d'un vaccin contre les souches d'E. coli productrices d'entérotoxines, les participants à la réunion ont également examiné les principales caractéristiques des diarrhées dues aux souches d'E. coli productrices d'entérotoxines dans différentes espèces animales et ils ont passé en revue les progrès récents réalisés dans la voie de la mise au point de vaccins pour les animaux.

2. LE POINT DES CONNAISSANCES

2.1 Souches d'Escherichia coli productrices d'entérotoxines (ETEC)

2.1.1 Epidémiologie de la maladie chez l'homme

Nos connaissances sur le rôle que les ETEC jouent dans les maladies diarrhéiques se sont remarquablement accrues au cours des dix dernières années. Ces progrès rapides ont pour une bonne part été facilités par les études sur le choléra et la toxine cholérique. En 1968, nous ignorions que les ETEC provoquaient la diarrhée; nous savons aujourd'hui qu'elles sont une des principales causes des maladies diarrhéiques chez les enfants des pays en développement, qu'elles sont de loin la cause la plus fréquente de la diarrhée des voyageurs et qu'elles sont responsables de graves maladies cholériques chez les enfants et les adultes dans un petit nombre de régions où le choléra est endémique et sur lesquelles nous possédons des informations.

Données de laboratoire

Les souches ETEC produisent l'une ou l'autre de deux entérotoxines bien connues, ou les deux à la fois : à savoir une entérotoxine thermolabile (LT) qui du point de vue immunologique est apparentée à la toxine cholérique et une entérotoxine thermostable (ST) de faible poids moléculaire et non antigénique. Il existe donc des souches thermolabiles (LT), des souches thermostables (ST) et des souches LT/ST. Le matériel génétique qui régit la production de

ces entérotoxines est situé dans un plasmide bactérien et est, par conséquent, assez facilement transférable à des souches réceptrices, du moins en laboratoire.

Malheureusement, il n'existe pas de marqueurs biochimiques permettant de distinguer aisément les souches productrices d'entérotoxines de celles qui n'en produisent pas et il n'est donc pas possible d'utiliser des milieux de culture sélectifs pour faciliter leur identification. Dans ces conditions, pour reconnaître la présence de ces souches, il faut essentiellement démontrer l'existence des entérotoxines qu'elles produisent.

Une série d'épreuves ont été mises au point pour identifier ces entérotoxines (tableau 1). Certaines de ces épreuves avaient été conçues et utilisées à l'origine pour déterminer la présence d'entérotoxines cholériques; par la suite elles ont été adaptées à la détermination des entérotoxines ETEC. Certaines épreuves révèlent la présence à la fois des entérotoxines thermostables et des entérotoxines thermostables, d'autres ne sont utilisables que pour déterminer la présence des entérotoxines thermostables et une de ces épreuves n'est valable que pour mettre en évidence les entérotoxines thermostables. Les épreuves les plus communément utilisées pour la détection des entérotoxines thermostables sont les deux suivantes : cellules surrénales de la souris Y1 et cellules ovariennes du hamster chinois CHO. Pour la détection des souches thermostables l'épreuve sur le souriceau est celle qui a été le plus fréquemment utilisée. Comme toutes ces épreuves exigent des procédures très spécialisées, peu de laboratoires sont capables d'identifier les souches ETEC.

Des observations récentes semblent indiquer qu'il est plus facile d'identifier un grand nombre des souches ETEC par sérotypage, car un pourcentage élevé des souches ETEC isolées chez des sujets atteints de maladie cholériforme, chez des voyageurs ou sur des nourrissons atteints de diarrhée dans de nombreuses régions du monde appartiennent à un nombre limité de sérotypes O:K:H bien précis. Certains des sérotypes les plus communs des souches ETEC sont énumérés au tableau 2. Cette association a été démontrée pour la première fois et de façon très convaincante dans le cas des souches LT/ST, mais on la constate également dans les souches ST. Lors d'études menées dans un pays (Bangladesh), le pourcentage des souches LT/ST dans les sérotypes LT/ST les plus communs était considérablement plus élevé que la fréquence des souches ST dans le groupe le plus commun des sérotypes ST, cependant que plusieurs sérotypes (par exemple O78:H11, O78:H12) étaient présents dans les deux cas. Certains de ces sérotypes ont des caractéristiques physiologiques communes (fermentation, etc.); cette observation semble indiquer que certains sérotypes sujets à fermentation - il s'agit de clones d'un type spécial - peuvent véhiculer les plasmides qui déterminent la production d'entérotoxines. A ce jour, seul un nombre limité de souches humaines non productrices d'entérotoxines ont été reconnues comme étant du type K et, en conséquence, on ne sait pas si ces sérotypes ETEC spéciaux se rencontrent dans des souches non productrices d'entérotoxines; si les données dont on dispose actuellement indiquent que ces sérotypes sont peu fréquents dans les souches non productrices d'entérotoxines, il faut dire que peu d'études ont été faites dans les régions du monde où les souches ETEC se rencontrent communément. Il semble aussi que certains antigènes O (par exemple O8, O25, O78, O115 et O128) se trouvent plus fréquemment dans les souches ETEC en combinaison avec différents antigènes H et K. Il est intéressant de noter que certains de ces antigènes O se rencontrent également dans des souches associées à d'autres types de maladies à E. coli (par exemple l'antigène O128 dans les souches E. coli productrices d'entérotoxines chez l'homme, et l'antigène O78 qui provoque la septicémie néonatale chez le veau).

Les souches ETEC possèdent d'autres propriétés de surface dites "facteurs de colonisation" qui pourraient s'avérer utiles dans leur identification. On peut citer à cet égard les antigènes K, par exemple K88 et K99 présents dans les souches animales (voir 2.1.3) mais ce sont des antigènes K protéiques et ils ne sont pas apparentés aux antigènes K polysaccharidiques.

Caractéristiques cliniques

Malgré les difficultés d'identification des souches ETEC, des progrès considérables ont été réalisés dans la détermination des caractéristiques de la maladie que provoquent ces micro-organismes. Les signes cliniques causés par les souches ETEC sont très largement les mêmes, que les souches produisent l'une ou produisent l'autre des entérotoxines : ils vont d'une diarrhée légère à une grave maladie de type cholérique. Selon certaines observations, la maladie

due aux souches ST dure moins longtemps que celle qui est provoquée par les souches LT/ST. Les deux entérotoxines produisent des sécrétions diarrhéiques dans l'intestin grêle, encore que dans le cas de l'entérotoxine LT de type cholérique les sécrétions soient cycliques et liées à la présence d'acide AMP, tandis que les sécrétions provoquées par la souche ST sont cycliques et liées à la présence d'acide GMP.

Dans une étude menée pendant une année dans une région du Bangladesh où le choléra sévit à l'état endémique, on a constaté qu'environ 30 % d'enfants soignés dans un hôpital rural pour diarrhée de type ETEC souffraient d'une déshydratation modérée à grave; parmi les adultes soignés pour la même maladie, les cas de déshydratation grave étaient plus nombreux encore et il était souvent impossible de les distinguer du choléra. Chez les voyageurs, la maladie diarrhéique de type ETEC est habituellement bénigne et il est assez rare que la déshydratation soit suffisamment grave pour exiger l'administration intraveineuse de liquide de remplacement et cela est vrai quelle que soit la région du monde (par exemple, Bangladesh, Mexique). Toutefois, la durée moyenne de la diarrhée provoquée par les souches ETEC chez les voyageurs (trois à quatre jours) est généralement plus longue que la sévère diarrhée cholériforme (qui dure un à deux jours) que l'on observe en Inde et au Bangladesh; on n'en connaît pas très bien la raison, mais il est possible que les adultes des régions où le choléra et les entéropathies de type ETEC sont endémiques possèdent une immunité acquise. Les études réalisées dans les pays en développement où le choléra n'est pas endémique montrent que les diarrhées de type ETEC sont habituellement assez bénignes chez les adultes et n'exigent que rarement la réhydratation par voie intraveineuse. Cependant, les études approfondies à ce sujet sont assez rares.

Dans une seule étude, réalisée au Bangladesh, on a évalué les effets des antibiotiques sur les sujets souffrant de diarrhée de type ETEC. On a constaté que la tétracycline réduisait la durée de la maladie due aux entérotoxines LT/ST. Cependant l'effet des antibiotiques n'est pas très puissant et n'a pas été jugé cliniquement important. Aucune étude n'a été faite sur des sujets ayant souffert longtemps de diarrhée de type ETEC, comme celle que l'on constate chez les voyageurs.

Répartition géographique

D'une façon générale, les souches ETEC sont une cause fréquente de diarrhée dans les pays en développement (Mexique, Maroc, Kenya, Brésil, Pérou, Bangladesh, Inde), mais elles se rencontrent assez rarement dans les pays développés, sauf là où l'assainissement laisse à désirer.

Des études limitées semblent indiquer qu'il existe des différences géographiques dans le genre d'entérotoxines que produisent les souches ETEC : par exemple, au Mexique et au Maroc, ce sont les souches LT/ST qui prédominent; au Kenya les souches les plus communes sont de type LT, et au Bangladesh celles de type ST sont légèrement plus fréquentes que celles de type LT/ST, alors que les souches LT sont moins fréquentes. Toutefois, toutes ces entérotoxines se rencontrent dans toutes les régions du monde.

Incidence de la maladie

Les quelques études réalisées à ce jour semblent indiquer que, dans les pays en développement, l'incidence des diarrhées dues aux souches d'*E. coli* productrices d'entérotoxines est la plus élevée chez les enfants de moins de deux ans. Elle diminue rapidement vers l'âge de quatre ans et reste faible tout au long de la vie, ce qui semble indiquer la présence d'une immunité acquise.

L'étude sur le Bangladesh citée plus haut a montré que les souches ETEC sont les agents pathogènes les plus fréquents chez les adultes atteints de diarrhée, alors que chez les enfants elles viennent en deuxième place après les rotavirus. Le taux d'hospitalisation pour maladie diarrhéique due à des souches ETEC était de 8,1/1000, ce qui est le taux le plus élevé pour tous les agents entéropathogènes. L'étude réalisée au Bangladesh est la seule où l'on ait étudié la répartition de la maladie au cours de l'année : la période d'incidence maximale est celle qui va de mars à septembre et qui recouvre à la fois la saison sèche et la saison des pluies.

Mode de transmission

Des études sur des volontaires ont montré d'une part qu'un inoculum assez important est nécessaire pour provoquer la maladie, et d'autre part qu'une diminution de l'acidité gastrique peut rendre les sujets plus vulnérables. On a isolé des souches ETEC dans l'eau et les aliments et, dans certains cas, on a pu démontrer leur corrélation avec la maladie. Cependant, il n'existe guère de preuves, excepté dans le cas des pouponnières et crèches, que la maladie puisse se transmettre d'un individu à l'autre. Dans une étude sur les familles menée au Bangladesh, on a constaté que 13 % des contacts qui rendaient visite à un parent hospitalisé étaient porteurs de souches ETEC; dans la plupart des cas il s'agissait d'enfants de moins de cinq ans.

Un certain nombre d'épidémies de diarrhée provoquées par des souches ETEC ont été attribuées à de l'eau contaminée (par exemple, au Parc national de Crater Lake aux Etats-Unis d'Amérique), ou à des aliments contaminés (par exemple, à bord de navires de croisière). On possède également des données documentées sur des épidémies de diarrhée de type ETEC qui se sont produites dans des pouponnières et des crèches aux Etats-Unis et en Angleterre.

Les réservoirs de la maladie

Des porteurs asymptomatiques de souches ETEC ont pu être identifiés, particulièrement dans des études menées aux Etats-Unis, et l'on pense que les sujets humains constituent le principal réservoir de ces micro-organismes; cependant, peu d'études définitives ont été faites pour vérifier cette hypothèse. Etant donné qu'un grand nombre de jeunes animaux (veaux, porcelets) sont également atteints de diarrhée aiguë due à des souches ETEC, encore que de sérotypes différents (voir 2.1.2), il est intéressant de se demander s'il n'y aurait pas une relation entre les souches humaines et animales de E. coli ou entre les plasmides qu'elles véhiculent.

La diarrhée des voyageurs

Des études faites au Mexique, au Kenya, au Maroc et au Honduras indiquent que les souches ETEC sont responsables d'environ 60 à 70 % des épisodes diarrhéiques chez les voyageurs des pays industrialisés qui se rendent dans des pays du tiers monde. Ces souches ETEC sont les mêmes micro-organismes qui provoquent la maladie chez les jeunes enfants et il est probable que l'incidence de la diarrhée des voyageurs traduit l'étendue des maladies diarrhéiques de type ETEC chez les enfants d'une région géographique donnée.

Il a été établi que la doxycycline assure dans 85 à 90 % des cas la protection à court terme (trois semaines) des voyageurs contre la diarrhée au Kenya et au Maroc. Dans ces pays les souches ETEC répondent généralement bien à ce médicament. Cependant, on n'a pas encore fait d'études sur les régions où l'on sait que les souches ETEC résistent aux antibiotiques.

2.1.2 Les infections par les souches ETEC chez les animaux

La colibacillose intestinale (infection par les souches ETEC) est l'un des quatre types de colibacillose due à E. coli, les autres maladies étant la septicémie, l'invasion locale par les colibacilles et la toxémie intestinale. Les infections de type ETEC ne se rencontrent semble-t-il que chez les animaux âgés de quelques jours ou quelques semaines et, dans ce cas, elles semblent dues surtout au transfert de matières fécales vers les voies buccales. Dans la mesure où l'on a fait des études à ce sujet, il semble que les E. coli associées aient tendance à se concentrer en différents sérogroupes qui sont caractéristiques de l'espèce hôte (tableau 3). La plupart des épidémies semblent dues à l'arrivée de porteurs adultes asymptomatiques dans un environnement adverse (surpeuplement, températures basses ou très changeantes; humidité; accumulation d'ordures dans des locaux occupés de façon prolongée; changement d'enclos; changement de l'entourage animal; changements d'alimentation associés à des changements au stade de leur manipulation et de leur expédition). La principale cause de transmission permanente de la maladie, ce sont les animaux malades de même âge et de même espèce. Les animaux infectés par les souches ETEC sont fréquemment atteints aussi par d'autres virus ou protozoaires entéropathogènes; on pense que l'action conjuguée de ces différentes infections accroît la morbidité et la mortalité. La colibacillose productrice d'entérotoxines chez les animaux est cause de grandes pertes économiques. De même que la diarrhée provoquée chez l'homme

par les souches ETEC, cette colibacillose est caractérisée par la prolifération d'E. coli dans l'intestin grêle, avec production d'entérotoxines thermolabiles et thermostables (LT et ST) qui provoquent des sécrétions. Selon les constatations faites à ce jour, les souches ETEC isolées chez le veau ne produisent que l'entérotoxine ST, tandis que celles qui sont isolées chez le porc produisent ST ou LT et ST. L'entérotoxine thermolabile produite par les souches ETEC est, sur le plan antigénique, apparentée à celle qui est produite par les souches ETEC présentes chez l'homme (et donc apparentée à la toxine cholérique). Il semble toutefois qu'il y ait plusieurs différences mineures entre la structure des acides aminés des souches ST qui infectent différentes espèces animales et la structure de celles qui sont présentes chez l'homme. Dans ces conditions, le recours à un seul type d'épreuve comme celle qui est réalisée sur le sous-couche a pu amener les chercheurs à sous-estimer la prévalence des souches productrices d'entérotoxines thermostables chez les animaux.

2.1.3 Les pili (facteurs de colonisation) et leur rôle possible d'antigènes protecteurs

Les pili (fimbriae), appendices filamenteux dépourvus de flagelles, sont de nature protéique; ils sont produits par une très grande gamme de bactéries et peuvent être classés selon de nombreuses caractéristiques distinctives (physiques, chimiques, antigéniques et fonctionnelles). On pense que certaines caractéristiques fonctionnelles des pili et des bactéries ciliées renforcent leur virulence. La caractéristique peut-être le plus largement reconnue est la capacité des pili à s'agglutiner entre eux et à d'autres substances et, accessoirement, leur capacité à coloniser la surface épithéliale. Il semble qu'il y ait à la fois une adhérence spécifique liée à la substance réceptrice et une adhérence non spécifique (interactions hydrophobes et de charge). Les mouvements péristaltiques de l'intestin grêle ont longtemps été considérés comme un grand mécanisme de défense de l'intestin grêle et les avantages que leur capacité d'adhérence procure aux agents pathogènes paraissent évidents.

Certaines données laissent penser que la colonisation de l'intestin grêle du porc par les souches ETEC est facilitée par une famille de pili désignés sous les noms de K88, K99 et 987P (P pour pili) et que la maladie ne se déclare qu'en présence de ces pili. Ces pili sont distincts les uns des autres sur les plans chimique, fonctionnel et antigénique et distincts également sur le plan antigénique de deux pili similaires qui colonisent l'intestin de l'homme (CFA I et CFA II). Ces cinq pili, qui sont indispensables à la colonisation de l'intestin grêle par les souches ETEC, ont été dénommés "facteurs de colonisation". Les plus répandus des pili rencontrés dans les maladies diarrhéiques à E. coli sont du type 1 ("pili communs" ou common fimbriae); ces pili sont également distincts du point de vue antigénique et, bien que certaines souches ETEC chez l'animal et chez l'homme produisent des pili du type 1, on ignore le rôle qu'ils jouent dans la colonisation de l'intestin. L'acquisition par l'homme ou l'animal des pili du type 1 est déterminée par les chromosomes, tandis que l'acquisition du facteur de colonisation est à support plasmidique.

Les pili peuvent être différenciés par la manière dont ils adhèrent aux cellules épithéliales ou par la manière dont se produit l'hémagglutination avec les érythrocytes d'un certain nombre d'espèces animales. Les cellules épithéliales de l'intestin d'un individu contiennent apparemment des récepteurs qui sont spécifiques des différents types de pili d'E. coli. Dans le cas des pili du type 1, il y a hémagglutination avec les érythrocytes du cobaye avec sensibilité aux oses. Par contre, dans le cas des pili K88, K99, 987P, DFA I et DFA II, il n'y a pas hémagglutination avec les érythrocytes du cobaye ou, s'il y a hémagglutination, on constate une résistance aux oses.

Les pili se comportent sur le plan sérologique comme des antigènes K et c'est pourquoi K88 et K99 ont été dénommés antigènes K, encore qu'ils soient reconnus comme des protéines. (Les antigènes K des E. coli sont des polysaccharides.) Une définition très large des pili s'est révélée utile dans la pratique, car elle a favorisé la recherche de certains types d'antigènes de surface qui facilitent la colonisation intestinale (filaments protéiques qui adhèrent spécifiquement à l'hôte et aux tissus). Cela a permis de reconnaître le rôle fonctionnel et morphologique de l'antigène 987P. Etant donné que la morphologie des pili des souches 987 est similaire à celle des pili de type 1, les pili des souches 987 ont reçu la dénomination 987P.

On dispose de données assez nombreuses sur les trois facteurs de colonisation reconnus chez l'animal. La présence de K88 chez les porcins a été fréquemment constatée dans le monde entier. Beaucoup de souches ETEC associées à la colibacillose intestinale des porcelets nouveau-nés étudiés en Amérique du Nord ne possèdent pas l'antigène K88, mais toutes les souches étudiées jusqu'ici possèdent soit l'antigène K99, soit l'antigène 987P, ce qui semble indiquer que la famille des pili qui favorise la colonisation de l'intestin du porcelet nouveau-né par les souches ETEC est peu nombreuse. Les antigènes K99 et 987P n'ont été trouvés ni dans les souches sauvages étrangères aux souches productrices d'entérotoxines ni dans les souches associées à la maladie que l'on rencontre chez les porcelets sevrés; cela semble indiquer que chez les porcelets les antigènes 987P et K99 ne se trouvent que dans les souches qui infectent l'animal nouveau-né. Par contre, K88 se rencontre très communément mais non pas universellement dans les souches de E. coli associées aux maladies diarrhéiques chez le porcelet sevré.

On rencontre aussi fréquemment l'antigène K99 dans les E. coli entéropathogènes qui infectent les veaux et les agneaux et il s'agit là probablement du principal pilus qui facilite la colonisation intestinale chez les nouveau-nés de ces espèces. On a isolé aussi K88⁺ et 987P⁺ dans les souches ETEC chez les veaux, encore que les données les plus sûres semblent indiquer que K88⁺ et 987P⁺ des souches ETEC ne sont pas entéropathogènes dans les veaux et les agneaux.

De nombreux E. coli passent au stade non cilié lorsqu'on les cultive sur gélose puis reviennent au stade cilié lors d'un séjour prolongé sur des cultures au repos. Les souches qui produisent 987P sont typiques à cet égard; elles reviennent de façon remarquable au stade filamenteux lorsqu'elles se développent dans l'intestin grêle des porcins. Ainsi donc, pour la plupart des isolats, des techniques spécifiques sont nécessaires pour révéler la présence de l'antigène 987P sur bouillon de culture. Le dépistage sérologique de K99 sur bouillon de culture peut également s'avérer difficile. Dans le cas des souches ETEC, les pili K88⁺ ont tendance à coloniser de façon intensive tout l'intestin grêle (et ainsi à former des couches très adhérentes facilement visibles au microscope ordinaire). Au contraire, les pili 987P⁺ et K99⁺ des souches ETEC ne colonisent essentiellement que les parties inférieures de l'intestin grêle. La coloration par immunofluorescence (avec recours aux sérums spécifiques anti-987P, anti-K99 et anti-K88) des bactéries des coupes ou des prélèvements directs effectués dans l'iléon de l'hôte colonisé est utile et constitue une méthode sensible et simple de mise en évidence de ces pili. L'examen direct des souches ETEC de l'intestin colonisé, ou l'examen de ces souches par passage rapide sur des milieux de culture artificiels, peut également représenter une méthode utile de recherche des autres pili qui pourraient être responsables de la colonisation de l'intestin.

Les facteurs de colonisation CFA I et CFA II des souches de E. coli productrices d'entérotoxines chez l'homme n'ont été découverts que tout récemment. Ils ont un pouvoir immunogène et paraissent être plus thermostables que les trois pili décrits chez les animaux. Les antisérums qui mettent en évidence CFA I et CFA II peuvent être produits chez le lapin et utilisés pour identifier ces deux facteurs par de simples épreuves d'agglutination bactérienne. Bien que la présence de CFA I et CFA II n'ait été mise en évidence que dans un nombre limité de souches ETEC, il semble qu'il y ait une certaine corrélation avec les sérotypes (tableau 2). D'autre part, il semble pour l'instant qu'une majorité des souches qui possèdent ces deux facteurs produisent des entérotoxines LT et ST. En médecine vétérinaire, le diagnostic bactériologique est volontiers fondé sur l'aptitude de ces souches à produire de l'hémolysine, autre caractéristique à support plasmidique que l'on rencontre habituellement dans les souches ETEC des jeunes porcelets. Cette caractéristique utile pour le dépistage des souches ETEC n'a pas encore été constatée chez des sujets humains.

Des volontaires exposés à un mutant d'une souche LT/ST de E. coli productrice d'entérotoxines, positive à l'égard de CFA I (souche H-10407), mais ne possédant pas le facteur CFA I, ne sont pas tombés malades et il n'y a pas eu chez eux de prolifération des anticorps à l'égard de l'antigène CFA I comme on l'avait observé chez des volontaires exposés à la souche mère. Si la souche mutante n'avait pas le pouvoir de produire des entérotoxines thermostables, l'étude a cependant nettement mis en évidence l'importance du facteur CFA I dans la pathogénie.

Vaccination par les pili

De nombreuses expérimentations ont été réalisées sur des animaux en vue de mettre au point, en utilisant les pili comme antigènes de protection, un vaccin protecteur contre les souches ETEC.

Des porcelets tétant des truies vaccinées par voie parentérale par l'antigène K88 partiellement purifié ont été protégés contre la maladie diarrhéique létale que provoque l'administration buccale de l'antigène K88⁺ des souches ETEC. L'antigène protecteur était probablement K88, parce que le vaccin avait été préparé à partir d'une souche non mobile d'E. coli non productrice d'entérotoxines, qui possédait des antigènes O et des antigènes polysaccharidiques K différents de ceux de la souche d'épreuve; la vaccination a stimulé la production d'anticorps contre K88 dans le colostrum et le lait. Des porcelets tétant des truies vaccinées par voie parentérale au moyen de l'agent 987P purifié ont été protégés contre la maladie diarrhéique létale que provoque l'administration par voie buccale soit de la souche vaccinale en question soit d'une autre souche ETEC à antigène 987P⁺, non mobile, et possédant des antigènes O et des antigènes polysaccharidiques K différents de ceux de la souche vaccinale. Dans les deux cas, il y a eu corrélation entre la protection conférée et la présence d'anticorps à l'égard de 987P dans le colostrum et l'arrêt de la colonisation de l'iléon par les souches ETEC. D'autre part, la plupart des souches ETEC récupérées dans l'iléon des porcelets protégés se trouvaient au stade non cilié, alors que la plupart des souches ETEC des sujets témoins étaient au stade cilié. En revanche, la vaccination par l'antigène 987P ne protégeait pas contre l'attaque par des souches ETEC porteuses de pili K99 hétérologues.

Les porcelets qui étaient des truies vaccinées par voie parentérale au moyen de pili K99 purifiés étaient protégés contre la diarrhée létale que provoque l'administration par voie bucco-gastrique de souches ETEC comportant l'antigène K99⁺. Le seul antigène de surface dont la présence a pu être démontrée et qui était présent à la fois dans la souche d'épreuve et dans la souche utilisée pour purifier les pili était l'antigène K99. Il y avait corrélation entre cette protection d'une part et la présence d'anticorps à l'égard de K99 dans le colostrum et un moindre envahissement intestinal par les souches ETEC d'autre part. En revanche, la vaccination par l'antigène K99 purifié ne protégeait pas contre l'attaque par des souches ETEC comportant un antigène 987P⁺.

Dans ces expériences, la vaccination par 987P et K99 a renforcé apparemment la protection préexistante assurée par les anticorps anti-pili. Chez la plupart des truies, les titres de séro-agglutination K99 et 987P, qui étaient faibles avant la vaccination, ont augmenté fortement après la première vaccination par voie parentérale, mais ont peu changé après la deuxième vaccination par voie parentérale à laquelle il a été procédé deux semaines plus tard.

L'immunité conférée par le vaccin K99 purifié a été récemment confirmée, notamment lorsqu'on a constaté que les veaux tétant des vaches vaccinées par l'antigène 99 purifié dont il a été question ci-dessus se sont trouvés protégés contre la maladie diarrhéique létale provoquée par l'antigène K99⁺ présent dans les souches ETEC. Il semble également que l'antigène K99 peut avoir un effet de protection dans les vaccins bactériens entiers administrés au gros bétail.

On a immunisé avec succès des porcelets à la mamelle contre les souches ETEC en administrant ces souches aux truies gravides. Bien que l'on ne sache pas quels antigènes protecteurs interviennent dans cette vaccination, il semble que les porcins immunisés sont protégés contre la colonisation de l'intestin grêle par les souches ETEC. Des travaux tout récents ont démontré cette protection dans les cas où les souches vaccinales et les souches d'épreuve sont hétérologues du point de vue des sérotypes, sauf en ce qui concerne les antigènes ciliés 987 ou K99 (aussi bien les souches vaccinales que les souches d'épreuve n'ont produit que des entérotoxines thermostables). Cependant, les mutants non ciliés de l'une des souches d'épreuve avaient un effet protecteur lorsqu'on les utilisait comme vaccin et lorsqu'on administrait aux porcelets la souche parente ciliée. Ces données préliminaires, qui concordent avec l'hypothèse selon laquelle les pili peuvent constituer des antigènes protecteurs lorsqu'on les administre par voie buccale comme des cultures vivantes, indiquent également qu'il existe à côté des pili d'autres antigènes protecteurs.

Ces études vétérinaires semblent confirmer l'hypothèse selon laquelle la vaccination par les pili protège de la façon suivante : les anticorps bloquent le mécanisme spécifique - lié à la présence des cils - d'adhérence des ETEC à l'épithélium de l'intestin. Il existe peut-être aussi des mécanismes autres ou additionnels de protection par les anticorps à l'égard des pili. Par exemple, il se pourrait que l'anticorps présent à la surface de la bactérie protège même si l'antigène n'était pas un facteur de virulence des souches ETEC. Il est possible par exemple que la vaccination par les pili protège tout simplement parce que ces pili sont produits in vivo et constituent une vaste surface réticulée formée de bons antigènes protéiques sur lesquels se déposent les anticorps spécifiques. Si tel est le mécanisme, tout pilus produit dans l'intestin grêle par les souches ETEC est en puissance un bon antigène protecteur, qu'il soit ou non un facteur de virulence. Toutefois, les données que l'on vient de passer en revue, considérées ensemble, semblent bien montrer que certains pili spécifiques (K88, K99 et 987P), qui sont des facteurs de virulence, peuvent agir comme des antigènes de protection dans les vaccins administrés aux jeunes animaux pour les protéger contre les infections à ETEC; ces données indiquent d'autre part qu'il serait utile d'entreprendre des études du même genre sur des sujets humains.

2.2 Souches de Escherichia coli entéropathogènes (EPEC)

Epidémiologie

Le rôle des E. coli dans l'étiologie de l'entérite infantile a été évoqué pour la première fois lorsque Escherich isola ces micro-organismes dans les diarrhées de nourrissons en 1885. Durant les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques d'E. coli qui pourraient être la cause des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kaufmann, dans les années 1940, du sérotypage définitif. Les enquêtes épidémiologiques sur les graves épidémies d'entérite infantile qui se produisirent à Londres et à Aberdeen vers la fin des années 40 montrèrent à l'évidence que certains sérotypes étaient responsables des épidémies.

D'autres sérotypes furent identifiés au cours des années suivantes lors d'enquêtes épidémiologiques sur les poussées épidémiques; en 1961, quelque 17 sérogroupes 'O' avaient été reconnus comme étant les causes des épidémies d'entérite infantile dans un grand nombre de pays. Il s'agissait des sérogroupes O ci-après : 18, 20, 25, 26, 28, 44, 55, 86, 111, 112, 114, 119, 125, 126, 127, 128 et 142. Six de ces groupes O (à savoir 26, 55, 111, 119, 127 et 128) se rencontrent de façon particulièrement fréquente. Dans la plupart de ces groupes O, un certain nombre d'antigènes H apparaissent plus souvent.

La mortalité lors de ces premières épidémies notifiées était élevée (près de 50 % à Aberdeen). Depuis 1950, la mortalité due aux souches EPEC a diminué en Europe occidentale et en Amérique du Nord; encore que cette réduction soit probablement due à l'amélioration des conditions cliniques, une autre cause possible est peut-être la diminution de la pathogénicité des souches EPEC. Depuis 1960, il y a eu également une nette diminution de l'incidence des épidémies dues aux souches EPEC dans les pays industrialisés, encore qu'un certain nombre de poussées épidémiques se soient produites vers la fin des années 1960 en Grande-Bretagne. Depuis 1971 on n'a pas constaté de graves épidémies dues aux E. coli entéropathogènes en Grande-Bretagne ni en Amérique du Nord. La raison de ce net recul de la fréquence des épidémies n'est pas connue.

Avant 1930, en Grande-Bretagne et dans un grand nombre d'autres pays à climat tempéré, les épidémies de diarrhée infantile frappaient essentiellement les nourrissons des classes socio-économiques les plus défavorisées des villes industrielles, et l'incidence était surtout élevée durant les mois chauds. Les épidémies dues aux souches EPEC durant les années 1940 et 1950 ont surtout frappé les nouveau-nés et les nourrissons des maternités et garderies, et elles se produisaient habituellement durant les mois froids de l'année. L'épidémie se déclarait d'ordinaire après l'admission d'un nourrisson souffrant de diarrhée. Durant ces mois froids, le nombre des nourrissons hospitalisés pour d'autres infections, notamment pour infection des voies respiratoires, était élevé et le surpeuplement des établissements de soins était peut-être un facteur important qui, par infection croisée, facilitait l'extension des entéropathies EPEC une fois que la maladie avait été introduite dans l'établissement de soins. Actuellement, on ne constate plus d'épidémies de type EPEC en Grande-Bretagne, et les isollements saisonniers de cas sporadiques d'entérite infantile sont maximaux durant les mois d'été.

On connaît moins bien l'épidémiologie des entéropathies à E. coli dans les pays en développement, mais il semble que le schéma soit différent de celui des pays développés. Dans les pays du tiers monde, on allaite davantage les enfants au sein, le sevrage ne se fait souvent que vers 18 mois et même plus tard, les accouchements en clinique sont moins fréquents, et les souches de E. coli sont plus fréquemment isolées dans les diarrhées des nourrissons âgés de deux mois. D'autre part, les poussées épidémiques sont moins fréquentes en institution et plus fréquentes dans la collectivité.

Que ce soit dans les pays industrialisés ou dans les pays en développement, l'étiologie des isolements sporadiques de E. coli entéropathogènes chez des nourrissons souffrant d'entérite n'est pas bien connue. Le problème est controversé et l'on s'est posé des questions sur la valeur du sérotypage systématique des E. coli prélevés dans des cas de diarrhée sporadiques. On estime que, dès l'instant que les recherches se poursuivent dans ce domaine, chaque pays doit décider lui-même de la valeur du sérotypage en tenant compte de la disponibilité, de la gamme, de la qualité et du coût des antisérums, ainsi que de la fiabilité des dispositifs de surveillance mis en place.

Diarrhées à EPEC chez les adultes

Dès l'âge d'un an, la moitié environ des enfants possèdent des anticorps qui agglutinent les hématies, ce qui semble indiquer qu'ils sont exposés très tôt aux infections par les souches EPEC. On a dit que cela indiquerait l'acquisition d'une immunité et expliquerait la rareté des maladies à EPEC et le nombre élevé de porteurs de EPEC parmi les adultes. Mais il faut dire aussi que les bactériologistes ne recherchent pas habituellement les sérogroupes EPEC lorsqu'ils enquêtent sur des épidémies de diarrhée chez les adultes. Quelques épidémies se sont produites récemment chez des adultes, notamment une épidémie d'origine hydrique due à E. coli O111B4 en 1968 aux Etats-Unis d'Amérique, et deux épidémies dues à l'ingestion d'aliments en Grande-Bretagne : l'une en 1967 due à E. coli O126B16 trouvé dans du porc froid et l'autre en 1973 due à la présence de E. coli O127B8 dans des pâtés.

Résistance aux antibiotiques

Dans les années 1950 et 1960 on a souvent eu recours à la néomycine pour traiter les diarrhées dues aux souches EPEC. Des souches résistantes à la néomycine ont rapidement été signalées et elles ont été responsables d'un certain nombre d'épidémies. Les graves poussées épidémiques constatées en Grande-Bretagne dans les années 60 dans des établissements hospitaliers étaient dues à E. coli O119, O114 et O142 et avaient été provoquées par des souches résistantes à de nombreux médicaments. Fréquemment, la diffusion de ces souches résistantes a été facilitée par le recours aux antibiotiques pour le traitement d'autres maladies (par exemple, les maladies des voies respiratoires). L'examen de souches EPEC prélevées dans le monde entier révèle qu'environ 50 % de ces souches résistent à de nombreux médicaments. Elles ont fréquemment été isolées lors d'épidémies graves et il semblerait même que la résistance à de nombreux médicaments soit associée à une virulence accrue. Cette association a été constatée dans le cas de souches de Salmonella, par exemple S. wien en Europe et S. typhimurium lysotype 193 en Amérique du Sud.

Pathogénie

Lors des premières enquêtes sur des souches prélevées pendant des épidémies d'entérite infantile, un certain nombre de chercheurs ont démontré que l'on pouvait provoquer la diarrhée en alimentant par voie buccale des adultes volontaires. Des études faites sur des sujets décédés à la suite d'une épidémie ont démontré qu'une caractéristique essentielle des entéropathies de type EPEC est la colonisation du duodénum, du jéjunum et de la partie supérieure de l'iléon par les souches pathogènes. Plus récemment, on a pu démontrer l'existence du même phénomène par la technique de l'introduction d'une sonde dans le duodénum.

Il a été démontré que les souches épidémiques EPEC ne produisent pas les entérotoxines que l'on constate dans les souches ETEC et qui sont identifiées par la recherche des entérotoxines LT sur des cultures de cellules ovariennes du hamster chinois (CHO) et sur des cultures tissulaires Y1, et par l'épreuve sur le souris pour la recherche des entérotoxines

ST. Ces souches, récemment administrées à des volontaires adultes, ont provoqué de graves diarrhées. D'autres essais de laboratoire entrepris sur ces souches en utilisant le jéjunum du rat et la technique de la perfusion ont montré que ces isolats provoquaient un net afflux de liquide dans la lumière intestinale. Elles ont démontré de façon irrécusable le caractère pathogène et épidémique des souches EPEC et elles paraissent indiquer qu'un type différent de toxine pourrait être responsable de la maladie; mais à ce jour on n'a pas encore identifié les facteurs de virulence.

2.3 Souches d'Escherichia coli entéroenvahissantes (EIEC)

Epidémiologie

En 1967, un rapport en provenance du Japon indiquait que certains sérogroupes d'E. coli autres que les souches entéropathogènes EPEC communément observées chez les nourrissons avaient été isolés dans les selles d'adolescents et d'adultes souffrant de maladie de type dysentérique; ces sérogroupes étaient O124, O136 et O144.

Les sérogroupes O auxquels appartiennent fréquemment les souches qui provoquent la dysenterie ont été progressivement élargis et comprennent maintenant les groupes O ci-après : 28ac, 112ac, 124, 136, 143, 144, 152 et 164. Des antigènes H accompagnent fréquemment certains de ces antigènes, encore que ces souches soient souvent non mobiles.

Le plus connu de ces sérotypes est O124. Isolé pour la première fois chez des militaires des Etats-Unis stationnés en Méditerranée durant les années 1943 à 1945, il avait provoqué une épidémie de diarrhée aiguë dans une école de Grande-Bretagne en 1947. Entre 1970 et 1974, ce sérotype a été responsable de cas sporadiques et de quatre poussées épidémiques chez des adultes dans des hôpitaux du Royaume-Uni; dans certains cas on a constaté une infection croisée. Les souches entéroenvahissantes ont été responsables également d'un certain nombre de poussées épidémiques d'origine hydrique dans des collectivités en Hongrie. Une importante épidémie a d'autre part affecté plusieurs Etats des Etats-Unis d'Amérique; elle a été attribuée à des fromages français importés. Des poussées épidémiques dues à E. coli O164 (dénommé précédemment 145/46) ont été signalées chez des mères et des nourrissons dans un hôpital d'Australie; des cas sporadiques et des épidémies dans des institutions ont été signalés en Grande-Bretagne ainsi que des cas sporadiques en Israël.

Pathogénie

Les examens réalisés sur des cultures tissulaires et des animaux de laboratoire (notamment sur l'anse intestinale du lapin) ont montré que les souches EIEC responsables de la dysenterie ne produisent pas d'entérotoxines thermostables ou thermolabiles mais envahissent l'épithélium. Ces souches d'E. coli qui produisent la dysenterie sont désormais appelées souches entéroenvahissantes et, comme elles provoquent la kératoconjunctivite dans l'oeil du cobaye (épreuve de Serény), cette épreuve sert fréquemment à démontrer l'envahissement de l'épithélium par les souches EIEC. Dans une autre épreuve, qui a fait l'objet d'un nombre limité d'études, on utilise des cellules HeLa sur culture tissulaire.

Identification en laboratoire

Les souches entéroenvahissantes d'E. coli sont souvent atypiques du point de vue biochimique. Le lactose peut fermenter tard ou ne pas fermenter du tout et il existe des souches non aérogènes. D'autre part, les sérogroupes des souches EIEC partagent souvent les mêmes composants antigéniques avec les Shigella. Par exemple, les souches d'E. coli O124 et O164 possèdent les principaux éléments antigéniques de Sh. dysenteriae 3. L'antigène somatique de E. coli O124 est identique à celui de Sh. dysenteriae 3, tandis que celui de E. coli O164 est similaire mais sérologiquement distinct. On peut donner d'autres exemples pour d'autres sérotypes des EIEC.

A cause de leur ressemblance biochimique et antigénique avec les Shigella, il est probable que de nombreuses épidémies dues aux EIEC ont été notifiées comme étant des épidémies de shigellose. Le cas est sans doute plus fréquent dans les laboratoires qui ne possèdent pas

tous les équipements nécessaires, mais il est intéressant de signaler que la vaste épidémie de dysenterie due à E. coli O124 aux Etats-Unis et dont il a été question plus haut avait d'abord été identifiée comme étant due à Sh. dysenteriae 3. Du point de vue clinique, il importe sans doute peu que ces sérogroupes entéroenvahissants aient été confondus avec d'autres car ils provoquent une maladie qu'il est impossible de distinguer cliniquement de la dysenterie bacillaire. Cependant, sur le plan épidémiologique, il est indispensable d'établir un diagnostic étiologique exact.

3. BESOINS DE LA RECHERCHE

Compte tenu des connaissances actuelles sur les diarrhées à E. coli, le groupe de travail a identifié les domaines suivants où il serait utile de poursuivre des recherches, mais il n'a pas indiqué l'ordre de priorité qu'il conviendrait de donner aux travaux.

3.1 Souches d'Escherichia coli productrices d'entérotoxines (ETEC)

3.1.1 Pour faciliter les recherches sur l'épidémiologie des ETEC, des épreuves simples mais sensibles de dépistage des souches ETEC et de détermination de leurs propriétés devraient être mises au point et évaluées. Ces épreuves devraient pouvoir être appliquées facilement dans les laboratoires de microbiologie clinique. Il serait utile en particulier de poursuivre les recherches dans les domaines suivants :

- Mise en évidence des antigènes thermolabiles (LT) et thermostables (ST) : un problème particulier qui se pose est la détermination des antigènes thermostables pour lesquels on ne dispose actuellement que de l'épreuve sur le souriceau. D'autre part, on constate de plus en plus - particulièrement chez les animaux - que certains types d'antigènes thermostables ne sont pas mis en évidence par l'épreuve sur le souriceau. Des épreuves sérologiques comme le titrage avec immuno-adsorbant couplé à une enzyme (épreuve ELISA) paraissent devoir donner des résultats prometteurs pour la détermination de l'antigène thermolabile, mais des travaux de vérification et de simplification seraient encore nécessaires. Si l'on parvenait à mettre au point des anti-sérums contre les antigènes thermostables (en utilisant des protéines couplées aux antigènes ST), il faudrait accorder une priorité élevée à la réalisation d'une épreuve sérologique pour la détermination de l'antigène ST.
- Facteurs de colonisation : une procédure de dépistage utile serait la détermination des facteurs de colonisation de l'intestin, tels que les antigènes CFA I et CFA II. D'autres antigènes de surface existent certainement et il importe de les identifier. Le rôle des pili de type I devrait être étudié plus à fond pour déterminer si ces pili sont produits dans l'intestin grêle, s'ils facilitent la colonisation de l'intestin, et s'ils sont des antigènes protecteurs. Ce travail sur les facteurs de colonisation devrait être poursuivi sur les souches humaines et les souches animales, car c'est ce domaine qui semble le plus prometteur pour la mise au point d'un vaccin valable (voir 3.1.7).
- Sérotypes et biotypes : on aurait besoin de données supplémentaires sur les sérotypes des souches ETEC en provenance de différentes régions du monde; cela faciliterait la mise au point et l'évaluation d'une procédure de sérotypage pour le diagnostic des diarrhées à ETEC. On aurait besoin également de données supplémentaires sur la fréquence des sérotypes des souches ETEC dans la population saine des différentes régions du monde. Une gamme d'anti-sérums capables de mettre en évidence les sérotypes les plus communs des souches ETEC font actuellement l'objet d'une évaluation, mais des essais à ce sujet sont encore nécessaires dans différentes régions.
- Plasmides : il faudrait étudier les caractéristiques des plasmides des souches ETEC d'origine hétérogène. Les gènes qui contrôlent le développement des entérotoxines (Ent +) n'occupent probablement qu'une faible partie du génome et il pourrait être utile d'identifier les déterminants génétiques éventuellement associés à Ent + comme ceux qui déterminent par exemple la résistance aux antibiotiques.
- Schéma de la résistance aux antibiotiques : les souches en provenance de différentes régions du monde devraient être étudiées pour déterminer de quelle façon elles résistent

aux antibiotiques et pour vérifier s'il existe une relation entre le type de toxine et le type de résistance aux antibiotiques. Une étude génétique détaillée serait utile pour mettre en lumière ces relations possibles et pour définir les risques et les avantages des antibiotiques dans le traitement et la prophylaxie des maladies dues aux ETEC.

3.1.2 L'épidémiologie générale des maladies dues aux ETEC aurait besoin d'être étudiée plus à fond dans différentes régions. Ces études devraient porter sur : la fréquence, l'incidence par sexe et par âge, les caractéristiques saisonnières de ces maladies, leur relation avec l'état nutritionnel et avec l'allaitement au sein, et leur mode de transmission. Ces études devraient être réalisées dans différents contextes culturels et géographiques. Elles devraient, dans la mesure du possible, viser à rechercher aussi les souches entéro-pathogènes, les souches entéro-vahissantes et les agents viraux tels que les rotavirus.

3.1.3 Des études diachroniques, particulièrement sur les jeunes enfants, seraient nécessaires pour déterminer comment s'acquiert l'immunité dans les infections et maladies dues aux ETEC. En particulier, il serait utile de savoir quelle est l'importance relative de l'immunité antibactérienne et antitoxique, et de savoir s'il existe une protection croisée entre le choléra et la maladie provoquée par les souches d'E. coli productrices d'entérotoxines thermolabiles.

3.1.4 Il faudrait examiner plus avant les relations qui pourraient exister entre les souches d'ETEC animales et humaines, et notamment étudier à fond les plasmides Ent⁺ provenant de souches humaines et de souches animales, et rechercher chez l'animal les E. coli qui produisent des entérotoxines chez l'homme et rechercher chez l'homme les E. coli qui produisent des entérotoxines chez les animaux.

3.1.5 Les aspects cliniques des diarrhées dues aux ETEC devraient être étudiés pour les différents types de toxines produites par ces souches dans différentes régions. Il serait particulièrement important d'étudier en détail la composition électrolytique du liquide jéjunal et des selles des enfants.

3.1.6 Il importe d'évaluer les effets des antibiotiques dans le traitement de la diarrhée infantile due aux souches ETEC et dans le traitement et la prévention de la diarrhée des voyageurs. Les études sur la prophylaxie des diarrhées devraient être réalisées selon la technique du double insu et en utilisant des antibiotiques appropriés. Les études sur le traitement des diarrhées devraient comprendre une évaluation des autres agents antidiarrhéiques (par exemple, les médicaments antispasmodiques).

3.1.7 Un rang de priorité élevé devrait être accordé à la mise au point d'un vaccin contre la maladie que provoquent chez l'homme les souches ETEC, et les travaux dans ce domaine devraient tenir compte des considérations ci-après :

- L'immunité à la surface des muqueuses de l'intestin est probablement le mécanisme protecteur le plus important, et c'est pourquoi on s'attachera tout particulièrement à la mise au point de vaccins buccaux.
- Etant donné que les diarrhées dues aux souches ETEC se produisent le plus fréquemment chez les enfants âgés de 6 mois à 2 ans et chez les voyageurs qui se rendent dans des pays où la maladie est endémique, il serait fort utile de conférer à ces sujets une immunité active. Les études sur ce point devraient également envisager la possibilité de vacciner les femmes qui approchent du terme de leur grossesse, afin que le lait maternel possède suffisamment d'anticorps pour protéger l'enfant.
- On ne sait pas encore quels antigènes conviennent le mieux comme vaccins antidiarrhéiques. Le vaccin le plus souhaitable serait une souche vivante - qui se multiplierait par auto-reproduction - de E. coli contenant les antigènes de protection les plus importants. Des antigènes non autoreproducteurs, tels que les facteurs de colonisation, les antigènes de paroi cellulaire et les anatoxines, devraient également faire l'objet d'une étude, en vue de leur utilisation possible comme vaccins buccaux. A cet égard, le groupe fait siennes les priorités proposées dans le rapport du groupe de travail scientifique sur l'immunité et la mise au point de vaccins.¹

¹ Document WHO/DDC/78.2 (1978) non publié.

- Dans le cadre de la stratégie visant à découvrir un vaccin convenable et une méthode appropriée d'administration de ce vaccin, l'OMS devrait soutenir les études vétérinaires du genre de celles dont il est fait état à la section 2.1.3. La ressemblance des diarrhées ETEC chez certaines espèces animales et chez l'homme offre une possibilité exceptionnelle de mettre au point un vaccin humain grâce à des recherches vétérinaires intensives.

3.2 Souches d'Escherichia coli entéropathogènes (EPEC)

3.2.1 Le besoin se fait sentir d'évaluer le rôle des souches EPEC dans la diarrhée infantile dans différents contextes épidémiologiques, à la fois dans la collectivité et en établissement. Les études faites dans les pays développés à climat tempéré ont clairement montré comment les diarrhées dues aux souches EPEC se répandent dans les services hospitaliers qui hébergent des nourrissons, mais on manque de données sur les diarrhées dues aux souches EPEC que l'on constate dans les collectivités des pays développés et en développement. Il faudrait remédier à cette lacune des connaissances en procédant à des enquêtes systématiques sur des malades et des sujets témoins dans différentes régions du monde. Ces études devraient notamment viser à mettre en évidence d'autres agents entéropathogènes. Il ne suffit pas d'utiliser un fonds commun d'anti-sérums polyvalents pour sérotyper les souches EPEC; la détermination des groupes O est indispensable et un sérotypage complet des antigènes O et H serait idéal.

3.2.2 Les informations relatives à un petit nombre de poussées épidémiques indiquent que les souches EPEC peuvent provoquer une diarrhée aiguë chez les adultes et cet aspect de la question mériterait des études plus poussées (études de cas témoins) ainsi que le recours à des anti-sérums appropriés (voir 3.2.1).

3.2.3 L'immunité apparemment liée à l'âge contre les diarrhées dues aux souches EPEC n'a pas encore été expliquée. Il faudrait procéder à des études immunologiques pour vérifier cette observation, et notamment mettre au point des méthodes pour mesurer les anticorps à l'égard de ces organismes ou leurs produits de sécrétion ou leurs propriétés de virulence (voir 3.2.4), et il faudrait appliquer ces méthodes aux études sérologiques. On a observé que l'alimentation au sein protège les nourrissons contre les diarrhées dues aux EPEC et cette observation aurait besoin d'être scientifiquement fondée.

3.2.4 On sait peu de choses de la pathogénie des maladies dues aux souches EPEC, mais les résultats préliminaires d'études sur l'animal semblent indiquer qu'une toxine intervient dans le processus pathogène. Des travaux plus poussés seraient nécessaires dans ce domaine et, si la présence de la toxine est confirmée, il conviendrait de mettre au point une épreuve de laboratoire simple que l'on puisse utiliser dans les études épidémiologiques parallèlement au sérotypage.

3.2.5 De même, il faudrait rechercher la présence de facteurs de colonisation dans les maladies dues aux souches EPEC. Les travaux préliminaires semblent indiquer que les facteurs antigéniques de colonisation constatés dans les souches ETEC ne se rencontrent pas dans les souches EPEC, mais il ne fait pas de doute que certains facteurs sont responsables de l'adhérence à l'épithélium.

3.2.6 Dès que les facteurs de virulence qui interviennent dans la pathogénie des diarrhées à EPEC auront été découverts, il sera nécessaire de définir les déterminants génétiques de ces facteurs.

3.2.7 On n'a pas encore réussi à décrire convenablement les paramètres cliniques des diarrhées à EPEC. Le recours dans certaines situations épidémiques aux techniques physiopathologiques modernes, comme celles que l'on utilise lors d'études sur le choléra et les maladies à rotavirus, devrait fournir des informations précieuses sur les pertes fécales électrolytiques et protéiques, ce qui à son tour pourrait favoriser la découverte des mécanismes par lesquels les souches EPEC provoquent la diarrhée.

3.2.8 Il faudrait aussi déterminer le rôle des antibiotiques dans le traitement des diarrhées dues aux EPEC. On utilise arbitrairement depuis de nombreuses années les antibiotiques contre les diarrhées, mais leur efficacité est contestée.

3.3 Souches d'Escherichia coli entéroenvahissantes (EIEC)

3.3.1 A l'exception de quelques études et de rapports occasionnels sur des poussées épidémiques, on sait peu de chose de la pathogénie et de l'épidémiologie des diarrhées dues aux souches d'E. coli entéroenvahissantes. Des données pourraient facilement être recueillies à partir d'enquêtes faites dans ceux des pays (par exemple les pays d'Europe centrale et d'Europe orientale) où les souches d'E. coli entéroenvahissantes semblent prédominer. On a besoin d'informations fondamentales sur les doses infectieuses, la symptomatologie clinique, l'incidence des diarrhées en fonction de l'âge, et l'état de porteur. Ce travail serait facilité si l'on mettait en commun des anti-sérums diagnostiques monovalents contre les sérogroupes des souches EIEC.

3.3.2 L'épreuve de la kératoconjonctivite du cobaye (épreuve de Serény) a été utilisée comme modèle pour étudier l'envahissement de l'épithélium par E. coli. Il s'agit là d'une épreuve difficile et il serait utile de mettre au point d'autres méthodes. Une de ces méthodes consisterait peut-être à utiliser des cultures tissulaires appropriées (par exemple, les cellules HeLa).

TABLEAU 1. EPREUVES BIOLOGIQUES POUR LA DETERMINATION
DES SOUCHES D'E. COLI PRODUCTRICES D'ENTEROTOXINES

Epreuve	Entérotoxines thermostables (ST)	Entérotoxines thermolabiles (LT)	Observations
<u>In vivo</u>			
Ligature de l'anse iléale du lapin			Technique naguère très utilisée. Elle est difficile et laborieuse, mais c'est la meilleure méthode de détermination générale de l'activité des entérotoxines.
Lecture à 6 heures	+	+	
Lecture à 18 heures	-	+	
Intestin du lapereau	+	+	Peu de données, particulièrement en ce qui concerne les ST.
Perfusion du marqueur dans le jéjunum du rat ou l'anse du chien	+	+	Technique compliquée, réservée à quelques laboratoires spécialisés.
Derme du lapin adulte (facteur de perméabilité vasculaire)	-	+	Technique très sensible, facile mais peu utilisée. C'est la méthode la plus facile de neutralisation <u>in vivo</u> par les antitoxines.
Epreuve intragastrique sur le souriceau	+	-	Cette technique exige un grand nombre de souris. Elle est facile, mais ne met peut-être pas en évi- dence tous les types de ST.
<u>In vitro</u>			
Cellules surrénales de la souris Y1	-	+	Cette méthode très sensible exige une formation spécialisée aux techniques de culture tissulaire.
Cellules ovariennes du hamster chinois (CHO)	-	+	Très sensible. Les cellules CHO sont probablement plus faciles à cultiver que les cellules Y1.
Cellules du singe vert africain (Vero)	-	+	Ces cellules sont plus faciles à manipuler que les cellules Y1 et CHO, mais probablement moins sen- sibles aux LT.
Immuno-hémolyse passive (érythrocytes de mouton)	-	+	Cette méthode sensible est peu utilisée. Elle exige la présence d'anticorps à l'égard de l'entéro- toxine LT purifiée et des cultures fraîches d'érythrocytes du mouton.
Immuno-hémolyse passive radiale	-	+	Cette méthode mesure les entéro- toxines LT produites par les colonies sur la gélose. Elle est moins sensible que l'épreuve sur cellule Y1.
Dosage radio-immunologique en phase solide (RIA)	-	+	Technique très sensible, facile à standardiser et à automatiser. Matériel coûteux.
Titration avec immuno- adsorbant couplé à une enzyme (ELISA)	-	+	Cette méthode très sensible est pour le moment l'épreuve la plus prometteuse pour la détermination des entérotoxines LT dans les pays en développement.

TABLEAU 2. SEROTYPES HUMAINS O:K:H OU O:H
HABITUELLEMENT ASSOCIES A LA PRODUCTION D'ENTEROTOXINES (ETEC)

06:K15:H16 ^b	078:H12 ^a
07:H18	078:H11 ^a
08:K40:H9 ^b	0114:H21
08:K47:H-	0115:H51
08:K25:H9	0128:H7 ^c
09:K84:H2 ^c	0128:H12 ^{a,c}
015:H11	0128:H21
020:K+:H- ^a	0148:H28
025:K7:H42 ^a	0153:H12 ^a
025:"K98":H-	0153:H10 ^c
027:H7 ^c	0159:H4
027:H20 ^c	0159:H34
063:H12 ^a	0X2:H41
073:H45	

^a Sérotypes associés au facteur CFA I.
^b Sérotypes associés au facteur CFA II.
^c Selon les données existantes, ces souches ne produiraient que des entérotoxines ST.

TABLEAU 3. SEROTYPES HABITUELLEMENT ASSOCIES
A LA PRODUCTION D'ENTEROTOXINES^a CHEZ LES ANIMAUX

Sérotype	Antigènes ciliés	Porcelets				Veaux		Agneaux	
		Nouveau-nés		Sevrés					
		LT	ST	LT	ST	LT	ST	LT	ST
08:K87:H19	K88	+	+	+	+				
08:K85:H-	K99						+		+
08:K85:H-	K99		+				+		+
09:K103:H-	987P		+						
09:K35:H-	K99		+						
020:K101:H-	987P		+						
020:K ⁺ :H-	K99						+		+
0101:K28:H-	K99		+				+		+
0115	K99						+		+
0138:(H14)					+				
0139:K82:H1					+				
0141:H4					+				
0141:H4	K88	+	+	+	+				
0149:H10				+	+				
0149:H10	K88	+	+	+	+				
0157:H19	K88	+	+						

^a 078 est habituellement associé à la septicémie chez les animaux de basse-cour et chez les veaux et avec la mastite chez les vaches. Il ne produit pas habituellement d'entérotoxines chez les animaux.

= = =