

La stimulation orale par *E. coli* K88 comme méthode d'évaluation des performances de croissance et de l'état de santé des porcelets sevrés dans les études expérimentales en alimentation

Paolo BOSI (1), Cyrien GREMOKOLINI (1), Paolo TREVISI (1),
Maurizio MAZZONI (1), Paolo BONILAUDI (2), Giuseppe SARLI (3), Luisa CASINI (1)

(1) DIPROVAL (Università di Bologna), Reggio Emilia (I)

(2) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Bruno Ubertini, Sezione di Reggio Emilia (I)

(3) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale (Università di Bologna), Bologna (I)

La stimulation orale par *E. coli* K88 comme méthode d'évaluation des performances de croissance et de l'état de santé des porcelets sevrés dans les études expérimentales d'alimentation

L'évaluation de l'efficacité des solutions diététiques appliquées au sevrage des porcelets pose problème ; dans les élevages conventionnels, le contrôle des conditions expérimentales est difficile ; en revanche, dans les stations expérimentales, les conditions d'hygiène ne sont pas représentatives de celles rencontrées dans les élevages classiques. La stimulation orale avec *E. coli* K 88 a souvent été utilisée dans les essais alimentaires sur porcelets. La prédisposition à la colibacillose dépend de la présence de récepteurs intestinaux aux fimbriae d'*E. coli* K 88, mais cette présence n'est pas prise en compte quand des régimes alimentaires sont testés sur des porcelets stimulés. Nous avons traité les données relatives à 8 essais alimentaires impliquant 372 porcelets, tous stimulés oralement par *E. coli* K 88. Les essais ont commencé au sevrage (de 14 à 21 jours). Après une période d'adaptation, les sujets étaient stimulés oralement par l'administration de 1,5 ml d'une suspension d' *E. coli* O149K88ac à 1010 CFU/ml. Les données ont été traitées statistiquement en prenant en compte les effets de l'essai, de la présence des récepteurs chez les porcelets et de l'interaction entre ces facteurs. Comparés aux porcelets sans récepteurs, les sujets disposant de récepteurs présentent une baisse de croissance et de consommation, une augmentation de l'excrétion fécale de *E. coli* K 88, des diarrhées et de la sécrétion d'IgA anti *E. coli* K 88. Tous ces paramètres ne sont pas affectés d'un essai à l'autre. La stimulation orale avec *E. coli* K 88 est pertinente pour étudier les effets d'un régime alimentaire sur la croissance, la santé et l'immunité de porcelets sevrés sous réserve de prendre en compte la présence de récepteurs villositaires à *E. coli* K 88.

Oral challenge with *E. coli* K88 as a tool to assess growth and health performance in feeding trials of-weaned pigs

The assessment of dietary strategies in weaning pigs is difficult. In commercial farms, accurate control of experimental conditions is problematic, whereas in experimental stations, hygienic conditions are often not comparable to the ones of standard herds. The oral challenge with K88 *E.coli* has been often used in feeding trials on piglets. The predisposition to this colibacillosis depends on the presence of intestinal receptors for the fimbriae of K88 *E.coli*, but this susceptibility is not considered when feeding strategies are tested on challenged pigs. We elaborated records relating to 372 piglets from 8 feeding trials. All the pigs were orally stimulated with K88 *E.coli*. The trials started at the weaning (14 to 21 d). After a variable period of adaptation, subjects were orally challenged with 1.5 ml of a 1010 CFU/ml O149 K88ac *E. coli* suspension. Data were elaborated considering the trial and the susceptibility to K88 *E.coli* adhesion to small intestine villi, assessed by in vitro test on jejunum samples, and their interaction. Compared with records on negative pigs, oral stimulation in positive subjects reduced growth and feed intake and increased K88 *E.coli* faecal excretion, diarrhoea and anti K88 *E.coli* specific IgA secretion. Not all these parameters were affected in all the trials. Villus height increased in 1 out of 3 trials in positive pigs. The oral challenge with K88 *E.coli* is a valid tool to study the effect of dietary strategies on growth, health and immunity of weaning pigs, but the susceptibility to K88 *E.coli* villus adhesion should be considered.

INTRODUCTION

L'évaluation des régimes alimentaires chez les porcelets sevrés pose problème. Dans les élevages conventionnels, le contrôle de la répétabilité des résultats expérimentaux et des facteurs externes est difficile. Dans les stations expérimentales, par contre, les conditions sanitaires sont généralement meilleures que dans les élevages commerciaux. Dans les travaux concernant la recherche d'alternatives aux antibiotiques, la stimulation par un agent pathogène typique du porcelet a été souvent proposée pour perturber les conditions d'élevage et mettre en évidence les effets des traitements alimentaires. L'*Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), caractérisé par le facteur d'adhésion K88 (=F4), a été fréquemment utilisé. La prédisposition à la colibacillose dépend de la présence de récepteurs intestinaux pour les antigènes à fimbriae, qui permettent l'adhésion de ETEC sur les microvillosités de l'intestin grêle (NAGY et FEKETE, 1999). Un contrôle génétique a été montré pour les récepteurs qui reconnaissent les fimbriae K88.

Dans les expériences en alimentation, la combinaison de la stimulation orale par ETEC et de la détection des différents phénotypes des porcelets pour leur sensibilité à *E. coli* K88 pourrait permettre d'estimer en même temps l'effet des stratégies alimentaires sur les sujets positifs et négatifs d'un groupe expérimental donné. En outre, la stimulation avec ETEC pourrait permettre de savoir si l'alimentation influence, et de quelle manière, la réponse immunitaire spécifique et l'équilibre de la microflore intestinale chez les porcelets.

L'objectif de cette étude a été de vérifier si la sensibilité à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88 chez les porcelets oralement stimulés conditionne leurs performances de croissance, les caractéristiques de leur tractus gastro-intestinal, leur état de santé et la réponse de leur système immunitaire.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Nous avons rassemblé des données relatives à 372 porcelets impliqués dans 8 études expérimentales au cours desquelles différents régimes ont été testés. Les sujets provenaient d'élevages ayant un historique de colibacillose.

1.1. Procédures expérimentales

Les expériences ont commencé au sevrage (Age : 14-21 jours, poids vif moyen entre 4,23 kg - Expérience 1 - et 7,28 kg - Expérience 7). Après une période d'adaptation aux aliments, variable de 1 à 8 jours, tous les porcelets ont été stimulés avec 1,5 ml de suspension d'*E. coli* K88 à une concentration de 10^{10} UFC/ml. Tous les sujets ont été sacrifiés entre 4 et 14 jours après le début de l'expérience.

1.2. Mesures et échantillonnages

Dans quatre expériences, des notes ont été attribuées aux différents types de diarrhées (1 = fèces très consistantes ; 5 = diarrhée aqueuse) et des échantillons individuels de fèces ont été collectés après infection, à des temps différents après la stimulation. Les « jours de diarrhée » pour chaque sujet cor-

respondaient au nombre de jours avec un score supérieur à deux. Après une première analyse des résultats, les valeurs ont été retenues du troisième jour après stimulation, quand l'excrétion de ETEC était la plus intense.

Des échantillons de salive et de sang ont été prélevés un jour avant ou immédiatement après l'euthanasie, afin de quantifier les IgA spécifiques de l'antigène F4. Des segments de l'intestin grêle ont été prélevés juste après l'abattage, pour des analyses morphologiques, pour la détermination des IgA sécrétoires spécifiques (EVANS et al., 1980) et pour isoler les villosités intestinales (au niveau du jéjunum, pour le test *in vitro* d'adhérence des *E. coli* K88).

1.3. Préparation bactérienne pour la stimulation orale et le test d'adhésion

L'ETEC O149 K88ac a été cultivée dans un bouillon de culture Luria (LB) à pH 7. Après une heure d'incubation à 37°C sur agitateur, les bactéries ont été diluées dans une solution LB. Après incubation, les cellules bactériennes obtenues par centrifugation (3000 x g, 15 min), ont été lavées dans du PBS puis mises en suspension dans la même solution. Les bactéries qui se sont développées durant la phase exponentielle de croissance, ont été utilisées dans toutes les expériences. La concentration bactérienne a été déterminée par densimétrie et confirmée par une dilution périodique, suivie du comptage sur plaque d'agar LB.

1.4. Analyse bactériologique dans les fèces

Pour la quantification d'ETEC K88, 1 g de chaque échantillon a été dilué dans une solution de Ringer (1:5, v/v). Elle est suivie d'une série de dilutions pour obtenir une concentration de 10^{10} . Des échantillons aliquotés ont été inoculés dans un milieu rouge violet d'agar de bile (contenant 4-méthyl-umbelliferyl- β -glucuronide) et incubés 24h à 43°C. Le nombre d'unités formant colonies (UFC) a été déterminé à la dilution, montrant un nombre de colonies compris entre 30 et 300. La détermination de la spécificité de la souche d'*Escherichia coli* a été faite par fluorescence, la croissance étant réalisée sur agar fer Kligler et API 20E. La présence de l'antigène K88ac a été révélée par le test d'agglutination, avec un sérum immunisé du lapin.

1.5. Test *in vitro* d'adhérence aux villosités intestinales

Pour déterminer la présence des récepteurs de l'antigène K88, un test d'adhérence aux villosités intestinales a été effectué selon le modèle de GIRARDEAU (1980) modifié ensuite par Van den BROECK et al. (1999).

Le contenu du segment de jéjunum prélevé (20 cm) a été éliminé en effectuant 3 lavages successifs par PBS à 4°C. Cette portion intestinale était ensuite ouverte longitudinalement et laissée 15 min dans la solution tampon de Krebs-Henseleit contenant 1 % (v/v) de formaldéhyde à 4°C. Les villosités intestinales ont été recueillies en raclant doucement la muqueuse avec une lame porte-objet et puis lavées 3 fois, durant 1h pour chaque lavage, avec le tampon de Krebs-

Henseleit. Les villosités ont été mises en suspension dans la solution de DMSO-HANK'S et stockées 24h à -20°C puis à -80°C pour une conservation plus longue.

Les échantillons de villosités intestinales ont été décongelés à température ambiante et placés 1h dans la solution tampon de Krebs contenant 1 % de formaldéhyde. Les échantillons, après deux lavages Krebs, ont été transférés dans PBS avec du D-mannose, auquel on a ajouté une suspension d'*E. coli* K88. Après 1h d'incubation à température ambiante, les villosités ont été observées au microscope à contraste de phase (1000x). Les bactéries adhérant sur une longueur de 50 µm des bordures en brosses présentes sur la surface des villosités, ont été observées dans 20 endroits. La sensibilité des sujets a été définie par le nombre de bactéries adhérant sur 250 µm de la bordure en brosse. Les porcelets présentant un nombre de bactéries supérieur à 30 étaient considérés positifs.

1.6. Préparation des fimbriae F4 et détermination des IgA spécifiques

Les fimbriae nécessaires à l'analyse des IgA spécifiques à K88 ont été préparées à partir des bouillons de culture d'*E. coli* K88 selon VAN DEN BROECK et al. (1999). Les bactéries ont été homogénéisées avec un Ultra Turrax pendant 15 min à 24 000t/mn. Les adhésines présentes dans le surnageant ont été récupérées par précipitation avec une solution de sulfate d'ammonium, suspendues et dialysées durant toute la nuit au contact de l'eau ultra-pure. Puis la préparation a été centrifugée et le culot final contenant les fimbriae a été lyophilisé.

La teneur en IgA spécifiques aux antigènes K88 a été déterminée par ELISA en accord avec VAN DEN BROECK et al. (1999). Les microplaques ELISA à 96 puits, ont été remplies d'anticorps monoclonaux spécifiques aux adhésines F4, dans une solution tampon de carbonate-bicarbonate à pH 9,4. Après 3 h d'incubation, d'abord à 37°C puis une nuit à 4°C, une solution tampon PBS contenant du Tween 20 a été ajoutée dans les microplaques et laissée reposer 30 minutes à température ambiante. Les préparations d'antigènes d'ETEC ont été obtenues en diluant les échantillons dans une solution tampon de dilution ELISA. Après 1 h d'incubation à 37°, les anticorps de chèvre anti-IgA porcin, conjugués à la peroxydase ont été pipetés, dans du tampon Tris HCl avec BSA et stabilisateur. Après l'addition du substrat ABTS et 15 minutes d'incubation à 37°C, les densités optiques à 405 nm ont été lues. Les valeurs de concentration exprimées en unités arbitraires (UA) ont été calculées avec la formule : $y = D + (A-D)/(1 + (y/C)^B)$, où $A=y$ si $x=0$; B facteur de croissance, C = valeur à 50 % de réponse ; $D=y$ si x tend vers l'infini. Le pool de sérum obtenu en mélangeant les sérums de 5 porcelets sensibles aux *E. coli* K88 a été utilisé comme standard.

1.7. Analyses morphométriques

Les échantillons collectés du duodénum, jéjunum et iléon étaient fixés dans le formol de Carson (pH 7). Les segments intestinaux ont été préalablement ouverts longitudinalement et fixés par des épingles sur une feuille de liège placée au

fond d'un flacon contenant la solution de formol. Cette procédure permet une bonne distension des villosités destinées à l'analyse morphométrique. Après l'inclusion dans la paraffine, les différentes sections ont été colorées avec l'hématoxyline éosine et soumises à l'analyse des images, à l'aide d'un analyseur cytométrique relié à un PC (résolution des images, 513 x 463 pixels). Sur chaque portion, la hauteur et la profondeur de 10 villosités et cryptes ont été mesurées. Les villosités ont été choisies seulement lorsque leurs axes centraux étaient perpendiculaires à celui de la paroi, de même pour les cryptes, mais après avoir défini les limites entre deux villosités contiguës.

1.8. Analyses statistiques

Les données ont été analysées en prenant en considération les facteurs « expérience » et « sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale des *E. coli* K88 » et leur interaction. Auparavant, les données étaient corrigées pour l'effet de chaque régime utilisé dans chaque expérience. On n'a pas utilisé les données des régimes avec traitement antibiotique.

2. RÉSULTATS

2.1. Performances au sevrage

Le poids vif initial n'a pas été influencé par les phénotypes des porcelets liés à leur sensibilité à l'adhésion intestinale des *E. coli* K88 (résultats non présentés). Pour le gain moyen quotidien et la consommation d'aliment, on a observé une interaction significative entre le facteur essais et la sensibilité à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88. Ce facteur a réduit la croissance dans 5 des 8 essais (figure1) ; on a aussi observé une tendance à la baisse dans deux autres essais. Cette baisse du gain moyen quotidien était de 39 % en moyenne

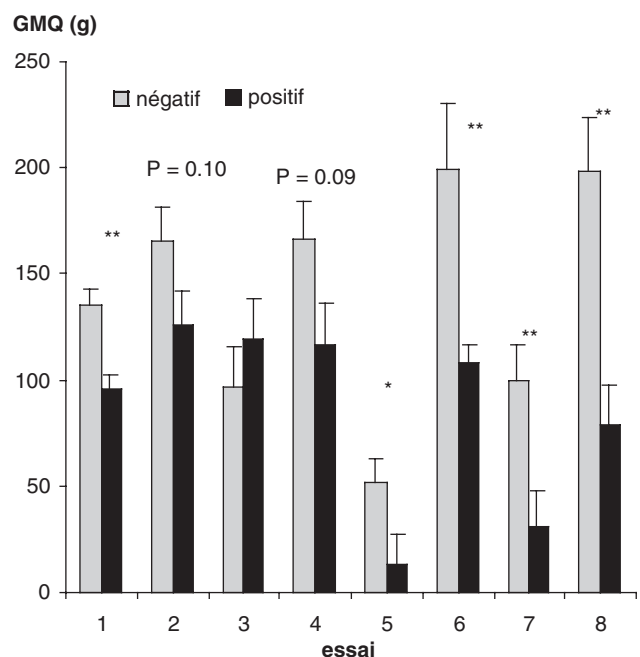


Figure 1 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur le gain moyen quotidien (Moyennes ± ETR, * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$)

sur tous les essais. On a également observé une réduction de la consommation d'aliment dans 5 des 8 essais (figure 2). La baisse de consommation était de 13 % en moyenne. On n'a pas calculé l'indice de la consommation puisque certains sujets avaient une croissance négative. Toutefois, cet indice serait défavorable pour les sujets réceptifs.

2.2. Santé et excrétion fécale d'*E. coli*

Consommation d'aliment (g/l/porcelet)

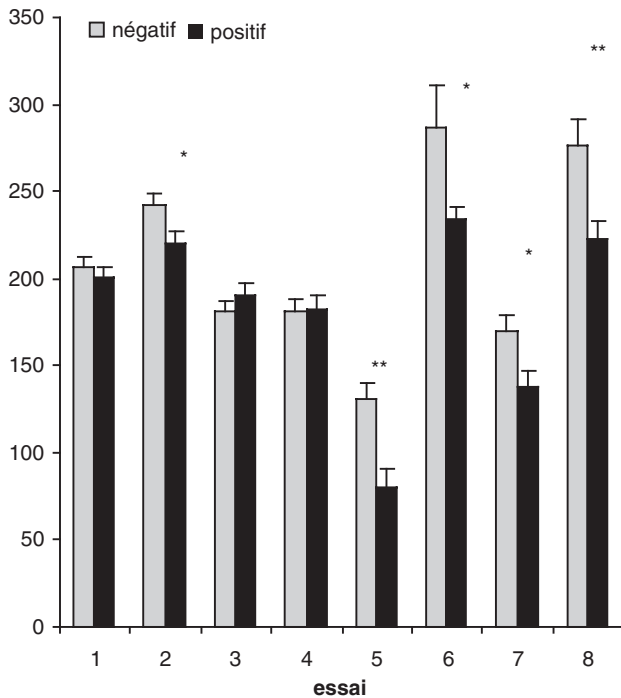


Figure 2 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur la consommation d'aliment (Moyennes $\pm$ ETR, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$)

En général, la stimulation par ETEC détermine une situation transitoire de dépression et des diarrhées aqueuses de durée variable selon les sujets. Sur l'ensemble des porcelets observés, 21 sont morts de colibacillose. Les données les concernant ont été exclues des résultats présentés. Concernant les jours de diarrhée, le nombre moyen de diarrhées, l'excrétion fécale d'*E. coli* total et d'*E. coli* K88 (figure 3), on n'a pas observé d'interaction significative entre le facteur essai et les phénotypes des porcelets relatifs à l'adhésion. Ce dernier facteur a augmenté de manière significative ($P < 0,01$) les jours de diarrhée (+1,2 jour) et le nombre moyen de diarrhée (+0,48 point). Les sujets sensibles à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88 ont montré une augmentation de l'excrétion fécale de la souche d'*E. coli* utilisée pour l'infection ($P < 0,01$; +1000 fois UFC/g) et une tendance à l'augmentation de l'excrétion fécale d'*E. coli* total ($P = 0,10$; +0,86 Log₁₀ UFC/g), comparés aux sujets non susceptibles.

2.3. Immunité humorale

Concernant l'activité des immunoglobulines A spécifiques anti-K88 dans le sérum du sang prélevé le jour avant l'abattage (figure 4), on a observé une interaction significative entre le facteur essai et les phénotypes des porcelets liés à la sensibilité à l'adhésion intestinale des *E. coli* K88. Dans 5 essais, les immunoglobulines A sériques spécifiques anti-K88 ont augmenté de façon significative ($P < 0,01$, quatre essais ; $P < 0,05$, un essai) chez les porcelets sensibles. Cette interaction a été aussi observée dans les sécrétions du jéjunum, pour l'activité des immunoglobulines A spécifiques anti-K88 sécrétées, quantifiées dans 4 essais. Les teneurs en IgA observées chez les sujets sensibles (figure 5) étaient significativement inférieures dans 2 essais ($P < 0,01$). Il faut souligner que les valeurs présentées à la figure 5 ont été transformées selon la formule $[1/\text{racine carrée UA/ml}]$. Aussi les valeurs les plus basses correspondent en réalité aux valeurs origi-

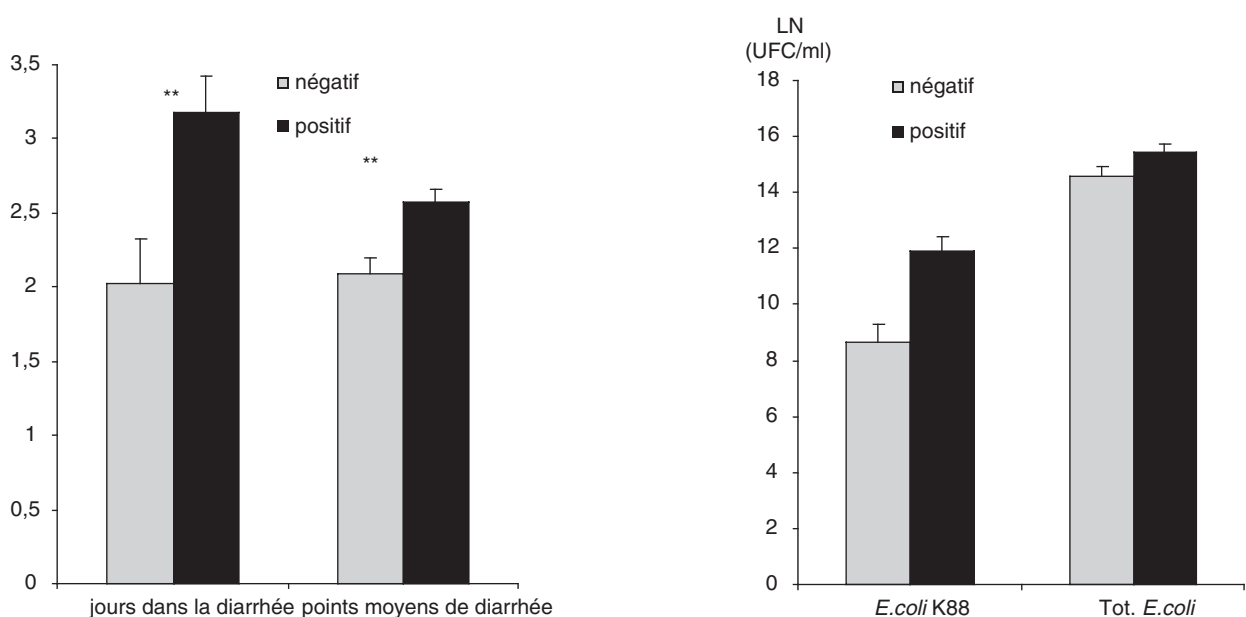


Figure 3 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur l'excrétion fécale d'*E. coli* et d'*E. coli* K88 et sur les jours de diarrhée et le nombre moyen de diarrhées (Moyennes $\pm$ ETR, ** $P < 0,01$)

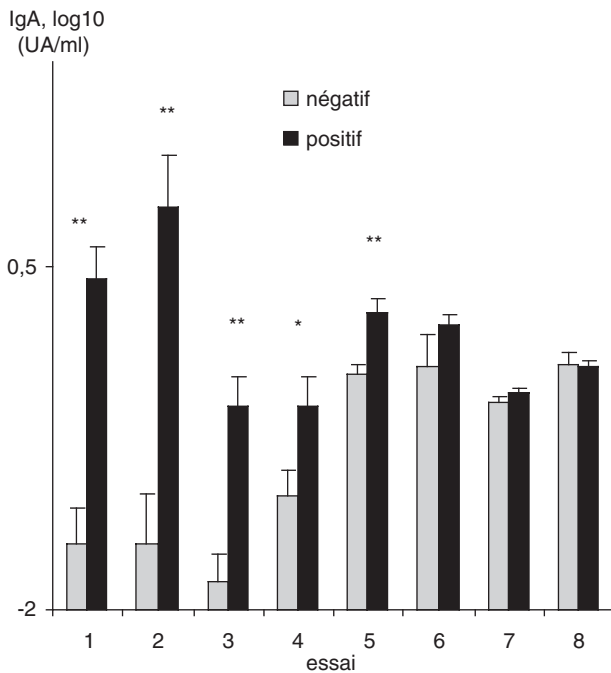


Figure 4 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur l'activité des immunoglobulines A, spécifiques anti-K88 dans le sérum du sang (Moyennes $\pm$ ETR, *= $P<0,05$; **= $P<0,01$)

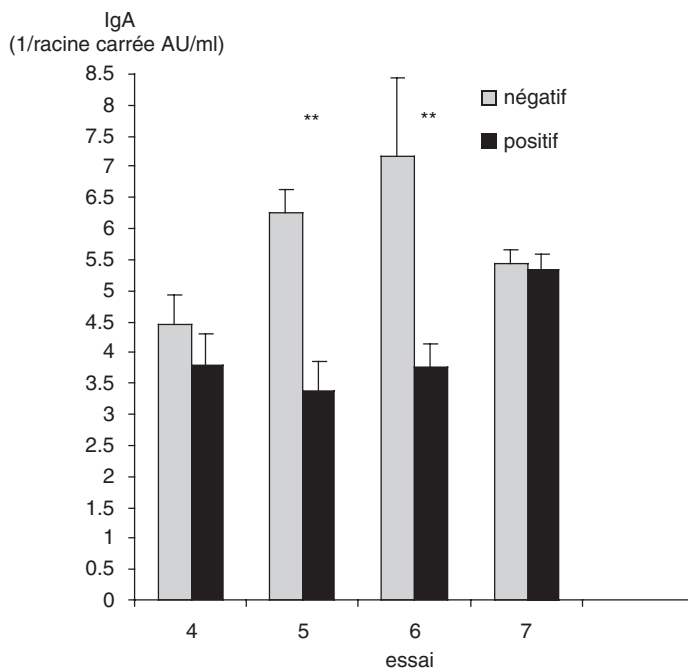


Figure 5 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur l'activité des immunoglobulines A, spécifiques anti-K88 dans les sécrétions du jéjunum (Moyennes $\pm$ ETR, **= $P<0,01$)

nales les plus élevées. On peut donc affirmer que dans la moitié des essais, les immunoglobulines A spécifiques étaient plus nombreuses chez les porcelets plus réceptifs. Par contre, les IgA spécifiques salivaires n'ont jamais été corrélées avec la présence des récepteurs intestinaux spécifiques aux antigènes F4 (résultats non présentés).

2.4. Morphologie de l'intestin grêle

La morphologie de l'intestin grêle a été étudiée dans 3 essais. Concernant la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes dans les échantillons collectés de duodénum et de jéjunum, on n'a observé aucun effet significatif des facteurs considérés. Pour l'iléon, on a retrouvé une interaction significative entre les facteurs «essai» et «sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale des *E. coli* K88». L'effet de l'interaction de ces facteurs sur la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes de l'iléon est présenté dans la figure 6. On a observé un effet du phénotype sur l'adhésion de ETEC seulement dans l'essai 5. Les sujets positifs ont montré une hauteur des villosités supérieure par rapport aux sujets non sensibles ($P<0,01$). Pour la profondeur des cryptes de l'iléon, on n'a pas observé de différences significatives.

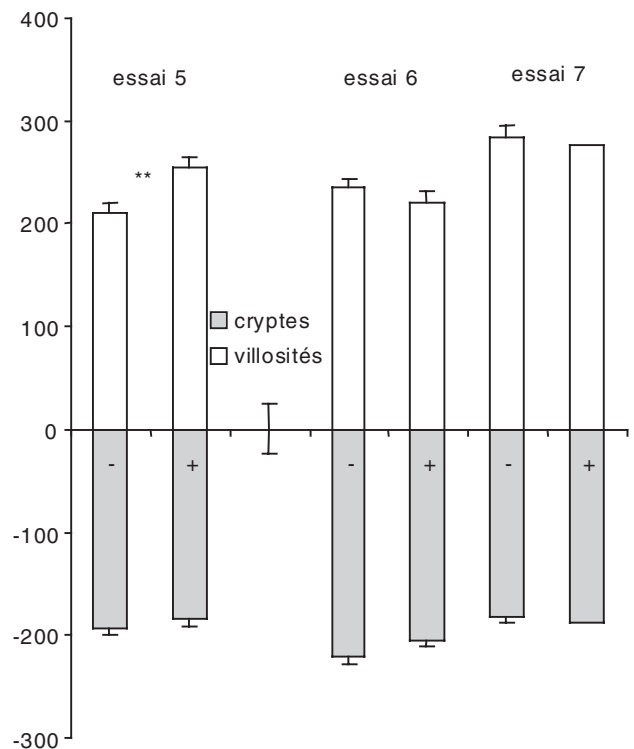


Figure 6 - Effet de l'essai et de la sensibilité des sujets à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88, sur la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes de l'iléon (Moyennes $\pm$ ETR, **= $P<0,01$)

3. DISCUSSION

3.1. Performances au sevrage

En général, les sujets positifs à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88 ont montré des ingestions volontaires et des performances de croissance post-sevrage inférieures à celles des sujets négatifs. Dans la littérature, on retrouve fréquemment l'emploi de la stimulation orale avec *E. coli* K88 dans des essais où les performances en élevage sont enregistrées, mais les résultats ne sont jamais corrigés pour la sensibilité des sujets à la souche utilisée. Dans la plupart des expériences, on a pris la précaution d'utiliser des sujets prove-

nant d'élevages où *E. coli* K88 avait été fréquemment isolé. Dans une expérience en station expérimentale sans stimulation à ETEC, il a été observé chez les sujets positifs une baisse significative du gain moyen quotidien (entre 0 et 6 semaines d'âge) dans le premier lot, mais pas dans le deuxième (EDFORS-LILJA et al., 1986). Une confirmation indirecte de l'importance du contrôle de la sensibilité à *E. coli* K88 ressort de l'expérience avec supplémentation de l'enzyme protéolytique bromélaïne dans le régime du porc. Le traitement avec cette molécule a réduit provisoirement la présence de récepteurs intestinaux pour l'adhésion de K88 chez des sujets non stimulés, et augmenté le gain moyen quotidien chez les sujets stimulés par *E. coli* K88 (CHANDLER et MYNOTT, 1998). Dans l'ensemble, nos résultats indiquent que la stimulation avec ETEC a une influence différente sur les performances en sevrage selon la sensibilité à *E. coli* K88.

3.2. Santé et excrétion fécale d'*E. coli*

MADEC et al. (2000) ont observé que, sur un total de 107 sujets stimulés par ETEC, respectivement 57 % et 34 % des sujets positifs et négatifs développaient de la diarrhée. Nos résultats sont en accord avec cette observation et démontrent qu'il y a une prévalence de diarrhée chez les porcelets réceptifs, mais aussi qu'il y a des sujets négatifs qui manifestent aussi de la diarrhée.

Les résultats de la littérature (MADEC et al., 2000) ont montré que l'excrétion fécale d'*E. coli* K88 diminue rapidement après la stimulation, indépendamment de la présence des récepteurs. Ce résultat est confirmé dans notre expérience. Néanmoins, 3 jours après la stimulation, l'excrétion de la souche utilisée était plus intense chez les porcelets positifs, donc l'échantillonnage des fèces le 3^{ème} jour est le plus indiqué pour révéler des différences de réponses aux traitements alimentaires. D'autres souches toxigènes d'*E. coli* peuvent avoir une période d'excrétion plus longue que le K88, en raison d'une réponse immunitaire plus tardive (VERDONCK et al., 2002).

3.3. Immunité humorale

Les résultats démontrent que la présence des récepteurs intestinaux spécifiques aux antigènes F4 est importante pour déclencher la réponse immune sécrétoire au niveau de l'intestin et retrouver des IgA spécifiques dans la circulation sanguine. VAN DEN BROEK et al. (1999) ont observé que la présence des récepteurs sur les entérocytes était essentielle pour l'induction de la réponse immune, étant donné qu'ils ont relevé des IgG et IgA sériques spécifiques seulement chez les sujets F4 positifs. Cependant, dans nos recherches, les sujets classés négatifs ont souvent présenté une teneur en IgA sériques spécifiques. La méthode utilisée pour classer les sujets est basée sur un échantillon du jéjunum et on ne peut pas exclure la présence de récepteurs sur le reste de l'intestin grêle. De plus, des sujets négatifs peuvent acquérir passivement des immunoglobulines avec le colostrum. A 34 jours d'âge, les porcelets provenant de mères vaccinées avaient des teneurs en IgG spécifiques (en % des IgG totales) correspondant à la moitié de ce qu'on

retrouvait à 2 jours dans leur sang (ROOKE et al., 2003). Une autre possibilité est que, pour quelques sujets négatifs, d'autres agents pathogènes aient favorisé une rupture de la barrière de défense de la muqueuse, qui pourrait avoir permis un contact avec des cellules capables de présenter l'antigène des fimbriae. Les mêmes considérations sont valables pour les IgA spécifiques sécrétoires du jéjunum. L'introduction des valeurs des IgA spécifiques du sérum dans le modèle statistique concernant ces mesures, a mis en évidence une bonne corrélation positive entre IgA sériques et IgA des sécrétions intestinales.

En terme pratique, le choix des sujets expérimentaux est très important et, lorsqu'on ne peut pas contrôler les anticorps avant le début des expériences, il est conseillé d'éviter les porcelets provenant de mères qui ont été vaccinées contre *E. coli* K88.

En revanche, la présence de récepteurs intestinaux à ETEC n'est pas déterminante pour la sécrétion de IgA spécifiques dans la salive. Ces résultats font suspecter la présence d'un mécanisme de réponse immunitaire locale, lié à la fonction des amygdales et à la présence de cellules produisant des IgA (INOUE et al., 1999) dans les glandes salivaires, d'avantage étudié dans d'autres espèces.

3.4. Morphologie de l'intestin grêle

Considérant les effets des pathologies intestinales sur la morphologie de l'intestin grêle, la prédisposition à l'action pathogène d'*E. coli* K88 aurait dû induire une réduction de la hauteur des villosités. En effet, il a été montré que les porcelets provenant d'élevages ayant une longue histoire de diarrhées post-sevrage avaient des villosités plus courtes et des cryptes plus profondes que les sujets d'un élevage SPF (NABUURS et al., 1993). Au contraire, nous avons presque toujours observé l'absence d'effet du phénotype pour l'adhésion d'*E. coli* K88 sur la morphologie de l'intestin grêle et, dans un essai, son effet positif sur la hauteur des villosités iléales. Il se peut qu'au moment de l'échantillonnage, les villosités étaient dans une phase de rétablissement. SPREEUWENBERG (2002) a présenté, dans une série d'expériences avec les porcelets, la relation entre la hauteur des villosités et les paramètres de performances et santé. En général, la hauteur des villosités de l'intestin grêle moyen était corrélée positivement à la croissance et à la consommation d'aliment (plus faiblement). Cependant, la corrélation de ce paramètre à la présence de diarrhée était très faible et variable selon les jours de post-sevrage.

CONCLUSIONS

En conclusion, la stimulation avec *E. coli* K88 peut être utilisée comme une méthode qui permet d'étudier les effets des stratégies alimentaires sur les performances de croissance, l'état de santé et la réponse immune des porcelets sevrés, en fonction de leur sensibilité à l'adhésion intestinale d'*E. coli* K88. L'emploi de l'identification du phénotype pour l'adhésion de ETEC devrait être considéré parmi les facteurs expérimentaux dans les études alimentaires où l'on utilise la stimulation par ce pathogène.

REMERCIEMENTS

Recherche financée avec la contribution de l'Union Européenne (Project QLK5-CT-2000-00522 "HEALTHYPI-

GUT"). Les auteurs sont seuls responsables de la publication et le manuscrit ne représente pas l'opinion de la Commission Européenne qui ne peut pas être tenue pour responsable de l'information délivrée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHANDLER D.S., MYNOTT T.L., 1998. *Gut*, 43, 196-202
- EDFORS-LILJA I., PETERSSIN H., GAHNE B., 1986. *Anim. Prod.*, 42, 381-387.
- EVANS P.A., NEWBY T.J., STOKES C.R., PATEL D., BOURNE F.J., 1980. *Scand. J. Immunol.*, 11, 419-429.
- GIRARDEAU J.P., 1980. *Ann. Microbiol.*, 131B, 31-37.
- INOUE H., FUKUIZUMI T., TSUJISAWA T., UCHIYAMA C., 1999. *Oral Microbiol. Immunol.*, 14, 21-26.
- MADEC F., BRIDOUX N., BOUNAIX S., CARIOLET R., DUVAL-IFLAH Y., HAMPSON D.J., JESTIN A., 2000. *Vet. Microbiol.*, 72, 295-310.
- NABUURS M.J., HOOGENDOORN A., VAN DER MOLEN E.J., VAN OSTA A.L., 1993. *Res. Vet. Sci.*, 55, 78-84.
- NAGY B., FEKETE P.Z., 1999. *Vet. Res.*, 30, 259-284.
- ROOKE J.A., CARRANCA C., BLAND I.M., SINCLAIR A.G., EWEN M., BLAND V.C., EDWARDS S.A., 2003. *Liv. Prod. Sci.*, 81, 223-234.
- SPREEUWENBERG M.A.M., 2002. *Diet Composition and Gut Integrity in Weaned Piglets*. PhD Thesis. Wageningen University, The Netherlands, 176 p.
- VAN DEN BROECK W., COX E., GODDEERIS B.M., 1999. *Infect. Immun.* 67, 520-526.
- VERDONCK F., COX E., VAN GOG K., VAN DER STEDE Y., DUCHATEAU L., DEPREZ P., GODDEERIS B.M., 2002. *Vaccine*, 20, 2995-3004.

