

ESCHERICHIA COLI: MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

M.V.Z., M.S. J. LÓPEZ-ÁLVAREZ

*Departamento de bacteriología Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad
Nacional Autónoma de México.*

1. Introducción	1
II. Enfermedades producidas por <i>E. coli</i>	4
1. Colibacilosis de los cerdos	4
2. Colibacilosis de los becerros	6
3. Colibacilosis de los corderos -.	8
4. Colibacilosis de las aves	8
5. Colibacilosis del hombre	9
III. Mecanismos de patogenicidad que operan en las enfermedades producidas por <i>E. coli</i>	10
I. Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis entérica	10
a) Colonización del intestino	11
b) Enterotoxina	15
c) <i>E. coli</i> penetrante no enterotoxigénica	20
2. Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis enterotoxémica	21
3. Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis septicémica	22
Referencias	28

I. Introducción

Escherichia coli es un habitante normal del tubo intestinal de los animales y el hombre. Coloniza el canal alimenticio durante el pri-

mer día de vida (9) y posteriormente permanece como un miembro constante de la flora de este *habitat* (10). En becerros sanos se ha encontrado (11) que *E. coli* está presente a lo largo del intestino y que su número aumenta de la porción proximal a la distal. Se ha mostrado que las cepas de *E. coli* que forman parte de la flora intestinal del hombre pueden dividirse en cepas residentes y transitorias (12) y una observación similar se ha hecho en el caso de *E. coli* de la flora intestinal de becerros (9). Sin embargo, no se ha observado el mismo fenómeno en el caso de los cerdos, ya que aunque en un momento dado domina un número pequeño de tipos de *E. coli*, estos tienen un periodo de estancia de sólo unos cuantos días o semanas para, posteriormente, ser reemplazados por otros (38).

Aunque muchas cepas de *E. coli* constituyen parte de la flora bacteriana normal del intestino del hombre y los animales, dista mucho de ser la especie predominante en este *habitat*, ya que los aerobios facultativos (incluyendo, además de *E. coli*, enterococos y algunos lactobacilos) constituyen solamente del 0.1 al 1 % del total en la flora fecal normal del hombre (1). En el ratón *E. coli* constituye solamente una pequeñísima fracción de la microflora entérica del orden de 10^{-4} % (5). La flora predominante en las heces está representada por bacterias anaerobias de los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Streptococcus* y *Clostridium* (1).

El desarrollo de métodos serológicos confiables (2,3) ha permitido identificar un gran número de serotipos de *E. coli* en base a la presencia de 3 tipos de antígenos denominados: O, K y H. Los antígenos O de *E. coli* no pueden distinguirse de la fracción antigénica de la endotoxina, y se encuentran localizados en la pared celular, constituyendo parte del complejo lipopolisacárido. Existen 153 grupos de antígenos O reconocidos internacionalmente, denominados 01 a 0157 (6). Los antígenos 031, 047, 067 y 072 no son considerados en el esquema antigénico. Son termoestables, resistiendo el calentamiento a 100 o 121⁰ C, y son el primer grupo de antígenos que debe determinarse cuando se trata de serotipificar una cepa de *E. coli* (3).

Los antígenos K son termolábiles e inhiben la aglutinación con sueros específicos anti-O, ya sea de células vivas o formalinizadas. Se encuentran rodeando a la célula a manera de envoltura, o bien, como cápsula rudimentaria (existe una excepción: el antígeno K88, de naturaleza proteica que existe en forma de pelos o fimbria). Se conocen 3 variedades de antígenos K en base a algunas características físicas, y se les denomina L, B y A (3). El antígeno K debe

ser eliminado por calor cuando se trata de determinar el serogrupo o al cual pertenece una cepa particular de *E. coli*. Existen 91 antígenos K reconocidos internacionalmente, y se denominan K1 a K91 (6).

Se reconocen internacionalmente 51 grupos de antígenos H o flagelares, denominándose H1 a H53 (105 antígenos H13 y H22 fueron eliminados del esquema antigénico) (6). Son de naturaleza proteica, termolábiles, y no todas las cepas de *E. coli* los poseen (Fig. 1)

La denominación de "serotipo" se reserva para la expresión de los 3 grupos de antígenos presentes en una cepa, e.g. 076: K80: H2. Cuando no se expresan los antígenos K o H entonces se utiliza el término "serogrupo", e.g. 078: K80, 078. Cuando se trata de una

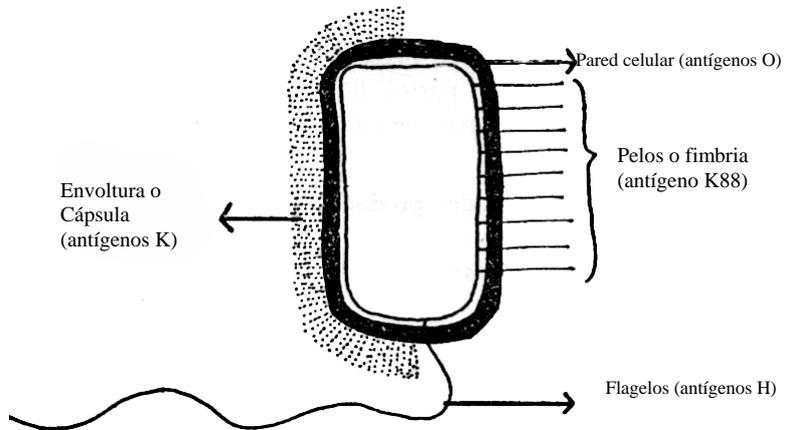


FIG. 1. Localización de los antígenos O, K y H de *E. coli*.

cepa inmóvil o acapsulada debe hacerse notar en la expresión de su serotipo, e.g. 078:K80:H-, 078:K-:H2.

Por mucho tiempo ha sido reconocido que, a pesar de ser un habitante normal del intestino, *E. coli* puede estar asociada a diversas condiciones patológicas tanto del hombre como de los animales. Se ha observado una clara asociación de ciertos serogrupos de *E. coli* con diversos procesos patológicos especialmente en animales recién nacidos, incluyendo el hombre (2,4). En muchos casos se ha demostrado el papel primario que ciertas cepas de *E. coli* juegan como agentes etiológicos de enfermedad, pero en otros aún no existen evidencias convincentes de que pueda desempeñar un papel importante. Las diferentes cepas patógenas de *E. coli* muestran especificidad de huésped, y no sólo eso, sino que poseen atributos de virulencia

distintos, lo que resulta en la producción de diferentes enfermedades.

Recibe el nombre de colibacilosis, un grupo de enfermedades causadas por *E. coli*, principalmente en el animal recién nacido, aunque también en animales de mayor edad. El termino se utiliza para designar diversas manifestaciones entéricas en los humanos, lechones, becerros y corderos, principalmente. También se utiliza el termino para designar manifestaciones sistémicas de la enfermedad en lechones, becerros, corderos y aves. Tradicionalmente, el termino colibacilosis no ha sido aplicado a infecciones del tracto urinario, glándula mamaria y abscesos causados por *E. coli*.

A pesar de ser *E. coli* la bacteria mas estudiada en cuanto a su fisiología y genética, curiosamente los mecanismos patogénicos que operan en las enfermedades producidas por este germen no han sido estudiados con la atención necesaria. Sólo recientemente algunos investigadores en varias partes del mundo se han preocupado por diversos aspectos de la patogénesis de la colibacilosis.

II. Enfermedades producidas por *E. coli*

1. Colibacilosis de los cerdos

En los cerdos, la colibacilosis puede manifestarse en 4 síndromes: 1) Diarrea del recién nacido, 2) Diarrea a las 3 semanas de edad, 3) Diarrea al destete y 4) Enfermedad edematosa.

La manifestación más común en los lechones es la diarrea sin enteritis ni bacteremia (7). Sin embargo, hay quien afirma que en la mayor parte de los brotes de colibacilosis en porcinos de 2 a 3 días de edad la enfermedad es septicémica y se caracteriza por muerte súbita (16). Gyles (72) estipula que cuando se aísla *E. coli* enteropatógena de los órganos internos de un lechón con diarrea y, además se acompaña del aislamiento de grandes cantidades de *E. coli* enteropatógena a partir del intestino delgado anterior, el diagnóstico es colibacilosis entérica mas que colibacilosis septicémica. La enfermedad ocurre principalmente durante la primera semana de edad y se caracteriza por la pérdida de líquido y electrolitos con las heces, lo que produce deshidratación marcada que, inclusive, puede desencadenar la muerte. Es característico de un brote de colibacilosis en lechones recién nacidos que no todas las camadas están afectadas en un momento dado y que, frecuentemente, no todos los lechones de una camada estén afectados. El porcentaje de lechones afectados

que se recupera depende de la severidad de la diarrea y de los recursos terapéuticos empleados (4). Los lechones afectados continúan mamando hasta poco antes de su muerte (8). A la necropsia, se encuentran manifestaciones de deshidratación, distensión del intestino con líquido en mayor o menor grado, y los cuartos posteriores sucios con líquido o heces semisólidas (4). El estómago generalmente aparece normal pero lleno con leche coagulada. El intestino delgado se encuentra distendido con líquido, moco, gas y partículas de leche coagulada. En la mayoría de los animales, examinados inmediatamente después de la muerte, no hay congestión u otra evidencia de inflamación (4). Es importante examinar los lechones tan pronto como sea posible después de la muerte, ya que los cambios *postmortem* pueden ser confundidos con cambios de origen inflamatorio (7). Las características antes mencionadas son suficientes para distinguir la colibacilosis de la infección con *Clostridium perfringens* del tipo C, de la gastroenteritis transmisible y de pérdidas asociadas con agalactia de la cerda (8).

La gran importancia económica que tiene la colibacilosis en los cerdos está ejemplificada por un estudio llevado a cabo por el Servicio de Investigación Veterinaria de Inglaterra durante 1970 (13): De 6061 muertes, el 36% se atribuyó a *E. coli*, comparado con solamente 1.3% causado por *Salmonella*; la mayoría de las muertes por *E. coli* ocurrieron en lechones jóvenes. De un total de 1075 muertes en lechones de menos de una semana de edad, el 44.4% fue debido a *E. coli*, y de 4140 muertes en lechones de 1 a 16 semanas de edad, casi el 40% se consideró debido a este organismo. La colibacilosis apareció también como causa predominante de muerte de lechones jóvenes en un estudio reciente llevado a cabo en la ciudad de México (15).

Los resultados de exámenes serológicos de cepas de *E. coli* han mostrado que solamente un pequeño número de serogrupos se encuentran involucrados en infecciones entéricas de lechones (cuadro 1) (8,17-21).

En la ciudad de México, los serogrupos de *E. coli* asociados con colibacilosis entérica de lechones (22), son los siguientes: 096, 05, 08, 06, 045, 0139, 0149, 0138, 0108 y 035.

La enfermedad edematosa de 105 cerdos, también conocida como edema intestinal del cerda, ocurre principalmente en cerdos de rápido crecimiento a la edad de 8 a 12 semanas, frecuentemente varios días después del destete, vacunación, embarque a cambios en la dieta. Describiremos la enfermedad en los términos de Barnum

et al. (4): Los cerdos afectados generalmente se encuentran muertos sin haber mostrado signos de enfermedad; sin embargo, cuando se observan, estos se refieren a incoordinación muscular, parálisis parcial y ceguera. Los párpados pueden estar engrosados por edema. La mayoría de los cerdos afectados mueren en un lapso no mayor de 24 horas. A la necropsia, la lesión característica es edema sanguinolento o rojizo de los tejidos. Puede encontrarse también edema en la submucosa de la región cardiaca del estómago, en el mesenterio, entre las espirales del colon, en los párpados, sobre los huesos frontales, los pulmones, y ocasionalmente en el tejido subcutáneo a lo largo de la línea medio ventral o garganta. Los ganglios linfáticos mesentéricos frecuentemente están aumentados de volumen y

CUADRO 1

Serogrupos de *E. coli* frecuentemente asociados a colibacilosis entérica de lechones (8, 17, 21).

08:K87,K88ab
 08: K87: K88ac
 045 :K"E65",K88ac
 0116:K"V17",K88ac
 0138: K81,K88ac
 0141 :K85ab,K88ab
 0141 :K85ac
 0147: K89,K88ac
 0148: K91,K88ac
 0157 (anteriormente
 OX36 (19)

exudan líquido en abundancia al ser cortados. Puede haber exceso de líquido seroso en las cavidades pleural, pericárdica o peritoneal. Ocasionalmente no se encuentra edema en los tejidos de cerdos con enfermedad edematosa.

2. Colibacilosis de los becerros

La colibacilosis se presenta en todas las razas de ganado bovino, tanto de carne como de leche, principalmente durante las primeras 2 semanas de edad (4). Los síndromes asociados con colibacilosis de los becerros han sido clasificados en 3 por Gay (23) sobre la base de hallazgos clínicos y bacteriológicos, y tomando en cuenta la posible patogenia:

1) *Colisepticemia*. La mayoría de los casos de colibacilosis septicémica suceden durante los primeros días de vida. Los becerros enfermos presentan fiebre y se encuentran débiles. Tienen frecuencia cardiaca y respiratoria elevadas y puede o no haber diarrea. La colisepticemia es mas frecuente en becerros privados de calostro. El becerro muere rápidamente a causa de una fase de bacteremia. En algunos casos el curso de la enfermedad es mas prolongado y *E. coli* se localiza en los tejidos de uno o mas órganos, dando origen a una variedad de síndromes clínicos. *E. coli* parece tener predilección por las articulaciones y las meninges, de tal manera que la poliartritis y la meningitis son secuela frecuente de la septicemia (4).

2) *Enterotoxemia*. Caracterizada también por colapso y muerte rápida del becerro. Sin embargo, esta asociada con la proliferación de ciertas cepas de *E. coli* en el intestino, sin bacteremia. La muerte es producto quizá de una toxemia.

3) *Colibacilosis entérica*. Es parte del síndrome diarreico. La muerte puede ocurrir o no dependiendo de la severidad de los desajustes fisiológicos.

Smith (7) diferenció 2 cuadros patológicos dependiendo de si los becerros habían o no tomado calostro. En los becerros privados de calostro, la enfermedad era aguda y caracterizada por colapso súbito; había bacteremia y la diarrea, cuando estaba presente, se consideró generalmente de poco significado. Las cepas potencialmente bacterémicas de *E. coli* se caracterizaban por su habilidad para crecer en suero fresco pre-calostroal. La principal enfermedad de becerros que habían ingerido calostro estaba caracterizada por diarrea, y en tales casos generalmente no había bacteremia. La diarrea era el signo clínico predominante y persistía por varios días antes de que los becerros afectados se enfermaran severamente. Los signos clínicos subsecuentes parecían ser consecuencia directa de la diarrea. Logan y Penhale (24) observaron también una división clara del "complejo diarreico neonatal" en dos entidades diferentes, dependiendo de la administración de suero calostroal intraperitoneal. El suero no influyó sobre la diarrea, mientras que el tratamiento protegió a los becerros de desarrollar septicemia después de la administración oral de una cepa invasiva de *E. coli* (078:K80).

La mayoría de los estudios serológicos sobre cepas de *E. coli* aisladas de becerros enfermos se han hecho en cepas aisladas de colisepticemia y es evidente que ciertos serotipos y grupos o se encuentran comúnmente asociados con este síndrome. Solamente

se conocen unos cuantos serotipos asociados con la forma entérica de la enfermedad. Esto es debido, en parte, a la dificultad que existe para valorar el significado etiológico de una cepa de *E. coli* aislada del intestino de un becerro con diarrea (23). Entre los serogrupos asociados con colisepticemia se pueden citar: 078: K80, 0137: K79, 035 y 015 (23). Los serogrupos que han sido asociados con enterotoxemia son principalmente 09 y 0101, que poseen antígeno K del tipo A (23).

3. Colibacilosis de los corderos

Se reconocen 2 manifestaciones de infección por *E. coli* en corderos: Sistémica y entérica. La colibacilosis se considera la causa mas importante de mortalidad en corderos (25,26). La forma mas frecuente es la septicémica hiperaguda, siendo afectados 2 grupos de edad, principalmente: De 1 a 2 días y de 3 a 8 semanas (16). Incluye bacteremia generalizada con colapso súbito y poca o no diarrea, o bien, infección localizada con signos nerviosos (meningitis y/o artritis (26). Las cepas de *E. coli* involucradas en colisepticemia de corderos pertenecen a serogrupos similares a los asociados con septicemia de becerros, particularmente el grupo 078: K80.

La diarrea colibacilar de los corderos, de 2 a 8 días de edad, produce depresión, anorexia, deshidratación y, en algunos casos, muerte. Entre los serogrupos de *E. coli* asociados a diarrea en corderos están 08 (8) y 0 121 (27).

4. Colibacilosis de las aves

La infección por *E. coli* en las aves tiene una gran variedad de manifestaciones, incluyendo enteritis, artritis, infección del saco vitelino (onfalitis), coligranuloma (enfermedad de Hjarre), panoftalmitis, colisepticemia, peritonitis, salpingitis, e infección de los sacos aéreos. Las infecciones por *E. coli* producen fuertes pérdidas económicas a la industria avícola (28). De todas las manifestaciones, la colisepticemia es la mas común (2).

La colisepticemia es una enfermedad principalmente de pollos de engorda de 6 a 10 semanas de edad, pero también ocurren casos en pollitos jóvenes, guajolotes (2) y otras aves (28,29). La enfermedad se caracteriza por pericarditis fibrinosa, inflamación de los sacos aéreos y perihepatitis (2). La pericarditis generalmente esta asociada can miocarditis y produce cambios electrocardiográficos, a

menudo antes de que aparezcan lesiones macroscópicas (30). La pericarditis fibrinosa y perihepatitis en pollos no fueron observadas en guajolotes jóvenes infectados experimentalmente (31) ni son hallazgos comunes a la necropsia de guajolotes en brotes naturales de la enfermedad (32).

Muchos serotipos de *E. coli* han sido aislados de brotes en aves, siendo los grupos 02:K1, 078:K80 y 01:K1 los mas frecuentemente reportados. Estos 3 serogrupos han sido comúnmente aislados de colisepticemia, enteritis, panoftalmitis, artritis, infección del saco vitelino, peritonitis y salpingitis. El serotipo 02: K1: H5 tiene una marcada tendencia para invadir tejidos de las aves, aislándose raramente del intestino (2,29).

CUADRO 2

Serogrupos de *E. coli* asociados a procesos patológicos en el hombre (33)

<i>Síndrome</i>	<i>"Diarrea infantil"</i>	<i>"Diarrea del viajero (adultos)"</i>	<i>Disentería ("Colitis")</i>
	055: K59(B5)	06	028:K73(B18)
	0111:K58(B4)	015	0112 :K66(B11)
	026:K60(B6)	078	0124:K72(B17)
	086:K61 (B7)	0148	0136:K78(B22)
Serogrupos	0119:K69(B14)		0143:K"X1"
	0126:K71 (B16)		0144:K"X2"
	0127:K63(B8)		
	0128:K67(B12)		

5. *Colibacilosis del hombre*

Las manifestaciones mas comunes par *E. coli* en el hombre son las diarreas, principalmente en bebés menores de un año. La diarrea colibacilar guarda mucha similitud con el síndrome del cólera, pudiendo presentarse como "diarrea infantil" o como "diarrea de viajeros" en adultos (33-35). La diarrea par *E. coli* se caracteriza, en su forma aguda, par diarrea acuosa abundante, deshidratación marcada e insuficiencia circulatoria (33).

Otra manifestación de la infección por *E. coli* en el hombre es un síndrome disentérico, similar a la shigelosis ("colitis"), que se presenta tanto en niños mayores como en adultos (33,36). El cuadro

clínico de este tipo de enfermedad varia en el huésped, pero en su forma mas severa, incluye disentería (heces sanguinolentas con moco y células inflamatorias), tenesmo, hiperpirexia e hipotensión.

Los serogrupos de *E. coli*, asociados a los diferentes cuadros clínicos en los humanos, se dan en el cuadro 2 (33).

III. Mecanismos de patogenicidad que operan en las enfermedades producidas por *E. coli*

1. *Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis entérica*

En virtud de que las diversas cepas patógenas de *E. coli* producen una variedad de síndromes, el termino "patógena", aplicado a una cepa particular, no dice mucho en relación con el tipo de condición patológica que es capaz de producir. Se ha acuñado el termino "enteropatógena" (37) para cualquier cepa de *E. coli* potencialmente capaz de causal una condición patológica entérica y no extraintestinal. Sin embargo, ha sido demostrado que, aun entre las cepas enteropatógenas, existen diferencias en cuanto a sus propiedades de virulencia (35).

Nielsen *et al.* (47) han propuesto lo siguiente secuencia de eventos en el desarrollo de diarrea colibacilar de lechones:

1) El animal necesita infectarse con una cepa de *E. coli* enteropatógena. Las cepas enteropatógenas de *E. coli* se encuentran en abundancia en el ambiente del cerdo, pero cuando son poco abundantes, generalmente su presencia no conduce al desarrollo de diarrea en los lechones. Probablemente se requiera una cierta dosis infectante para que se pueda establecer la enfermedad.

2) *E. coli* debe proliferar en el intestino delgado anterior. Los factores que pueden influir sobre esta proliferación son:

a) Motilidad intestinal: cualquier inhibición de los movimientos peristálticos puede favorecer la multiplicación bacteriana.

b) Secreción glandular: tiende a arrastrar las bacterias, por lavado, hacia afuera del intestino delgado anterior.

c) Factores nutricionales: disponibilidad de nutrientes para la multiplicación bacteriana.

d) Anticuerpos (antibacterianos o antitóxicos) en el lumen intestinal.

e) Ecología microbiana intestinal: competencia, antagonismo o simbiosis.

- 3) Producción de enterotoxina por parte de *E. coli*.
- 4) Acción de la enterotoxina en el intestino. Esta toxina causa la salida de líquido y electrolitos hacia el lumen intestinal, lo que resulta en diarrea.

a) *Colonización del intestino*

Hemos dicho ya que la colibacilosis es una enfermedad que se presenta principalmente en el animal recién nacido. Este hecho quizá está asociado a circunstancias especiales que se presentan en el tubo gastrointestinal de animales neonatos. En primer lugar, el pH ácido del contenido estomacal en animales adultos constituye una barrera efectiva para la colonización intestinal de microorganismos que penetran por vía oral. El pH del contenido estomacal de lechones al nacimiento es comparativamente alto, alcanzando valores cercanos a la neutralidad, y *E. coli* es capaz de multiplicarse aquí, pasando en grandes cantidades hacia el intestino delgado (7).

El antagonismo bacteriano operante a nivel intestinal puede ser otro factor importante en el establecimiento de cepas enteropatógenas de *E. coli*. Se han sugerido varios mecanismos gracias a los cuales una especie bacteriana puede influenciar el comportamiento de otra: cambios en el potencial de óxido-reducción (39), competencia por fuentes de carbono fermentable en un ambiente reducido (40) y diferencias en la velocidad de crecimiento (43). Existe evidencia experimental de que los ácidos grasos de cadena corta, especialmente el ácido butírico, ejercen un efecto inhibitorio sobre las bacterias coliformes (41,42). En un estudio reciente (41) se asoció la ingestión de partículas sólidas de alimento, por ratones de 11 días de edad, con la aparición de bacilos fusiformes anaerobios estrictos en el lumen intestinal, y con una disminución del número de coliformes del orden de 10^4 . Se culpó a los bacilos fusiformes anaerobios de la producción de los ácidos grasos que aparecieron simultáneamente, ya que la eliminación de estos gérmenes anaerobios con penicilina coincidió con la desaparición de niveles significativos de ácido butírico y un aumento en el número de coliformes del orden de un millón. Es importante hacer notar que el ácido butírico no está presente en el animal joven y solamente aparece cuando se establecen las bacterias fusiformes anaerobias, varios días después del nacimiento (41).

La producción de bacteriocinas en el tubo intestinal tal vez no sea un factor importante para la colonización del intestino por cepas

enteropatógenas de *E. coli*. La administración oral de grandes cantidades de *E. coli* colicinogénica a lechones durante el periodo posterior al destete, no influyó sobre la emergencia o dominancia de *E. coli* que mostró ser sensible *in vitro* a la colicina producida por la cepa introducida (44). Ha sido difícil atribuir a la colicinogenia un papel importante durante el establecimiento de cepas de *E. coli* en el intestino (43). Se ha demostrado que el contenido intestinal del ratón inactiva una variedad de colicinas, posiblemente debido a su contenido de proteasas, lo que parece explicar por que no se ha podido demostrar un papel significativo de las bacteriocinas en la ecología microbiana del tubo intestinal (45).

Parece lógico asumir que cualquier cosa que interfiera con la motilidad intestinal, predispondría a la colonización bacteriana. Sin embargo, en ausencia de suficientes informes, sólo puede especularse que el enfriamiento, cambios en la dieta y destete, reducen la motilidad intestinal, ofreciendo ventajas para la colonización del intestino por *E. coli* (46).

Los anticuerpos, tanto antibacterianos como antitóxicos, pueden ser importantes en la resistencia a la colibacilosis entérica(48-54). Anticuerpos contra *E. coli* existen normalmente en animales que no han sido artificialmente vacunados (54). En virtud de esto, es conveniente considerar que los animales, normalmente, quedan predisuestos a la enfermedad durante periodos de relativa deficiencia de anticuerpos (46). Se ha sugerido que los lechones recién nacidos se encuentran predisuestos a la colibacilosis antes de tomar calostro, y nuevamente a las 3 semanas de edad, cuando la inmunidad pasiva se desvanece (Al destete, los lechones se encuentran también con una baja en los niveles de anticuerpos, ya que se ha demostrado que anticuerpos anti-*E. coli* persisten en la leche de la marrana a un título mas bajo, aun después del periodo calostrual (56). La administración constante de leche no concentrada de marranas inrnunizadas ofrece cierta protección contra *E. coli* enteropatógena en lechones gnotobióticos (57). La leche de marranas inmunizadas, tomada 7 días después del parto, contiene aproximadamente 0.2g de globulinas gama por cada 100 ml (58), y esta concentración no baja durante los primeros 28 días de la lactación (59). El significado de estas observaciones esta en el hecho de que se puede ofrecer cierta protección contra *E. coli* enteropatógena en cerdos, mediante la administración de anticuerpos contenidos en la leche, aun cuando se suministre en cantidades muy bajas comparadas con el consumo normal de leche (57). Resulta relativamente fácil concluir que la falta de sumi-

nistro de anticuerpos con la leche, después del destete, sea un factor predisponente para la colibacilosis, que suele presentarse bajo estas circunstancias. La correlación de las 3 edades a las cuales se presenta la colibacilosis entérica en los cerdos (neonatal, 3 semanas y al destete) con períodos de deficiencia relativa de anticuerpos, sugiere fuertemente que la deficiencia de los anticuerpos predispone a la enfermedad (46).

Se sabe que en los casos de colibacilosis entérica espontánea, la cepa responsable de *E. coli* prolifera activamente en el intestino delgado anterior (7, 47). Se ha mostrado que un atributo de virulencia de la cepas enteropatógenas de *E. coli*, es su capacidad de adherirse a la mucosa intestinal, resistiendo así los efectos de la motilidad y del lavado intestinal (65, 67), mientras que las cepas no enteropatógenas permanecen en el lumen intestinal. *Vibrio cholerae* muestra una asociación similar con el epitelio intestinal, y existen evidencias de que es necesaria una asociación íntima entre los vibrios y las células del huésped si se ha de producir la acumulación de líquido en segmentos ligados de intestino (68). Sin embargo, no es necesario para *E. coli* enteropatógena establecer un índice de asociación alto con el epitelio intestinal de segmentos ligados para provocar la acumulación de líquido (69). Es menester hacer notar, no obstante, que en condiciones naturales, la producción de diarrea colibacilar siempre está asociada a la colonización del intestino delgado anterior por parte de *E. coli*, lo que implica resistencia de este germen a los efectos del lavado y motilidad intestinales. En segmentos ligados de intestino, estos efectos quedan anulados.

Se ha demostrado que *E. coli* enteropatógena se adhiere o penetra a la capa de mucopolisacárido que cubre las vellosidades intestinales de los porcinos (66) y se ha pensado que la producción de enzimas mucinolíticas (mucinasas) podría ser un atributo importante para el establecimiento de cepas enteropatógenas en la capa de mucopolisacárido del intestino (70). Sin embargo, Arbuckle (66) no encontró diferencias en la producción de mucinasa entre cepas enteropatógenas de *E. coli* y cepas aisladas de cerdos sanos. Aunque las cepas de *E. coli* no enteropatógenas son capaces de producir tanta mucinasa como las cepas enteropatógenas, aquéllas no pueden colonizar la capa de mucopolisacárido con la capacidad con que lo hacen las cepas enteropatógenas (65, 66).

La mayoría de las cepas enteropatógenas de *E. coli* de cerdos poseen el antígeno K88 (8). Esta característica puede incrementar la colonización del intestino delgado anterior (71, 72). El antíge-

no K88 tiene propiedades adhesivas que parecen ser esenciales para la virulencia de las cepas enteropatógenas que lo poseen, constituyendo un determinante de virulencia importante (71). Sin embargo, no todas las cepas enteropatógenas de *E. coli* poseen el antígeno K88, y ciertas cepas que carecen de este antígeno son potentes enteropatógenos. Estas cepas de *E. coli* tal vez posean otras características que les confieran adhesividad (72). El antígeno K88 es de naturaleza protéica (73) y morfológicamente se presenta en forma de pelos o fimbria en la superficie de la célula bacteriana (74). La importancia del antígeno K88 como determinante de virulencia está respaldada por los experimentos de Rutter y Jones (75), los cuales demuestran que anticuerpos anti-K88, contenidos en el calostro de marranas vacunadas con este antígeno purificado (98% de proteína, 0.5% de carbohidratos y 1.5% de ácidos nucleicos), protegen drásticamente a los lechones que los toman si son expuestos a grandes dosis de una cepa de *E. coli* enteropatógena conteniendo antígeno K88. Estos hallazgos sugieren fuertemente que la cepa de *E. coli* utilizada para el desafío fue incapaz de adherirse y colonizar el intestino delgado de los animales desafiados. Un grupo control de lechones, desafiado en la misma forma, desarrolló diarrea en menos de 24 horas después del desafío (75).

El control genético para la síntesis del antígeno K88 radica en un episoma que puede ser transmitido, mediante cruza bacterianas *in vitro*, a cepas que no lo poseen (76). Aprovechando este hecho, Smith y Linggood (71) realizaron una serie de experimentos ingeniosos produciendo variantes K88-positivas y K88-negativas de las mismas cepas de *E. coli*. Demostraron que las cepas que poseían el antígeno K88 estaban capacitadas para colonizar el intestino delgado anterior, tal y como lo hacen las cepas enteropatógenas responsables de brotes naturales de colibacilosis entérica, mientras que las cepas que carecían de este antígeno no podían diferenciarse de las no enteropatógenas en este aspecto. Más aún, cepas enterotoxigénicas de *E. coli* que poseían antígeno K88, produjeron diarrea en los cerdos expuestos a ellas, mientras que variantes de las mismas cepas, sin antígeno K88, pero conservando la capacidad de sintetizar enterotoxina, no fueron capaces de producir diarrea. Estos autores (71) sugieren que el antígeno K88 confiere a las cepas que lo poseen adhesividad al epitelio intestinal.

El hecho de que no todas las cepas de *E. coli* enteropatógenas para los cerdos posean antígeno K88 y sin embargo colonizan el intestino delgado anterior con la misma efectividad, plantea la in-

terrogante de cuáles son los atributos que les permiten la adhesión al epitelio intestinal, como requisito para la colonización. Se ha pensado en la posibilidad de que existan otros organelos de adhesión, diferentes en algún aspecto al antígeno K88 (72). Parece lógico asumir lo mismo para cepas enteropatógenas de otras especies animales. Se ha descrito un antígeno K común (Kco) para cepas de *E. coli* enteropatógenas de corderos y becerros (77) y que tal vez funciona en la misma forma que el antígeno K88 de cepas porcinas. La capacidad de sintetizar este antígeno también es transmisible en cruza bacterianas y todo parece indicar que se trata de un plasmidio (77). La presencia del antígeno Kco en una cepa enteropatógena de *E. coli* 08, resultó en la colonización del intestino delgado de corderos y la consecuente producción de diarrea, mientras que una variante de la misma cepa, sin antígeno Kco, no produjo diarrea ni colonizó el intestino delgado. Esto hace pensar en la posibilidad de que el antígeno Kco pueda funcionar como organelo de adhesión al epitelio intestinal. En su trabajo, Smith y Linggood (77) señalan la naturaleza específica de esta adhesión: El antígeno Kco no es capaz de proporcionar adhesividad sobre el intestino de la cerda, y el antígeno K88 es incapaz de lograr la adhesión al intestino de los corderos y becerros. La posibilidad de que las cepas enteropatógenas de *E. coli* que no poseen antígeno K88, posean otros organelos o características que les permitan adhesividad al epitelio intestinal, se ve respaldada por otros sistemas bacteria-huésped que también involucran adhesividad a superficies epiteliales. Se ha demostrado (78) que las cepas virulentas de *Streptococcus pyogenes* conteniendo proteína M, se adhieren bien a células epiteliales del carrillo humano, mientras que la eliminación de esta envoltura de proteína M, o su neutralización con antisuero específico, drásticamente afecta la habilidad de una cepa para adherirse a las células epiteliales. Esta adhesividad constituye un requisito para la virulencia de *S. pyogenes* (78).

b) Enterotoxina

La habilidad de producir enterotoxina parece ser un requisito para la enteropatogenicidad (47, 60-64). Fueron De y Chatterje (79) quienes por primera vez mostraron que el sobrenadante libre de células de un cultivo de *V. cholerae* en caldo, producía la acumulación de líquido en el lumen de segmentos ligados de intestino ligado de conejo. Esta técnica fue adaptada para cepas de *E. coli*

humanas por De, Bhattachary y Sarkar (80) y el intestino del cerdo fue utilizado por primera vez por Nielsen, (81) para cepas porcinas. Utilizando líquido libre de células, obtenido de cultivos en agar blando de cepas de *E. coli* aisladas de cerdos y becerros con diarrea, se demostró la acumulación de líquido, después de su inoculación, en segmentos ligados de intestino (32). Las mismas cepas dilataron segmentos intestinales al ser inyectadas en forma de suspensiones de bacterias vivas. No se produjo dilatación con preparados similares, de cepas que no produjeron una reacción positiva al ser inoculadas como suspensiones vivas. La substancia responsable de la dilatación . fue llamada enterotoxina y resultó ser termoestable al ser calentada a 100° C durante media hora (82). La endotoxina obtenida de cepas enteropatógenas de *E. coli* no dilató el intestino ligado (82). Posteriormente, se describió la que parece ser una enterotoxina adicional producida por algunas cepas enteropatógenas para cerdos (83). Esta enterotoxina adicional difiere marcadamente de la anterior en que es inactivada por el calor a 60° C durante 30 minutos y por antisuero (la primera no es inactivada par antisuero). A la toxina termoestable se le asignó la denominación "ST", mientras que a la termolábil "LT" (84). A pesar de las diferencias existentes entre ambas enterotoxinas, se ha sugerido (84) que son esencialmente 2 formas de la misma enterotoxina, en base a lo siguiente: r(i) Parece ser que todas las cepas enterotoxigénicas porcinas producen ST. Una fracción de ellas produce además LT, pero ninguna produce solamente LT. (ii) La producción de ambas toxinas, ST y LT, es transmisible. Toda cepa ST -LT que transmite la enterotoxigenicidad, transmite ambos caracteres juntos. No fue posible obtener recipientes que produjeran solamente ST a LT. (iii) Antisueros contra organismos vivos de cepas que se conoce producen solamente ST, neutralizaron LT. '(iv) LT y ST producen el mismo síndrome clínico cuando se administran a lechones por vía oral, produciendo diarrea. Smith y Gyles (84) sugieren que ST puede ser la forma activa de la toxina y L T un precursor ligado a proteína. Sin embargo, se han reportado ciertas diferencias entre ambas enterotoxinas, además de las ya señaladas, incluyendo el tiempo de respuesta del segmento ligado de intestino. La acumulación de líquido en respuesta a ST parece ser inmediata, aun a dosis bajas, mientras que la respuesta para LT, aunque es rápida a dosis altas, es retardada a dosis bajas (188). En un estudio sobre la naturaleza genética y molecular de los plasmidios Ent de *E. coli* (190) se encontraron diferencias en cuanto a peso molecular y homología de nucleótidos entre los

plasmidios que codifican sólo para la síntesis de ST y aquellos que codifican para la síntesis de ST - LT.

Solamente ST ha sido reportada de *E. coli* aislada de rumiantes (89), pero tanto ST como LT son producidas por cepas de origen humano (89, 90). La enterotoxina termoestable es básicamente extracelular y, además de obtenerse en líquido extraído de cultivos en agar blando, también puede obtenerse del sobrenadante de cultivos aerados en caldo (60, 82). Smith y Halls (64) demostraron que la producción de ST está determinada por un plasmidio que puede ser transferido a otras cepas de *E. coli* y *Salmonella*. La toxina termolábil es básicamente intracelular, encontrándose en lisados de cepas de *E. coli* implicadas en diarrea de lechones (83), pero también se ha encontrado en el sobrenadante de cultivos en caldo (83, 91). LT es antigénica, mientras que ST no lo es (83, 84, 92). Sueros obtenidos de cerdos inoculados con ST no neutralizaron ni ST ni LT. ST tampoco fue afectada por sueros contra cultivos ST de *E. coli* ni contra organismos ST - LT, aún cuando estos antisueros neutralizaron a LT. LT no es dializable (83) y existen evidencias (93, 107) de que se trata de una molécula muy grande. ST parece ser una molécula mucho más pequeña (93, 108) y es dializable (60, 108).

Se ha puesto de manifiesto la similitud existente entre la enterotoxina termolábil de *E. coli* y la enterotoxina presente en lisados celulares de *V. cholerae* Inaba 569B (83), existiendo una relación antigénica entre ambas enterotoxinas. Un suero anti-coleragenoide fue probado en conejos y cerdos para ver su efecto sobre la reacción del intestino ligado a preparaciones de LT (92). En ambos sistemas, el suero anti-coleragenoide neutralizó totalmente la acumulación de líquido producida por LT. Sin embargo, sueros con altos títulos de actividad contra LT no neutralizaron el efecto del colerágeno, la enterotoxina de *V. cholerae* (189). En un estudio comparativo entre los efectos de enterotoxinas de *E. coli* y *V. cholerae* sobre el intestino delgado de conejos y cerdos (94), no se observaron diferencias en las respuestas de segmentos ligados expuestos a ambas toxinas. Cada enterotoxina causó la acumulación de líquido en ambas especies animales. Observaciones con microscopios óptico y electrónico a las 8 y 16 horas después de la exposición a cada toxina, revelaron un efecto idéntico de ambas enterotoxinas: Las células epiteliales de las vellosidades intestinales, así como los capilares subepiteliales, permanecieron intactos. Hubo erosión local en algunos segmentos, atribuida a presión hidrostática luminal aumentada. cuan-

do el líquido intestinal acumulado se comparó con el suero, se encontró bajo en contenido de proteína, Mg^{++} y Ca^{++} , y alto en $+$, Na^{+} y $HC03^{-}$ (94). Los resultados de este trabajo enfatizan la hipótesis de que la patogénesis de la diarrea causada por ambas enterotoxinas es la misma.

Se piensa que la acción de la enterotoxina de *E. coli* está mediada por la estimulación de la adenilato ciclasa en las células intestinales (95-98). Lo mismo ha sido sugerido en el caso de la enterotoxina de *V. cholerae* (99-102). La estimulación de la adenil ciclasa resulta en un aumento de la concentración intracelular de adenosin-3' -5' -monofosfato AMP cíclico) (99-102). Se ha demostrado la acumulación de AMP cíclico en otros tipos celulares al ser estimulados por enterotoxina de *V. cholerae* (103-106) y *E. coli* (98, 106). La acción de ambas enterotoxinas sobre la adenil ciclasa parece no deberse a la síntesis de nuevas moléculas de esta enzima, sino a la estimulación de las ya existe antes (97, 102). Parecen existir diferencias en el grado de estimulación de la adenil ciclasa entre enterotoxinas derivadas de cepas diferentes de *E. coli* (97), y se está investigando la posibilidad de que existan diferencias en la susceptibilidad de las células intestinales a la estimulación de su adenil ciclasa dependiendo de la edad del huésped (97).

Basándose en que las enterotoxinas de *E. coli* y *V. cholerae* pueden estimular la acumulación intracelular de AMP cíclico en células no intestinales (98, 103-106) se ha desarrollado una prueba rápida y sencilla *in vitro* para la detección de estas enterotoxinas (109). La prueba aprovecha los cambios morfológicos de células de ovario de hámster *in vitro* en respuesta al AMP cíclico (110): Las células, originalmente esféricas, se alargan después del contacto con la enterotoxina. Otros sistemas, utilizando células HeLa (112) y células adrenales (113-115) responden también con cambios en la morfología celular al ser estimulados con enterotoxina.

Es menester poner énfasis en la naturaleza transmisible del factor genético que controla la síntesis de enterotoxina (64, 84, 111). Este hecho, aunado a que la síntesis del antígeno K88, también determinante de patogenicidad, está controlada por un plasmidio transmisible, abre las puertas a la posibilidad de una tremenda importancia epidemiológica. Se ha observado transferencia interbacteriana de factores de resistencia a antibióticos (factores R) *in vivo* en el tubo alimenticio (85-87) y es posible que lo mismo suceda en el caso de los plasmidios que controlan la síntesis tanto de enterotoxina, como del antígeno K88. De hecho, constantemente se

reportan nuevos serotipos de *E. coli* enteropatógenos que bien pudieran tener su origen en la adquisición de estos plasmidios en la naturaleza. Considerando esta posibilidad, deberá plantearse la situación de que tanta confianza debe depositarse en la serotipificación de cepas aisladas de casos clínicos, como único recurso para asignarles, o no, la categoría de "enteropatógenas". Se ha reportado también la asociación de la producción de enterotoxina con plasmidios transmisibles en cepas de *E. coli* aisladas de humanos (88). En un estudio sobre cepas de *E. coli* de origen porcino y humano, la presencia de plasmidios Ent sólo pudo demostrarse en 17% de las cepas estudiadas (190). Se señala en este estudio que no existen evidencias para contradecir la idea de que, en la mayoría de los casos, los genes que gobiernan la síntesis de enterotoxina estén localizados en el cromosoma.

En los becerros, los estudios sobre el papel de *E. coli* en la enfermedad diarreica han sido obstaculizados por el hecho de que la enfermedad no es consistentemente reproducida en condiciones experimentales, lo que ha hecho dudar a algunos autores sobre el papel primario que *E. coli* pueda jugar como agente etiológico (11, 130). Numerosos factores etiológicos han sido señalados como causas de diarrea neonatal en becerros, incluyendo otras especies bacterianas, hongos, *Mycoplasma*, clamidias, protozoarios y virus (131). Ciertos virus han sido específicamente incriminados como agentes etiológicos de diarrea, y se ha sugerido que los serotipos patogénicos de *E. coli* deben ser considerados como oportunistas secundarios capaces de incrementar la severidad de una enfermedad entérica preexistente de origen viral (132). Existen evidencias experimentales de que la endotoxina puede jugar un papel muy importante en ciertas diarreas de origen dietético en los becerros (134):

La dieta puede influir sobre el contenido microbiano del intestino y de esta forma, sobre la cantidad de endotoxina presente. No obstante, existen evidencias que afirman la habilidad de ciertas cepas de *E. coli* para producir diarrea (133): Cepas que dilataron el intestino delgado ligado de becerros y corderos, produjeron diarrea severa cuando se administraron oralmente a becerros y corderos de menos de 20 horas de edad que habían ingerido calostro. Las cepas que no dilataron el intestino, no produjeron diarrea bajo las mismas circunstancias. En los animales en los cuales se produjo la diarrea, la cepa de *E. coli* inoculada proliferó intensamente en el intestino delgado anterior.

c) *E. coli penetrante, no enterotoxigénica*

Se ha reportado que, en el hombre, además de las cepas enterotoxigénicas que producen un síndrome diarreico similar al cólera, existen cepas de *E. coli* capaces de penetrar las células del epitelio intestinal y causar un síndrome similar a la disentería causada por *Shigella* (35). El cuadro clínico producido por estas cepas de *E. coli* varia con el huésped, pero en su forma mas severa. incluye disentería (sangre, moco y células inflamatorias en las heces diarreicas), tenesmo, hiperpirexia e hipotensión. Es interesante hacer notar que, de los serogrupos de *E. coli* asociados con el síndrome disentérico (0144, 0143, 0136, 0124 y 028) todos, excepto el 0136, poseen antígenos somáticos relacionados con los serotipos de *Shigella* (36). Se ha sugerido que la calidad del antígeno O puede afectar la capacidad de penetración. En un estudio utilizando híbridos de *Sh. flexneri* que expresaban antígenos somáticos de *E. coli*, se encontró que aquellos híbridos con antígeno 045 de *E. coli*, retuvieron su virulencia, mientras que los que exhibían el antígeno 08, la perdieron (129). Otra similitud entre la shigelosis y la disentería colibacilar, es el sitio predominante de multiplicación de los microorganismos en el tubo intestinal: El colon. Los atributos de virulencia de este tipo de cepas de *E. coli*, que les permiten invadir el epitelio intestinal, pueden demostrarse en los mismos sistemas utilizados para el caso de *Shigella*: Exposición del epitelio intestinal, exposición de un cultivo de células HeLa, o por exposición de la membrana conjuntival de cuye (35). Este ultimo sistema permite diferenciar las cepas penetrantes de las no penetrantes, por el desarrollo de queratoconjuntivitis severa, 24 a 48 horas después de la exposición (35, 46).

Es lógico asumir que, al igual que en el caso de *Shigella*) las cepas penetrantes de *E. coli* deben sobrevivir una vez que han penetrado el epitelio intestinal, para poner de manifiesto su virulencia. Se ha visto que una cepa híbrido *Escherichia coli-Shigella flexneri* con 3 alteraciones detectables en su información genética (síntesis deficiente de metionina, sensibilidad incrementada al sulfato laurilo de sodio y control relajado de la síntesis de ARN), puede invadir las células epiteliales, pero aparentemente no puede sobrevivir *in vivo*, produciendo así disentería abortiva no fatal (127, 128). Se ha indicado que la fagocitosis por las células absortivas intestinales, es el mecanismo por el que *E. coli* penetra al epitelio intestinal, y que las cepas patógenas deben tener un atributo especial de citotoxicidad,

ya que cuando *E. coli* no patógena penetró al epitelio intestinal, no lo destruyó (135).

2. *Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis enterotoxémica*

Esta manifestación de la colibacilosis se caracteriza por la proliferación masiva de ciertas cepas de *E. coli* en el intestino delgado y por la producción de una toxina que es absorbida, produciendo un estado toxémico. Dos ejemplos de este tipo de manifestación son:

La enfermedad edematosa del cerdo (2, 47) y la colibacilosis enterotoxémica de los becerros (23).

Las cepas de *E. coli* asociadas a enfermedad edematosa del cerdo, tienen la habilidad de proliferar en el intestino delgado anterior gracias a su habilidad para adherirse al epitelio, pero no son invasivas. Sólo ocasionalmente se les encuentra en los ganglios linfáticos mesentéricos en muy pequeño número (116). Existen ciertas dudas en cuanto a la naturaleza de la toxina responsable de las lesiones y a su mecanismo de acción. Hay quien considera que la enfermedad edematosa del cerdo es una manifestación de endotoxemia (117) y quienes dicen que se trata de una reacción de hipersensibilidad a ciertos antígenos de *E. coli* (118). Sin embargo, evidencias experimentales señalan que la causa más probable de las lesiones en la enfermedad edematosa, es una toxina diferente de la endotoxina (119-122). Esta toxina ha recibido el nombre "principio de la enfermedad edematosa" (EDP) y reproduce el síndrome después de inyección endovenosa (122).

La arteritis necrótica generalizada, es la lesión prominente en los cerdos afectados con enfermedad edematosa subaguda y crónica (123). Se ha visto (124) que la inyección de varias dosis subletales de EDP produce lesiones vasculares en el cerebro de los cerdos tratados. Parece lógico asumir que la patogénesis de esta enfermedad, es producto de las lesiones vasculares generalizadas que producen un aumento de la permeabilidad vascular. Los signos nerviosos, presumiblemente sean consecuencia del edema en el sistema nervioso central (122, 126). Se ha sugerido que la toxina responsable de la enfermedad edematosa es histidina-descarboxilasa, o por lo menos contiene esta enzima (125), y que el edema encontrado en esta enfermedad, puede ser el resultado de un aumento en la histamina tisular (126).

De los serogrupos de *E. coli* que se encuentran asociados a la enfermedad edematosa del cerdo (8), 0138:K81 y 0141 K85 son a menudo también enterotoxigénicos (122), por lo que, en la enfermedad producida por estos serogrupos, es frecuente la asociación con diarrea (116). Las cepas pertenecientes al serogrupo 0139:K82 generalmente no son enterotoxigénicas (122).

En la forma enterotoxémica de la colibacilosis en becerros, se encuentran asociadas varias cepas mucoides de *E. coli* que poseen antígenos K del tipo A, y que generalmente pertenecen a los grupos 08, 09 y 0101. El curso de la enfermedad es muy corto, y la muerte sobreviene en pocas horas después de 100 síntomas iniciales. La enfermedad se asocia con una proliferación masiva de estas cepas de *E. coli* en el intestino delgado, y es probable que el síndrome resulte de la absorción de endotoxina, ya que semeja en varios aspectos al observado después de inyección endovenosa de endotoxina purificada (23).

3. Mecanismos de patogenicidad que operan en la colibacilosis septicémica

La mayoría de los estudios sobre mecanismos de patogenicidad en las infecciones por *E. coli* se han hecho sobre colibacilosis entérica, pero muy pocos se han hecho acerca de colibacilosis sistémica. Es indudable que la relación huésped-bacteria en invasiones sistémicas por *E. coli* es mas compleja que la establecida en colibacilosis entérica. Esto es debido a la gran variedad de tipos celulares involucrados y a la complejidad de los nichos bioquímicos en que toma lugar. Las relaciones huésped-parásito en las enfermedades producidas por bacterias, involucran dos factores principales: 1) Las propiedades de los microorganismos, que los capacitan para producir enfermedad y 2) la forma en que el huésped infectado responde a la invasión microbiana (1). La invasión sistémica por ciertas cepas de *E. coli* es la manifestación mas común de la colibacilosis en las aves y becerros.

No existe dificultad para reproducir la colisepticemia en becerros privados de calostro al ser expuestos a cepas invasivas de *E. coli*. Se ha producido exitosamente bacteremia experimental por la administración oral de ciertos fagotipos de *E. coli* aislados del contenido intestinal de becerros que habían recibido calostro, aislándose el mismo fagotipo en cultivo puro, de la sangre de los becerros enfermos (11). Está bien reconocida la habilidad que tienen ciertos sera-

tipos de *E. coli* para producir infección generalizada en el becerro después de la inoculación oral o endovenosa (136).

Generalmente se aíslan sólo un serotipo de *E. coli* de la sangre u órganos internos de un becerro con colibacilosis septicémica (23). Sin embargo, en un estudio con 28 becerros, se encontró un promedio de 2.9 cepas por animal, e incluso se aislaron hasta 12 cepas de un solo animal (137). Se ha reportado que, eventualmente, puede existir migración postmortem de *E. coli* del intestino a los órganos intemos (11), por lo que debe practicarse el examen bacteriológico inmediatamente después de la muerte para evitar la complicación del diagnóstico.

El valor protector que tiene el calostro contra la colisepticemia está bien documentado (138). Se ha reportado (11) que, en contraste con becerros enfermos que habían ingerido calostro, se encontró un número mucho mayor de *E. coli* en todas las regiones del tubo alimenticio en la mayoría de los becerros enfermos privados de calostro. Está bien establecido que el becerro recién nacido adquiere su inmunidad pasiva materna únicamente por vía del calostro (23, 138). Se ha descrito (139) un promedio de vida de 23 días para los anticuerpos calostrales en el becerro, y la absorción de las globulinas gama por las células epiteliales del intestino delgado empieza 10 minutos después de su administración (138). La absorción de los anticuerpos calostrales se limita a las primeras 24 o 36 horas después del nacimiento y después de este periodo solamente se absorbe una fracción insignificante (140). No se conoce cual es el mecanismo que gobierna el cierre de esta absorción. Glantz y Jacks (141), utilizando pruebas turbidimétricas para globulinas gama mostraron que sus becerros experimentales tenían globulinas gama independientemente de haber o no mamado de su madre, pero sólo encontraron anticuerpos anti-O contra los serogrupos de *E. coli* probados, en los becerros que habían recibido calostro, pero no en los privados de él. En efecto, se han detectado (142) pequeñas cantidades de IgM e IgG en suero precalostrado de becerros recién nacidos, los cuales aumentaron 2 a 25 veces después de ingerir calostro. Se demostró que el suero de becerros recién nacidos privados de calostro tenía actividad de complemento, conglutinina y actividad bactericida, pero carecía de concentraciones detectables de anticuerpos específicos termoestables contra bacterias o eritrocitos de borrego (143).

Existen reportes contradictorios acerca de si aglutininas específicas anti-O y anti-K son factores importantes en la protección de los becerros contra la colisepticemia. Por un lado, Gay y colabo-

radadores (144, 145) sugieren que las aglutininas específicas contra los antígenos O y K de *E. coli* no juegan ningún papel en la protección del becerro contra la colisepticemia. Por otro lado, existe evidencia experimental que apoya el criterio de que los anticuerpos aglutinantes específicos, especialmente anti-K, son factores de protección (141, 146).

Las inmunoglobulinas encontradas en el calostro son IgA, IgG e IgM pero, cuantitativamente, las 2 últimas son las principales inmunoglobulinas encontradas en el calostro bovino, existiendo una amplia variación en la cantidad de ambos componentes en diferentes muestras (147). Becerros que desarrollaron septicemia, eran deficientes tanto en IgM como en IgG, mientras que becerros con niveles altos de estas globulinas, sobrevivieron (148). Se ha observado una relación directa entre el estado *hipo- o agammaglobulinémico* de un becerro, y su susceptibilidad a la invasión septicémica por serotipos patógenos de *E. coli*, independientemente de haber o no ingerido calostro (138).

La mayoría de los agentes bacterianos inician la infección de un huésped a través de las membranas mucosas. Para iniciar la infección, las bacterias patógenas deben, primero, sobrevivir sobre las superficies mucosas, compitiendo con comensales, y luego, penetrar en los tejidos. Factores microbianos, químicos y físicos, juegan importantes papeles para limitar la colonización bacteriana. Se desconocen los mecanismos bioquímicos por los cuales las bacterias sobreviven sobre las membranas mucosas y cómo es que las penetran. En un estudio (135), se observó que la fagocitosis por las células intestinales, es el mecanismo por medio del cual *E. coli* penetra en el epitelio intestinal. La invasión de *E. coli* en casos de colisepticemia de becerros, no necesariamente tiene su origen en el intestino, sino que puede ocurrir a través del ombligo o desde otras áreas tales como las mucosas nasal o faríngea (23). Se ha pensado en las tonsilas como posibles puertas de entrada en varias infecciones. Las bacterias pueden fácilmente alojarse en las criptas tonsilares, y probablemente se multiplican en la queratina epitelial; cuando los macrófagos invaden las criptas, las bacterias son fagocitadas y transportadas a lo profundo del tejido tonsilar y, aparentemente, también a los ganglios linfáticos suprafaríngeos vecinos (149). Por lo tanto, la fagocitosis juega un papel en la diseminación del microorganismo invasor.

Smith (11) observó que la propiedad esencial de una cepa de *E. coli* potencialmente bacterémica, era su habilidad para crecer

en suero fresco precalostral, y sugirió que sustancias bactericidas en el suero de berros, que han ingerido calostro, juegan un papel importante en la protección de estos becerros contra la invasión sistémica por *E. coli*. Sin embargo, Glantz *et al.* (150) no encontraron relación alguna entre la actividad bactericida del suero y la resistencia del becerro. El suero de ratón no tiene actividad bactericida contra *E. coli* y otros organismos Gram negativos (151, 152), y a pesar de ello, estos animales no parecen ser extremadamente susceptibles a infecciones por estos microorganismos (153). Se observó que la mucina aumenta en gran medida la patogenicidad de cepas septicémicas humanas de *E. coli* para el ratón (154). Pero dado que la mucina no tiene efecto contra la actividad bactericida del suero de ratón, simplemente porque tal actividad no está presente, su efecto debe ser el resultado de la alteración de otros mecanismos, probablemente la fagocitosis (155). Las cepas septicémicas de *E. coli* deben resistir el efecto bactericida de la fagocitosis, por lo menos durante el tiempo necesario para producir la muerte y / ^o las lesiones características de la colisepticemia. Existen evidencias experimentales indirectas en favor de esta hipótesis: Después de inoculación endovenosa de una cepa de *E. coli* 078:K80 en becerros can inmunoglobulinas en su suero, las concentraciones más altas de bacterias en las primeras 48 horas después de la inoculación se encontraron en el hígado, bazo y pulmón, órganos ricos en células del sistema retículo-endotelial; se siguieron recuperando bacterias viables a partir de estos órganos, varios días después de la inoculación, aunque en menor cantidad (136).

La fagocitosis, por lo tanto, puede jugar un papel muy importante en la patogénesis de la infección septicémica por *E. coli*. Los elegantes estudios de Smith y Halls (136) enfatizan la importancia de la fagocitosis en la patogénesis de la infección por *E. coli* 078:K80 en becerros, sus observaciones confirmaron las ya existentes de que los becerros con inmunoglobulinas en su suero poseen una forma de protección contra la bacteremia por *E. coli* que no puede medirse por pruebas bactericidas *in vitro* con suero y sangre. El papel de los anticuerpos sería, entonces, el de sensibilizar a *E. coli* para la fagocitosis. Estos autores también enfatizan qué diferencias entre distintas cepas de *E. coli* en su resistencia, a la fagocitosis, podrían constituir un importante factor para la virulencia particular de cada cepa. Se ha visto (156) que la presencia o ausencia de azúcares específicos en el lipopolisacárido de la pared celular, es un determinante de la capacidad antifagocítica y de la virulencia de *E. coli*.

Otros estudios (157) han definido también el importante papel que juega la fagocitosis en la patogénesis de infecciones producidas por *E. coli*.

Rowley (158) propuso un enfoque cuantitativo de la virulencia bacteriana en base al lipopolisacárido de la pared celular. Él postula que mientras más lipopolisacárido tenga una célula bacteriana, más distante de la membrana citoplásmica estará el sitio donde reaccionen los anticuerpos y fijen el complemento. La reacción bactericida del complemento puede potencializar la fagocitosis (153).

La cantidad y distribución de las cadenas de polisacárido laterales del antígeno O pueden afectar la virulencia y la fagocitosis (159). Cepas lisas del mismo serotipo sedan fagocitadas con diferente velocidad de acuerdo a las características de las cadenas laterales de su antígeno O.

Se ha mostrado que los antígenos K son importantes en la resistencia de *E. coli* a la fagocitosis y el complemento (160, 161). Productos bacterianos capsulares y de superficie, pueden actuar como inhibidores de la ingestión fagocítica por interferencia mecánica o por inhibición de la adsorción de opsoninas séricas (162). Por lo tanto, diferencias cuantitativas en, el contenido de antígeno K, tal vez contribuyan con diferencias en la susceptibilidad a la fagocitosis.

La posible importancia de la actividad bactericida del plasma para proteger los becerros de la bacteremia por *E. coli* no debe ser subestimada. Smith y Halls (136) reconocen esta posibilidad, y Gay (23) señala: "Aunque existen evidencias de que la presencia de aglutininas específicas y actividad bactericida en el suero del becerro le confiere resistencia contra la infección por *E. coli*, también es aparente que no son los únicos mecanismos involucrados ... " Se ha sugerido (163) que la acción bactericida del suero puede servir como una primera línea de defensa, ya que los organismos que sean altamente susceptibles al suero, no podrán causar infección sistémica. La reacción bactericida del suero también puede potenciar la fagocitosis (153), estableciéndose un sinergismo entre ambos mecanismos de defensa.

La actividad bacteriostática del suero, mediada por la transferrina, puede también constituir un factor muy importante de las relaciones huésped-bacteria en la colisepticemia. Esta globulina beta del suero, tiene una gran afinidad por el ión Fe^{++} , y esta propiedad la capacita para unirse al Fe^{++} existente en el ambiente, compitiendo así con las bacterias por este ión que, de otra manera, sería fácilmente incorporado al metabolismo bacteriano (182). Se

ha observado que los compuestos de hierro incrementan la virulencia de *E. coli* (183-185). y otras bacterias (187), posiblemente proporcionando un excedente de iones Fe^{+++} de los que puede unir la transferrina, y habiendo así Fe^{++} disponible para el metabolismo bacteriano. Rogers (186) sugiere que la habilidad de las cepas de *E. coli* para producir catecoles con afinidad por el hierro, puede estar relacionada con la virulencia de este microorganismo.

En las aves, la colisepticemia puede ser reproducida experimentalmente por la inoculación de ciertos serotipos de *E. coli*; pero existe cierta duda acerca del papel preciso que este organismo juega en brotes naturales de la enfermedad. Parece probable que se necesiten ciertos factores predisponentes para que ocurra la infección, siendo las infecciones del tracto respiratorio por virus y *Mycoplasma*, los factores mas importantes de predisposición, aunque en algunos brotes parece ser que *E. coli* es la única causa (2). Ciertos factores ambientales pueden también influenciar la enfermedad, principalmente la ventilación inadecuada y la sobrepoblación. Existe buena evidencia experimental de la interacción de la infección por *Mycoplasma* y condiciones ambientales, como factores predisponentes necesarios para la infección por *E. coli* (164), pero también existen reportes que afirman que la infección por *Myco plasma* no es un factor predisponente importante (165) para. la colibacilosis en las aves.

La inhalación(infección respiratoria) puede constituir la principal vía de entrada de la infección en las aves (166). Se conoce muy poco acerca de las propiedades patogénicas que capacitan a ciertos serotipos de *E. coli* para producir enfermedad en las aves. Se requiere un gran número de bacterias para producir enfermedad, si se compara con otras especies patógenas, como *Pasteurella multocida* que requiere sólo unos cuantos organismos (167). Sin embargo, bajo ciertas condiciones, un número relativamente pequeño de organismos puede causar problemas.

Los mecanismos patogénicos por los cuales *E. coli* ejerce su acción letal en aves y becerros, parecen ser diferentes (155). Se ha obtenido una toxina que es letal para pollos de 2 semanas de edad, a partir de *E. coli* 078:K80 de origen aviar y bovino (168). La toxina es termolábil, de naturaleza proteica, y se le ha asignado la designación CLT. Evidencia experimental obtenida de los estudios hechos sobre los cambios patológicos inducidos en pollos después de la inoculación endovenosa de CLT, fuertemente sugiere que es esta toxina la responsable de los principales efectos patológicos produ-

cidos durante la colisepticemia (155, 169). Los pollos y los guajolotes son muy resistentes a la endotoxina (170-174), por lo tanto, es poco probable que sea el factor responsable de la mortalidad en infecciones septicémicas de estos animales con cepas patógenas de *E. coli*. Sin embargo, se piensa (175-177) que puede tener un papel en la patogénesis de la colisepticemia, ya que produce pequeñas lesiones necróticas en el hígado al ser inoculada en pollos. Gross (178) señala que ni la endotoxina ni las hemolisinas de *E. coli* están asociadas con su capacidad para producir enfermedad en las aves.

Por otro lado, la endotoxina tal vez sea el principal factor responsable de los efectos patológicos producidos por la colisepticemia en los becerros. Es bien conocido que los becerros son muy sensibles a la endotoxina (179, 180). La diarrea observada ocasionalmente en casos agudos de colisepticemia en becerros, posiblemente sea debida a la acción de la endotoxina que resulta de un fuerte estado bacterémico. No se han hecho estudios para observar el efecto que CLT pueda tener en la patogénesis de la colisepticemia en becerros. Esto es debido, en parte, a que CLT no se ha obtenido con un grado de absoluta pureza que permita eliminar los efectos de las pequeñísimas cantidades de endotoxina con que normalmente está contaminada. Becerros inoculados endovenosamente con estos preparados de CLT han muerto, independientemente de que la toxina haya sido calentada o no, lo que sugiere que la muerte fue debida a la contaminación por endotoxina termoestable (181).

REFERENCIAS

1. Davis, B. D., Dulbecco, R., Eisen, H. N., Ginsberg, H. S. y Wood, W. B. *Microbiology*, 2nd. ed. Harper & Row, Hagerstown, Md., 1973
2. Sojka, W. J. *Escherichia Coli* in domestic animals and poultry. *Farnham Royal*, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1965.
3. Edwards, P. R. y Ewing, W. H. *Identificación de Enterobacteriaceae*, 3rd. ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Ma., 1972.
4. Barnum, D. A., Glantz, P. J. y Moon, H. W. Colibacilosis. *Ciba Veterinary Monograph Series/two*. Summit, N. J., 1967.
5. Botsford, J. L. y Demoss, R. D. *Escherichia coli* tryptophanase in the enteric environment. *J. Bacteriol.* 109: 74-80, 1972.
6. Orskov, F. International Escherichia Centre (WHO), Copenhagen, Dinamarca. *Comunicación personal*, 1973.
7. Smith, H. W. y Jones, J. E. T. Observation on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs. *J. Pathol. Bacteriol.* 86:387-412, 1963.

8. Sojka, W. J. Enteric Diseases in new-born piglets, calves and lambs due to *Escherichia coli* infection. *Vet. Bull.* 41: 509-522, 1971.
9. Smith, H. W. The ecology of the intestinal bacteria of the calf with particular reference to *Escherichia coli*. *Vet. Rec.* 72: 1178-1183, 1960.
10. Smith, H. W. y Crabb, W. E. The faecal bacterial flora of animals and man: Its developments in the young. *J. Pathol. Bacteriol.* 82:53-66, 1961.
11. Smith, H. W. Observations on the aetiology of neonatal diarrhea (scours) in calves. *J. Pathol. Bacteriol.* 84: 147-168, 1962.
12. Sears, H. J., Brownlee, I., y Uchiyama, J, K. Persistence of individual strains of *Escherichia coli* in the intestinal tract of man. *J. Bacteriol.* 59: 293-301, 1950.
13. Hugh-Jones, M. 1971 Citado por Sojka, W. J. (14).
14. Sojka, W. J. Enteric colibacillosis in pigs. Conferencias en Mexico, D. F., abril 1973.
15. Sánchez y García, F. F. J. Estudio bacteriológico en lechones enfermos de la Granja "Zapotitlán". *Tesis recepcional.* Fac. Med. Vet. Zoot., UNAM, 1975.
16. Blood, D. C. y Henderson, J. A. *Medicina veterinaria*, 3a. cd. Interamericana, México, D. F., 1969.
17. Gyles, C. L., Stevens, J. B. y Craven, J. A. A study of *Escherichia coli* strains isolated from pigs with gastrointestinal disease. *Can J. Camp. M ed.* 35: 258-266, 1971.
18. Beh, K. J. H. The incidence of enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and *Salmonella* spp. in pigs in New South Wales. *Aust. Vet. J.* 47:379-382,1971.
19. Glantz, P. J. y Clugston, R. E. *Escherichia coli* OX36 (unclassified) isolated from pigs. *Can. J. Camp. Med.* 34: 101, 1970.
20. Sweeney, E. J. Haemolytic *Escherichia coli* in enteric disease of swine. *Irish Vet. J.* 22: 10-15, 1968.
21. Galtz, P. J. y Kradel, D. C. *Escherichia coli* 0149: K91, K88ac: H 10 isolated from pigs with colibacillosis in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 32: 1607-1608, 1971.
22. Romero López, R. M. Mortalidad de lechones: III. Seroagrupación de cepas patógenas de *Escherichia coli* aisladas de lechones de la Granja Experimental "Zapotitlán" de la UNAM. *Tesis.* Fac. Med. Vet. Zoot. UNAM., 1975.
23. Gay, C. C. *Escherichia coli* and neonatal disease of calves. *Bacteriol. Rev.* 29: 75-101, 1965.
24. Logan, E. F. y Penhale, W. J. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. I. The influence of colostral whey and immunoglobulins fractions on experimental colisepticemia. *Vet. Rec.* 88: 222-228, 1971.
25. Loosmore, R. M. 1962. Citado par Sojka, W. J. (8).
26. Roberts, H. E. 1970. Citado por Sojka, W. J. (8).
27. Shaw, W. B. *Escherichia coli* in newborn lambs. *Brit. Vet. J.* 127:214219, 1971.
28. Gross, W. B. Colibacillosis. En *Diseases of poultry*. Editado por Hofstad, M. S. Iowa State University Press, pp. 392-405, 1972.
29. Hemsley, R. V., Barnum, D. A. e Ingram, D. G. Biochemical and sero-

- logical studies of avian strains of *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 11: 90-97, 1967.
30. Gross, W. B. Electrocardiographic changes of *Escherichia coli* infected birds. *Am. J. Vet. Res.* 27: 1427-1436, 1966.
 31. Moorhead, P. D. y Saif, Y. M. *Mycoplasma meleagridis* and *Escherichia coli* infections in germfree and specific-pathogen free turkey poults: Pathologic manifestations. *Am. J. Vet. Res.* 31: 1645-1653, 1970.
 32. Pettit, J. R. *Comunicación personal*, 1972.
 33. Sojka, W. J. *Enteropathogenic Escherichia coli in man and farm animals*. Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, 1973.
 34. Rowe, B., Taylor, J. y Bettelheim, K. A. An investigation of travelers' diarrhoea. *Lancet* 1: 1-5, 1970.
 35. Dupont, H. L., Formal, S. B., Hornick, R. B., Snyder, M. J., Libonati, J. P. Sheahan, D. G., LaBree, E. H. y Kalas, J. P. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *New Engl. J. Med.* 285: 1-9, 1971.
 36. Sakasaki, R., Tamura, K. y Saito, M. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children and adults. *Jap. J. Med. Sci. Bioi.* 20:377-399, 1967.
 37. Neter, E. Enteritis due to enteropathogenic *Escherichia coli*. *Am. J. Dig. Dis.* 10:883-886, 1965.
 38. Craven, J. A. y Barnum, D. A. Ecology of intestinal *Escherichia coli* in pigs. *Can. J. Camp. Med.* 35:324-331, 1971.
 39. Meynell, G. G. Antibacterial mechanisms of the mouse gut. II. The role of Eh and volatile fatty acids in the normal gut. *Brit. J. Exp. Pathol.* 44:209-219, 1963.
 40. Freter, R. *In vivo* and *in vitro* antagonism of intestinal bacteria against *Shigella flexneri*. *J. Infect. Dis.* 110:38-46, 1962.
 41. Lee, A. y Gemmel, E. Changes in the mouse intestinal microflora during weaning: Role of volatile acids. *Infect. Immun.* 5: 1-7, 1972.
 42. Bohnoff, M. y Miller, C. P. Enhanced susceptibility to *Salmonella* infection in streptomycin-treated mice. *J. Infect. Dis.* 111:117-127, 1962.
 43. Craven, J. A., Miniats, O. P. y Barnum, D. A. Role of colicins in antagonism between strains of *Escherichia coli* in dual-infected gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.* 32:1775-1779, 1971.
 44. Tadd, A. D. y Hurst, A. The effect of feeding colicinogenic *Escherichia coli* on the intestinal *E. coli* of early weaned pigs. *J. Appl. Bacteriol.* 24:222-228, 1966.
 45. Kelstrup, J. y Gibbons, R. J. Inactivation of bacteriocins in the intestinal canal and oral cavity. *J. Bacteriol.* 99:888-890, 1969.
 46. Moon, H. W. Pathogenesis of enteric diseases caused by *Escherichia coli*. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 18: 179-211, 1974.
 47. Nielsen, N. O., Moon, H. W. y Roe, W. E. Enteric colibacillosis in swine. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 153: 1590-1606, 1968.
 48. Smith, H. W. y Gyles, C. L. The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. *J. Med. Microbiol.* 3:387-401, 1970.
 49. Kohler, E. M. y Cross, R. F. Feeding bacteria-free whole cell lysates of *Escherichia coli* to gnotobiotic pigs and the effect of giving antisera. *Am. J. Vet. Res.* 32: 739-748, 1971.

50. Smith, H. W. y Linggood, M. A. The effect of antisera in protecting pigs against experimental *Escherichia coli* diarrhoea and oedema disease. *J. Med. Microbiol.* 4:487-493, 1971.
51. Svendsen, J. y Wilson, M. R. Immunity to *Escherichia coli*: Effect of feeding colostrum or serum from vaccinated sows to *Escherichia coli* infected gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.* 32:899-904, 1971.
52. Rutter, J. M. y Anderson, J. C. Experimental neonatal diarrhoea caused by an enteropathogenic strain of *Escherichia coli* in piglets: A study of the disease and the effect of vaccinating the dam. *J. Med. Microbiol.* 5:197-210, 1972.
53. Wilson, M. R. Role of immunity in the control of neonatal colibacillosis in pigs. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 160:585-590, 1972.
54. Enweani, C. C. Vaccine induced antibacterial activity of sera against *Escherichia coli* of porcine origin. *Thesis. University of Guelph*, 1972.
55. Kashiwazaki, M. y Namioka, S. 'O' antibody levels to *Escherichia coli* in pigs. *Cornell Vet.* 59:611-621, 1969.
56. Arbuckle, J. B. R. The occurrence of *Escherichia coli* somatic antibody in pig serum, colostrum and milk, and an investigation of its possible significance in immunity. *Brit. Vet. J.* 124: 273-281, 1968.
57. Wilson, M. R. y Svendsen, J. Immunity to *Escherichia coli* in pigs. The role of milk in protective immunity to *E. coli* enteritis. *Can. J. Comp. Med.* 35: 239-243, 1971.
58. Svendsen, J. y Wilson, M. R. Immunity to *Escherichia coli*. iv. The protein levels in secretions from individual glands of sows during the first seven days of lactation. *Res. Vet. Sci.*, 1971. Citados por Wilson, M. R. y Svendsen, J. (57).
59. Svendsen, J. y Wilson, M. R., 1970. Citados por Wilson, M. R. y Svendsen, J. (57).
60. Kohler, E. M. Enterotoxic activity of filtrates of *Escherichia coli* in young pigs. *Am. J. Vet. Res.* 29: 2263-2274, 1968.
61. Kohler, E. M. Observations on enterotoxins produced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 176:212-219, 1971.
62. Smith, H. W. y Gyles, C. L. The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin *J. Med. Microbiol.* 3:387-401, 1970.
63. Smith, H. W. y Halls, S. Studies on *Escherichia coli* enterotoxin. *J. Pathol. Bacteriol.* 93:531-543, 1967.
64. Smith, H. W. y Halls, S. The transmissible nature of the genetic factor in *Escherichia coli* that controls enterotoxin production. *J. Gen. Microbiol.* 1: 45-49, 1968.
65. Arbuckle, J. B. R. The location of *Escherichia coli* in the pig intestine. *J. Med. Microbiol.* 3: 333-340, 1970.
66. Arbuckle, J. B. R. Enteropathogenic *Escherichia coli* on the intestinal mucopolysaccharide layer of pigs. *J. Pathol.* 104: 93-98, 1971.
67. Bertschinger, H. V., Moon, H. W. y Whipp, S. C. Association of *Escherichia coli* with the small intestinal epithelium. 1. Comparison of enteropathogenic porcine strains in pigs. *Infect. Immun.* 5: 595-605, 1972.
68. Freter, R. Studies of the mechanisms of action of intestinal antibody in

- experimental cholera. *Texas Rep. Biol. Med. Suppl.* 27: 299-316, 1969.
69. Bertschinger, H. U., Moon, H. W., y Whipp, S. C. Association of *Escherichia coli* with the small intestinal epithelium. II. VariatiOns in association index and the relationship between association index and enterosorption in pigs. *Infect. Immun.* 5:606-611, 1972.
 70. Ross, C. A. C. Mucinase activity of intestinal organisms. *J. Pathol. Bacteriol.* 77:642, 1959.
 71. Smith, H. W. y Linggod, M. A. Observations on the pathogenic properties of the K88, Rly and Ent plasmids of *Escherichia coli* with particular reference to porcine diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 4:467-485, 1971.
 72. Gyles, C. L. Comments on the pathogenesis of the neonatal enteric colibacillosis of pigs. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 160:582-584, 1972.
 73. Stirm, S., Orskov, F., Orskov, I. y Mansa, B. Episome-carried surface antigen K88 of *Escherichia coli*. I T. Isolation and chemical analysis. *J. Bacteriol.* 93:731-739, 1967.
 74. Stirm, S., Orskov, F., Orskov, I. y Birch-Andersen, A. Episome carried surface antigen K88 of *Escherichia coli*. I II. Morphology. *J. Bacteriol.* 93: 740-748, 1967.
 75. Rutter, J. M. y Jones, G. W. Protection against enteric disease caused by *Escherichia coli* - A model for vaccination with virulence determinat? *Nature* 242: 531-532, 1973.
 76. Orskov, I. y Orskov, F. Episome-carried surface antigen K88 of *Escherichia coli*. I. Transmission of the determinant of the K88 antigen and influence on the transfer of chromosomal markers. *J. Bacteriol.* 91: 69-75, 1966.
 77. Smith, H. W. y Linggood, M. A. Further observations on *Escherichia coli* enterotoxins with particular regard to those produced by atypical piglet strains and by calf and lamb strains: The transmissible nature of these enterotoxins and of a K antigen possessed by calf and lamb strains. *J. Med. Microbiol.* 5: 243-250, 1972.
 78. Ellen, R. P. y Gibbons, R. J. M protein-associated adherence of *Streptococcus pyogenes* to epithelial surfaces: prerequisite for virulence. *Infect. Immun.* 5: 826-830, 1972.
 79. De, S. N. y Catterje, D. N. An experimental study of the mechanism of action of *Vibrio cholerae* on the intestinal mucous membrane. *J. Pathol. Bacteriol.* 66: 559-562, 1953.
 80. De, S. N., Bhattacharya, K. y Sarkar, J. K. A study of the pathogenicity of strains of *Bac. coli* from acute and chronic enteritis. *J. Pathol. Bacteriol.* 71: :01-01-209, 1956.
 81. Nielsen, N. O. Studies of edema disease of swine. *Thesis.* University of Minnesota, 1963. Citado por Sojh, W. J. (8).
 82. Smith, H. W. y Halls, S. Studies on *Escherichia coli* enterotoxin. *J. Pathol. Bacteriol.* 93:531-543, 1967.
 83. Gyles, C. L. y Barnum, D. A. A heat-labile enterotoxin from strains of *Escherichia coli* enteropathogenic for pigs. *J. Infect. Dis.* 120:419-426, 1969.
 84. Smith, H. W. y Gyles, C. L. The relationship between two apparently

- different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. *J. Med. Micro biol.* 3:387-401, 1970.
85. Reed, N. D., Sieckmann, D. G. y Georgi, C. E. Transfer of infectious drug resistance in microbially defined mice. *J. Bacteriol.* 100: 22-26, 1969.
 86. Smith, H. W. Transfer of antibiotic resistance from animal and human strain5 of *Escherichia coli* to resident *E. coli* in the alimentary tract of man. *Lancet* 2: 1174-1176, 1969.
 87. Farrar, W. E., Eidson, M., Guerry, P., Falkow, S., Drusin, L. M. Y Roberts, R. B. Interbacterial transfer of R. factor in the human intestine: *In vivo* aquisition of R factor-mediated kanamicin resistance by a multiresistant strain of *Shigella sonnei*. *J. Infect. Dis.* 126: 27-33, 1972.
 88. Skerman, F. J., Formal, S. B. y Falkow, S. Plasmid-associated enterotoxin production in a strain of *Escherichia coli* isolated from humans. *Infect. Immun.* 5:622-624, 1972.
 89. Smith, H. W. y Gyles, C. L. The effect of cell-free fluid prepared from cultures of human and animal pathogenic strains of *Escherichia coli* on ligated segments of rabbits intestine. *J. Med. Microbiol.* 3:403-409, 1970.
 90. Etkin, S. y Gorbach, S. L. Studies on enterotoxin from *Escherichia coli* associated with acute diarrhea in man. *J. Lab. Clin. Med.* 78:81-87, 1971.
 91. Moon, H. W., Whipp, W. C., Engstrom, G. W. y Baetz, A. L. Response of the rabbit ileal loop to cell-free products from *E. coli* enteropathogenic for swine. *J. Infect. Dis.* 121: 182-187, 1970.
 92. Gyles, C. L. Heat-labile and heat-stable forms of the enterotoxin from *E. coli* strains enteropathogenic for pigs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 176: 314-322, 1971.
 93. Lariviere, S. L., 1970. Citado por Gyles, C. L. (92).
 94. Moon, H. W., Whip, S. C. y Baetz, A. L. Comparative effects of enterotoxins from *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* on rabbit and swine small intestine. *Lab. Invest.* 25: 133-14-0, 1971.
 95. Evans, D. J., Chen, L. C., Curlin, G. T. y Evans, D. G. Stimulation of adenyl cyclase by *Escherichia coli* enterotoxin. *Nature, New Bioi.* 236: 137-138, 1972.
 96. Guerrant, R. L., Ganguly, U., Casper, A. G. T., M-oore, E. J., Pierce, N. F. y Carpenter, C. C. J. Effect of *Escherichia coli* on fluid transport across canine small bowel. Mechanism and time-course with enterotoxin and whole bacterial cells. *J. Clin. Invest.* '12: 1707-1714, 1973.
 97. Kantor, H. S., Tao, P., y Gorbach, S. L. Stimulation of intestinal adenyl cyclase by *Escherichia coli* enterotoxin: A comparison of strains from infantile and adult diarrhea. *J. Infect. Dis.* 129: 1-9, 1974.
 98. Kantor, H. S., Tao, P. y Wisdom, C. Action of *Escherichia coli* enterotoxin: Adenylate cyclase behavior of intestinal epithelial cells in culture. *Infect. Immun.* 9: 1003-1010, 1974.
 99. Chen, L. C., Rohde, J. E. y Sharp, G. W. Intestinal adenyl-cyclase activity in human cholera. *Lancet* 1 :939-941, 1971.
 100. Kimberg, D. V., Field, M., Johnson, J., Henderson, A. y Gershon, E.

- Stimulation of intestinal mucosal adenyl cyclase by cholera enterotoxin and prostaglandins. *J. Clin. Invest.* 50: 1218-1230, 1970.
101. Schafer, D. E., Lust, W. D., Polson, J. B. Hedtke, J., Sircar, B., Thakur, A. K. y Goldberg, N. D. The possible role of cyclic AMP in some actions of cholera toxin *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 185: 376-385, 1971.
 102. Sharp, G. W. y Hynie, S. Stimulation of intestinal adenyl cyclase by cholera toxin. *Nature* 229: 266-269, 1971.
 103. Bourne, H. R., Lehrer, R. I., Lichtenstein, L. M., Weisman, G. y Zurier, R. Effect of cholera enterotoxin on adenosine 3', 5'-monophosphate and neutrophil function: Comparison with other compounds which stimulate leukocyte adenyl cyclase. *J. Clin. Invest.* 52: 698-708, 1973.
 104. Boyle, J. M., Goldfine, I. D. y Garner, J. D. The mechanism of action of cholera toxin: Binding to the cell membrane, stimulation of cyclic AMP and alteration of membrane transport *Clin. Res.* 21: 509, 1973.
 105. Lichtenstein, L. M., Henney, C. S., Bourne, H. R. y Greenough, B. Effect of cholera toxin on *in vitro* models of immediate and delayed hypersensitivity: Further evidence for the role of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate. *J. Clin. Invest.* 52:691-697, 1973.
 106. Mashiter, K., Mashiter, G. D., Hauger, R. L. y Field, J. B. Effects of cholera and *E. coli* enterotoxins on cyclicadenosine 3', 5' -monophosphate levels and intermediary metabolism in the thyroid. *Endocrinology* 92:541-549, 1973.
 107. Jacks, T. M., Wu, B. J., Braemer, A. C. y Bidlack, D. E. Properties of the enterotoxin component in *Escherichia coli* enteropathogenic for swine. *Infect. Immun.* 7: 178-189, 1973.
 108. Bywater, R. J. Dialysis and ultrafiltration of a heat stable enterotoxin from *Escherichia coli*. *J. M ed. Microbiol.* 5: 337-343, 1972.
 109. Guerrant, R. L., Brunton, L. L., Schnaitman, T. C., Rebhun, L. I. y Gilman, A. G. Cyclic adenosine monophosphate and alteration of chinese hamster ovary cell morphology: A rapid sensitive *in vitro* assay for the enterotoxins of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 10:320-327, 1974-.
 110. Hsie, A. W. y Puck, T. T. Morphological transformation of chinese hamster cells by dibutyryl adenosine cyclic 3', 5'-monophosphate and testosterone. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 68:358-361, 1971.
 111. Skerman, F. J., Formal, S. B. y Falkow, S. Plasmid-associated enterotoxin production in a strain of *Escherichia coli* isolated from humans. *Infect. Immun.* 5: 622-624, 1972.
 112. Inwood, J. y Tyrell, D. A. J. A cytotoxic factor in cholera toxin. *J. Exp. Pathol.* 51 :597-603, 1970.
 113. Kwan, C. N. y Wishnow, R. M. *Escherichia coli* enterotoxin induced steroidogenesis in cultured adrenal tumor cells. *Infect. Immun.* 10: 146-151, 1974.
 114. Donta, S. T. y King, M. Induction of steroidogenesis in tissue culture by cholera enterotoxin. *Nature, New Bioi.* 243: 246-247, 1973.
 115. Donta, S. T., Moon, H. W. y Whipp, S. C. Detection of heat-labile *Escherichia coli* enterotoxin with the use of adrenal cells in tissue culture. *Science* 183: 334-335, 1974-.

116. Smith, H. W. y Halls, S. The production of oedema disease and diarrhoea in weaned pigs by the oral administration of *Escherichia coli*: Factors that influence the course of the experimental disease. *J. Med. Microbiol.* 1: 45-49, 1968.
117. Nagy, Z., Berczi, I. y Bertók, L. Experimental data on the pathogenesis of edema disease of swine. Clinical picture, gross and microscopic lesions related to endotoxin shock. *Zbl. Vet. Medw B* 15: 504-511, 19681.
118. Thomlinson, J. R. y Buxton, A. Anaphylaxis in pigs and its relationship to the pathogenesis of oedema disease and gastro-enteritis associated with *Escherichia coli*. *Immunology* 6: 126-139, 1963.
119. Erskine, R. G., Sojka, W. J. y Lloyd, M. K. The experimental reproduction of a syndrome indistinguishable from oedema disease. *Vet. Rec.* 69:301-303, 1957.
120. Gregory, D. W. The (oedema disease) neuro-oedema toxin of haemolytic *Escherichia coli*. *Vet. Rec.* 72: 1208-1209, 1960.
121. Timoney, J. Fw Oedema disease in swine. *Vet. Recw* 69:1160-1171, 19:7.
122. Nielsen, N. O. y Clugston, R. E. Comparison of *E. coli* endotoxin shock and acute experimental edema disease in young pigs. *Ann. Nw Y. Acad. Sci.* 176:176-189, 1971.
123. Kurtz, Hw J. Bergeland, M. Ew y Barnes, D. M. Pathologic changes in edema disease of swine. *Am. J. Vet. Res.* 30: 791-806, 1969.
124. Clugston, R. E. 1971. Citado por Nielsen, N. O. y Clugston, R. E. (122) .
125. Pickrell, J. A. y Link, R. P. Isolation and partial characterization of histidine decarboxylase and edema disease-inducing toxin of *Escherichia coli* strain 0139:K82:H1 *Am. J. Vet. Resw* 32: 1589-1597, 1971.
126. Pickrell, J. A., Simon, J., Link, R. P. Rhoades, H. E. y Gossling, J. And attempt to experimentally produce edema disease in swine by oral administration of *Escherichia coli* serotype 0139:K82:H1. *Can. J. Comp. Med.* 33: 72-75, 1969.
127. Formal, S. B., LaBree, E. H., Kent, T. H. y Falkow, S. Abortive intestinal infection with an *Escherichia coli-Shigella flexneri* hybrid strain. *J. Bacteriol.* 89: 1374-1382, 1965.
128. Rothman, S. W. y Corwin, Lw M. Factors affecting virulence of *Shigella flexneri*: Strain with relaxed control of ribonucleic acid synthesis. *Infect. Immun.* 5: 103-106, 1972w
129. Gemski, P., Sheahan, D. G., Washington, O y Formal, S. B. Virulence of *Shigella flexneri* hybrids expressing *Escherichia coli* somatic antigens. *Infect. Immun.* 6: 104-11, 1972.
130. Craven, J. A. Neonatal colibacillosis in calves and pigs. *Aust. Vet. J.* 46: 149-152, 1970w
131. Frank, F. W. New concepts in calf scours. *Agric. Sci. Rev. Coop. State Res. Serv. U. S. Dep. Agric.* 8, No. 4:36-40, 1970.
132. Stair, E. L., Rhodes, M. B., White, R. G. y Mebus, C. A. Neonatal calf diarrhea: Purification and electron microscopy of a coronavirus like agent. *Am. J. Vet. Res.* 33: 1147-1156, 1972.
133. Smith, H. Ww y Halls, S. Observations by the ligated intestinal segment and oral inoculation methods on *Escherichia coli* infections in pigs,

- calves, lambs and rabbits. *J. Pathol. Bacteriol.* 93: 499-529, 1968.
134. Martinez Morales, A. Comunicación personal, 1975.
 135. Staley, T. E., Jones, E. W. y Corley, L. D. Attachment and penetration of *Escherichia coli* into intestinal epithelium of the ileum in newborn pigs. *Am. J. Pathol.* 56:371-392, 1969.
 136. Smith, H. W. y Halls, S. The experimental infection of calves with bacteriaemia-producing strains of *Escherichia coli*: The influence of colostrum. *J. Med. Microbiol.* 1: 61-78, 1968.
 137. Gossling, J. McKay, K. A. Y Barnum, D. A. Colibacillosis of calves in Ontario. II. The association of certain serotypes of *Escherichia coli* with calf scours. *Can. J. Vet. J.* 5:220-228, 1964.
 138. Fey, H. Immunology of the newborn calf: I ts relationship to colisepticemia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 176:49-63, 1971.
 139. Colinet, G., Kaeckenbeeck, A. y Schoenaers, F. Elimination et production d'anticorps colibacillaires chez le veau. *Ann. Med. Vet.* 5: 245-257, 1961. Citado por Fey, H. (138).
 140. Steck, F. Die ubertragung von gammaglobulinen auf das neugeborene kalb mit dem colostrum. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 104:5-29, 1962. Citado por Fey, H. (138).
 141. Glantz, P. J. y Jacks, T. M. A bacteriological and serological study of experimental *Escherichia coli* infection in calves. *Can. J. Comp. Med.* 33:128-133, 1969.
 142. Barta, O., Barta, B., Ingram, D. G. y Hubert, W. T. Bactericidal activity of bovine fetal serum against smooth and rough strains of *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 33: 731-740, 1972.
 143. Schultz, R. D., Dunne, H. W. y Heist, C. E. Ontogeny of the bovine immune response. *Fed. Proc. (resumen)* 29: &99, 1970.
 144. Gay, C. C., McKay, K. A. y Barnum, D. A. Studies on colibacillosis of calves. I. The antibody acquired by calves as the result of vaccination of the dam. *Can. Vet. J.* 5:248-261, 1964.
 145. Gay, C. C., McKay, K. A. y Barnum, D. A. Studies on colibacillosis of calves. III. The experimental reproduction of colibacillosis. *Can. Vet. J.* 5: 314-325, 1964.
 146. Ingram, P. L., Lovell, R., Wood, P. C., Aschaffenburg, R., Bartlett, S., Kon, S. K., Palmer, J., Roy, J. H. B. y Shillam, K. W. G. *Bacterium coli* antibodies in colostrum and their relation to calf survival. *J. Pathol. Bacteriol.* 72: 561-568, 1956.
 147. Logan, E. F. y Penhale, W. J. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. 1. The influence of colostrum whey and immunoglobulin fractions on experimental colisepticemia. *Vet. Rec.* 88: 222-228, 1971.
 148. Penhale, W. J., Christie, G., McEwan, A. D., Fisher, E. W. y Selman, I. E. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. II. Plasma immunoglobulin levels and their relationship to neonatal infection. *Brit. Vet. J.* 126:30-37, 1970.
 149. Payne, J. M. y Derbyshire, J. B. Portals of entry of bacterial infection in calves and piglets with particular reference to the tonsil. *J. Pathol. Bacteriol.* 85: 171-178, 1963.
 150. Glantz, P. J. Dunne, H. W., Heist, C. E. y Hokanson, J. F. Bacteriolo-

- gical and serological studies of *Escherichia coli* serotypes associated with calf scours. *Pa. Agric. Exp. Stn. Bull.* 645: 1-22, 1959.
151. Marcus, S. Esplin, D. W. y Donaldson, D. M. Lack of bactericidal effect of mouse serum on a number of common microorganisms. *Science* 119:877, 1954.
 152. Muschel, L. H. y Muto, T. Bactericidal reaction of mouse serum. *Science* 133: 62-64, 1956.
 153. Davis, S. D., Iannetta, A. y Wedwood, R. J. Bactericidal reactions of serum. En *Biological activities of complement*. Editado por Ingram, D. G., S. Karger, Basel. pp. 43-55, 1972.
 154. Erlandson, A. L. Mouse virulence of human, systemic, pathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* 2: 674-675, 1970.
 155. López-Álvarez, J. A study of selected strains of *Escherichia coli* 078: K80 of bovine and avian origin. *Thesis*. University of Guelph, 1972.
 156. Medearis, D. N., Camitta, B. M. y Heath, E. C. Cell wall composition and virulence in *Escherichia coli*. *J. Exp. Med.* 128: 399-414, 1968.
 157. Medearis, D. N. y Kenny, J. F. Observations concerning the pathogenesis of *E. coli* infections in mice. *J. Immunol.* 101: 534-540, 1968.
 158. Rowley, D. Endotoxins and bacterial virulence. *J. Infect. Dis.* 123: 317-327, 1971.
 159. Roantree, R. J. The relationship of lipopolysaccharide structure to bacterial virulence. En *Microbial toxins*. Vol. V, Bacterial endotoxins. Editado por Kadis, S., Weinbaum, G. y Ajl, S. J. Academic Press, New York. pp. 1-37, 1971.
 160. Howard, C. J. y Clynn, A. A. The virulence for mice of strains of *Escherichia coli* related to the effects of K antigens on their resistance to phagocytosis and killing by complement. *Immunology* 20: 767-777, 1971.
 161. Slopek, S. T., Skurski, A., Michalska, E. y Dabrowski, L. Studies on the mechanisms of the phagocytic reaction. 1. Phagocytosis and the antigenic structure of Gram-negative bacilli. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* (Prague). 3:382-388, 1959.
 162. Smith, H. Biochemical challenge of microbial pathogenicity. *Bacteriol. Rev.* 32: 164-184, 1968.
 163. Roantree, R. J. y Rantz, L. A. A study of the normal bactericidal activity of human serum to bacterial infection. *J. Clin. Invest.* 39: 72-81, 1961.
 164. Saif, Y. M., Moorhead, P. D. y Bohl, E. H. *Mycoplasma meleagridis* and *Escherichia coli* infections in germfree and specific-pathogenfree turkey poults: Production of complicated airsacculitis. *Am. J. Vet. Res.* 31: 1637-1643, 1970.
 165. Thornton, G. A. Failure of *M. gallisepticum* infection to predispose chickens to coliform pericarditis. *Brit. Vet. J.* 127: 163-172, 1971.
 166. Sojka, W. J. y Carnaghan, R. B. A. *Escherichia coli* infection in poultry. *Res. Vet. Sci.* 2:340-352, 1961.
 167. Truscott, R. B. *E. coli*: De la forma natural a un serio riesgo de enfermedad. *Ind. Avic.* 19: 36-37 y 39, 1972.
 168. Truscott, R. B. Studies on the chick-lethal toxin of *Escherichia coli*. *Can J. Comp. Med.* 37:375-381, 1973.

169. Truscott, R. B., López-Alvarez, J. y Pettit, J. R. Studies of *Escherichia coli* infection in chickens. *Can. J. Camp. Med.* 38: 160-167, 1974.
170. Cole, J. R. y Boyd, F. M. Chemical analyses of the blood of chicks infected or endointoxicated with *Escherichia coli*. *Poult. Sci.* 44: 1551-1555, 1965.
171. Jordan, M. M. y Hinshaw, J. B. Species resistance to histamine and endotoxin: The response of the chicken. *Proc. Soc. Exp. Bioi. M ed.* 115:455-4-58, 1964.
172. Ball, R. A., Sautter, J. H., Burger, R. E. y Pomeroy, B. S. Effects of endotoxin on turkey poults. *Proc. Soc. Exp. Biol. M ed.* 110: 753-756, 1962.
173. Truscott, R. B. Y Sajnani, A. N. Studies on serological and immunological response of chickens to endotoxin and endotoxoid. *Can. J. Comp. Med.* 36:170-177, 1972.
174. Sajnani, A. J. The serological and immunological response or chickens to endotcxin. *Thesis.* University of Guelph, 1970.
175. Truscott, R. B. Pathogenic mechanisms of *Escherichia coli*. *Thesis.* University of Waterloo, 1966.
176. Truscott, R. B. e Inniss, W. E. Endotoxin studies in chicks. *Avian Dis.* 11:595-601,1967.
177. Truscott, R. B. e Inniss, W. E. Studies on a lesion-inducing factor of avian strains of *Escherichia coli*. *Can J. Microbial* 13:9-15, 1967.
178. Gross, W. B. Colibacillosis. En *Diseases of poultry*. Editado por Hofstad, M. S. Iowa State University Press. pp. 392-405, 1972.
179. Berczi, I., Bertok, I. y Bereznai, T. Comparative studies on the toxicity of *Escherichia coli* lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. *Can J. Microbial.* 12: 1070-1071, 1966.
180. Musa, B. E., Conner, G. H., Carter, G. R., Gupta, B. N. y Keahley, K. K. Physiologic and pathologic changes in calves given *Escherichiha coli* endotoxin or *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 33: 911-916, 1972.
181. Truscott, R. B. Comunicación personal, 1972.
182. W~ cinberg, E. D. Roles of metallic ions in host-parasite interactions *Bacterial. Rev.* 30: 136-151, 1966.
183. Bullen, J. J., Leigh, L. C. y Rogers, H. J. The effect of iron compounds on the virulence of *Escherichia coli* for guinea pigs. *Immunology* 15:581-S88, 1968.
184. Bornside, G. H., Bouis, P. J. y Cohn, I. Enhancement of *Escherichia coli* infection and endotoxic activity by hemoglobin and ammomum citrate. *Surgery* 68: 350-355, 1970.
185. Bornside, G. H., Bouis, P. J. y Cohn, I. Hemoglobin and *Escherichia coli*, a lethal intraperitoneal combination. *J. Bacteriol.* 95: 1567-1571, 1968.
- 186 Rogers, H. J. Iron-binding catechols and virulence in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 7: 445-456, 1973.
187. Bullen, J. J., Ward, C. G. y Wallis, S. N. Virulence and the role of iron in *Pseudomonas auuginosa* infection. *Infect. Immun.* 10: 443-450, 1974.

188. Evans, D. G., Evans, D. J. y Pierce, N. F. Differences in the response of rabbit small intestine to heat-labile and heat-stable enterotoxins of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 7: 873-880, 1974.
189. Gyles, C. L. Relationships among heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *J. Infect. Dis.* 129:277-283, 1974.
190. Gyles, C. L., So, M. y Falkow, S. The enterotoxin plasmids of *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 130: 40-49, 1974-.