

KAMILA OLIVEIRA NUNES

**RELAÇÕES FILOGENÉTICAS ENTRE *Escherichia coli* ENTEROAGREGATIVA E
UROPATOGÊNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Waldir Pereira Elias Junior

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2016

RESUMO

NUNES, K. O. **Relações filogenéticas entre *Escherichia coli* enteroagregativa e uropatogênica.** 2015. 97 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Escherichia coli isoladas de infecções do trato urinário (ITU) são conhecidas como *E. coli* uropatogênicas (UPEC). Dentre as *E. coli* diarreiogênicas, o patótipo denominado *E. coli* enteroagregativa (EAEC) é definido pela produção do padrão de adesão agregativa em células epiteliais cultivadas. Estudos recentes mostraram que algumas cepas de UPEC albergam propriedades de virulência de EAEC, indicando que cepas de EAEC podem causar ITU. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi analisar as relações filogenéticas entre cepas de EAEC que apresentam marcadores genéticos de *E. coli* extraintestinais (ExPEC) e cepas de UPEC com e sem marcadores genéticos de EAEC. Para tal, foram selecionadas 92 EAEC, 8 UPEC com e 10 sem marcadores de EAEC. As 92 EAEC foram analisadas quanto à presença dos genes considerados como marcadores de cepas de ExPEC (*papA/papC*, *sfa/foc*, *afa/dra*, *iutA*, *kpsMT II*), detectando 30 (32,6%) cepas com esse perfil. Estas 30 cepas foram selecionadas para análises de filogrupos e *multilocus sequence type* (MLST) junto às cepas de UPEC. Foi observado que 17 (54,4%) cepas de EAEC e 3 (16,6%) de UPEC pertenceram ao filogrupo A, 2 (6,45%) EAEC e 1 (5,5%) UPEC ao filogrupo B1, 3 (9,68%) EAEC e 8 (44,4%) UPEC ao filogrupo B2, 6 (19,35%) EAEC e 2 (11,1%) UPEC ao filogrupo D, 1 (3,2%) EAEC e 4 (22,2%) UPEC ao filogrupo E, 1 (3,2%) EAEC ao filogrupo F e 1 EAEC (3,2%) não pôde ser classificada de acordo com esta metodologia. Comparando os dois grupos de UPEC notou-se que dentre as cepas com marcadores de EAEC 3 (37,5%) pertenceram ao filogrupo E, 2 (25%) aos filogrupos A e D e 1 (12,5%) ao filogrupo B1. Dentre as cepas sem marcadores de EAEC 1 (10%) pertenceu ao filogrupo A, 1 (10%) ao filogrupo E e 8 (80%) ao filogrupo B2. As análises de MLST através do sequenciamento dos genes *recA*, *fumC*, *icd*, *mdh*, *purA*, *adk* e *gyrB* permitiram determinar 42 sequence types (ST) distintos, dos quais 22 foram descritos neste estudo. Os mais comuns foram o ST 10 (5 cepas) e ST 95 e ST 746 (ambos com 2 cepas cada). A árvore filogenética gerada confirmou esses dados, mostrando o agrupamento das cepas de EAEC com marcadores de ExPEC com as cepas de UPEC com marcadores de EAEC. Em resumo, o presente estudo mostrou que um subgrupo de cepas de EAEC está inserido nos mesmos grupos filogenéticos de cepas de UPEC com marcadores de EAEC apresentando, portanto, correlação filogenética. Houve diferenças de distribuição filogenética entre cepas de UPEC com e sem marcador de EAEC. Conclui-se que cepas de EAEC podem apresentar potencial uropatogênico, tanto no curso de uma infecção diarreica, quanto em carregadores assintomáticos.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Filogenia. Infecção bacteriana.

ABSTRACT

NUNES, K. O. **Phylogenetic relationship among enteroaggregative and uropathogenic *Escherichia coli* strains.** 2015. 97 p. Masters thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Escherichia coli isolated from urinary tract infections (UTI) are known as uropathogenic *E. coli* (UPEC). Among the diarrheagenic *E. coli*, the enteroaggregative *E. coli* (EAEC) pathotype is defined by the production of the aggregative adherence on cultured epithelial cells. Recent studies have shown that some UPEC strains harbor virulence properties of EAEC, indicating that EAEC strains can cause UTI. Therefore, the aim of this study was to analyze the phylogenetic relationships among EAEC strains that have genetic markers of extraintestinal *E. coli* (ExPEC) and UPEC strains, with and without genetic markers of EAEC. For that reason, we selected 92 EAEC, 8 UPEC with and 10 without EAEC markers. The 92 EAEC were analyzed for the presence of genes considered as markers for ExPEC strains (*papA/papC*, *sfa/foc*, *afa/dra*, *iutA*, *kpsMT II*), detecting 30 (32.6%) strains with that profile. These 30 strains were selected for phylogroup and multilocus sequence type (MLST) analysis with the UPEC strains. It was observed that 17 (54.4%) EAEC and 3 (16.6%) UPEC belonged to the phylogroup A, 2 (6.45%) EAEC and 1 (5.5%) UPEC to the phylogroup B1, 3 (9.68%) EAEC and 8 (44.4%) UPEC to the phylogroup B2, 6 (19.35%) EAEC and 2 (11.1%) UPEC to the phylogroup D, 1 (3.2%) EAEC and 4 (22.2%) UPEC to the phylogroup E, 1 (3.2%) EAEC to the phylogroup F and 1 (3.2%) EAEC could not be classified according to this methodology. Comparing the two groups of UPEC it was observed that among the UPEC strains with EAEC markers, 3 (37.5%) belonged to the phylogroup E, 2 (25%) to the phylogroups A and D and 1 (12.5%) to the phylogroup B1. Among the UPEC strains without EAEC markers, 1 (10%) belonged to the phylogroup A, 1 (10%) to the phylogroup E and 8 (80%) to the phylogroup B2. The MLST analysis by sequencing of *recA*, *fumC*, *icd*, *mdh*, *purA*, *adk* and *gyrB* genes allowed to determine 42 distinct sequence types (ST), of whom, 22 were described in this study. The most common were ST 10 (5 strains), and ST 95 and ST 746 (both with two strains each). The phylogenetic tree generated confirmed that data, showing the clustering of EAEC strains (harboring ExPEC markers) with the UPEC strains (harboring EAEC markers). In summary, the current study showed that a subgroup of EAEC strains are clustered in the same phylogenetic groups of UPEC strains with EAEC markers and, thus, present phylogenetic correlation. Also, there were differences in phylogenetic distribution among UPEC strains with and without EAEC markers. In conclusion, EAEC strains may have uropathogenic potential, either in the course of a diarrheal infection or in asymptomatic carriers.

Keywords: *Escherichia coli*. Phylogeny. Bacterial infection.

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, sendo assim um micro-organismo bacilar e Gram negativo, não esporulante, anaeróbio facultativo, que coloniza o trato intestinal de animais de sangue quente e de humanos, permanecendo como comensal durante toda a vida do indivíduo (JOHNSON; RUSSO, 2005; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; SCHEUTZ; STROCKBINE, 2005; TENAILLON et al., 2010).

Esta espécie foi isolada e nomeada primeiramente como *Bacillus coli commune*, sendo posteriormente renomeada *Escherichia coli*. O gênero *Escherichia* é uma homenagem ao pediatra alemão Theodor Escherich, que descreveu esta bactéria em 1885. A espécie *coli* faz referência ao habitat natural deste organismo, ou seja, proveniente do cólon (INGERSON-MAHAD; REID, 2011).

E. coli pertence ao filo *Proteobacteria* localizando-se no grupo das *Gammaproteobacteria*, um dos cinco grupos filogenéticos (alfa, beta, gama, delta e épsilon) que compõem este filo (MADIGAN et al., 2010).

Por ser uma bactéria intestinal, esta espécie é utilizada por órgãos regulatórios como marcador de contaminação fecal no ambiente, principalmente em controles de água potável (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; USA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1986).

Embora a maioria das cepas de *E. coli* circulantes sejam comensais e não causem nenhum dano ao hospedeiro, com exceção de pacientes imunocomprometidos e/ou quando a barreira gastrointestinal é rompida, alguns clones de *E. coli* altamente adaptados possuem fatores de virulência variados que lhes conferem a habilidade de colonizar novos sítios e causar um amplo espectro de doenças intestinais e extraintestinais. Estes fatores geralmente são codificados em elementos genéticos móveis, como ilhas de patogenicidade, sequências de inserção ou plasmídeos, e são passíveis de criarem novas combinações de fatores de virulência que podem vir a ser parte integrante do genoma bacteriano, sendo que as combinações de fatores de virulência de caráter mais vantajosos persistem e se

tornam patótipos específicos de *E. coli* (CROXEN; FINLAY, 2010; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

As cepas de *E. coli* patogênicas são subdivididas primeiramente em dois grandes grupos, as *E. coli* diarreio gênicas (DEC) e as *E. coli* extraintestinais (ExPEC) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; RUSSO; JOHNSON, 2000).

Ao estudar estrutura de populações bacterianas empregando *E. coli* como modelo, Whittam et al. (1983) descreveram uma subestrutura genética em quatro filogrupos denominados A, B1, B2 e D (CHAUDHURI; HENDERSON, 2012).

Com base nesses dados Clermont et al. (2000) desenvolveram uma reação em cadeia da polimerase (PCR) para classificar filogeneticamente cepas de *E. coli*, sendo que por este método as cepas virulentas, principalmente cepas de ExPEC, geralmente classificavam-se no filogrupo B2, podendo algumas serem classificadas no filogrupo D. Por outro lado, as cepas comensais e cepas de DEC eram até então mais comumente encontradas nos filogrupos A e B1 (HERZER et al., 1990; LECOINTRE et al., 1998; SABATÉ et al., 2006). Esta abordagem deixou claro que cepas de diversos filogrupos diferem em características fenotípicas e genotípicas, nicho ecológico e habilidade em causar doenças (ALM et al., 2011; TENAILLON et al., 2010).

Porém, posteriores estudos de *multilocus sequence typing* (MLST), outra técnica de filotipagem que se baseia no sequenciamento de genes que codificam proteínas relacionadas ao metabolismo bacteriano, demonstraram que pelo método descrito por Clermont et al. (2000), cerca de 20% das cepas não eram corretamente caracterizadas (GORDON et al., 2008).

Tendo isto em vista Clermont et al. (2013) desenvolveram recentemente uma nova técnica de PCR para caracterização filogenética de *E. coli*. Nesta abordagem as cepas podem ser classificadas nos sete filogrupos conhecidos atualmente (filogrupos A, B1, B2, C, D, E e F). Com o uso desta técnica foi possível observar que cepas de ExPEC são mais comumente encontradas nos filogrupos B2, D e F e cepas de DEC e comensais são comumente encontradas nos filogrupos A, B1, C e E. Além dos filogrupos clássicos de *E. coli*, esta técnica permite a identificação de clados de *Escherichia*. Estas cepas pertencem às chamadas linhagens crípticas, e são geneticamente diferentes mas fenotipicamente idênticas a *E. coli* (CLERMONT et al., 2013).

1.2 *E. coli* como agente de infecções extraintestinais

As principais infecções extraintestinais causadas por *E. coli* são as infecções do trato urinário (ITU), as sepses (frequentemente associadas à infecção urinária) e as meningites de recém-nascidos. As cepas causadoras destas doenças são coletivamente denominadas *E. coli* extraintestinais, ou ExPEC (JOHNSON; RUSSO, 2005; PITOUT, 2012; RILEY, 2014).

Apesar de muito estudadas, o mecanismo de disseminação clonal de cepas ExPEC não está totalmente esclarecido (RILEY, 2014). Os fatores de virulência conhecidos em ExPEC são associados principalmente à colonização e capacidade de sobreviver no ambiente. Os genes que codificam esses fatores de virulência são localizados no cromossomo bacteriano, onde usualmente encontram-se em ilhas de patogenicidade, ou em plasmídeos e são separados em cinco grupos principais: adesinas, toxinas, sistemas de aquisição de ferro, produção de cápsula e invasinas (DALE; WOODFORD, 2015). Os principais fatores de virulência encontrados neste grupo bacteriano estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Principais fatores de virulência de ExPEC. Adaptado de Dale e Woodford, 2015.

	Fator de virulência	Gene(s) codificante(s)
Adesinas	Sideróforo de adesão	<i>iha</i>
	Adesina da família Dr	<i>afaA/draBC</i>
	Pilus comum de <i>E. coli</i>	<i>ecpA</i>
	Fímbria F1C	<i>foc</i>
	Hemaglutinina resistente ao calor	<i>hra</i>
	Fímbria M	<i>bmaE</i>
	Fímbria específica N-acetil D-glucosamina	<i>gaf</i>
	Fímbria P	<i>papACEFG</i>
	Fímbria S	<i>sfa/sfaS</i>
	Hemaglutinina sensível ao calor	<i>tsh</i>
	Fímbria tipo 1	<i>fimH</i>
Aquisição de Ferro	Receptor de aerobactina	<i>iutA</i>
	Proteína periplasmática de ligação ao ferro	<i>sitA</i>
	Receptor salmoquelina	<i>iroN</i>
	Receptor sideróforo	<i>ireA</i>
	Receptor yersiniabactina	<i>fyuA</i>
Cápsula	Cápsula do grupo 2	<i>kpsMT II</i>
	Cápsula do grupo 3	<i>kspMT III</i>
	Variante K1/K2/K5 do grupo de cápsula 2	genes K1/K2/K5
Invasão e Evasão	Proteína de conjugação	<i>traT</i>
	Resistência ao soro	<i>iss</i>
	Invasão do endotélio cerebral	<i>ibaA</i>
Toxinas	α -hemolisina	<i>hylD</i>
	Toxina citolética distensora	<i>cdtB</i>
	Fator citotóxico necrosante	<i>cnf1</i>
	Toxina de <i>E. coli</i> enteroagregativa	<i>astA</i>
	Hemolisina A	<i>hyla</i>
	Toxina autotransportadora	<i>sat</i>
	Serino protease	<i>pic</i>
	Toxina vacuolizante	<i>vat</i>

As ITU apresentam alta morbidade, tanto na comunidade como no ambiente hospitalar, resultando em altos custos econômicos e diminuição da produtividade de trabalho (BRUMBAUGH; MOBLEY, 2012). A grande maioria das ITU (70 a 90%) é causada por *E. coli* uropatogênica (UPEC), a qual reside no trato intestinal em

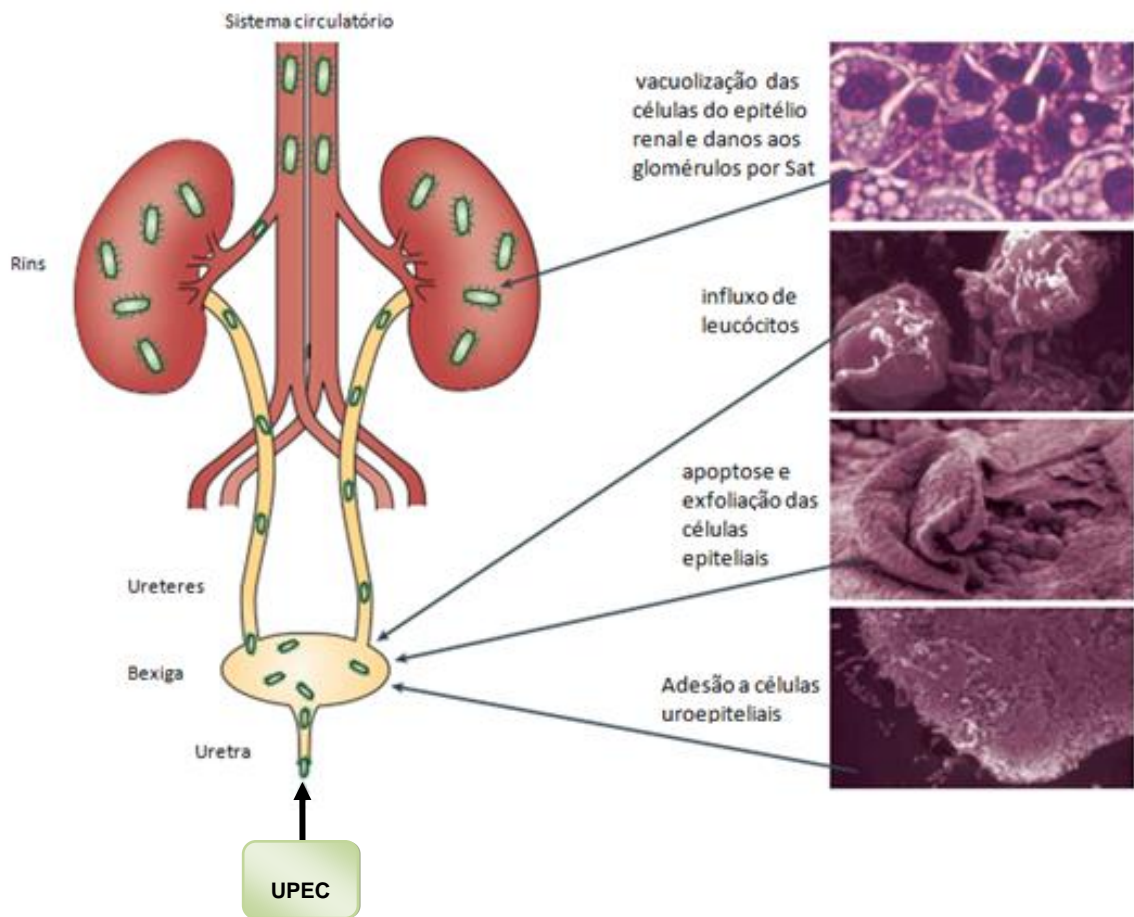
conjunto com as cepas de *E. coli* comensais e patogênicas e ascende à bexiga através da uretra, sendo que por esta via estas cepas também são capazes de causar sepse. O segundo patógeno mais comumente relacionado a ITU é o *Staphylococcus saprophyticus*, seguido de outras espécies como *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* (AGARWAL; SRIVASTAVA; SINGH, 2012, WANG et al., 2013).

UPEC age como um patógeno intracelular oportunista, sendo capaz de formar comunidades intracelulares, que possuem propriedades parecidas com as de biofilmes, protegendo a bactéria da resposta imune do hospedeiro e propiciando infecções crônicas e recidivas. É capaz de causar diversos tipos de manifestações clínicas, como bacteriúria, cistite e pielonefrite, e estão presentes no intestino de cerca de 20% das pessoas saudáveis (AGARWAL; SRIVASTAVA; SINGH, 2012; DALE; WOODFORD, 2015). Este patótipo é capaz de se evadir do sistema imune pela produção da proteína TraT, uma proteína de membrana externa associada com a resistência à atividade bactericida do soro (HANNAN et al., 2012; ULETT et al., 2013).

As ITU podem ser classificadas em alta ou baixa. A UTI baixa, ou cistite aguda, refere-se à infecção da bexiga; enquanto a infecção alta, ou pielonefrite, refere-se à infecção dos rins. Esta patologia é mais comum em mulheres do que em homens por características anatômicas do trato geniturinário feminino e da presença de substâncias antibacterianas no fluido prostático masculino (FIHN, 2003).

Estas infecções se instalam por via ascendente. As bactérias provenientes do ambiente intestinal ascendem à uretra em direção à bexiga e aos rins (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004), conforme ilustrado na Figura 1. Primeiramente acontece a adesão às células uroepiteliais por conta das fímbrias P e do tipo 1. Com a adesão estabelecida ocorre a apoptose e exfoliação das células epiteliais, seguido do influxo de leucócitos polimorfonucleares. Após o estabelecimento da infecção na bexiga, se não tratada, as bactérias podem ascender pelos ureteres e estabelecer a infecção nos rins. Neste estágio ocorre a vacuolização das células do epitélio renal e os danos aos glomérulos por conta da ação da toxina Sat. Neste estágio o tratamento da doença é imprescindível, pois a partir da infecção renal as bactérias podem alcançar o sistema venoso e causar a sepse (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Figura 1- Esquema dos estágios da infecção do trato urinário por UPEC.



Adaptado de Kaper, Nataro e Mobley (2004).

Algumas situações como o uso de cateteres, relações sexuais frequentes, uso constante de espermicida, histórico prévio de ITU, doenças renais, imunodeficiência ou imunossupressão, entre outros, aumentam o risco de desenvolver a ITU. O maior índice de ITU ocorre em mulheres por conta da maior proximidade do canal uretral com o ânus e pelo canal da uretra ser menor em relação ao canal uretral masculino (WANG et al., 2013).

A partir do momento em que as *E. coli* entram em contato com o ambiente venoso são passíveis de causar sepse. Estas cepas, também conhecidas como SEPEC, são as bactérias Gram negativas mais associadas a infecções sanguíneas, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (Riley, 2014).

As bacteremias que apresentam mais de 10^3 unidades formadoras de colônias (UFC)/ml de sangue são significativamente mais passíveis de desenvolver meningite. A translocação da bactéria que está no sangue para o sistema nervoso central ocorre sem danos aparentes na barreira hemato-encefálica (STINS; BADGER; KIM, 2001).

As cepas causadoras de sepse estão também relacionadas as meningites neonatais. Estas cepas são também conhecidas como MNEC e são fatais entre 15-40% dos casos ou causam danos neurológicos severos na maioria dos sobreviventes (DAWSON; EMERSON; BURNS, 1999; UNHANAND et al., 1993).

1.3 Infecções intestinais

E. coli diarreiogênicas, ou DEC, causam infecções intestinais por desregularem as funções normais do intestino, provocando assim a diarreia. Podem causar estes danos de diversas maneiras, de acordo com o seu arcabouço genético de fatores de virulência. Na diarreia induzida por bactérias ocorre a rápida perda de fluidos e eletrólitos, resultado da inibição da absorção normal do intestino, assim como a ativação de processos de secreção (BLASER; DEANE; FRUHWALD, 2015; INGERSON-MAHAD; REID, 2011; VISWANATHAN; HODGES; HECHT, 2008).

A diarreia é um dos maiores problemas mundiais de saúde pública, e causa anualmente a morte de cerca de 1,3 milhões de crianças até cinco anos, principalmente em países em desenvolvimento. Esta patologia também é uma das maiores causas de morte de crianças abaixo de 5 anos de idade no Brasil (BRYCE et al., 2005). Este resultado se dá principalmente pelo fato destes países, concentrados principalmente nos continentes Latinoamericano, Africano e Asiático, possuírem uma ampla população de crianças abaixo de cinco anos e por conta das condições epidemiológicas e socioeconômicas dessas áreas (BLACK et al., 2010).

Repetidas crises diarreicas em crianças contribuem significativamente para deficiências de crescimento e comprometem parte do condicionamento físico, cognição e escolaridade (GUERRANT et al., 2013). Estima-se que diarreias recorrentes nos primeiros dois anos de idade podem contribuir com a perda de 10 pontos no quociente de inteligência (Q.I.) e um ano de escolaridade até os nove anos de idade (KEUSCH et al., 2013; PETRI et al., 2008; WHO, 2015).

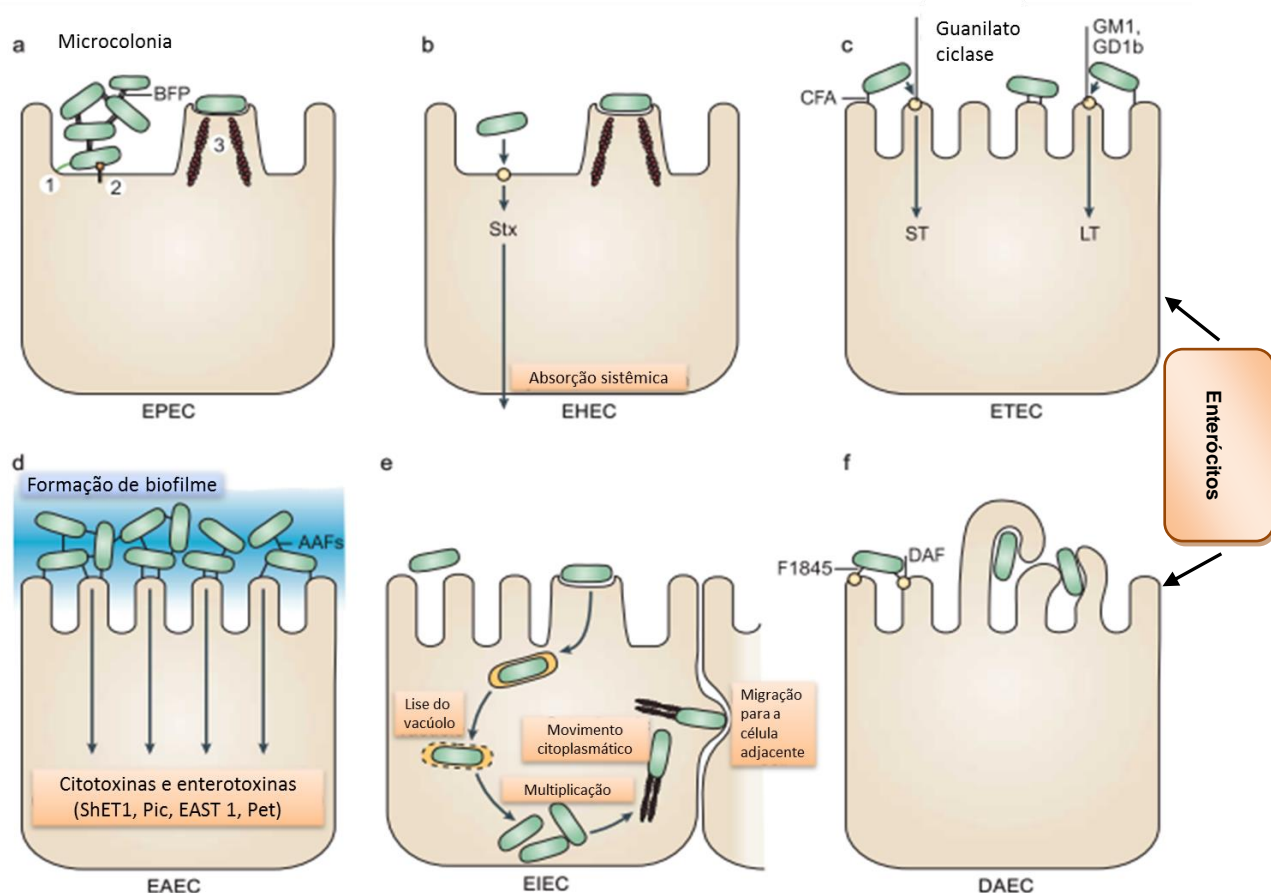
E. coli é o agente etiológico bacteriano mais comum da diarreia endêmica nos países em desenvolvimento, responsáveis por metade dos óbitos associados a essa patologia (LANATA et al., 2013).

Em contraste com outros patógenos entéricos, como *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. e *Salmonella* spp., o diagnóstico das cepas de DEC no curso da infecção é bastante complexo, isto porque grande parte das cepas causadoras de diarreia são bioquimicamente idênticas às *E. coli* comensais e a diferenciação necessita de infraestrutura laboratorial muito especializada (ESTRADA-GARCIA et al., 2014).

A diversidade patogênica de DEC compreende pelo menos seis categorias ou patótipos, os quais causam infecção intestinal por diferentes mecanismos. Estes patótipos são identificados e classificados de acordo com suas características de virulência, interações com células epiteliais *in vitro* e manifestações clínicas (CROXEN et al., 2013). Esses patótipos são conhecidos como: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* que adere difusamente a células epiteliais (DAEC) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). O avanço dos conhecimentos de epidemiologia e genética desses patótipos levou à subclassificação de EPEC e EAEC como típicas ou atípicas (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; SARANTUYA et al., 2004) e as EHEC passaram a constituir um subgrupo de STEC, ou *E. coli* produtoras da toxina Shiga (Stx) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

A Figura 2 apresenta uma ilustração das principais características de virulência de cada um dos patótipos de DEC, descritos a seguir.

Figura 2- Esquema da patogênese dos seis patótipos de DEC reconhecidos.



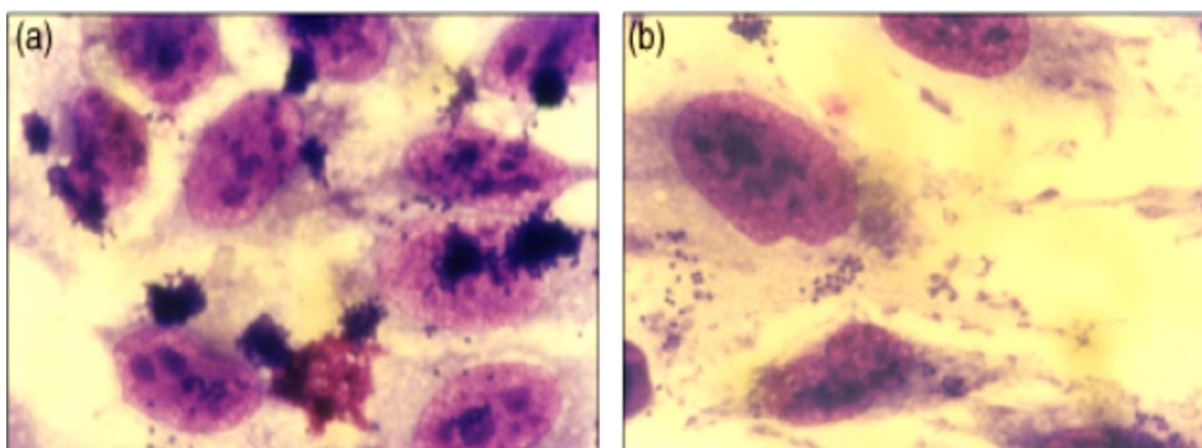
Adaptado de Kaper, Nataro e Mobley (2004).

E. coli enteropatogênica (EPEC) é um importante agente etiológico de diarreia infantil em muitos países por conta de sua alta prevalência na comunidade e em ambientes hospitalares (OCHOA; CONTRERAS, 2011).

Por conta de heterogeneidade genética este patótipo foi subdividido em EPEC típica (tEPEC) e EPEC atípica (aEPEC). Ambos os grupos são capazes de induzir a lesão *attaching-effacing* (lesão A/E) na mucosa intestinal. Essa lesão é caracterizada pela desestruturação das microvilosidades intestinais, forte adesão entre bactéria e enterócito, culminando na formação de uma estrutura semelhante a um pedestal por conta do acúmulo de actina e outros componentes do citoesqueleto da célula eucariótica sob a bactéria aderida (MOON et al., 1983). A principal diferença entre os dois grupos está na presença do plasmídeo pEAF (*EPEC adherence factor*) somente nas amostras de EPEC típicas (KAPER, 1996).

As cepas de tEPEC caracterizam-se pelo padrão de adesão localizada (AL) na superfície de células HeLa ou HEP-2, apresentando-se como microcolônias compactas aderidas às células após três horas de contato. Já as cepas de aEPEC podem apresentar um padrão de aderência semelhante a tEPEC, porém com microcolônias mais frouxas, denominado adesão localizada like (AL-L), o qual pode ser observado após seis horas de contato com as células epiteliais (SCALETSKY et al. 1984; SCALETSKY et al., 1999). A Figura 3 apresenta os padrões AL e AL-L de EPEC em ensaios de adesão com células HeLa .

Figura 3- Padrões de adesão apresentados por cepas de EPEC típica (AL) e atípica (LA-L).



(A) Padrão de adesão localizada (AL); (B) padrão de adesão localizada-like (AL-L). Adaptado de Hernandez et al. (2009).

EHEC é classificada como um sub-grupo de STEC e foi identificada nos Estados Unidos em 1982 como agente de um surto de diarreia sanguinolenta e de síndrome hemolítica urêmica (SHU) (RILEY et al., 1983). As cepas deste patótipo caracterizam-se pela produção da toxina Stx e a capacidade de causar a lesão A/E da mesma forma que cepas de EPEC. As doenças causadas por este patótipo continuam sendo um grande problema de saúde pública em todo o planeta, geralmente associadas a surtos de origem alimentar. As manifestações clínicas da infecção por EHEC incluem a diarreia sanguinolenta, a colite hemorrágica e a SHU, na qual a toxina Stx representa o principal fator de virulência (AMORIM et al., 2014; CROXEN et al., 2013).

Stx pode ser classificada em dois tipos: Stx1 e Stx2, incluindo subtipos e variantes dos subtipos (SHEUTZ, 2014). O principal reservatório destas cepas é o trato intestinal de bovinos, e os surtos causados por elas foram inicialmente associados ao consumo de hambúrgueres mal cozidos. As cepas do sorogrupo O157:H7 são as mais conhecidas, e foram responsáveis por um surto que teve origem em uma rede de lanchonete (CROXEN et al., 2013; INGERSON-MAHAD; REID, 2011; RILEY et al., 1983).

STEC é o patótipo de *E. coli* que produz a toxina Stx, mas que diferente de EPEC não produz lesão A/E. Estas cepas constituem um importante grupo de enteropatógenos e podem causar diarreia aguda, diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica e SHU (CLEMENTS et al., 2012; HUNT, 2010).

Na maior parte do mundo STEC O157:H7 é o sorotipo mais comum a causar doenças, entretanto tornou-se evidente que cepas não O157 também são causas importante de doença em humanos. Os sorogrupos mais relacionados a doenças são conhecidos como “*big six*” e compreendem os sorogrupos O26, O45, O103, O111, O121 e O145 (BROOKS et al., 2005).

EPEC é o patótipo caracterizado pela produção das toxinas termolábil (LT) e/ou termoestável (ST). Este patótipo é capaz de produzir uma ou ambas as toxinas no curso de uma infecção, a qual causa diarreia aquosa (Kaper; Nataro; Mobley, 2004; LEVINE, 1987). Este é o mais comum agente causador da diarreia do viajante e de diarreia aguda em zonas endêmicas (ISIDEAN et al., 2011).

A toxina LT compreende uma classe de enterotoxinas encontradas predominantemente em isolados humanos e que são intimamente relacionadas tanto em estrutura quanto em função à toxina colérica, secretada por *Vibrio cholerae* (SPANGLER, 1992). A toxina ST compreende duas classes de toxinas não relacionadas: STa e STb, que diferem em estrutura e mecanismo de ação, sendo que somente STa está associada à doença humana (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

A toxina LT atua ativando a adenilato ciclase, provocando o aumento da produção de AMP cíclico (cAMP), gerando o aumento da síntese de prostaglandinas e o acúmulo de sal e água no lúmen intestinal, causando assim morte celular e os sintomas da diarreia aquosa (SPANGLER, 1992). Já a toxina ST atua elevando os níveis de GMP cíclico (cGMP), o que leva ao desequilíbrio hidrossalino causado pela

ativação de guanilato ciclase, gerando assim a diarreia aquosa (TURNER et al., 2006).

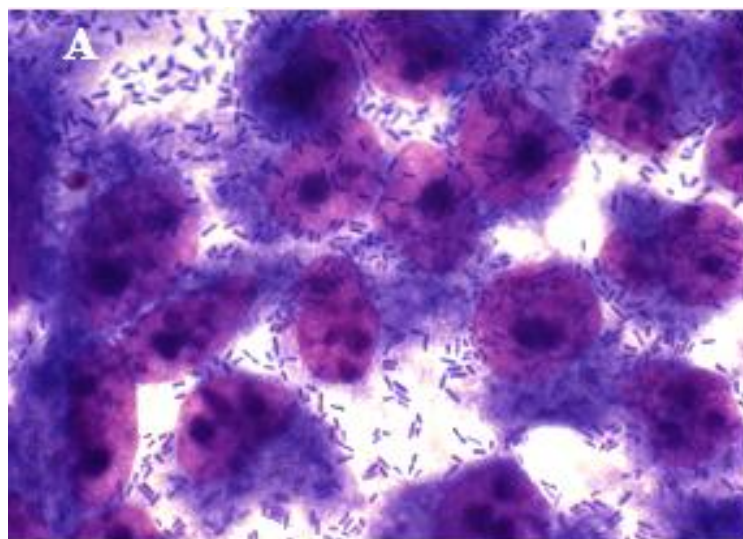
Cepas de EIEC são bioquímica, genética e patogenicamente relacionadas a *Shigella spp.* Estas bactérias são taxonomicamente indistinguíveis no nível de espécie, mas, levando em conta a significância clínica de *Shigella*, a nomenclatura distinta foi mantida. Este patótipo é um patógeno intracelular facultativo e é o agente etiológico da disenteria bacilar (PUPO; LAN; REEVES, 2000; WEI et al., 2003).

EIEC apresenta virulência reduzida quando comparada a *Shigella*, incluindo expressão reduzida dos fatores de virulência, baixa eficiência ao matar macrófagos, baixo índice de espalhamento célula-célula e baixa indução de resposta pró-inflamatória, o que leva a uma doença menos severa (BANDO et al., 2010; MORENO et al., 2009; MORENO et al., 2012). A adaptação de EIEC para se tornar um patógeno intracelular deriva basicamente da aquisição de um plasmídeo de invasão, pINV (CROXEN et al., 2013). As infecções por EIEC são pouco frequentes, mesmo em países subdesenvolvidos (KOTLOFF et al., 2013).

O padrão de adesão a células epiteliais cultivadas, determinado no ensaio de adesão descrito por Cravioto et al. (1979), define os patótipos DAEC e EAEC quando uma cepa de *E. coli* não apresenta os marcadores de virulência dos patótipos EPEC, ETEC, EHEC e EIEC (NATARO; KAPER, 1998).

DAEC é o patótipo que adere a células epiteliais *in vitro* no padrão denominado difuso (AD), onde a bactéria encontra-se aderida de maneira difusa sobre toda a superfície celular (NATARO et al, 1987), conforme evidenciado na Figura 4.

Figura 4- Padrão de adesão difuso (AD)



Padrão de adesão difuso em células HEp-2 infectadas com a cepa C1845 protótipo de DAEC. Fonte: Abreu, 2015.

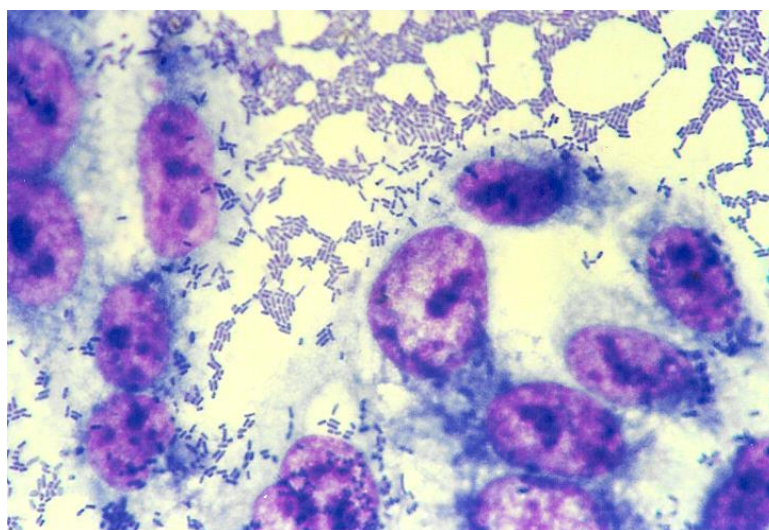
Por conta da dificuldade de identificação e classificação deste patótipo, a designação de DAEC como patógeno entérico requer mais estudos epidemiológicos (CROXEN et al., 2013; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Esta categoria de enteropatógeno é bastante heterogênea e alguns estudos mostram associação de DAEC com diarreia, principalmente quando os grupos estudados são divididos por faixas etárias, sendo mais comum em crianças acima de 1 ano de idade (GIRÓN et al., 1991; SCALETSKY et al., 2002; SNELLING et al., 2009; SPANO et al., 2008). Porém, outros estudos não associam este patótipo à diarreia (GOMES et al., 1998; NATARO et al., 1987; RODRIGUES et al., 2002).

Alguns fatores de virulência já foram identificados em cepas de DAEC, tais como as fímbrias F1845 e AIDA-I, entretanto o mecanismo como DAEC causa a diarreia não foi estabelecido (BENZ; SCHMIDT, 1992; BILGE et al., 1989). O contato entre a cepa protótipo de DAEC C1845 com células HEp-2 induz a formação de projeções eucarióticas onde as bactérias permanecem aderidas (COOKSON; NATARO, 1996). Esse fenótipo pode ter um papel importante na sobrevivência e patogênese de DAEC, entretanto não foi investigado em outras cepas desse patótipo. É desconhecida a maneira de como DAEC é transmitida e qual o seu

principal reservatório (CROXEN et al., 2013; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; SERVIN, 2014).

EAEC é definida como o patótipo de *E. coli* que adere a células epiteliais cultivadas apresentando o padrão agregativo (AA), conforme ilustrado na Figura 5. A descrição deste padrão ocorreu durante a análise da capacidade de aderência a células HEp-2 de cepas de *E. coli* isoladas de um estudo epidemiológico sobre a etiologia da diarreia aguda no Chile (NATARO et al., 1987). Neste padrão de adesão as bactérias encontram-se aderidas umas às outras, à superfície celular e também à lamínula na ausência de células, numa organização semelhante a tijolos empilhados, formando agregados ou cordões. A partir de então foi definido um novo patótipo de DEC, inicialmente denominado EAggEC e posteriormente EAEC (NATARO et al., 1987).

Figura 5- Padrão de adesão agregativo (AA)



Padrão de adesão agregativo em células HEp-2 infectadas com a cepa 042 protótipo de EAEC.
Fonte: Elias, 1999.

Desde a sua descrição EAEC vem sendo identificada ao redor do mundo e é associada à infecção intestinal aguda e persistente em crianças onde é endêmica, ou seja, em países subdesenvolvidos (NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011). Além disso tem sido também identificada como agente de diarreia aguda em países

desenvolvidos afetando tanto crianças como adultos (CHATTAWAY et al., 2014; DALLMAN et al., 2014; NATARO et al., 2006). Este patótipo também é relacionado à diarreia persistente em paciente imunocomprometidos, como portadores do vírus HIV e é associado à diarreia do viajante (CROXEN et al., 2013; HARRINGTON et al., 2006; HUANG et al., 2006).

Crianças e adultos que vivem em países em desenvolvimento, assim como turistas que visitam estes países, são susceptíveis a infecções por EAEC, as quais podem resultar em quadros de diarreia persistente (OKHUYSEN; DUPONT, 2010). Além de casos isolados, já foram descritos diversos surtos de diarreia causados por EAEC veiculados por alimentos (ESTRADA-GARCIA; NAVARRO-GARCIA, 2012; HARADA et al., 2007; HARRINGTON et al., 2006; HUANG et al., 2006; ITOH et al., 1997; SMITH; CHEASTY; ROWE, 1997).

Em 2011 uma cepa de EAEC produtora da toxina Stx (híbrido EAEC/STEC) causou um grande surto de origem alimentar na Alemanha, o qual afetou cerca de 4000 indivíduos e levou a morte 50 pacientes adultos (RASKO et al., 2011).

Uma característica importante deste patótipo reside no fato de que um número considerável de pacientes pode ser colonizado de forma assintomática, permanecendo em um estado de inflamação intestinal persistente, o que nos leva a acreditar que a manifestação da doença gastrointestinal depende da cepa e de fatores do hospedeiro (STEINER et al., 2000). Esse estado de colonização, além de manter essas cepas diarreiogênicas circulando na comunidade, tem consequências no desenvolvimento físico e cognitivo da criança (OKHUYSEN; DUPONT, 2010).

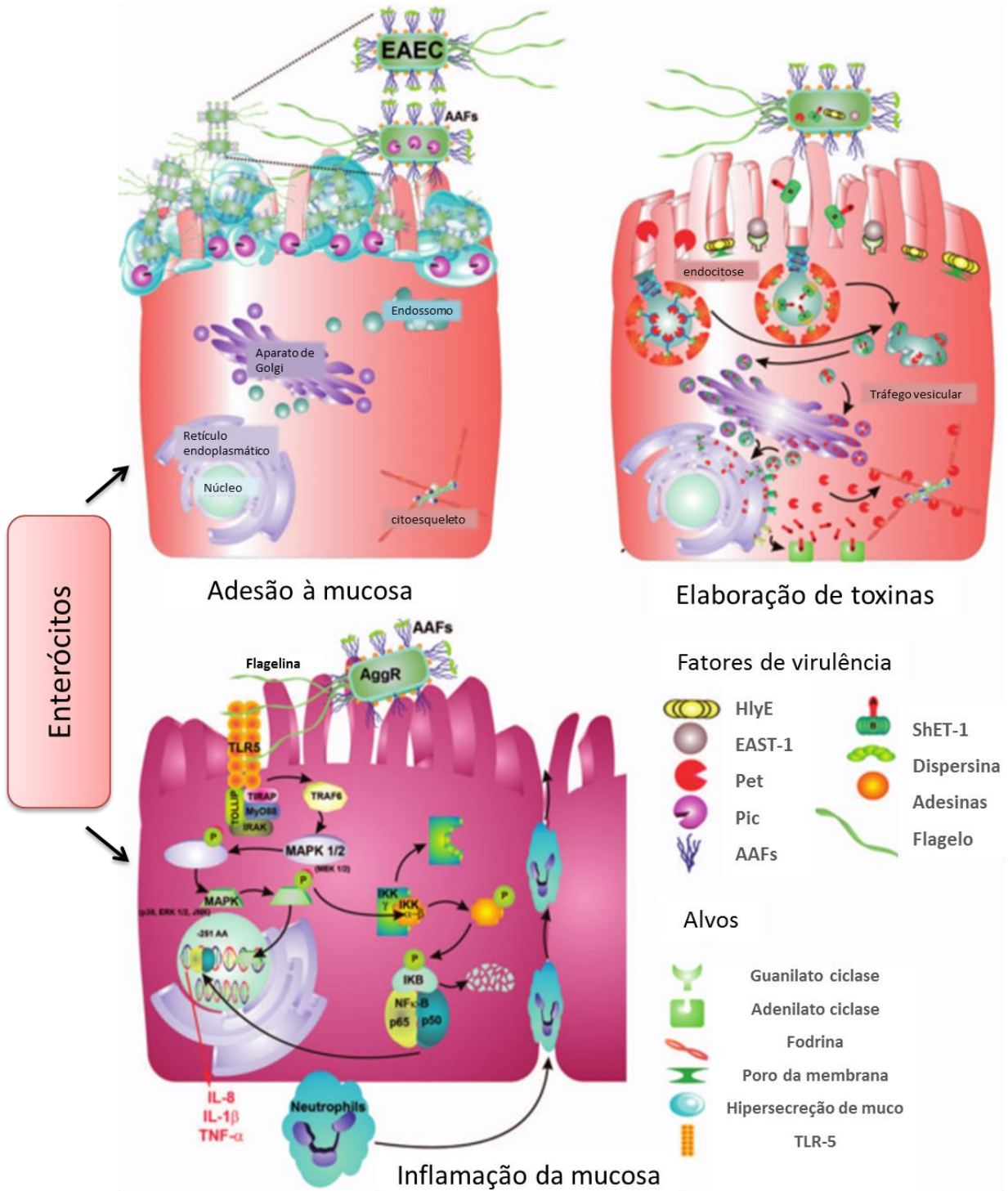
Apesar de EAEC ser encontrada e identificada em todas as regiões do mundo e ser considerada um patógeno emergente, a patogênese de EAEC é menos conhecida em comparação aos outros patótipos de DEC (HARRINGTON et al., 2006; HUANG et al., 2006).

A adesão à mucosa é um passo essencial na colonização e na produção da doença causada por EAEC. O padrão AA também é observado na mucosa intestinal infectada, onde a aderência é caracterizada como um biofilme composto por agregados de bactéria em associação com a camada mucosa. O teste de adesão em células HeLa ou HEP-2 é utilizado como diagnóstico padrão ouro para classificação de EAEC (HICKS et al., 1996; NATARO; KAPER, 1998; NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011; TZIPORI et al., 1992).

Baudry et al. (1990) desenvolveram uma sonda genética para o diagnóstico de EAEC, sendo esta denominada CDV432, a qual na época correspondia a um fragmento crítico de 1 kb do plasmídeo de virulência presente na cepa 17-2, uma cepa padrão de EAEC. Nishi et al. (2003), demonstraram que a sonda CVD432 na realidade correspondia ao gene *aatA*, o qual faz parte do sistema ABC de secreção, sendo assim a sonda passou a ser denominada corretamente de sonda *aatA*.

As três principais características da patogênese de EAEC são: aderência abundante na mucosa intestinal e formação de biofilme na superfície do enterócito; produção de enterotoxinas e citotoxinas; indução da inflamação da mucosa, secreção intestinal e danos às células epiteliais (ESTRADA-GARCIA et al., 2014; NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011). A Figura 6 apresenta essas três etapas da patogênese de EAEC indicando os principais fatores de virulência envolvidos em cada etapa. Cabe salientar que esse modelo é baseado nos diversos fatores identificados na cepa protótipo 042 (NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011).

Figura 6 - Esquema das etapas da patogênese de EAEC evidenciando os fatores de virulência identificados principalmente em EAEC 042.



Adaptado de Navarro-Garcia e Elias (2011).

A cepa de EAEC 042 (O44:H18) é usada como protótipo para o estudo deste patótipo, porém as numerosas adesinas, toxinas e proteínas envolvidas na patogênese desta bactéria são muito variáveis entre os isolados (CROXEN et al., 2010). Até o presente momento nenhum fator de virulência específico foi encontrado em todas as cepas de EAEC (ESTRADA-GARCIA; NAVARRO-GARCIA, 2012).

Sarantuya et al. (2004) propuseram a classificação de EAEC em grupos de típica e atípica, de acordo com a presença ou não do gene *aggR*, o qual codifica uma proteína reguladora global dos genes de virulência de EAEC e está localizado no plasmídeo de virulência comumente presente em cepas deste patótipo (BAUDRY et al., 1990).

Vários fatores de virulência têm sido descritos em cepas de EAEC, e um dos fatores de maior impacto são as estruturas fimbriais conhecidas como fímbrias de adesão agregativa (AAFs). Estas fímbrias, junto à adesinas não fimbriais, atuam no primeiro estágio da patogênese, a aderência à mucosa intestinal. Os genes que codificam estas adesinas são sempre encontrados em baixa prevalência, o que indica a alta diversidade de estruturas adesivas responsáveis pelo padrão AA (NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011).

Cinco variantes da fímbria AAF foram até agora descritas: AAF/I, II, III, IV e V; sendo todas elas reguladas pelo ativador transcricional AggR, um regulador positivo pertencente à família AraC de reguladores. Estas fímbrias são relacionadas às adesinas da família Dr, as quais requerem proteínas chaperonas para sua biogênese. Além disto, as fímbrias da família Dr estão relacionadas também a cepas de UPEC, que comumente expressam adesinas Afa (CROXEN et al., 2011; JØNSSON et al., 2015; NAVARRO-GARCIA; ELIAS, 2011).

Outra característica de EAEC é a habilidade de formar biofilme em superfícies bióticas e abióticas, resultado da agregação bacteriana (SHEIK et al., 2001).

Uma importante classe de toxinas produzidas por EAEC são as chamadas proteínas autotransportadoras. As proteínas autotransportadoras são proteínas de membrana externa que consistem de um amplo domínio N-terminal extracelular (domínio passageiro) e um domínio C-terminal que consiste em um domínio β -barril (domínio β). Este domínio foi originalmente proposto com a função de um canal de transporte para seu próprio domínio passageiro pela membrana externa (BERNSTEIN, 2007; HENDERSON et al., 2004). Inicialmente duas proteínas autotransportadoras foram identificadas em EAEC, Pet e Pic (ESLAVA et al., 1998;

HENDERSON et al., 1999), as quais fazem parte do grupo das SPATE, ou *serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae* (DAUTIN, 2010). As SPATE compreendem serino proteases com funções diversas, tais como proteases, toxinas e adesinas (RUIZ-PEREZ; NATARO, 2014).

No segundo estágio de infecção por EAEC ocorre a secreção de toxinas. Os efeitos dessas toxinas incluem vesiculação das microvilosidades, aumento das aberturas das criptas e aumento da extrusão celular. Estas toxinas incluem Pet, uma toxina que altera o citoesqueleto; EAST-1, uma enterotoxina termoestável; ShET1, uma toxina que induz o AMP cíclico celular (cAMP); e Pic, uma proteína que possui atividade mucinolítica e mucinogênica. Uma toxina não caracterizada identificada no genoma de EAEC inclui uma potencial hemolisina codificada pelo gene *hlyE*, assim como a dispersina, uma proteína com ação anti-agregante codificada pelo gene *aap*. Apesar das diversas toxinas associadas a este patótipo, nenhum fator de virulência é associado a EAEC de forma comum a todas as cepas (CROXEN et al., 2011; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

No último estágio de infecção de EAEC muitos fatores influenciam a severidade da inflamação, incluindo a virulência da cepa e a resposta imune do hospedeiro. Durante a infecção por EAEC ocorre o recrutamento de neutrófilos, o que estimula a diarreia inflamatória (CROXEN et al., 2011).

1.4 Correlação filogenética entre EAEC e UPEC

Em um estudo realizado por Abe et al. (2008) cepas de UPEC foram analisadas quanto à presença de marcadores genéticos de DEC, mostrando que algumas cepas de UPEC albergavam algumas propriedades de virulência dos patótipos intestinais, principalmente associados a EAEC, como Pet, Pic, dispersina, AAF/I, EAST-1 e AggR. Esses achados indicam claramente que algumas cepas fecais de EAEC podem apresentar potencial uropatogênico, e que certas UPEC podem ter adquirido propriedades de EAEC, tornando-se potenciais causadoras de diarreia.

Posteriormente Olesen et al. (2012) relataram um surto de ITU causado por uma EAEC do sorotipo O78:H10, corroborando os dados de Abe et al. (2008). Este surto ocorreu em 1991, na cidade de Copenhague, Dinamarca. Um total de 18 pacientes adquiriu ITU, a qual foi causada por uma cepa pertencente ao *sequence*

type (ST) 10, grupo filogenético A (CLERMONT et al., 2013), multirresistente, pertencente ao sorotipo O78:H10. A origem desta cepa causadora do surto não foi identificada. Esta foi a primeira vez que EAEC estava relacionada com um surto relacionado à doença extraintestinal.

Em 2013 o mesmo grupo de investigadores (BOLL et al., 2013) determinou as propriedades uropatogênicas desta cepa O78:H10 e mostraram que estas propriedades são conferidas por fatores de virulência específicos de EAEC. Neste estudo foi demonstrado que os fatores de virulência, até então específicos de EAEC, como a expressão da fímbria AAF/I, aumentam a uropatogenicidade e podem ter tido um importante papel na habilidade da cepa causar o surto de ITU, já que nenhuma das cepas isoladas deste surto apresentavam fatores de adesão típicos de ExPEC, como fímbria P, fímbria S/F1C e adesinas da família Dr. Além da expressão de AggR e AAF/I, outros fatores de virulência comumente encontrados em EAEC, como a Sat e Pic, podem ter contribuído para a uropatogenicidade.

Poucos estudos têm investigado a prevalência de fatores de virulência típicos de EAEC em cepas causadoras de infecções extraintestinais, entretando, cepas de EAEC com marcadores de UPEC são encontradas com uma prevalência relativamente alta em coleções de isolados de ITU (ABE et al., 2008; NAZEMI et al., 2011; OLESEN et al., 2012; PARK et al., 2009; WALLACE-GADSDEN et al., 2007). Todos esses relatos indicam que algumas cepas de EAEC que colonizam o trato intestinal têm potencial de colonização e infecção do trato urinário.

Sendo assim, torna-se relevante caracterizar coleções de EAEC isoladas tanto de pacientes com diarreia como de controles assintomáticos, quanto à presença de marcadores de virulência de ExPEC, com o objetivo de detectar a presença de cepas com características de UPEC e provável potencial uropatogênico. De que forma este grupo de EAEC com características específicas se relaciona geneticamente com cepas isoladas de ITU, ou seja UPEC com ou sem marcadores de virulência de EAEC, ainda é uma questão a ser esclarecida.

6 CONCLUSÕES

- ✓ Um subgrupo de cepas de EAEC está inserido nos mesmos grupos filogenéticos de cepas de UPEC com marcadores de EAEC, apresentando, portanto, correlação filogenética.
- ✓ Há diferenças de distribuição filogenética entre cepas de UPEC com e sem marcador de EAEC.
- ✓ Cepas de EAEC podem apresentar potencial uropatogênico, tanto no curso de uma infecção diarreica, quanto em carreadores assintomáticos.

REFERÊNCIAS¹

ABE, C. M.; SALVADOR, F. A.; FALSETTI, I. N.; VIEIRA, M. A.; BLANCO, J.; BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; MACHADO, A. M.; ELIAS, W. P.; HERNANDES, R. T.; GOMES, T. A. T. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. **Immunol. Med. Microbiol.**, v. 52, p. 397-406, 2008.

ABREU JUNIOR, A. G. **Caracterização da proteína Pic (plasmid encoded toxin) em *Escherichia coli* enteropatogênica atípica**. 2015. 148 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2015.

ABREU, A. G.; BUERIS, V.; PORANGABA, T. M.; SIRCILI, M. P.; NAVARRO-GARCIA, F.; ELIAS, W. P. Autotransporter protein-encoding genes of diarrheagenic *Escherichia coli* found in both typical and atypical enteropathogenic *E. coli*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 79, p, 411-414. 2013.

AGARWAL, J.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, M. Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. **Indian J. Med. Microbiol.**, v. 30, p. 141-149, 2012.

ALM, E. W.; WALK, S. T.; GORDON, D. M. The niche of *Escherichia coli* in population genetics of bacteria. ASM Press. 2011. p. 107–123.

ALTERI, C. J.; MOBLEY, H. L. T. *Escherichia coli* physiology and metabolism dictates adaptation to diverse host microenvironments. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 15, p. 3-9, 2012.

AMORIM, J. H.; DEL-COGLIANO, M. E.; FERNANDEZ-BRANDO, R. J.; BILEN, M. F.; JESUS, M. R.; LUIZ, W. B.; PALERMO, M. S.; FERREIRA, R. C.; SERVAT, E. G.; GHIRINGHELLI, P. D.; FERREIRA, L. C.; BENTANCOR, L. V. Role of bacteriophages in STEC infections: new implications for the design of prophylactic and treatment approaches. **F1000 Res.**, v. 3, p. 74-82, 2014.

ANDERSON, K. L.; COTA, E.; SIMPSON, P.; CHEN, H. A.; DU MERLE, L.; BOUGUENEC, C. L.; MATTHEWS, S. Complete resonance assignments of a 'donor-strand complemented' AfaE: the afimbrial adhesin from diffusely adherent *E. coli*. **J. Biomol. NMR.**, v. 29, p. 409-410, 2004.

ANDRADE, F. B.; GOMES, T. A. T.; ELIAS, W. P. A sensitive and specific molecular tool for detection of both typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Microbiol Methods.**, v. 106, p.16-8, 2014.

BANDO, S. Y.; ANDRADE, F. B.; GUTH, B. E.; ELIAS, W. P.; MOREIRA-FILHO, C. A.; PESTANA-DE-CASTRO, A. F. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* genomic background allows the acquisition of non-EPEC virulence factors. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 299, p. 22-30, 2009.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BANDO, S. Y.; MORENO, A. C.; ALBUQUERQUE, J. A.; AMHAZ, J. M.; MOREIRA-FILHO, C. A.; MARTINEZ, M. B. Expression of bacterial virulence factors and cytokines during in vitro macrophage infection by enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*: a comparative study. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 786-91, 2010.

BANERJEE, R.; JOHNSTON, B.; LOHSE, C.; CHATTOPADHYAY, S.; TCHESNOKOVA, V.; SOKURENKO, E. V.; JOHNSON, J. R. The clonal distribution and diversity of extraintestinal *Escherichia coli* isolates vary according to patient characteristics. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 57, p. 5912-5917, 2013.

BAUDRY, B.; SAVARINO, S. J.; VIAL, P.; KAPER, J. B.; LEVINE, M. M. A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative *Escherichia coli*, a recently discovered diarrheal pathogen. **J. Infect. Dis.**, v. 161, p. 1249-1251, 1990

BAUER, A. W.; KIRKY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 45, p. 493-496, 1966.

BENZ, I.; SCHMIDT, M. A. AIDA-I, the adhesin involved in diffuse adherence of the diarrhoeagenic *Escherichia coli* strain 2787 (O126:H27), is synthesized via a precursor molecule. **Mol. Microbiol.**, v. 6, p. 1539-1546, 1992.

BERNIER, C.; GOUNON, P.; LE-BOUGUÉNEC, C. Identification of an aggregative adhesion fimbria (AAF) type III - encoding operon in enteroaggregative *Escherichia coli* as a sensitive probe for detecting the AAF-encoding operon family. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 4302-4311, 2012.

BERNSTEIN, H. D. Are bacterial 'autotransporters' really transporters? **Trends Microbiol.**, v. 15, p. 441-447, 2007.

BILGE, S. S.; CLAUSEN, C. R.; LAU, W.; MOSELEY, S. L. Molecular characterization of a fimbrial adhesin, F1845, mediating diffuse adherence of diarrhea-associated *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **J. Bacteriol.**, v. 171, p. 4281-4289, 1989.

BLACK, R. E.; COUSENS, S.; JOHNSON, H. L.; LAWN, J. E.; RUDAN, I.; BASSANI, D. G.; JHA, P.; CAMPBELL, H.; WALKER, C. F.; CIBULSKIS, R.; EISELE, T.; LIU, L.; MATHERS, C.; CHILD HEALTH EPIDEMIOLOGY REFERENCE GROUP OF WHO AND UNICEF. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. **Lancet.**, v. 375, p. 1969-1987, 2010.

BLASER, A. R.; DEANE, A. M.; FRUHWALD, S. Diarrhoea in the critically ill. **Curr. Opin. Crit. Care.**, v. 21, p., 142-153, 2015.

BOISEN, N.; SCHEUTZ, F.; RASKO, D. A.; REDMAN, J. C.; PERSSON, S.; SIMON, J.; KOTLOFF, K. L.; LEVINE, M. M.; SOW, S.; TAMBOURA, B.; TOURE, A.; MALLE, D.; PANCHALINGAM, S.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P. Genomic

characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. **J. Infect. Dis.**, v. 205, p. 431-444, 2012.

BOISEN, N.; RUIZ-PEREZ, F.; SCHEUTZ, F.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P. Short report: high prevalence of serine protease autotransporter cytotoxins among strains of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 80, p. 294-301, 2009.

BOISEN, N.; SCHEUTZ, F.; RASKO, D. A.; REDMAN, J. C.; PERSSON, S.; SIMON, J.; KOTLOFF, K. L.; LEVINE, M. M.; SOW, S.; TAMBOURA, B.; TOURE, A.; MALLE, D.; PANCHALINGAM, S.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P. Genomic characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. **J. Infect. Dis.**, v. 205, p. 431-444, 2012.

BOISEN, N.; STRUVE, C.; SCHEUTZ, F.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P. New adhesin of enteroaggregative *Escherichia coli* related to the Afa/Dr/AAF family. **Infect. Immun.**, v. 76, p. 3281-3292, 2008.

BOLL, E. J.; STRUVE, C.; BOISEN, N.; OLESEN, B.; STAHLHUT, S. G.; KROGFELT, K. A. Role of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors in uropathogenesis. **Infect. Immun.**, v. 81, p. 1164-1171, 2013.

BROOKS, J. T.; SOWERS, E. G.; WELLS, J. G.; GREENE, K. D.; GRIFFIN, P. M.; HOEKSTRA, R. M.; STROCKBINE, N. A. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. **J. Infect. Dis.**, v. 192, p. 1422-1429, 2005.

BRUMBAUGH, A. R.; MOBLEY, H. L. Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. **Expert. Rev. Vaccines.**, v. 11, p. 663-676, 2012.

BRYCE, J.; BOSCHI-PINTO, C.; SHIBUYA, K.; BLACK, R. E. WHO estimates of the causes of death in children. **Lancet.**, v. 365, p. 1147-1152, 2005.

BUERIS, V.; SIRCILI, M. P.; TADEI, C. R.; SANTOS, M. F.; FRANZOLIN, M. R.; MARTINEZ, M. B.; FERRER, S. E.; BARRETO, M. L.; TRABULSI, L. R. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* from children with and without diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 102, p. 839-844, 2007.

CHATTAWAY, M. A.; JENKINS, C.; RAJENDRAM, D.; CRAVIOTO, A.; TALUKDER, K. A.; DALLMAN, T.; UNDERWOOD, A.; PLATT, S.; OKEKE, I. N.; WAIN, J. Enteroaggregative *Escherichia coli* have evolved independently as distinct complexes within the *E. coli* population with varying ability to cause disease. **PLoS One.**, v. 9, p. 11, 2014.

CHAUDHURI, R. R.; HENDERSON, I. R. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. **Infect. Genet. Evol.**, v. 12, p. 214-226, 2012.

CLEMENTS, A.; YOUNG, J. C.; CONSTANTINOU, N.; FRANKEL, G. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Gut. Microbes.**, v. 3, p. 71-87, 2012.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 66, p. 4555–4558, 2000.

CLERMONT, O.; CHRISTENSON, J. K.; DENAMOUR, E.; GORDON, D. M. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Env. Microbiol. Rep.**, v. 5, p. 58-65, 2013.

CLERMONT, O.; GORDON, D.; DENAMOUR, E. Guide to various phylogenetic classification schemes for *Escherichia coli* and the correspondence among schemes. **Microbiology**, v. 161, p. 980-988, 2015.

COBELJIĆ, M.; MILJKOVIĆ-SELIMOVIĆ, B.; PAUNOVIĆ-TODOSIJEVIĆ, D.; VELICKOVIĆ, Z.; LEPSANOVIĆ, Z.; ZEC, N.; SAVIĆ, D.; ILIĆ, R.; KONSTANTINOVIĆ, S.; JOVANOVIĆ, B.; KOSTIĆ, V. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhoea in a neonatal nursery ward. **Epidemiol. Infect.**, v. 117, p. 11-16, 1996.

COOKSON, S. T.; NATARO, J. P. Characterization of HEp-2 cell projection formation induced by diffusely adherent *Escherichia coli*. **Microb. Pathog.**, v. 21, p. 421-434, 1996.

CRAVIOTO, A.; GROSS, R. J.; SCOTLAND, S. M.; ROWE, B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. **Curr. Microbiol.**, v. 3, p. 95–99, 1979.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 8, p. 26–38, 2010.

CROXEN, M. A.; LAW, R. J.; SCHOLZ, R.; KEENEY, K. M.; WLODARSKA, M.; FINLAY, B. B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 26, p. 822-880, 2013.

CZECZULIN, J. R.; WHITTAM, T. S.; HENDERSON, I. R.; NAVARRO-GARCIA, F.; NATARO, J. P. Phylogenetic analysis of enteroaggregative and diffusely adherent *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 2692-2699, 1999.

DALE, A. P.; WOODFORD, N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. **J. Infect.**, v. 71, p. 615-626, 2015.

DALLMAN, T. J.; CHATTAWAY, M. A.; COWLEY, L. A.; DOUMITH, M.; TEWOLDE, R.; WOOLDRIDGE, D. J.; UNDERWOOD, A.; READY, D.; WAIN, J.; FOSTER, K.; GRANT, K. A.; JENKINS, C. An investigation of the diversity of strains of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from cases associated with a large multi-pathogen foodborne outbreak in the UK. **PLoS One**, v. 9, p. 98-103, 2014.

DAUTIN, N. Serine protease autotransporters of enterobacteriaceae (SPATEs): biogenesis and function. **Toxins (Basel)**, v. 2, p. 1179-1206, 2010.

DAWSON, K. G.; EMERSON, J. C.; BURNS, J. L. Fifteen years of experience with bacterial meningitis. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 18, p. 816-822, 1999.

DERAKHSHANDEH, A.; FIROUZI, R.; MOATAMEDIFAR, M.; MOTAMEDI, A.; BAHADORI, M.; NAZIRI, Z. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from human samples. **Mol. Biol. Res. Com.**, v. 2, p. 143–149, 2013.

DUDLEY, E. G.; ABE, C.; GHIGO, J. M.; LATOUR-LAMBERT; HORMAZABAL, J. C.; NATARO, J. P. An Incl1 plasmid contributes to the adherence of the atypical enteroaggregative *Escherichia coli* strain C1096 to cultured cells and abiotic surfaces. **Infect. Immun.**, v. 74, p. 2102-2114, 2006a.

DUDLEY, E. G.; THOMSON, N. R.; PARKHILL, J.; MORIN, N. P.; NATARO, J. P. Proteomic and microarray characterization of the AggR regulon identifies a pheU pathogenicity island in enteroaggregative *Escherichia coli*. **Mol. Microbiol.**, v. 61, p. 1267-1282, 2006b.

ELIAS JUNIOR, W. P. **Biogênese da fímbria AAF/II de *Escherichia coli* enteroagregativa.** 1999. 168 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, 1999.

ELIAS, W. P.; SUZART, S.; TRABULSI, L. R.; NATARO, J. P.; GOMES, T. A. Distribution of *aggA* and *aafA* gene sequences among *Escherichia coli* isolates with genotypic or phenotypic characteristics, or both, of enteroaggregative *E. coli*. **J. Med. Microbiol.**, v. 48, p. 597-599, 1999

ELIAS, W. P.; UBER, A. P.; TOMITA S. K.; TRABULSI L. R.; GOMES T. A. T. Combinations of putative virulence markers in typical and variant enteroaggregative *Escherichia coli* strains from children with and without diarrhea **Epidemiol. Infect.**, v. 129, p. 49-55, 2002.

ESLAVA, C.; NAVARRO-GARCÍA, F.; CZECZULIN, J. R.; HENDERSON, I. R.; CRAVIOTO, A.; NATARO, J. P. Pet, an autotransporter enterotoxin from enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 3155-3163, 1998.

ESTRADA-GARCIA, T.; NAVARRO-GARCIA, F. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 66, p. 281-298, 2012.

ESTRADA-GARCIA, T.; PEREZ-MARTINEZ, I.; BERNAL-REYNAGA, R.; ZAIDI, M. B. Enteroaggregative *Escherichia coli*: a pathogen bridging the North and south. **Curr. Trop. Med. Rep.**, v. 1, p. 88-96, 2014.

FALLARINO, A.; MAVRANGELOS, C.; STROEHER, U. H.; MANNING, P. A. Identification of additional genes required for O-antigen biosynthesis in *Vibrio cholerae* O1. **J. Bacteriol.**, v. 179, p. 2147-2153, 1997.

FIHN, S. D. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. **N. Engl. J. Med.**, v. 349, p. 259–266, 2003.

FRÖMMEL, U.; BÖHM, A.; NITSCHKE, J.; WEINREICH, J.; GROß, J.; RÖDIGER, S.; WEX, T.; ANSORGE, H.; ZINKE, O.; SCHRÖDER, C.; ROGGENBUCK, D.; SCHIERACK, P. Adhesion patterns of commensal and pathogenic *Escherichia coli* from humans and wild animals on human and porcine epithelial cell lines. **Gut Pathog.**, v. 5, p. 31, 2013.

FUJIYAMA, R.; NISHI, J.; IMUTA, N.; TOKUDA, K.; MANAGO, K.; KAWANO, Y. The *shf* gene of a *Shigella flexneri* homologue on the virulent plasmid pAA2 of enteroaggregative *Escherichia coli* 042 is required for biofilm formation. **Curr. Microbiol.**, v. 56, p. 474-480, 2008.

GEDEBJERGA, A.; HASMANB, H.; SØRENSENC, C. M.; WANGA, M. An OXA-48-producing *Escherichia coli* isolated from a Danish patient with no hospitalization abroad. **Infec. Dis.**, v. 47, p. 593-595, 2015.

GIOPPO, N. M.; ELIAS W. P.; VIDOTTO, M. C.; LINHARES, R. E.; SARIDAKIS, H. O.; GOMES, T. A.; TRABULSI, L. R.; PELAYO, J. S. Prevalence of HEp-2 cell-adherent *Escherichia coli* and characterisation of enteroaggregative *E. coli* and chain-like adherent *E. coli* isolated from children with and without diarrhoea, in Londrina, Brazil. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 190, p. 293-298, 2000.

GIRÓN, J. A.; JONES, T.; MILLÁN-VELASCO, F.; CASTRO-MUNOZ, E.; ZARATE, L.; FRY, J.; FRANKEL, G.; MOSELEY, S. L.; BAUDRY, B.; KAPER, J. B.; SCHOOLNIK, G. K.; RILEY, L. W. Diffuse-adhering *Escherichia coli* (DAEC) as a putative cause of diarrhea in Mayan children in Mexico. **J. Infect. Dis.**, v. 163, p. 507-513, 1991.

GOMES, T. A.; ABE, C. M.; MARQUES, L. R. Detection of HeLa cell-detaching activity and alpha-hemolysin production in enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from feces of Brazilian children. **J Clin Microbiol.**, v. 33, p. 33-64, 1995

GOMES, T. A.; VIEIRA, M. A.; ABE, C. M.; RODRIGUES, D.; GRIFFIN, P. M.; RAMOS, S. R. Adherence patterns and adherence-related DNA sequences in *Escherichia coli* isolates from children with and without diarrhea in São Paulo city, Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, p.3609-3613, 1998.

GONZÁLEZ-CHAMORRO, F.; PALACIOS, R.; ALCOVER, J.; CAMPS, J.; BORREGO, F.; DÁMASO, D. Urinary tract infections and their prevention. **Actas. Urol. Esp.**, v. 36, p. 48-53, 2012.

GORDON, D. M.; CLERMONT, O.; TOLLEY, H.; DENAMUR, E. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. **Environ. Microbiol.**, v. 10, p. 2484–2496, 2008.

GUERRANT, R. L.; DEBOER, M. D.; MOORE, S. R.; SCHARF, R. J.; LIMA, A. A. The impoverished gut- a triple burden of diarrhoea, stunting and chronic disease. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 10, p. 220-229, 2013.

GUYER, D. M.; HENDERSON, I. R.; NATARO J. P.; MOBLEY H. L. T. Identification of Sat, an autotransporter toxin produced by uropathogenic *Escherichia coli*. **Mol. Microbiol.**, v. 38, p. 53–66, 2000.

GUYER, D. M.; RADULOVIC, S.; JONES, F.E.; MOBLEY, H. L. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 4539–4546, 2002.

HANNAN, T. J.; TOTSIKA, M; MANSFIELD, K. J.; MOORE, K. H.; SCHEMBRI, M. A.; HULTGREN, S. J. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *Escherichia coli* bladder infection. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 36, p. 616-648, 2012.

HARADA, T.; HIROI, M.; KAWAMORI, F.; FURUSAWA, A.; OHATA, K.; SUGIYAMA, K.; MASUDA, T. A food poisoning diarrhea outbreak caused by enteroaggregative *Escherichia coli* serogroup O126:H27 in Shizuoka, Japan. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 60, p. 154-155, 2007.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 254, p. 12-18, 2006.

HEILMANN, C.; SCHWEITZER, O.; GERKE, C.; VANITTANAKOM, N.; MACK, D.; GÖTZ, F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. **Mol. Microbiol.**, v. 20, p. 1083-1091, 1996.

HEIMER, S. R.; RASKO, D. A.; LOCKATELL, C. V.; JOHNSON, D. E.; MOBLEY, H. L. Autotransporter genes *pic* and *tsh* are associated with *Escherichia coli* strains that cause acute pyelonephritis and are expressed during urinary tract infection. **Infect. Immun.**, v. 72, p. 593-597, 2004.

HENDERSON, I. R.; CZECZULIN, J.; ESLAVA, C.; NORIEGA, F., NATARO, J. P. Characterization of *pic*, a secreted protease of *Shigella flexneri* and enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 5587-5596, 1999.

HENDERSON, I. R.; NAVARRO-GARCIA, F.; DESVAUX, M.; FERNANDEZ, R. C.; ALA'ALDEEN, D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 68, p. 692–744, 2004.

HERNANDES, R. T.; ELIAS, W. P.; VIEIRA, M. A. M.; GOMES, T. A. T. An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 297, p. 137-149, 2009.

HERZER, P. J.; INOUYE, S.; INOUYE, M.; WHITTAM, T. S. Phylogenetic distribution of branched RNS-linked multicopy single- stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. **J. Bacteriology.**, v. 172, p. 6175-6181, 1990.

HERZOG, K.; ENGELER, D. J.; HUGENTOBLER, M.; BEUTIN, L.; SÄGESSER, G.; STEPHAN R.; HÄCHLER, H.; NÜESCH-INDERBINEN, M. Diarrheagenic

enteroaggregative *Escherichia coli* causing urinary tract infection and bacteremia leading to sepsis. **Infection.**, v. 42, p. 441-444, 2013.

HICKS, S.; CANDY D. C.; PHILLIPS A. D.. Adhesion of enteroaggregative *Escherichia coli* to pediatric intestinal mucosa in vitro. **Infect.Immun.**, v. 64, p. 4751-4760, 1996.

HUANG, D. B.; NATARO, J. P.; DUPONT, H. L.; KAMAT, P. P.; MHATRE, A. D.; OKHUUSEN, P. C.; CHIANG, T. Enteroaggregative *Escherichia coli* is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis. **Clin. Infect. Dis.**, v. 43, p. 556-563, 2006.

HUNT, J. M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). **Clin. Lab. Med.**, v. 30, p. 21-45, 2010.

INGERSON-MAHAD, M.; REID, A. *E. coli*: good, bad & deadly. **American Academy of Microbiology**, p.1-13, 2011.

IRANPOUR, D.; HASSANPOUR, M.; ANSARI, H.; TAJBAKHSH, S.; KHAMISIPOUR, G.; NAJAFI, A. Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains from patients with urinary tract infection in Iran based on the new Clermont phylotyping method. **Biomed. Res. Int.**, v. 2015, p. 1-7, 2015

ISIDEAN, S. D.; RIDDLE, M. S.; SAVARINO, S. J.; PORTER, C. K. A systematic review of ETEC epidemiology focusing on colonization factor and toxin expression. **Vaccine**, v. 29, p. 6167-6178, 2011.

ITOH, Y.; NAGANO, I.; KUNISHIMA, M.; EZAKI, T. Laboratory investigation of enteroaggregative *Escherichia coli* O untypeable :H10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, p. 2546-2550, 1997.

JOHNSON, J. R.; MURRAY, A. C.; GAJEWSKI, A.; SULLIVAN, M.; SNIPPES, P.; KUSKOWSKI, M. A.; SMITH, K. E. Isolation and molecular characterization of nalidixic acid-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from retail chicken products. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, v. 47, p. 2161-2168, 2003.

JOHNSON, J. R.; RUSSO, T. A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 295, p. 383-404, 2005.

JOHNSON, J. R.; STELL, A. L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p. 261-72, 2000.

JØNSSON, R.; STRUVE, C.; BOISEN, N.; MATEIU, R. V.; SANTIAGO, A. E.; JENSSEN, H.; NATARO, J. P.; KROGFELT, K. A. A novel Aggregative Adherence Fimbriae (AAF/V) of Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC). **Infect. Immun.**, v. 83, p. 1396-1405, 2015

KAPER, J. B. Defining EPEC. **Rev. Microbiol.**, v. 27, p 130-133, 1996.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 2, p. 123-140, 2004.

KEUSCH, G. T.; ROSENBERG, I. H.; DENNO, D. M.; DUGGAN, C.; GUERRANT, R. L.; LAVERY, J. V.; TARR, P. I.; WARD, H. D.; BLACK, R. E.; NATARO, J. P.; RYAN, E. T.; BHUTTA, Z. A.; COOVADIA, H.; LIMA, A.; RAMAKRISHNA, B.; ZAIDI, A. K.; BURGESS, D. C.; BREWER, T. Implications of acquired environmental enteric dysfunction for growth and stunting in infants and children living in low- and middle-income countries. **Food. Nutr. Bull.**, v. 34, p. 357-364, 2013.

KOTLOFF, K. L.; NATARO, J. P.; BLACKWELDER, W. C.; NASRIN, D.; FARAG, T. H.; PANCHALINGAM, S.; WU, Y.; SOW, S. O.; SUR, D.; BREIMAN, R. F.; FARUQUE, A. S.; ZAIDI, A. K.; SAHA, D.; ALONSO, P. L.; TAMBOURA, B.; SANOGO, D.; ONWUCHEKWA, U.; MANNA, B.; RAMAMURTHY, T.; KANUNGO, S.; OCHIENG, J. B.; OMORE, R.; OUNDO, J. O.; HOSSAIN, A.; DAS, S. K.; AHMED, S.; QURESHI, S.; QUADRI, F.; ADEGBOLA, R. A.; ANTONIO, M.; HOSSAIN, M. J.; AKINSOLA, A.; MANDOMANDO, I.; NHAMPOSSA, T.; ACÁCIO, S.; BISWAS, K.; O'REILLY, C. E.; MINTZ, E. D.; BERKELEY, L. Y.; MUHSEN, K.; SOMMERFELT, H.; ROBINS-BROWNE, R. M.; LEVINE, M. M. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. **Lancet**. v. 382 p. 209-22. 2013.

LANATA, C. F.; FISCHER-WALKER, C. L.; OLASCOAGA, A. C.; TORRES, C. X.; ARYEE, M. J.; BLACK, R. E.; CHILD HEALTH EPIDEMIOLOGY REFERENCE GROUP OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION AND UNICEF. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. **PLoS One.**, v. 8, p.1-11, 2013.

LECOINTRE, G.; RACHDI, L.; DARLU, P.; DENAMUR, E. *Escherichia coli* Molecular Phylogeny Using the Incongruence Length Difference Test. **Mol. Biol. Evol.**, v. 15, p. 1685-1695, 1998.

LEVINE, M. M.; XU, J. G.; KAPER, J. B.; LIOR, H.; PRADO, V.; TALL, B.; NATARO, J.; KARCH, H.; WACHSMUTH, K. A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. **J Infect Dis.**, v. 156, p. 175-82, 1987.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 2004. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 608 p.

MANGES, A. R.; JOHNSON, J. R. Food-borne origins of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 55, p. 712-719, 2012.

MELLMANN, A. M.; BIELASZEWSKA, R.; KOCK, A. W.; FRIEDRICH, A.; FRUTH, B.; MIDDENDORF, D.; HARMSSEN, M. A.; SCHMIDT, H. K. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 14, p.1287-1290, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância e controle da qualidade de água para consumo humano**. Ministério da saúde, 212 p. 2006)

MONTEIRO, B. T.; CAMPOS, L. C.; SIRCILI, M. P.; FRANZOLIN, M. R.; BEVILACQUA, L. F.; NATARO, J. P.; ELIAS, W. P. The dispersin-encoding gene (*aap*) is not restricted to enteroaggregative *Escherichia coli*. **Diagn Microbiol Infect Dis.**, v. 65, p. 81-84, 2009

MOON, H. W.; WHIPP, S. C.; ARGENZIO, R. A.; LEVINE, M. M.; GIANNELLA, R. A. Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. **Infect. Immun.**, v. 41, p. 1340–1351, 1983.

MORA, A.; VISO, S.; LÓPEZ, C.; ALONSO, M. P.; GARCÍA-GARROTE, F.; DABHI, G.; MAMANI, R.; HERRERA, A.; MARZOA, J.; BLANCO, M.; BLANCO, J. E.; MOULIN-SCHOULEUR, M.; SCHOULER, C.; BLANCO, J. Poultry as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O45:K1:H7-B2-ST95 in humans. **Vet. Microbiol.**, v. 167, p. 506-512, 2013.

MORENO, A. C.; FERREIRA, K. S.; FERREIRA, L. G.; ALMEIDA, S. R.; MARTINEZ, M. B. Recognition of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* by dendritic cells: distinct dendritic cell activation states. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 107 p. 138-41. 2012.

MORENO, A. C.; FERREIRA, L. G.; MARTINEZ, M. B. Enteroinvasive *Escherichia coli* vs. *Shigella flexneri*: how different patterns of gene expression affect virulence. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 301, p. 156-163, 2009.

MOURA, R. A.; SIRCILI, M. P.; LEOMIL, L.; MATTÉ, M. H.; TRABULSI, L. R.; ELIAS, W. P.; IRINO, K.; PESTANA-DE-CASTRO A. F. Clonal relationship among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from different animal species and humans. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 75, p. 7399–7408, 2009.

NANDANWAR, N.; JANSSEN, T.; KÜHL, M.; AHMED, N.; EWERS, C.; WIELER L. H. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) of human and avian origin belonging to sequence type complex 95 (STC95) portray indistinguishable virulence features. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 304, p. 835-842, 2014.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B.; ROBINS-BROWNE, R.; PRADO, V.; VIAL, P.; LEVINE, M. M. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 6, p. 829-831, 1987.

NATARO, J. P.; MAI, V.; JOHNSON, J.; BLACKWELDER, W. C.; HEIMER, R., TIRRELL, S.; EDBERG, S. C.; BRADEN, C. R.; GLENN-MORRIS, J.; HIRSHON, J. M. Diarrheagenic *Escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland, and New Haven, Connecticut. **Clin. Infect. Dis.**, v. 15, p. 402-407, 2006

NATARO, J. P.; YIKANG, D.; YINGKANG, D.; WALKER, K. AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Bacteriol.** v. 176, p. 4691-4699, 1994.

NATARO, J. P.; BALDINI, M. M.; KAPER, J. B.; BLACK, R. E.; BRAVO, N.; LEVINE, M. M. Detection of an adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA probe. **J. Infect. Dis.**, v. 152, p. 560-565, 1985.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 11, p.142-201, 1998.

NATARO, J. P.; YKANG, D.; YNGKANG, D.; WALKER, K. AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Bacteriol.**, v. 176, p. 4691-4699, 1994.

NAVARRO-GARCIA, F.; ELIAS, W. P. Autotransporters and virulence of enteroaggregative *E. coli*. **Gut Microbes.**, v. 2, p. 13-24, 2011.

NAZEMI, A.; MIRINARGASI, M.; MERIKHI, N.; SHARIFI, S. H. Distribution of pathogenic genes *aatA*, *aap*, *aggR*, among uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and their linkage with *StbA* Gene. **Indian J. Microbiol.**, v. 51, p. 355–358, 2011.

NISHI, J.; SHEIKH, J.; MIZUGUCHI, K.; LUISI, B.; BURLAND, V.; BOUTIN, A.; ROSE, D. J.; BLATTNER, F. R.; NATARO, J. P. The export of coat protein from enteroaggregative *Escherichia coli* by a specific ATP-binding cassette transporter system. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 45680-45689, 2003.

OCHOA, T. J.; CONTRERAS, C. A. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) infection in children. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 24, p. 478-483, 2011.

OKEKE, I. N.; WALLACE-GADSDEN, F.; SIMONS, H. R.; MATTHEWS, N.; LABAR, A.S.; HWANG, J.; WAIN, J. Multi-locus sequence typing of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from Nigerian children uncovers multiple lineages. **PLoS One.**, v. 23, p. 14093, 2010.

OKHUYSEN, P. C.; DUPONT, H. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. **J. Infect. Dis.**, v. 202, p. 503-505, 2010.

OLESEN, B.; SCHEUTZ, F.; ANDERSEN, R. L.; MENARD, M.; BOISEN, N.; JOHNSTON, B.; HANSEN, D. S.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P.; JOHNSON, J. R. Enteroaggregative *Escherichia coli* O78:H10, the cause of an outbreak of urinary tract infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 50, p.3703–3711, 2012.

PARHAM, N. J.; SRINIVASAN, U.; DESVAUX, M.; FOXMAN, B.; MARRS, C. F.; HENDERSON, I. R. PicU, a second serine protease autotransporter of uropathogenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.15, p. 73-83, 2004

PARK, H. K.; JUNG, Y. J.; CHAE, H. C.; SHIN, Y. J.; WOO, S. Y.; PARK, H. S.; LEE, S. J. Comparison of *Escherichia coli* uropathogenic genes (*kps*, *usp* and *ireA*) and enteroaggregative genes (*aggR* and *aap*) via multiplex polymerase chain reaction from suprapubic urine specimens of young children with fever. **Scand. J. Urol. Nephrol.**, v. 43, p. 51–57, 2009.

PETRI, W. A.; MILLER, M.; BINDER, H. J.; LEVINE, M. M.; DILLINGHAM, R.; GUERRANT, R. L. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. **J. Clin. Invest.**, v. 118, p. 1277-1290, 2008.

PICARD, B.; GARCIA, J. S.; GOURIOU, S.; DURIEZ, P.; BRAHIMI, N.; BINGEN, E.; ELION, J.; DENAMUR, E. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 546-553, 1999.

PITONDO-SILVA, A.; MINARINI, L. A.; CAMARGO, I. L.; DARINI, A. L. Clonal relationships determined by multilocus sequence typing among enteropathogenic *Escherichia coli* isolated in Brazil. **Can. J. Microbiol.**, v. 55, p. 672-679, 2009

PITOUT, J. D. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. **Front. Microbiol.**, v. 19, p. 3-9, 2012.

PUPO, G. M.; LAN, R.; REEVES, P. R. Multiple independent origins of *Shigella* clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 97, p. 10567–10572, 2000.

RASKO, D. A.; WEBSTER, D. R.; SAHL, J. W.; BASHIR, A.; BOISEN, N.; SCHEUTZ, F.; PAXINOS, E. E.; SEBRA, R.; CHIN, C. S.; ILIOPOULOS, D.; KLAMMER A.; PELUSO, P.; LEE, L.; KISLYUK, A. O.; BULLARD, J.; KASARSKIS, A.; WANG, S.; EID, J.; RANK, D.; REDMAN, J. C.; STEYERT, S. R.; FRIMODT-MØLLER, J.; STRUVE, C.; PETERSEN, A. M.; KROGFELT, K. A.; NATARO, J. P.; SCHADT, E. E.; WALDOR, M. K. Origins of the *Escherichia coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. **N. Engl. J. Med.**, v. 365, p. 709-717, 2011.

RESTIERI, C.; GARRISS, G.; LOCAS, M. C.; DOZOIS, C. M. Autotransporter encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, p. 1553–1562, 2007.

RILEY, L. W. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 20, p. 380–390, 2014.

RILEY, L. W.; REMIS, R. S.; HELGERSON, S. D.; MCGEE, H. B.; WELLS, J. G.; DAVIS, B. R.; HEBERT, R. J.; OLCOTT, E. S.; JONHSON, L. M.; HARGRETT, N. T.; BLAKE, P. A.; COHEN, M. L. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **N. Engl. J. Med.**, v. 308, p. 681-685, 1983.

RODRIGUES, J.; THOMAZINI, C. M.; MORELLI, A.; DE BATISTA, G. C. M. Reduced etiological role for enteropathogenic *Escherichia coli* in cases of diarrhea in brazilian infants. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 398-400, 2002.

RUIZ-PEREZ, F.; NATARO, J. P. Bacterial serine proteases secreted by the autotransporter pathway: classification, specificity, and role in virulence. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 71, p. 745-770, 2014.

RUSSO, T. A.; JOHNSON, J. R. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p. 1753–1754, 2000.

SABATÉ, M. ; MORENO, E. ; PÉREZ, T. ; ANDREU, A.; PRATS, G. Pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates. **Clin. Microbiol. Infect.**,v. 12, p. 880– 886, 2006.

SAHL, J. W.; MATALKA, M. N.; RASKO, D. A. Phylomark, a tool to identify conserved 330 phylogenetic markers from whole-genome alignments. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78, p. 4884- 4892, 2012.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: a Laboratory Manual**. New York: Cold Spring Harbor, 1989.

SANTOS, A. C. M.; ZIDKO, A. C. M.; PIGNATARI, A. C.; SILVA, R. M. Assessing the diversity of the virulence potential of *Escherichia coli* isolated from bacteremia in São Paulo, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.46, p. 968-973, 2013

SARANTUYA, J.; NISHI, J.; WAKIMOTO, N.; ERDENE, S.; NATARO, J. P.; SHEIKH, J.; IWASHITA, M.; MANAGO, K.; TOKUDA, K.; YOSHINAGA, M.; MIYATA, K.; KAWANO, Y. Typical enteroaggregative *Escherichia coli* is the most prevalent pathotype among *E. coli* strains causing diarrhea in Mongolian children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p.133-139, 2004.

SAVARINO, S. J.; MCVEIGH, A.; WATSON, J.; MOLINA, J.; CRAVIOTO, A.; ECHEVERRIA, P.; BHAN, M. K.; LEVINE, M. M.; FASANO, A. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin is not restricted to enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Infect. Dis.**, v. 173, p. 1019–1022, 1996.

SCALETSKY, I. C. A.; FABBRICOTI, S. H.; CARVALHO, R. L.; NUNES, C. R.; MARANHÃO, H. S.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES-NETO, U. Diffusely adherent *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in young children in Northeast Brazil: a case-control study. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 645-648, 2002.

SCALETSKY, I. C. A.; PEDROSO, M. Z.; OLIVA, C. A.; CARVALHO, R. L.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES-NETO, U. A localized adherence pattern as a second pattern of adherence of classic enteropathogenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells that is associated with infantile diarrhea. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 3410-3415, 1999.

SCALETSKY, I. C. A.; SILVA, M. L. M.; TRABULSI, L. R. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. **Infect. Immun.**, v. 45, p. 534-536, 1984.

SCHEUTZ, F. Taxonomy Meets Public Health: The Case of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. **Microbiol. Spectr.**, v. 2, p. 1-15, 2014.

SCHEUTZ, F.; STROCKBINE, N. A. Genus I. *Escherichia castellani* and *Chalmers 1919*. Em: GARRITY, G.M. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - The Proteobacteria Part B**. v. 2 p. 607-624. 2005.

SCHMIDT, H.; ZHANG, W. L.; HEMMRICH, U.; JELACIC, S.; BRUNDER, W.; TARR, P. I.; DOBRINDT, U.; HACKER, J.; KARCH, H. Identification and characterization of a novel genomic island integrated at *sefC* in locus of enterocyte effacement-negative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 69, p. 6863–6873, 2001.

SCHUBERT, S.; RAKIN, A.; KARCH, A.; CARNIEL, E.; HEESEMANN, J. Prevalence of the high-pathogenicity island of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to humans. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 480-485, 1998.

SERVIN, A. L. Pathogenesis of Human Diffusely Adhering *Escherichia coli* Expressing Afa/Dr Adhesins (Afa/Dr DAEC): Current Insights and Future Challenges. **Clin. Microb. Rev.**, v. 27, p. 823-869, 2014.

SHEIKH, J.; HICKS, S.; DALL'AGNOL, M.; PHILLIPS, A. D.; NATARO, J. P. Roles for Fis and YafK in biofilm formation by enteroaggregative *Escherichia coli*. **Mol. Microbiol.**, v. 41, p. 983-997, 2001.

SMITH, H. R.; CHEASTY, T.; ROWE, B. Enteroaggregative *Escherichia coli* and outbreaks of gastroenteritis in UK. **Lancet**, v. 350, p. 814-815, 1997.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M.; GUNTHER, N. W. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Foodborne Pathog. Dis.**, v. 4, p. 134-163, 2007.

SNELLING, A. M.; MACFARLANE-SMITH, L. R.; FLETCHER, J.N.; OKEKE, I.N. The commonly-used DNA probe for diffusely-adherent *Escherichia coli* cross-reacts with a subset of enteroaggregative *E. coli*. **BMC Microbiol.**, v. 21, p. 269, 2009.

SPANGLER, B. D. Structure and function of cholera toxin and the related *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. **Microbiol. Rev.**, v. 56 p. 622–647 1992.

SPANO, L. C.; SADOVSKY, A. D. I.; SEGUI, P. N.; SAICK, K. E.; KITAGAWA, S. M. S.; PEREIRA, F. E. L.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A. Age-specific prevalence of diffusely adherent *Escherichia coli* in Brazilian children with acute diarrhea. **J. Med. Microbiol.**, v. 57, p. 359-363, 2008.

STEINER, T. S.; NATARO, J. P.; POTEET-SMITH, C. E.; SMITH, J. A.; GUERRANT, R. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* expresses a novel flagellin that causes IL-8 release from intestinal epithelial cells. **J. Clin. Invest.**, v. 105, p. 1769-1777, 2000.

STINS, M. F.; BADGER, J. L.; KIM, K. S. Bacterial invasion and transcytosis in transfected human brain microvascular endothelial cells. **Microb. Pathog.**, v. 30, p. 19–28, 2001.

TAPIA-PASTRANA, G.; CHAVEZ-DUEÑAS, L.; LANZ-MENDOZA, H.; TETER, K.; NAVARRO-GARCÍA, F. VirK is a periplasmic protein required for efficient secretion of plasmid-encoded toxin from enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect Immun.**, v. 80, p. 2276-2285, 2012.

TENAILLON, O.; SKURNIK, D.; PICARD, B.; DENAMOUR, E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Rev. Microbiol.**, v. 8, p. 207-217, 2010.

TOVAL, F.; KÖHLER, C. D.; VOGEL, U.; WAGENLEHNER, F.; MELLMANN, A.; FRUTH, A.; SCHMIDT, M. A.; KARCH, H.; BIELASZEWSKA, M.; DOBRINDT, U. Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 52, p. 407-418, 2013.

TRAMUTA, C.; ROBINO, P.; NUCERA, D.; SALVARANI, S.; BANCHE, G.; MALABAILA, A.; NEBBIA, P. Molecular characterization and antimicrobial resistance of faecal and urinary *Escherichia coli* isolated from dogs and humans in Italy. **Vet. Ital.**, v. 50, p. 23–30, 2014.

TURNER, S. M.; SCOTT-TUCKER, A.; COOPER, L. M.; HENDERSON, I. R. Weapons of mass destruction: virulence factors of the global killer enterotoxigenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 263, p. 10-20, 2006.

TZIPORI, S.; MONTANARO, J.; ROBINS-BROWNE, R. M.; VIAL, P.; GIBSON, R. Studies with enteroaggregative *Escherichia coli* in the gnotobiotic piglet gastroenteritis model. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 5302-5306, 1992.

ULETT, G. C.; TOTSIKA, M.; SCHAAL, K.; CAREY, A. J.; SWEET, M. J.; SCHEMBRI, M. A. Uropathogenic *Escherichia coli* virulence and innate immune responses during urinary tract infection. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 16, p. 100-107, 2013.

UNHANAND, M.; MUSTAFA, M. M.; MCCRACKEN, G. H.; NELSON, J. D. Gram-negative enteric bacillary meningitis: a twenty-one-year experience. **J. Pediatr.**, v. 122, p. 15–21, 1993.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ambient water quality criteria for bacteria. **United States Environmental Protection Agency**, Washington, DC. 1986.

VILLASECA, J. M.; NAVARRO-GARCÍA, F.; MENDOZA-HERNÁNDEZ, G.; NATARO, J. P.; CARVIOTO, A.; ESLACA, C. Pet toxin from enteroaggregative *Escherichia coli* produces cellular damage associated with fodrin disruption. **Infect. Immun.**, v. 68, p. 5920-5927, 2000

VISWANATHAN, V.K.; HODGES, K.; HECHT, G. Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhea. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 7, p. 110-119, 2008.

WALLACE-GADSDEN, F.; JOHNSON, J. R.; WAIN, J.; OKEKE, I. N. Enteroaggregative *Escherichia coli* related to uropathogenic clonal group A. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 13, p. 757–760, 2007.

WANG, A.; NIZRAN, P.; MALONE, M.A.; RILEY, T. Urinary tract infections. **Prim. Care.**, v. 40, p.687-706, 2013.

WEI, J.; GOLDBERG, M. B.; BURLAND, V.; VENKATESAN, M. M.; DENG, W.; FOURNIER, G.; MAYHEW, G. F.; PLUNKETT, R. D.; ROSE, D. J.; DARLING, A.; MAU, B.; PERNA, N. T.; PAYNE, S. M.; RUNYEN-JANECKY, L. J.; ZHOU, S.; SCHWARTZ, D. C.; BLATTNER, F. R. Complete genome sequence and comparative genomics of *Shigella flexneri* serotype 2a strain 2457T. **Infect. Immun.** v. 71, p. 2775–2786, 2003.

WHITTAM, T. S.; OCHMAN, H.; SELANDER, R. K. Geographic Components of Linkage Disequilibrium in Natural Populations of *Escherichia coli*. **Mol. Biol. Evol.**, v.1, p. 67-83, 1983.

WIRTH, T.; FALUSH, D.; LAN, R.; COLLES, F.; MENSA, P.; WIELER, L. H.; KARCH, H.; REEVES, P. R.; MAIDEN, M. C.; OCHMAN, H.; ACHTMAN, M. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. **Mol. Microbiol.**, v. 60, p. 1136-1151, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diarrhoeal disease**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>>. Acesso em: 08 out. 2015.