

FRANCIELLI MAHNIC DE VASCONCELLOS

“Estudo do padrão de adesão agregativa de *Escherichia coli*  
do sorotipo O142: H34”

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação Interunidades em Biotecnologia  
USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção  
do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Dr. Waldir Pereira Elias Junior

Versão original

São Paulo  
2014

## RESUMO

VASCONCELLOS, F. M. **Estudo do padrão de adesão agregativa de *Escherichia coli* do sorotipo O142:H34**. 2014. 112 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

*Escherichia coli* enteropatogênica é um dos patótipos de *E. coli* diarreiogênica (EcD), importante agente de diarreia aguda na infância, principalmente em países em desenvolvimento. Cepas desse patótipo induzem uma alteração histopatológica no epitélio intestinal denominada lesão *attaching and effacing* (A/E). A classificação de EPEC nos subgrupos típica e atípica é baseada na presença ou ausência do plasmídeo *E. coli adherence factor* (pEAF), respectivamente. A tipagem do antígeno somático (O) das cepas de EPEC associadas à diarreia levou à definição de 12 sorogrupos clássicos de EPEC, dentre os quais está o sorogrupo O142. Um estudo prévio de caracterização de EPEC do sorogrupo O142 descreveu uma cepa do sorotipo O142:H34 (Ec48/66) que apresentava como características a presença do gene *eae* (o qual codifica a adesina intimina de EPEC), a ausência do plasmídeo pEAF (determinante de EPEC típica), a reatividade com o fragmento sonda CVD432 (indicativo do plasmídeo de virulência de *E. coli* enteroagregativa, ou EAEC) e a expressão do padrão de adesão agregativa (característica de EAEC). Essa cepa apresenta uma inusitada combinação de genes de virulência de EPEC e EAEC, tornando a sua classificação difícil. Além disso, a adesina que medeia a adesão agregativa dessa cepa não foi caracterizada. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o papel de estruturas fimbriais no estabelecimento do padrão de adesão agregativa da cepa Ec46/88 de *E. coli* do sorotipo O142:H34, bem como avaliar a sua classificação. A cepa Ec46/88 mostrou-se capaz de aderir no padrão agregativo nas linhagens HeLa, HEp-2, HT-29 e T84, além de causar a lesão A/E em células HeLa e HT-29. A pesquisa de diversos fatores de virulência de EAEC e de outros patótipos de *E. coli* detectou a presença de *aggDBCA*, os quais compõem o operon que codifica a adesina AAF/I de EAEC, e de *ecpABCDE*, que codificam a fímbria *E. coli common pilus* (ECP). O operon *agg* foi sequenciado mostrando alta identidade (96%) de *aggDBC* com os mesmos genes presentes na EAEC 17-2 e de *aggA* (99%) com um gene que codifica a variante AggA<sub>457</sub>. Os genes do operon *ecp* apresentaram alta identidade (99%) com o mesmo operon da EPEC E2348/69. Mutantes nos genes que codificam os *ushers* de AAF/I e ECP (*aggC* e *ecpC*, respectivamente) foram obtidos. A análise da interação dos mesmos com células HeLa mostrou a manutenção da adesão agregativa e da capacidade de causar a lesão A/E em ambos. Entretanto, o mutante em *aggC* apresentou diminuição significativa do número de bactérias aderidas. Análises filogenéticas dessa cepa, em relação a outros patótipos de EcD, a posicionaram em um grupo constituído predominantemente por EPEC. Os dados obtidos permitem concluir que a cepa Ec48/66 é uma EPEC atípica, com capacidade de causar a lesão A/E *in vitro* e que expressa o padrão de adesão agregativo, o qual é parcialmente dependente de uma variante da fímbria AAF/I, mas não da fímbria ECP.

**Palavras-chave:** Adesão. *Escherichia coli* enteropatogênica. Fímbria AAF/I. Fímbria ECP.

## ABSTRACT

VASCONCELLOS, F. M. **Study of the aggregative adherence pattern of *Escherichia coli* from serotype O142:H34.** 2014. 112 p. Ph. D. thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Enteropathogenic *Escherichia coli* is one of the diarrheagenic *E. coli* (DEC) pathotypes, an important agent of acute diarrhea in children, especially in developing countries. Strains of this pathotype induce histopathological changes in the intestinal epithelium known as attaching and effacing (A/E) lesion. The classification of EPEC in the subgroups typical and atypical is based on the presence or absence of the plasmid *E. coli* adherence factor (pEAF), respectively. Somatic antigen (O) typing of EPEC strains associated with diarrhea led to the definition of 12 classical EPEC serogroups, among which is the serogroup O142. A previous study characterizing EPEC O142 described a strain of serotype O142:H34 (Ec48/66) presenting some important characteristics: the presence of the *eae* gene (which encodes the adhesin intimin of EPEC), the absence of the pEAF (determinant of typical EPEC), reactivity with the probe fragment CVD432 (indicative of the virulence plasmid of enteroaggregative *E. coli*, or EAEC) and the expression of the aggregative adherence pattern (characteristic of EAEC). This strain has an unusual combination of EPEC and EAEC virulence genes, making difficult its classification. Furthermore, the adhesin mediating the aggregative adherence of this strain was not characterized. Thus, the present study aimed to evaluate the role of fimbrial structures in the establishment of the aggregative adherence pattern of *E. coli* strain serotype O142:H34 and evaluate its classification. The strain Ec46/88 was able to adhere to HeLa, HEp-2, HT-29 and T84 cell in the aggregative adherence pattern, as well as to cause the A/E lesion in HeLa and HT-29 cells. A survey of several virulence factors of EAEC and other *E. coli* pathotypes detected the presence of *aggDBCA*, which comprise the operon encoding the EAEC AAF/I fimbriae, and *ecpRABCDE*, which encode the *E. coli* common pilus (ECP). The *agg* operon was sequenced exhibiting high identity (96%) of *aggDBC* with the same genes present in EAEC 17-2, and *aggA* (99%) with a gene encoding the variant AggA<sub>457</sub>. The genes of the *ecp* operon showed high identity (99%) with the same operon of EPEC E2348/69. Mutants in the genes encoding AAF/I and ECP ushers (*aggC* and *ecpC*, respectively) were obtained. The analysis of the interaction of both mutants with HeLa cells showed the maintenance of the aggregative adherence and the ability to cause the A/E lesion. However, the *aggC* mutant presented significant decrease in the number of adherent bacteria. Phylogenetic analysis in relation to other DEC pathotypes situated this strain in the group consisting predominantly of EPEC. The data obtained indicated that the Ec48/66 strain is an atypical EPEC able to cause the A/E lesion *in vitro* and to express the aggregative adherence pattern, which is partially dependent on a variant of AAF/I fimbriae, but not on ECP fimbriae.

**Key words:** Adhesion. Enteropathogenic *Escherichia coli*. AAF/I fimbriae. ECP fimbriae.

# 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

## 1.1 *Escherichia coli* diarreiogênica

A doença diarreica é considerada um dos principais problemas de saúde mundial. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a diarreia está entre as principais causas de mortalidade infantil, afetando cerca de 2 milhões de crianças a cada ano em todo o mundo, especialmente nos países em desenvolvimento (WHO, 2009). No Brasil a doença também é uma das maiores causas de morte de crianças abaixo de 5 anos de idade (BRYCE et al., 2005). Segundo dados da OMS, rotavírus e *E. coli* são os dois agentes etiológicos mais comuns da diarreia nos países em desenvolvimento, responsáveis por metade dos óbitos associados a essa patologia (LANATA et al., 2013).

As *E. coli* são encontradas na microbiota intestinal do homem e de outras espécies animais de sangue quente (DRASAR; HILL, 1974). Devido a sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes, estão presentes em variados habitats, tanto terrestres quanto aquáticos (MARTINEZ; TRABULSI, 2008). Geralmente as *E. coli* estão confinadas no lúmen intestinal como organismos simbioses. Entretanto, em situações adversas onde o hospedeiro encontra-se debilitado e as barreiras intestinais são violadas, cepas não patogênicas podem causar infecções. No homem as infecções causadas por *E. coli* podem ser intestinais e extraintestinais, dentre as quais destacam-se epidemiologicamente as infecções urinárias, as sepses e as meningites de recém-nascidos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

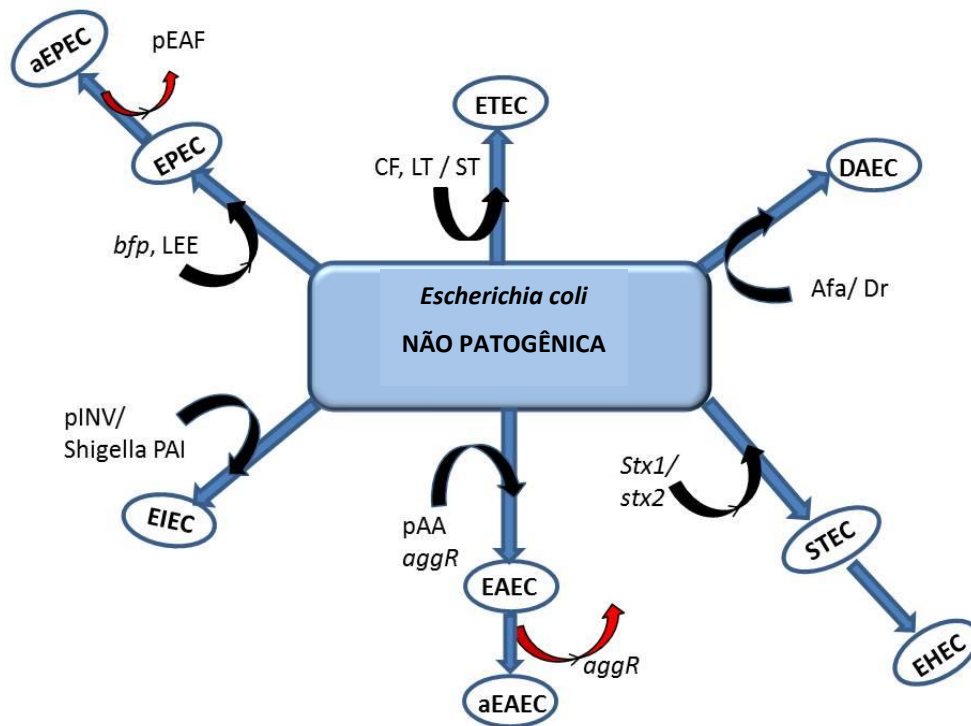
A espécie *E. coli* pertence à família Enterobacteriaceae, compreendendo bacilos Gram-negativos que compõe predominantemente a microbiota intestinal humana, desempenhando um importante papel na manutenção da fisiologia intestinal (NATARO; KAPER, 1998). De acordo com o esquema proposto por Kauffmann, os membros desta espécie podem ser diferenciados com base no antígeno somático (O), que corresponde à porção lipopolissacarídica da membrana externa (LPS), e no antígeno flagelar (H), podendo assim ser classificados em sorogrupos (O) e sorotipos (O:H) (KAUFFMANN, 1947).

Atualmente são identificados mais de 180 sorogrupos O em *E. coli*, que podem ser subclassificados em mais de 60 sorotipos O:H, possibilitando mais de 10.000 combinações. Porém, o número de sorotipos associados à diarreia é muito restrito (CAMPOS; FRANZOLIN; TRABULSI, 2004).

As cepas de *E. coli* causadoras de infecções intestinais são conhecidas como diarreio gênicas e estão agrupadas em seis categorias ou patótipos, considerando seus diferentes mecanismos de virulência, síndromes clínicas que causam, sorotipos e os tipos de interação com linhagens celulares (NATARO; KAPER, 1998). Esses patótipos são denominados: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* produtora da toxina Shiga (STEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* que adere difusamente a células epiteliais (DAEC) (NATARO; KAPER, 1998). As bactérias pertencentes a cada uma dessas categorias causam diarreia por mecanismos distintos, afetam diferentes grupos populacionais e expressam diferentes fatores de virulência (CLEMENTS et al., 2012; NATARO; KAPER, 1998).

A figura 1 apresenta um esquema da geração de cada um dos seis patótipos de *E. coli* diarreio gênicas, a partir de uma *E. coli* não patogênica que adquire os principais fatores de virulência característicos de cada patótipo. Dentro dos patótipos EPEC e EAEC, a perda de alguns desses fatores originam as cepas atípicas.

**Figura 1** - Classificação das *E. coli* diarréiogênicas em patótipos determinados pela presença de fatores de virulência específicos.



As setas pretas indicam aquisição de fatores de virulência; as setas vermelhas indicam perda de fatores. CF, fatores de colonização; LT, toxina termolábil; ST, toxina termoestável; Afa/Dr, adesinas da família DR; Stx1/Stx2, toxinas Shiga tipo 1 e 2; pAA, plasmídeo de virulência de EAEC; *aggR*, codifica o ativador de genes de virulência de EAEC; pINV, plasmídeo de invasão de EIEC/*Shigella*; *Shigella* PAI, ilha de patogenicidade de *Shigella* spp.; *bfp*, operon que codifica a fímbria BFP; LEE, *locus of enterocyte effacement*; pEAF, plasmídeo *E. coli* adherence factor. Fonte: Adaptado de Croxen et al. (2013).

ETEC é o patótipo capaz de produzir uma ou ambas enterotoxinas, denominadas termolábil (LT) e termoestável (ST). Esse patótipo pode aderir à mucosa intestinal através dos seus vários fatores de colonização (NATARO; KAPER, 1998). A colonização e a presença das enterotoxinas levam a uma diarreia aquosa tipicamente associada à infecção causada por ETEC, atingindo crianças e adultos. Além disso, é fortemente associada como agente de diarreia do viajante (ARENAS-HERNÁNDEZ; MARTÍNEZ-LAGUNA; TORRES, 2012).

As cepas de EIEC causam diarreia aquosa, colite inflamatória ou disenteria. São muito relacionadas à *Shigella* spp. em termos de características genéticas, bioquímicas e de patogenicidade (CROXEN et al., 2013). O mecanismo de patogênese das EIEC consiste da invasão da mucosa intestinal, seguida de fagocitose e lise do vacúolo endocítico,

multiplicação intracelular, movimentação no citoplasma e passagem para as células adjacentes (PARSOT, 2005).

STEC foi primeiramente identificada como agente de um surto de diarreia sanguinolenta e da síndrome hemolítica urêmica (SHU) nos EUA (RILEY et al., 1983). É classificada como um patógeno zoonótico que pode causar gastroenterite e colite hemorrágica, podendo ainda provocar a SHU, uma severa complicação renal e sistêmica devido à ação da toxina Shiga (Stx) em diversos órgãos (FRANKEL et al., 1998). As STEC possuem ainda uma subcategoria, denominada *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), sendo que a diferença entre elas dá-se pela capacidade das EHEC de causar a lesão *attaching and effacing* na mucosa intestinal, semelhante às EPEC (NATARO; KAPER, 1998).

DAEC foi assim denominada devido ao padrão de adesão difusa (AD) que as cepas deste patótipo apresentam em ensaios de interação em células epiteliais cultivadas, onde as bactérias aderem-se de forma difusa sobre toda a superfície celular (NATARO et al., 1987). A associação de DAEC com diarreia é controversa, uma vez que vários estudos epidemiológicos não associam esse patótipo à doença diarreica (GIRÓN et al., 1991; GOMES et al., 1998; RODRIGUES et al., 2002; SCALETSKY et al., 2002a).

## **1.2 *E. coli* enteroagregativa**

O termo *E. coli* enteroaderente agregativa foi estabelecido por Nataro et al. (1987) ao classificar algumas cepas de *E. coli* isoladas em um estudo epidemiológico sobre a etiologia da diarreia aguda em crianças no Chile. Essas cepas apresentavam um tipo de interação distinto com células HEp-2, designado como adesão agregativa (AA). No padrão AA as bactérias aderem-se umas as outras, à superfície das células HEp-2 e também à superfície da lamínula na ausência de células, numa configuração que lembra tijolos empilhados, formando agregados heterogêneos (NATARO et al., 1987). Posteriormente o patótipo passou a ser chamado *E. coli* enteroagregativa ou EAEC (BAUDRY et al., 1990).

De modo semelhante ao que ocorreu com as EPEC, Sarantuya et al. (2004) propuseram a classificação de cepas de EAEC nos grupos típica e atípica. Enquanto as EPEC são classificadas nesses dois grupos levando-se em conta a presença ou ausência do plasmídeo pEAF (KAPER, 1996), no patótipo EAEC essa classificação se baseia na presença ou não do gene *aggR*, o qual codifica uma proteína reguladora global dos genes de virulência

de EAEC e está localizado no seu plasmídeo de virulência (HARRINGTON et al., 2006; NATARO et al., 1994).

Desde a sua primeira descrição, EAEC está associada com casos de diarreia nos mais variados cenários ao redor do mundo. Estes estudos incluem a diarreia endêmica em crianças, tanto em países industrializados quanto em desenvolvidos (HUANG; DuPONT, 2004; HUANG et al., 2004; OKEKE; NATARO, 2001), a diarreia persistente (>14 dias) entre indivíduos com a síndrome da imunodeficiência adquirida e crianças desnutridas, especialmente em países em desenvolvimento (GASSAMA-SOW et al., 2004; HUANG et al., 2006; MATHEWSON et al., 1998), e como causa da diarreia do viajante (ADACHI et al., 2001; GÁSCON et al., 1998; OKHUYSEN; DUPONT, 2010).

EAEC tem sido reconhecida cada vez mais como agente de diarreia aguda e persistente em países desenvolvidos e em desenvolvimento e é considerado um enteropatógeno emergente (BHAN et al., 1989; CRAVIOTO et al., 1991; FANG et al., 1995; HARRINGTON et al., 2006; KAPER et al., 2004). Além disso, surtos de diarreia causados por EAEC associados ao consumo de alimentos contaminados foram relatados em países desenvolvidos, como Reino Unido (SMITH et al., 1994; SMITH et al., 1997), Japão (HARADA et al., 2007; ITOH et al., 1997; YATSUYANAGI et al., 2002) e Itália (SCAVIA et al., 2008). Em um dos surtos no Japão foram acometidas 2.697 crianças em idade escolar (ITOH et al., 1997).

Mais recentemente, um surto de diarreia de grandes proporções atingiu vários países da Europa, principalmente a Alemanha. Foram afetados 4.321 indivíduos, sendo que 900 destes desenvolveram a SHU, ocasionando mais de 50 mortes. A cepa responsável por este grave surto foi um híbrido de EAEC e EHEC, uma *E. coli* O104:H4 que carregava fatores de virulência encontrados em EAEC típica, além do gene que codifica a toxina Stx de STEC (BIELASZEWSKA et al., 2011; GRAD et al., 2012). Outros relatos de casos de EAEC que adquiriram o gene *stx*, já haviam sido reportados no Japão (IYODA et al., 2000), França (MORABITO et al., 1998), Irlanda do Norte (DALLMAN et al., 2012) e República Centro-Africana (MOSSORO et al., 2002). Recentemente Clements et al. (2012) propuseram a classificação dessas cepas em um novo patótipo denominado STEAEC.

A patogenicidade de EAEC tem sido atribuída a fatores particulares que não estão uniformemente distribuídos entre as cepas de EAEC isoladas ao redor do mundo (GIOPPO et al., 2000; JENKINS et al., 2006; NATARO; KAPER, 1998; OKEKE et al., 2000; SPENCER



et al., 1999; SARANTUYA et al., 2004; UBER et al., 2006). Não foi encontrado até o presente momento um marcador de virulência comum a todos isolados de EAEC (ESTRADA-GARCIA; NAVARRO-GARCIA, et al., 2012).

A patogênese de EAEC ainda não é bem definida, porém diversos estudos sobre o assunto sugerem um modelo de três estágios para a sua patogênese: (1) adesão inicial à mucosa intestinal e à monocamada de muco (HICKS et al., 1996; TZIPORI et al., 1992); (2) indução de produção de muco, seguido de formação de biofilme sobre a superfície da mucosa (HICKS et al., 1996) e (3) desencadeamento de um processo inflamatório com liberação de citocinas, o qual resulta em danos à mucosa e secreção intestinal (BOUCKENOOGHE et al., 2000; GREWAL et al., 1997; HARRINGTON et al., 2005; JIANG et al., 2002; STEINER et al., 1998). O hospedeiro que sofre de subnutrição pode ser incapaz de reparar os danos e tende a desenvolver a síndrome da diarreia persistente.

O ensaio de adesão às células epiteliais HEp-2 ou HeLa constitui-se no teste de referência para detecção da categoria EAEC, evidenciando o padrão AA característico (NATARO; KAPER, 1998). Como alternativa ao teste de adesão, Baudry et al. (1990) desenvolveram uma sonda genética que consiste de um fragmento críptico de 1 kb do plasmídeo presente em uma cepa de EAEC pertencente ao sorotipo O3:H2 (cepa 17-2). Esse fragmento, descrito inicialmente como sonda CVD432 e, posteriormente, como sonda AA ou sonda EAEC, tem sido amplamente usado na detecção de EAEC, embora sua especificidade e sensibilidade variem de acordo com o grupo de cepas em estudo, confirmando a heterogeneidade dentro do patótipo (BAUDRY et al., 1990; DEBROY et al., 1994; FANG et al., 1995; GOMES et al., 1998). Posteriormente, Nishi et al. (2003) evidenciaram que o fragmento sonda CVD432 na verdade corresponde ao gene *aatA*, o qual faz parte de um cluster de cinco genes (*aatPABCD*) que codificam as proteínas do sistema do tipo ABC de secreção. Desta forma, a sonda CVD432 passou a ser corretamente denominada de *aatA*.

Além da expressão de adesinas e toxinas, vários outros fatores de virulência têm sido caracterizados em EAEC, codificados por genes localizados tanto em plasmídeos quanto no cromossomo de cepas consideradas protótipo (ESTRADA-GARCIA; NAVARRO-GARCIA, 2012).

Grande parte dos potenciais fatores de virulência conhecidos em EAEC foi caracterizada na cepa protótipo 042. Essa cepa pertencente ao sorotipo O44:H18, foi isolada de um caso de diarreia no Peru e foi capaz de causar diarreia em voluntários humanos

(NATARO et al., 1985; NATARO et al., 1995). Nessa cepa, a maioria dos genes que codificam esses fatores estão localizados no plasmídeo de virulência associado à adesão agregativa denominado pAA2 (CZECZULIN et al., 1999).

Um grupo de proteínas denominadas autotransportadores pertencentes à família serino proteases, mais conhecidas como SPATES (*serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae*) participam da patogênese de EAEC. Essas proteínas possuem um domínio C-terminal conservado que forma um poro na membrana externa da bactéria, por onde a proteína madura é transportada (HENDERSON et al., 1998). A cepa protótipo 042 apresenta em seu genoma, os genes *pet* e *pic*, que codificam dois membros das SPATE.

*Pet* (*plasmid encoded toxin*) foi inicialmente descrita como uma toxina capaz de causar acúmulo de fluido e lesões necróticas e hemorrágicas em alça ligada de rato (ESLAVA et al., 1998). Além dessas atividades enterotóxicas, *Pet* tem atividade de citotóxica clivando a  $\alpha$  fodrina, leva à disrupção do citoesqueleto e causando o destacamento e morte de células epiteliais.

*Pic* (*protein involved in intestinal colonization*) apresenta atividade mucinolítica, de hemaglutinação e confere à bactéria a capacidade de resistir à atividade bactericida do soro (HENDERSON et al., 1999). Diferentemente de *pet*, localizado no pAA2 da cepa EAEC 042, o gene *pic* está localizado em seu cromossomo e a sua presença também foi detectada em *Shigella flexneri* 2a (HENDERSON et al., 1999). Localizado na fita antissenso ao gene *pic*, estão os genes *setBA*, os quais codificam a enterotoxina *ShET-1* (*Shigella enterotoxin 1*), que promove acúmulo de fluido em alça ligada de coelho (FASANO et al., 1995).

Além dos genes *pic* e *setBA* no cromossomo da cepa 042, foi localizado o gene *irp-2* que codifica a proteína *iron-repressible high-molecular weight protein 2*, envolvida na biossíntese de um sideróforo em *Yersinia enterocolitica* (SCHUBERT et al., 1998).

O sequenciamento do genoma da cepa protótipo 042 revelou que o locus *pic/setBA* está inserido em uma ilha de patogenicidade (PAI) de 117 kb inserida no locus do RNA transportador *pheU*. Essa PAI contém um grupo de genes regulados por *AggR*, os quais foram denominados *aai* (*AggR-activated island*) (DUDLEY et al., 2006b). Esse operon codifica genes envolvidos na secreção de pelo menos uma proteína e parece fazer parte de um aparato de secreção do tipo VI. A contribuição dos produtos dos genes *aaiA* para a patogênese de EAEC é desconhecida, porém aparentemente não têm função na aderência a superfícies ou a células do epitélio intestinal (DUDLEY et al., 2006b).

Czeczulin et al. (1999) identificaram diversos genes na cepa protótipo 042 associados à virulência de EAEC. Entre eles os genes plasmideais *astA*, *aap*, *shf*, *rfbU* e *virK*.

Adjacente ao gene *pet* localiza-se o gene *astA*, que codifica a enterotoxina termoestável EAST-1 (*E. coli heat-stable enterotoxin 1*). Essa enterotoxina é capaz de induzir um aumento da concentração de cGMP intracelular de forma semelhante à toxina ST de ETEC (SAVARINO et al., 1993). O papel de EAST-1 na patogênese de EAEC é controverso, uma vez que a sua presença também foi detectada em cepas de *E. coli* não patogênicas (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; SAVARINO et al., 1996).

O gene *aap* (*anti-aggregation protein*) codifica a proteína dispersina, relacionada à dispersão bacteriana na mucosa intestinal (SHEIKH et al., 2002; VELARDE et al., 2007). A translocação da dispersina através da membrana externa está relacionada ao sistema de transporte do tipo ABC do qual o gene *aatA* faz parte (NISHI et al., 2003).

O sequenciamento do plasmídeo pAA2 da cepa 042 revelou ainda os genes *shf*, *rfbU* e *virK* (CZECZULIN et al., 1999), o qual apresentou alta similaridade com o mesmo grupo localizado no plasmídeo de virulência de *Shigella flexneri* (FUJIYAMA et al., 2008). Esse grupo de genes foi denominado *cap cluster*, devido a antiga nomenclatura *capU* para o gene *rfbU* (CZECZULIN et al., 1999; RAJAKUMAR et al., 1996). O gene plasmideal *shf*, assim denominado por apresentar homologia com dois genes descritos em *Shigella flexneri* 2a (*shf1* e *shf2*), codifica uma proteína homóloga a IcaB de *Staphylococcus epidermidis*, relacionada à formação de biofilme nessa espécie (CZECZULIN et al., 1999). O gene *rfbU* codifica uma proteína que apresenta 50% de identidade com uma proteína relacionada à biossíntese de lipopolissacarídeo de *E. coli* O157:H7 (CZECZULIN et al., 1999). O gene *virK* foi sugerido como sendo um regulador pós-transcricional de *virG*, ambos localizados no plasmídeo de virulência de *Shigella flexneri* (NAKATA et al., 1992).

Adesinas não fimbriais ou proteínas de membrana externa associadas ao padrão AA, têm sido evidenciadas em diversas cepas de EAEC pertencentes a distintos sorotipos (CHART et al., 1995; DEBROY et al., 1995; MONTEIRO-NETO et al., 1998, 2003; WAI et al., 1996). Debroy et al. (1995) e Wai et al. (1996) relataram a presença de proteínas de membrana externa de 30 e 38 kDa, respectivamente, relacionadas ao fenótipo AA em cepas de EAEC. A proteína de membrana externa de 58 kDa (*Aggregative protein 58*) ou Ap58, com propriedades hemaglutinantes descrita em cepas de EAEC do sorogrupo O111:H12, possui participação na adesão agregativa (MONTEIRO-NETO et al., 2003).

Técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e de hemaglutinação evidenciaram estruturas fimbriais em cepas de EAEC (KNUTTON et al., 1992; SUZART et al., 2001; VIAL et al., 1988). Entretanto, apenas as estruturas denominadas *aggregative adherence fimbria* (AAF) foram caracterizadas geneticamente (BERNIER et al., 2002; BOISEN et al., 2008; CZECHULIN et al., 1997; ELIAS et al., 1999; NATARO et al., 1992).

As AAFs são codificadas em plasmídeos de alta massa molecular, denominados pAA. Até o momento, são conhecidos cinco tipos de AAF, nomeados de I a V (BERNIER et al., 2002; BOISEN et al., 2008; CZECHULIN et al., 1997; DALLMAN et al., 2012; NATARO et al., 1992).

Vial et al. (1988) demonstraram que na cepa protótipo 17-2 a capacidade de aderir de forma agregativa estava associada à presença do plasmídeo pAA1 de aproximadamente 60 MDa. Em seguida, Nataro et al. (1992) relataram a existência de uma fímbria disposta em feixes, com diâmetro de 2-3 nm presente nesta cepa, a qual foi denominada de AAF/I. Os genes necessários para a expressão de AAF/I estão contidos no pAA1, formando duas regiões distintas separadas por um segmento de 9 kb (NATARO et al., 1993). A região 1 contém o cluster de quatro genes *aggDCBA*, os quais codificam a pilina (*aggA*), o *usher* (*aggC*), a chaperona (*aggD*) e uma proteína críptica (*aggB*). *AggA* é a subunidade estrutural da fímbria AAF/I e correspondente a uma proteína de 14 kDa (SAVARINO et al., 1994). A região 2 apresenta um regulador homólogo à classe de proteínas reguladoras da transcrição da família AraC, denominado *AggR*, ativador transcricional necessário para a expressão dessa fímbria (NATARO et al., 1994).

A fímbria AAF/II foi descrita na cepa protótipo 042 e é genética e morfológicamente distinta de AAF/I. Apresenta estrutura em forma de feixes semirrígidos e medeia o padrão AA em células epiteliais. Em semelhança ao operon de AAF/I, os genes que codificam AAF/II estão localizados em um plasmídeo (pAA2) de 65 MDa e estão organizados em duas regiões não contíguas, separadas por um fragmento de 12 kb (CZECHULIN et al., 1997). Na região 1 estão os genes que codificam a chaperona *AafD*, a pilina *AafA*, e o ativador transcricional *AggR* e na região 2 estão os genes que codificam o *usher* *AafC* e a proteína críptica *AafB* (ELIAS et al., 1999).

A terceira fímbria AAF foi identificada na cepa de EAEC 55989 por Bernier et al. (2002). AAF/III também está envolvida com a agregação das bactérias e sua adesão agregativa a células epiteliais. A sua biogênese é codificada pelo operon *agg-3*, o qual é

bastante semelhante ao operon das adesinas Afa de *E. coli* uropatogênica (UPEC) (SERVIN, 2005). Diferentemente de AAF/I e II, as quais formam feixes frouxos, AAF/III aparece em filamentos individuais longos e flexíveis. A organização do cluster AAF/III é muito similar à organização da AAF/I, constituído pelos genes *agg-3A*, *agg-3B*, *agg-3C*, *agg-3D*. Em uma região localizada 5 kb à jusante do gene *agg-3A*, se localiza um gene que possui homologia com *aggR* (BERNIER et al., 2002).

As sequências de aminoácidos deduzidas a partir das sequências de nucleotídeos dos genes envolvidos com a biogênese de AAF/I e AAF/II, apresentam similaridade com as proteínas relacionadas à biogênese das adesinas Afa/Dr por possuírem regiões conservadas nos genes que codificam a proteína de membrana externa (*usher*) e a proteína periplasmática (chaperona) (NATARO et al., 1998). A família Dr de adesinas é composta por adesinas seguindo a arquitetura: chaperona, proteína *usher*, subunidade acessória e subunidade principal. São expressas por *E. coli* e relacionadas com infecções do trato intestinal e trato urinário que apresentam como receptor comum o antígeno eritrocitário do grupo sanguíneo Dr, presente na molécula *decay-accelerating factor* (NOWICKI et al., 1990; SERVIN, 2005).

Recentemente a adesina Hda foi associada ao fenótipo AA produzido pela cepa de EAEC C1010-00, isolada de um caso de diarreia na Dinamarca (BOISEN et al., 2008). A biogênese dessa adesina também é codificada por quatro genes que formam o operon *hdaDCBA*. Sua sequência revelou homologia com a adesina afimbrial M-aglutinina, produzida por cepas de UPEC, e também com a adesina Afa-8 de DAEC. Embora na cepa C1010-00 a adesina seja codificada por um operon de configuração genética semelhante a Afa-Dr, análises de sequência mostraram que HdaA pertence a um grupo filogenético diferente do grupo formado pelas adesinas AAF. Considerando o fenótipo AA o qual a cepa confere, juntamente com a presença de fatores de virulência de EAEC, como *aatA*, *aap* e *aggR*, que esta associado a regulação dos genes que codificam as adesinas AAF em EAEC, foi proposta a designação AAF/IV para o novo tipo de adesina relacionado ao padrão AA.

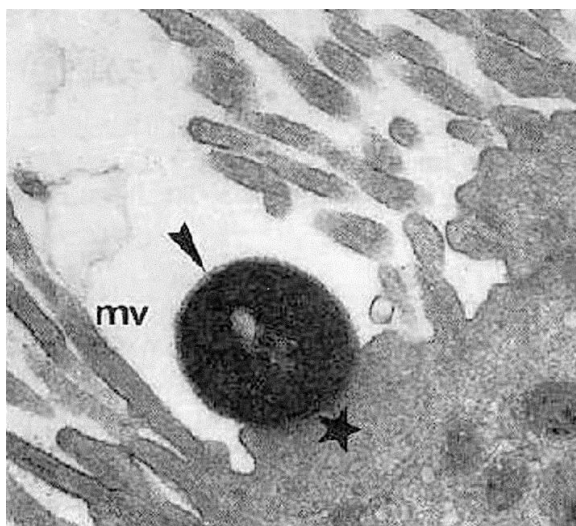
Uma cepa de *E. coli* do sorotipo O111:21 foi isolada de uma criança internada com SHU na Inglaterra, essa cepa foi caracterizada como um híbrido de EAEC/STEC e, assim como no surto da Alemanha em 2011 (BIELASZEWSKA et al., 2011), a cepa apresentava o plasmídeo pAA de EAEC além do gene *stx*, que codifica a toxina Stx. Após análise de sequenciamento do genoma dessa cepa, Dallman et al. (2012) identificaram os genes que

codificam uma nova fimbria agregativa diferente das descritas até o momento, classificando-a como AAF/V (DALLMAN et al., 2012; PRAGER et al., 2014).

### 1.3 *E. coli* enteropatogênica

EPEC tem sido identificada como um dos principais agentes da diarreia aguda na infância em países em desenvolvimento (NATARO; KAPER, 1998). Esse patótipo tem a capacidade de causar uma lesão histopatológica no epitélio intestinal, bem como em cultura celular, denominada lesão *attaching and effacing* (A/E), além de não secretar a toxina Stx, atributo de STEC (TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002). A lesão A/E, apresentada na figura 2, é caracterizada pela desestruturação das microvilosidades intestinais, aderência íntima da bactéria à membrana apical da célula epitelial, rearranjo do citoesqueleto e formação de estruturas celulares semelhantes a pedestais, formadas pelo acúmulo de actina polimerizada, onde a bactéria permanece aderida (MOON et al., 1983).

**Figura 2** – Lesão *attaching and effacing* em uma cepa de EPEC.



Fotomicrografia de uma lesão *attaching and effacing* em biópsia duodenal humana demonstrando a desestruturação das microvilosidades (mv), polimerização da actina com formação do pedestal (indicada por uma estrela) e adesão de uma EPEC (indicada por uma seta). Fonte: Pedroso et al. (1993).

Os genes responsáveis por esse processo encontram-se em uma ilha de patogenicidade cromossômica denominada *locus of enterocyte effacement* (LEE) (CLARKE

et al., 2003; DONNENBERG et al., 1997; ELLIOT et al., 1998; McDANIEL et al., 1995). Dentre eles estão o gene *eae*, que codifica a adesina intimina; os genes *esc*, codificadores do sistema de secreção do tipo III; os genes *esp*, que codificam as proteínas secretadas Esp (*E. coli secreted proteins*); e o gene *tir*, o qual codifica o receptor da intimina denominado *translocated intimin receptor* (Tir) (FRANKEL et al., 1998; KAPER et al., 2004; TAYLOR et al., 1999). Os genes que fazem parte de LEE estão organizados em cinco operons principais: LEE1, LEE2, LEE3, LEE4 e LEE5 (MELLIES et al., 1999).

Além das proteínas codificadas por LEE, outros fatores complementares, mas não essenciais, participam da patogênese de EPEC. Esses fatores estão albergados em um plasmídeo denominado pEAF (*E. coli adherence factor*). Nesse plasmídeo encontra-se o operon *bfp*, que codifica a fímbria *bundle forming pilus* (BFP), uma fímbria do tipo IV, organizada em forma de feixes (GIRÓN et al., 1993); o operon *per* (*plasmid encoded regulator*), o qual codifica um complexo regulador dos genes de virulência de EPEC (TOBE et al., 1999); além de uma sequência críptica chamada fragmento sonda EAF, muito utilizada como marcador para o diagnóstico molecular de EPEC.

A lesão A/E pode ser visualizada através de microscopia eletrônica de transmissão, ou pelo ensaio conhecido como teste de FAS (*fluorescent-actin staining*), onde a actina polimerizada acumulada no pedestal é evidenciada através da ligação à faloidina marcada a um fluorocromo e visualizada em microscopia de fluorescência (KNUTTON et al., 1989).

Todo processo que leva à formação da lesão A/E pode ser dividido em quatro fases (CLARKE et al., 2003). Primeiramente as interações com a célula hospedeira são mediadas pela fímbria BFP, filamentos EspA e flagelo. No segundo estágio, ocorre a desestruturação das microvilosidades e moléculas efetoras, cujos genes estão presentes em LEE e também fora da ilha de patogenicidade, são secretadas para o interior da célula hospedeira através do sistema de secreção do tipo III. No terceiro estágio ocorre uma adesão íntima da bactéria ao enterócito, mediada pela interação intimina-Tir, provocando acúmulo de actina polimerizada e outros componentes do citoesqueleto neste local da adesão. Finalmente, estas alterações no citoesqueleto vão levar à formação de uma estrutura semelhante a um pedestal, no qual a EPEC permanece aderida. Estas alterações na mucosa intestinal levam ao desequilíbrio eletrolítico que culmina na diarreia (CROXEN; FINLAY, 2010).

Com o avanço em termos de caracterização genética de cepas de EPEC, a literatura específica passou a apontar uma diversidade nessas cepas. Por esse motivo, durante o 2º

Simpósio Internacional sobre EPEC foi definida uma nova classificação que dividia as EPEC em típicas (tEPEC) e atípicas (aEPEC). Essa subclassificação permitiu diferenciar cepas de tEPEC pela presença do plasmídeo pEAF, mencionado anteriormente, enquanto as aEPEC não apresentam esse plasmídeo (KAPER, 1996).

Como aEPEC não carrega o pEAF e, portanto, não expressa a fímbria BFP, a interação com as células hospedeiras e a formação da lesão A/E é tardia em comparação com tEPEC (BUERIS, 2008), sendo inicialmente mediada por EspA, seguida pela interação intimina-Tir quando a adesão se torna íntima (HERNANDES et al., 2009). A participação de outras adesinas encontradas em aEPEC, bem como do flagelo, não podem ser descartadas nessa etapa da patogênese (GIRÓN et al., 2002; SAMPAIO et al., 2009).

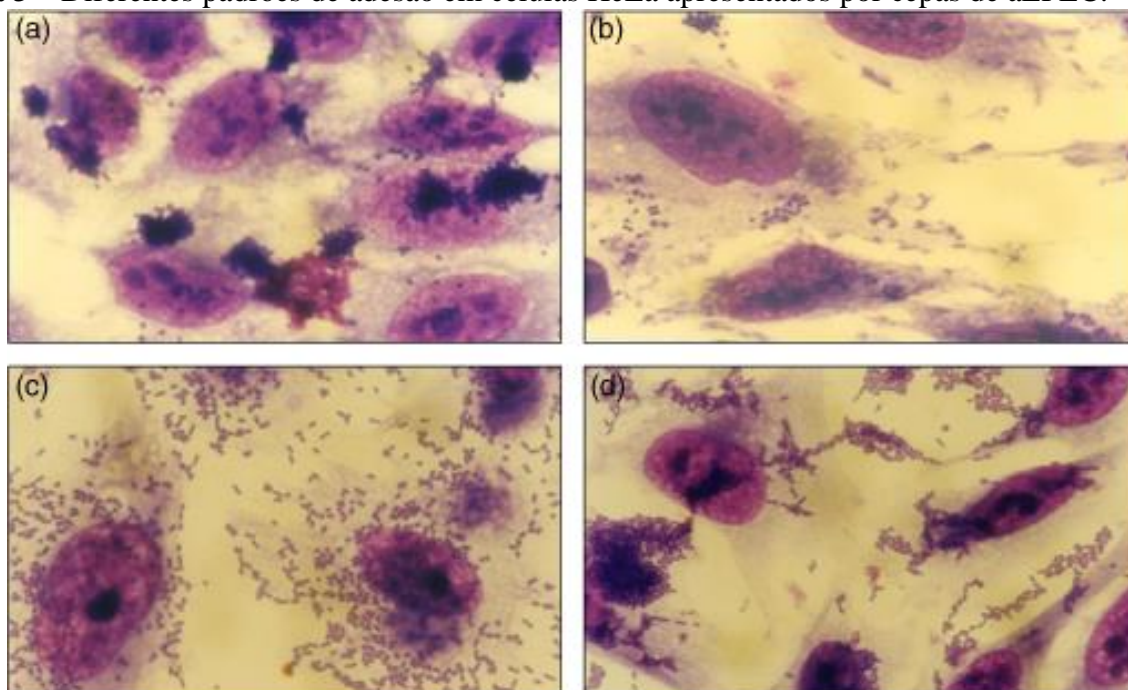
Durante décadas, os diversos estudos epidemiológicos sobre a diarreia infecciosa apontaram as tEPEC como o enteropatógeno mais prevalente em nosso meio, embora fosse rara nos países desenvolvidos (GOMES et al., 1989; GOMES et al., 1991; NATARO, KAPER, 1998). Nos últimos anos, com a introdução da subdivisão de EPEC em típicas e atípicas, houve uma frequente observação do predomínio da incidência de aEPEC no Brasil, e um declínio na incidência de tEPEC (HERNANDES et al., 2009; TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002). Diversos estudos epidemiológicos recentes confirmam esse dado, demonstrando que as aEPEC configuram um grupo de patógenos emergentes (ARAUJO et al., 2007; BUERIS et al., 2007; FRANZOLIN et al., 2005; HERNANDES et al., 2009; SCALETSKY et al., 2009; TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002). As aEPEC estão atualmente entre os principais agentes de diarreia em nosso meio e em outros países (FRANZOLIN et al., 2005; HERNANDES et al., 2009; TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002). Por exemplo, 92% de isolados de EPEC coletados de crianças no Brasil entre os anos de 2001 a 2002 foram classificados como aEPEC, comparados com 38% entre os anos de 1998-1999 em outro estudo (FRANZOLIN et al., 2005; SCALETSKY et al., 2010). Cepas isoladas de crianças com diarreia no Iran apresentaram prevalência de 39,3% de tEPEC, contra 61,7% de aEPEC (BAKHSHI et al., 2013). Entretanto, ainda existem relatos de países onde a prevalência de tEPEC é superior a das aEPEC (ALIKHANI; MIRSALEHIAN; ASLANI, 2006; KOTLOFF et al., 2013).

As tEPEC aderem à superfície de células epiteliais formando grupos compactos de bactérias na superfície celular, o que caracteriza o padrão denominado adesão localizada, ou AL (SCALETSKY et al., 1984). A fímbria BFP é responsável pela formação da microcolônia



bacteriana compacta, promovendo e estabilizando a interconexão entre as bactérias (GIRÓN et al., 1993). Por outro lado, as aEPEC podem aderir ou não a células epiteliais em cultura. As aderentes expressam frequentemente o padrão de adesão localizada-*like* (AL-L), formando grupos menos compactos que no padrão AL após períodos prolongados de interação, geralmente 6 horas (ABE et al., 2009; RODRIGUES et al., 1996; VIEIRA et al., 2001). Algumas cepas de aEPEC podem expressar os padrões AA ou AD (HERNANDES et al., 2009). O padrão AA é caracterizado por bactérias aderentes de forma semelhante a tijolos empilhados, formando agregados na lamínula e na superfície da célula epitelial (NATARO et al., 1987), enquanto no padrão AD, as bactérias aderem difusamente por toda a superfície celular (SCALETSKY et al., 1984).

**Figura 3** – Diferentes padrões de adesão em células HeLa apresentados por cepas de aEPEC.



(a) adesão localizada (AL), (b) adesão localizada-*like* (AL-L), (c) adesão difusa (AD) e (d) adesão agregativa(AA). Fonte: Hernandez et al. (2009).

A princípio os padrões AA e AD definem os patótipos EAEC e DAEC, respectivamente (NATARO; KAPER, 1998). Entretanto, cepas de *E. coli* diarréio gênicas pertencentes a outros patótipos podem expressar esses padrões, tais como ETEC, EHEC e aEPEC (DOS SANTOS et al., 2007; HERNANDES et al., 2009; SILVA et al., 1996; VIEIRA et al., 2001). Desta forma, o padrão de adesão de uma *E. coli* diarréio gêlica deve ser avaliado

em conjunto com determinantes de virulência para a definição do patótipo a que essa cepa pertence.

Uma vez que as aEPEC são desprovidas da fímbria BFP a adesão aos enterócitos é resultante da interação dos filamentos EspA e do complexo intimina-Tir (CROXEN et al., 2013), além do flagelo nas amostras móveis (SAMPAIO et al., 2009). A presença de outras adesinas não codificadas em LEE auxilia essa interação e, conseqüente, a colonização da mucosa intestinal.

Lda é a única adesina descrita originalmente a partir de uma cepa de aEPEC até presente momento (SCALETSKY et al., 2005). A adesina Lda foi identificada em uma aEPEC do sorotipo O26:H11, é codificada pelo cluster de genes que compõem o *locus for diffuse adherence (lda)*, apresenta estrutura não fimbrial e está envolvida na adesão de cepa onde foi detectada (SCALETSKY et al., 2005). O gene *ldaH*, que codifica uma das subunidade estruturais da adesina, foi detectado em outros sorotipos de aEPEC além do O26:H11 (SCALETSKY et al., 2005; SCALETSKY et al., 2009).

Estudos de caracterização de aEPEC detectaram genes que codificam várias adesinas originalmente descritas em outros patótipos de *E. coli* (AFSET et al., 2006; FREITAS, 2012; GOMES et al., 2004; HERNANDES et al., 2011; SCALETSKY et al., 2010; TENNANT et al., 2009).

Essas adesinas assessórias detectadas em aEPEC incluem algumas originalmente descritas em STEC/EHEC: Lpf – *long polar fimbriae* (TORRES et al., 2002), Paa – *porcine A/E-lesion associated protein* (BATISSON et al., 2003), Iha – *IrgA-homologue adhesin* (Tarr et al., 2000), ToxB – codificado por *toxB* localizado no plasmídeo pO157 de EHEC (TATSUNO et al., 2001), Efa1 – *EHEC factor for adhesion 1* (NICHOLLS et al., 2000); em UPEC/DAEC: Afa – *afimbrial adhesin* (SERVIN, 2005), fímbria P (LANE; MOBLEY, 2007) e fímbria tipo I (CONNELL et al., 1996); e em EAEC: pili do tipo IV ou Pil (DUDLEY et al., 2006a). Além daquelas presentes de forma ubiqüitária em *E. coli*: fímbria tipo I, ECP - *E. coli common pilus* (RENDÓN et al., 2007), fímbria tipo *curl*i (COLLINSON et al., 1993), HCP - *hemorrhagic coli pili* (XICOHTENCATL-CORTES et al., 2007); e ELF - *E. coli laminin-binding fimbriae* (SAMADDER et al., 2009).

Com exceção de Lda, o papel de todas essas adesinas na adesão de aEPEC não foi estabelecido, uma vez que a maioria desses estudos só determinou a presença dos seus genes.

#### 1.4 *E. coli* sorotipo O142:H34

A sorotipagem de cepas de *E. coli* é extremamente útil em estudos epidemiológicos. Devido à associação epidemiológica de certos sorogrupos de *E. coli* com diarreia, em 1987 a OMS definiu EPEC como pertencente a um dos seguintes sorogrupos: O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142 e O158 (WHO, 1987). Esses sorogrupos também são conhecidos como sorogrupos clássicos de EPEC (TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002). Porém, estudos posteriores evidenciaram que os sorogrupos clássicos de EPEC incluem sorotipos constituídos por cepas pertencentes a outros patótipos, como EAEC, ETEC e STEC/EHEC, e que alguns desses sorotipos correspondem a clones específicos (CAMPOS; FRANZOLIN; TRABULSI, 2004).

Os sorotipos de aEPEC podem ou não pertencer aos sorogrupos O de EPEC, além disso, muitas cepas não apresentam antígenos O e H típicos. Mais ainda, sorotipos desta categoria têm se mostrado bastante heterogêneos quanto aos fatores de virulência, podendo apresentar adesinas e várias proteínas secretadas de outros patótipos (CAMPOS et al., 1994; RODRIGUES et al., 1996; VALLE et al., 1997).

**Tabela 1-** Sorotipos frequentemente detectados em cepas de EPEC típicas e atípicas.

<b>EPEC</b>	<b>Sorotipos</b>
Típicas	O55:H6, O86:H34, O111:H2, O114:H2, O119:H6, O127:H6, O142:H6, O142:H34
Atípicas	O26:H11, O55:H7, O55:H34, O86:H8, O111ac:H8, O111:H9, O111:H25, O119:H2, O125ac:H6, O128:H2

FONTE: Trabulsi; Keller; Gomes (2002).

Vários estudos relataram o achado do sorogrupo O142 como agente de diarreia aguda (BLANCO et al., 2006; BUGAREL et al., 2011; CRAVIOTO et al., 1996; DULGUER et al., 2003; FRANZOLIN et al., 2005; GHILARDI et al., 2003; GIRÃO et al., 2006; GOMES et al., 1989; IRINO et al., 1984; SCALETISKY et al., 2009; SCOTLAND et al., 1996)

Estudos relataram o aparecimento do sorogrupo O142 em nosso meio, como causa de diarreia, a partir de 1984 (IRINO et al., 1984). Os principais sorotipos isolados desde então são o O142:H34 (BUGAREL et al., 2011; FRANZOLIN et al., 2005; GHILARDI et al., 2003; IRINO et al., 1984) e o O142:H6 (BUGAREL et al., 2011; CRAVIOTO et al., 1996; GHILARDI et al., 2003; GIRÃO et al., 2006; GOMES et al., 1989; IRINO et al., 1984; ROSA et al., 1998; SCOTLAND et al., 1996). Geralmente as cepas desses sorotipos são classificadas como tEPEC (TRABULSI; KELLER; GOMES, 2002).

Ghilardi et al. (2003) avaliaram os diversos sorotipos que compunham o sorogrupo O142 de cepas de *E. coli* de origem fecal isoladas entre 1977 e 1991 no Estado de São Paulo, detectando os sorotipos O142:H34 (57,5%), O142:H6 (27%) e O142:H2 (11,5%).

Através da pesquisa da presença de marcadores de virulência dos patótipos de *E. coli* diarreio gênica, bem como a determinação dos padrões de adesão em células HeLa, foi possível mostrar que a maioria das cepas O142 eram tEPEC (*eae*, *bfp*, EAF), mas algumas foram classificadas como aEPEC (*eae*) (GHILARDI et al., 2003). Esse perfil foi mantido dentro do sorotipo O142:H34, o mais frequente na amostragem.

De forma inusitada uma cepa do sorotipo O142:H34 (Ec46/88) apresentou características genotípicas e fenotípicas híbridas de EPEC e EAEC, ou seja, a presença do gene *eae*, o qual codifica a adesina intimina de EPEC; a ausência do plasmídeo pEAF, que caracteriza EPEC típica; a reatividade com o fragmento sonda CVD432 (*aatA*), indicativo da presença do plasmídeo de virulência de EAEC; e a expressão do padrão AA que caracteriza o patótipo EAEC. Além disso, essa cepa não albergava os genes estruturais das fímbrias de EAEC descritas até aquele momento (GHILARDI et al., 2003).

Conforme mencionado anteriormente, o padrão AA já foi evidenciado em vários sorotipos de aEPEC, mas em nenhum caso houve a reatividade dessas cepas com a sonda *aatA* usada no diagnóstico de EAEC (ABE et al., 2009; DULGUER et al., 2003; ROBINS-BROWNE et al., 2004; VIEIRA et al., 2001).

É complexa a classificação como EPEC ou EAEC de uma cepa apresentando essa combinação genotípica e fenotípica. A produção do padrão AA e a reatividade com a sonda *aatA* sugerem que essa amostra seja uma aEPEC que adquiriu um plasmídeo de virulência de EAEC. Entretanto, a possibilidade de que ela seja uma EAEC que recebeu a região LEE de EPEC não pode ser descartada. Os genes de virulência que codificam essas características

estão localizados em elementos móveis, sendo susceptíveis à transferência horizontal (McDANIEL et al., 1995; NATARO et al., 1993).

As fimbrias apresentam importante papel na interação bacteriana às superfícies bióticas e abióticas, além de outras funções (TORRES; ZHOU; KAPER, 2005). Uma vez que isolados de aEPEC não expressam a fimbria BFP, a qual tem um importante papel na adesão de tEPEC, a caracterização de outras adesinas fimbriais são importantes para o conhecimento dos mecanismos de patogenicidade de aEPEC, especificamente a colonização.

Poucos estudos na literatura caracterizaram adesinas de aEPEC não codificadas em LEE avaliando o papel na adesão *in vitro* (HERNANDES et al., 2011; SCALETISKY et al., 2005). As aEPEC apresentam um padrão de adesão totalmente heterogêneo, e o padrão AA pode ser mediado por essa enorme variedade de adesinas. Tendo em vista a importância epidemiológica do sorotipo O142:H34 e a inusitada combinação de genes de virulência da cepa Ec46/88, a caracterização de marcadores de virulência adicionais nessa amostra pode contribuir para o entendimento de seus mecanismos de virulência e sua correta classificação como aEPEC ou EAEC.

## 6 CONCLUSÕES

A cepa de *E. coli* diarreio gênica do sorotipo O142:H34 (Ec46/88):

- É uma EPEC atípica capaz de causar lesão A/E *in vitro*, filogeneticamente relacionada à cepa protótipo de EPEC típica E2348/69;
- Alberga um plasmídeo de ~60 MDa que contém o fragmento sonda AA (*aatA*) e os genes do operon que codifica as proteínas da biogênese da fímbria AAF/I, ambos encontrados na cepa protótipo de EAEC 17-2;
- Apresenta o padrão de adesão agregativo em células epiteliais cultivadas de caráter multifatorial, mediado em parte por uma variante da fímbria AAF/I (*AggA<sub>457</sub>*) e minoritariamente pela fímbria de ECP. Adesinas acessórias ainda não caracterizadas participam desse fenótipo.

## REFERÊNCIAS\*

- 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. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 52, p. 397-406, 2008.
- ABE, M. C.; TRABULSI, L. R.; BLANCO, J.; BLANCO, M.; DHABI, G.; BLANCO, J. E.; MORA, A.; FRANZOLIN, M. R.; TADDEI, C. R.; MARTINEZ, M. B.; PIAZZA, R. M. F.; ELIAS, W. P. Virulence features of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* identified by the *eae+* EAF- negative *stx-* genetic profile. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 64, n. 4, p. 357-365, 2009.
- 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* are found in both typical and atypical enteropathogenic *E. coli* strains. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 79, p. 411-414, 1992.
- ADACHI, J. A.; JIANG, Z.D.; MATHEWSON, J. J.; VERENKAR, M. P.; THOMPSON, S.; MARTINEZ-SANDOVAL, F.; STEFFEN, R.; ERICSSON, C. D.; DUPONT, H. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* as a major etiologic agent in traveler's diarrhea in 3 regions of the world. **Clin. Infect. Dis.**, v. 32, p. 1706-1709, 2001.
- AFSET, J. E.; ANDERSEN, E.; BRUANT, G.; HAREL, J.; WIELER, L.; BERGH, K. Phylogenetic background and virulence profile of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* from a case control study using multilocus sequence typing and DNA microarray. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, p. 2280-2290, 2008.
- AFSET, J. E.; BRUANT, G.; BROUSSEAU, R.; HAREL, J.; ANDERSEN, E.; BEVANGER, L.; BERGH, K. Identification of virulence genes linked with diarrhea due to atypical enteropathogenic *Escherichia coli* by DNA microarray analysis and PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 10, p. 3703-3711, 2006.
- ALIKHANI, M. Y., MIRSALEHIAN, A.; ASLANI, M. M. Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhea. **J. Med. Microbiol.**, v. 55, p. 1159-1163, 2006.
- ARANDA, K. R.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 5849-5853, 2004.

---

\* De acordo com:

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

ARAÚJO, J. M.; TABARELLI, G. F.; ARANDA, K. R.; FABBRICOTTI, S. H.; FAGUNDES-NETO, U.; MENDES, C. M.; SCALETISKY, I. C. Typical enteroaggregative and atypical enteropathogenic types of *Escherichia coli* are the most prevalent diarrhea-associated pathotypes among Brazilian children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 3396-3399, 2007.

ARENAS-HERNANDEZ, M. M.; MARTINEZ-LAGUNA, Y.; TORRES, A. G. Clinical implications of enteroadherent *Escherichia coli*. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v.14, p. 386-394, 2012.

AUSUBEL, F.; BRENT, R.; KINGSTON, R. E.; MOORE, D. D.; SEIDMAN, J. G.; SMITH, J. A.; STRUHL, K. **Short protocols in molecular biology**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 1995.

AVELINO, F.; SALDANA, Z.; ISLAM, S.; MONTEIRO-NETO, V.; DALL'AGNOL, M.; ESLAVA, C. A.; GIRÓN, J. A. The majority of enteroaggregative *Escherichia coli* strains produce the *E. coli* common pilus when adhering to cultured epithelial cells. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 300, p. 440-448, 2010.

BAKHSI, B.; FALLAHZAD, S.; POURSHAFIE, M. R. The occurrence of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains among children with diarrhea in Iran. **J. Infect. Chemother.**, v. 19, p. 615-620, 2013.

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

BARROS, S. F.; ABE, C. M.; ROCHA, S. P.; RUIZ, R. M.; BEUTIN, L.; TRABULSI, L. R.; ELIAS, W. P. *Escherichia coli* O125ac:H6 encompasses atypical enteropathogenic *E. coli* strains that display the aggregative adherence pattern. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, p. 4052-4055, 2008.

BATISSON, I.; GUIMOND, M. P.; GIRARD, F.; AN, H.; ZHU, C.; OSWALD, E.; FAIRBROTHER, J. M.; JACQUES, M.; HAREL, J. Characterization of the novel factor Paa involved in the early steps of the adhesion mechanism of the attaching and effacing *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 71, p. 4516-4525, 2003.

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.

BÄUMLER, A. J.; TSOLIS, R. M.; HEFFRON, F. The *lpf* fimbrial operon mediates adhesion of *Salmonella typhimurium*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 93, p. 279-283, 1996.

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, 2002.

BEUTIN, L.; KAULFUSS, S.; HEROLD, S.; OSWALD, E.; SCHMIDT, H. Genetic analysis of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* serogroup O103 strains by molecular typing of virulence and housekeeping genes and pulsed-field gel electrophoresis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 4, p. 1552-1563, 2005.

BIELASZEWSKA, M.; MELLMANN, A.; ZHANG, W.; KÖCK, R.; FRUTH, A.; BAUWENS, A.; PETERS, G.; KARCH, H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. **Lancet Infect. Dis.**, v. 11, p. 671-676, 2011.

BHAN, M. K.; RAJ, P.; LEVINE, M. M.; KAPER, J. B.; BHANDARI, N.; SRIVASTAVA, R.; KUMAR, R.; SAZAWAL, S. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. **J. Infect. Dis.**, v. 159, p. 1061-1064, 1989.

BHARDWAJ, R.; MAJUMDAR, S.; GANGULY, N. K.; TANEJA, N.; DUTTA, S.; RAMAMURTHY, T.; CHAKRABORTI, A. Characterization of adhesin variants in Indian isolates of enteroaggregative *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol.**, v. 258, p. 274-283, 2006.

BLANCO, M.; BLANCO, J. E.; DAHBI, G.; MORA, A.; ALONSO, M. P.; VARELA, G.; GADEA, M. P.; SCHELOTTO, F.; GONZALES, E. A.; BLANCO, J. Typing of intimin (*eae*) genes from enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children with diarrhoea in Montevideo, Uruguay: identification of two novel intimin variants (*muB* and *xiR/beta2B*). **J. Med. Microbiol.**, v. 55, p. 1165-1174, 2006.

BLATTNER, F. R.; PLUNKETT, G.; BLOCH, C. A.; PERNA, N. T.; BURLIND, V.; RILEY, M.; COLLADO-VIDES, J.; GLASNER, J. D.; RODE, C. K.; MAYHEW, G. F.; GREGOR, J.; DAVIS, N. W.; KIRKPATRICK, H. A.; GOEDEN, M. A.; ROSE, D. J.; MAU, B.; SHAO, Y. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. **Science**, v. 277, p. 1453-1462, 1997.

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.

BOUCKENOOGHE, A. R.; DUPONT, H. L.; JIANG, Z. D.; ADACHI, J.; MATHEWSON, J. J.; VERENKAR, M. P.; RODRIGUES, S.; STEFFEN, R. Markers of enteric inflammation in enteroaggregative *Escherichia coli* diarrhea in travelers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 62, p. 711-713, 2000.

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.; TADDEI, C. R.; SANTOS, M. F.; FRANZOLIN, M. R.; MARTINEZ, M. B.; FERRER, S. R.; 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.

BUGAREL, M.; MARTIN, A.; FACH, P.; BEUTIN, L. Virulence gene profiling of enterohemorrhagic (EHEC) and enteropathogenic (EPEC) *Escherichia coli* strains: a basis for molecular risk assessment of typical and atypical EPEC strains. **BMC Microbiol.**, v. 11, p. 1-10, 2011.

BRUNDER, W.; KHAN, A. S.; HACKER, J.; KARCH, H. Novel Type of Fimbriae Encoded by the Large Plasmid of Sorbitol-Fermenting Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H2. **Infect. Immun.**, v. 69, p. 4447-4457, 2001.

CAMPOS, L. C.; FRANZOLIN, M.; TRABULSI, L. R. Diarrheagenic *Escherichia coli* categories among the traditional enteropathogenic *E. coli* O serogroups – A review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 6, p. 545-552, 2004.

CAMPOS, L. C. WHITTAM, T.S.; GOMES, T.A.T.; ANDRADE, J.R.C.; TRABULSI, L.R. *Escherichia coli* serogroup O111 includes several clones of diarrheagenic strains with different virulence properties. **Infect. Immun.**, v. 62, p. 3282-3288, 1994.

CARON, J.; COFFIELD, L. M.; SCOTT, J. R. A plasmid-encoded regulatory gene, *rns* required for expression of the CS1 and CS2 adhesins of enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 86, p. 963-967, 1989.

CHART, H.; SMITH, H. R.; ROWE, B. Enteroaggregative strains of *Escherichia coli* belonging to serotypes O126:H27 e O44:H18 express antigenically similar 18 kDa outer membrane-associated proteins. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 132, p. 17-22, 1995.

CHAVEROCHE, M. K.; GHIGO, J. M.; D'ENFERT, C. A rapid method for eficiente gene replacement in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. **Nucl. Acids Res.**, v. 28, n. 22, e97, 2000.

CHINA, B.; GOFFAUX F.; PIRSON V.; MAINIL J. Comparison of *eae*, *tir*, *espA* and *espB* genes of bovine and human attaching and effacing *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 178, p. 177-118, 1999.

CLARKE, S. C.; HAIGH, R. D.; FREESTONE, P. P. E.; WILLIAMS, P. H. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 16, p. 365-378, 2003.

CLEARLY, J.; LAI, L. C.; SHAW, R. K.; STRAATMEN-IWANOWSKA, A.; DONNENBERG, M. S.; FRANKEL, G.; KNUTTON, S. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adhesion to intestinal epithelial cells: role of bundle-forming pili (BFP), EspA filaments and intimina. **Microbiology**, v. 150, p. 527-538, 2004.

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. Microb.**, v. 66, p. 4555–4558, 2000.

COOPER, J. E.; FEIL, E. Multilocus sequence typing – what is resolved? **Trends Microbiol.**, v. 8, p. 12, 2004.

CONNELL, I.; AGACE, W.; KLEMM, P.; SCHEMBRI, M.; MARILD, S.; SVANBORG, C. Type 1 fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 93, p. 9827–9832, 1996.

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

CRAVIOTO, A.; TELLO, A.; NAVARRO, A.; RUIZ, J.; VILLAFÁN, H.; URIBE, F.; ESLAVA, C. Association of *Escherichia coli* HEp-2 adherence patterns with type and duration of diarrhoea. **Lancet**, v. 337, p. 262-264, 1991.

CRAVIOTO, A.; TRUJILLO, F.; LÉON, L. A.; HÉRNANDEZ, J. M.; ESLAVA, C. Infections caused by enteropathogenic *Escherichia coli*. **Gac. Med. Mex.**, v. 132, p. 611-615, 1996.

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. Review**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

CZECZULIN, J. R.; BALEPUR, S.; HICKS, S.; PHILLIPS, A.; HALL, R.; KOTHARY, M. H.; NAVARRO-GARCIA, F.; NATARO, J. P. aggregative adherence fimbria II, a second fimbrial antigen mediating aggregative adherence in enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 65, p. 4135-4145, 1997.

CZECZULIN, J. R.; WHITTAM, T. S.; HANDERSON, 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.

DALMANN, T.; SMITH, G. P.; O'BRIEN, B.; CHATTAWAY, M. A.; FINLAY, D.; GRANT, K. A.; JENKINS, C. Characterization of a verocytotoxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* serogroup O111:H21 strain associated with a household outbreak in Northern Ireland. **J. Clin. Microbiol.**, v. 50, p. 4116-4119, 2012.

DATSENKO, K. A.; WANNER, B. L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 97, p. 6640-6645, 2000.

DRASAR, B. S.; HILL, M. J. **Human intestinal flora**. Academic Press, 1974. p. 36-43.

DEBROY, C.; BRIGHT, B. D.; WILSON, R. A.; YEALY, J.; KUMAR, R.; BHAN, M. K. Plasmid-coded DNA fragment developed as a specific gene probe for the identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Med. Microbiol.**, v. 41, p. 393-398, 1994.

DEBROY, C.; YEALY, J.; WILSON, R. A.; BHAN, M. K.; KUMAR, R. Antibodies raised against the outer membrane protein interrupt adherence of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 63, p. 2873-2879, 1995.

DONNENBERG, M. S.; LAI, L. C.; TAYLOR, K. A. The locus of enterocyte effacement pathogenicity island of enteropathogenic *Escherichia coli* encodes secretion functions and remnants of transposons at its extreme right end. **Gene**, v. 184, p. 107-114, 1997.

DOS SANTOS, L. F.; GONÇALVES, E. M.; VAZ, T. M.; IRINO, K.; GUTH, B. E. Distinct pathotypes of O113 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals in Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, n. 6, p. 2028-2030, 2007.

DOUGHTY, S.; SLOAN, J.; BENNETT-WOOD, V.; ROBERTSON, M.; ROBINS-BROWNE, R. M.; HARTLAND, E. L. Identification of a novel fimbrial gene cluster related to long polar fimbriae in locus of enterocyte effacement-negative strains of enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 6767-6769, 2002.

DUDLEY, E. G.; ABE, C.; GHIGO, J. M.; LATOUR-LAMBERT; HORMAZABAL, J. C.; NATARO, J. P. An IncII 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. 1267-82, 2006b.

DULGUER, M.V.; FABBRICOTTI, S.H.; BANDO S.Y.; MOREIRA-FILHO, C. A.; FAGUNDES-NETO U.; SCALETISKY I.C.A. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains: phenotypic and genetic profiling reveals a strong association between enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin and diarrhea. **J. Infect. Dis.**, v. 188, p. 1685-1694, 2003.

ELIAS, W. P.; BARROS, S. F.; MOREIRA, C. G.; TRABULSI, L. R.; GOMES, T.A.T. Enteroaggregative *Escherichia coli* strains among classical enteropathogenic *Escherichia coli* O serogroups. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 3540-3541, 2002a.

ELIAS, W. P. JR.; CZECZULIN, J.R.; HENDERSON, I.R.; TRABULSI, L.R.; NATARO, J.P. The organization of biogenesis genes for aggregative adherence fimbria II (AAF/II) defines a virulence gene cluster in enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Bacteriol.**, v. 181, p. 1779-1785, 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, 2002b.

ELLIOT, S. J.; WAINWRIGHT, L. A.; MCDANIEL, T. K.; JARVIS, K. G.; DENG, Y. K.; LAI, L. C.; MCNAMARA, B. P.; DONNENBERG, M. S.; KAPER, J. B. The complete sequence of the locus of enterocyte effacement from enteropathogenic *Escherichia coli* E2348/69. **Mol. Microbiol.**, v. 28, p. 1-4, 1998.

ESCOBAR-PÁRAMO, P.; CLERMONT, O.; BLANC-POTARD, A. B.; BUI, H.; LE BOUGUENÉC, C.; DENAMUR, E. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. **Mol. Biol. Evol.**, v. 21, n. 6, p. 1085-1094, 2004.

ESLAVA, C.; NAVARRO-GARCIA, 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.

FANG, G. D.; LIMA, A. A. M.; MARTINS, C. V.; NATARO, J. P.; GUERRANT, R. L. Etiology and epidemiology of persistent diarrhea in northeastern Brazil: a hospital-based, prospective, case-control study. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 21, p. 137-144, 1995.

FASANO, A.; NORIEGA, F. R.; MANEVAL, D. R. JR.; CHANASONGCRAM, S.; RUSSEL, R.; GUANDALINI, S.; LEVINE, M. M. *Shigella* enterotoxin 1: an enterotoxin of *Shigella flexneri* 2a active in rabbit small intestine *in vivo* and *in vitro*. **J. Clin. Invest.**, v. 95, p. 2853-2861, 1995.

FRANKE, J.; FRANKE, S.; SCHIMIDT, H.; SCHWARZKOPF, A.; WIELER, L. H.; BALJER, G.; BEUTIN, L.; KARCH, H. Nucleotide sequence analyses of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adherence factor probe and development of PCR for rapid detection of EPEC harboring virulence plasmids. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, n. 10, p. 2560-2463, 1994.

FRANKEL, G.; PHILLIPS, A. D.; ROSENSHINE, L.; DOUGAN, G.; KAPER, J. B.; KNUTTON, S. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *E. coli* : more subversive elements. **Mol. Microbiol.**, v. 30, p. 911-921, 1998.

FRANZOLIN, M. R.; ALVES, R. C. B.; KELLER, R.; GOMES, T. A. T.; BEUTIN, L.; BARRETO, M. L.; MILROY, C.; STRINA, A.; RIBEIRO, H.; TRABULSI, L. R. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 359-363, 2005.

FREITAS, N. C. **Fímbrias Pil em *Escherichia coli* enteropatogênica atípica: caracterização e investigação do papel de PilS e PilV na adesão bacteriana.** 2012. 119 f.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

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.

GASSAMA-SOW, A.; SOW, P. S.; GUEYE, M.; GUEYE-N'DIAYE, A.; PERRET, J. L.; M'BOUP, S.; AIDARA-KANE, A. Characterization of pathogenic *Escherichia coli* in human immunodeficiency virus-related diarrhoea in Senegal. **J. Infect. Dis.**, v. 189, p. 75-78, 2004.

GÁSCON, J.; VARGAS, M.; QUINTÓ, L.; CORACHÁN, M.; JIMENEZ DE ANTA, M.T.; VILA, J. Enteroaggregative *Escherichia coli* strains as a cause of traveler's diarrhea: a case-control study. **J. Infect. Dis.**, v. 177, p. 1409-1412, 1998.

GARNETT, J. A.; MARTINEZ-SANTOS, V. I.; SALDANA, Z.; PAPE, T.; HAWTHRNE, H.; CHAN, J.; SIMPSON, P. J.; COTA, E.; PUENTE, J. L.; GIRON, J. A.; MATHEWS, S. Structural insights into the biogenesis and biofilm formation by the *Escherichia coli* common pilus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v., 109, p. 3950-3955, 2012.

GIOPPO, N. M. R.; ELIAS, W. P.; VIDOTTO, M. C.; LINHARES, R. E.; SARIDAKIS, H. O.; GOMES, T. A. T.; TRABULSI, L. R.; PELAYO, J. S. Prevalence of Hep-2 cells 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.

GIRÃO, D. M.; GIRÃO, V. B.; IRINO, K.; GOMES, T. A. Classifying *Escherichia coli*. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, p. 1297-1299, 2006.

GIRÓN, J. A.; HO, A. S. Y.; SCHOOLNIK, G. K. Characterization of fimbriae produced by enteropathogenic *E. coli*. **J. Bacteriol.**, v. 175, p. 7391-7403, 1993.

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.

GIRÓN, J. A.; TORRES, A. G.; FREER, E.; KAPER, J. B. The flagella of enteropathogenic *Escherichia coli* mediate adherence to epithelial cells. **Mol. Microbiol.**, v. 44, p. 361-379, 2002.

GOMES-DUARTE, O. G.; KAPER, J. B. A plasmid encoded regulatory regions activates chromosomal *eaeA* expression in enteropathogenic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 63, p. 1767-1776, 1995.

GOMES, T. A.; IRINO, K.; GIRÃO, D. M.; GIRÃO, V. B.; GUTH, B. E.; VAZ, T. M.; MOREIRA, F. C.; CHINARELLI, S. H.; VIEIRA, M. A. Emerging enteropathogenic *Escherichia coli* strains. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 10, p. 1851-1855, 2004.

GOMES, T. A. T.; RASSI, V.; MACDONALD, K. L.; RAMOS, S. R. T.; TRABULSI, L. R.; VIEIRA, M. A. M.; GUTH, B. E. C.; CANDEIAS, J. A. N.; VEY, C.; TOLEDO, M. R. F.; BLAKE, P. A. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 164, p. 331-337, 1991.

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

GOMES, T. A.; VIEIRA, M. A.; WACHSMUTH, I. K.; BLAKE, P. A.; TRABULSI, L. R. Serotype-specific prevalence of *Escherichia coli* strains with EPEC adherence factor genes in infants with and without diarrhea in São Paulo, Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 160, p. 131-135, 1989.

GHILARDI, A. C. R.; GOMES, T. A. T.; ELIAS, W. P.; TRABULSI, L. R. Virulence factors of *Escherichia coli* strains belonging to serogroups O127 and O142. **Epidemiol. Infect.**, v. 131, p. 815-851, 2003.

GHOSAL, A.; BHOWMICK, R.; NANDY, R. K.; RAMAMURTHY, T. CHATTERJEE, N. S. PCR-based identification of common colonization factor antigens of enterotoxigenic *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, n. 9, p. 3068-3071, 2007.

GRAD, Y. H.; LIPSITCH, M.; FELDGARDEN, M.; ARACHI, H. M.; CERQUEIRA, G. C.; FITZGERALD, M.; GODFREY, P.; HASS, B. J.; MURPHY, C. I.; RUSS, C. et al. Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 109, p. 3065-3070, 2012.

GREWAL, H. M.; VALVATNE, H.; BHAN, M. K.; VAN DIJK, L.; GAASTRA, W.; SOMMERFELT, H. A new putative fimbrial colonization factor, CS19, of human enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 65, p. 507-513, 1997.

HAYASHI, T.; MARIKO, K.; OHNISHI, M.; ISHII, K.; YOKOYAMA, K.; HAN, C. G.; OHTSUBO, E.; NAKAYAMA, K.; MURATA, T.; TANAKA, M.; TOBE, T.; IIDA, T.; TAKAMI, H.; HONDA, T.; SASAKAWA, C.; OGASAWARA, N.; YASUNAGA, T.; KUHARA, S.; SHIBA, T.; HATTORI, M.; SHINAGAWA, H. Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. **DNA Res.**, v. 8, p. 11-22, 2001.

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.

HARRINGTON, S. M.; STRAUMAN, M. C.; ABE, C. M.; NATARO, J. P. Aggregative adherence fimbriae contribute to the inflammatory response of epithelial cells infected with enteroaggregative *Escherichia coli*. **Cell. Microb.**, v. 7, p. 1565-1578, 2005.

HENDERSON, I. R.; CZECHULIN, 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.; NATARO, J. P. The great escape: structure and function of the autotransporter proteins. **Trends Microbiol.**, v. 6, p. 370-378, 1998.

HERNANDES, R. T.; VELSKO, I.; SAMPAIO, S. C. F.; ELIAS, W. P.; ROBINS-BROWNE, R. M.; GOMES, T. A. T.; GIRON, J. A. Fimbrial adhesins produced by atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 77, n. 23, p. 8391-8399, 2011.

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

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

HUANG, D. B.; MOHANTY, A.; DUPONT, H. L.; OKHUYSEN, P. C.; CHIANG, T. A review of emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Med. Microbiol.**, v. 55, p. 1303-1311, 2006.

HUANG, D. B.; DUPONT, H. L. Enteroaggregative *Escherichia coli*: an emerging pathogen in children. **Semin. Pediatr. Infect. Dis.**, v. 15, p. 266-271, 2004.

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

IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; FERNANDES, S. A.; NAKARARA, L. K.; PÊSSOA, G. V. A. Isolamento de bactérias enteropatogênicas de coproculturas durante o período de 1997- 1983, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 44, p. 161-178, 1984.

IYODA, S.; TAMURA, K.; ITOH, K.; IZUMIYA, H.; UENO, N.; NAGATA, K.; TOGO, M.; TERAJIMA, J.; WATANABE, H. 2000. Inducible stx2 phages are lysogenized in the enteroaggregative and other phenotypic *Escherichia coli* O86:HNM isolated from patients. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 191, p. 7-10, 2000.



JENKINS, C.; CHART, H.; WILLSHAW, G. A.; CHEASTY, T.; SMITH, H. Genotyping of enteroaggregative *Escherichia coli* of both typical and atypical strains. **Diag. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 55, p. 13-19, 2006.

JIANG, Z. D.; GREENBERG, D.; NATARO, J. P.; STEFFEN, R.; DUPONT, H. L. Rate of occurrence and pathogenic effect of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors in intestinal travelers. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 4185-4190, 2002.

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. 123-138, 2004.

KAUFFMANN, F.; ORSKOV, F. **Die Bakteriologie der Escherichia coli-enteritis**. In: ADAM, A. (Ed.). Säuglings-Enteritis. Stuttgart, 1947. p. 1-41.

KOMANO, T. Shufflons: multiple inversion systems and integrons. **Annual Reviews Genetics**, v. 33, p. 171-191, 1999.

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.; 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. 209-222, 2013.

KNUTTON, S. Electron microscopy methods in adhesion. **Methods in Enzimol.**, v. 253, p. 145-58, 1995.

KNUTTON, S.; SHAW, R. K.; BHAN, M. K.; SMITH, H. R.; MCCONNELL, M. M.; CHEASTY, T.; WILLIAMS, P. H.; BALDWIN, T. J. Ability of enteroaggregative *Escherichia coli* strains to adhere in vitro to human intestinal mucosa. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 2083-2091, 1992.

KNUTTON, S., BALDWIN, T., WILLIAMS, P.H., MCNEISH, A.S. Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 57, p. 1290-1298, 1989.

LACHER, D. W.; STEINSLAND, H.; BLANK, T. E.; DONNENBERG, M. J.; WHITTAM, T. S. Molecular evaluation of typical enteropathogenic *Escherichia coli*: clonal analysis by multilocus sequence typing and virulence gene allelic profiling. **J. Bacteriol.**, v. 189, p. 342-350, 2007.

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, n. 9, e.72788, 2013.

LANE, M. C.; MOBLEY, H. L. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. **Kidney Int.**, v. 72, p.19-25, 2007.

LE BOUGUENEC, C.; ARCHAMBAUD, M.; LABIGNE, A. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesion-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 1189-1193, 1992.

LEVINE, M. M.; BERGQUIST, E. J.; NALIN, D. R.; WATERMAN, D. H.; HORNICK, R. B.; YOUNG, C. R.; SOTMAN, S. *Escherichia coli* strains that cause diarrhea but do not produce heat-labile or heat-stable enterotoxins and are non-invasive. **Lancet**, v. 27, p. 1119-1122, 1978.

MCDANIEL, T. K.; JARVIS, K. G.; DONNENBERG, M. S.; KAPER, J. B. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. **Proc. Natl. Acad. Sci USA.**, v. 92, p. 1664-1668, 1995.

MAIRENA, E. C.; NEVES, B. C.; TRABULSI, L. R.; ELIAS, W. P. Detection of LEE 4 region-encoded genes from different enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* serotypes. **Curr. Microbiol.**, v. 48, p. 412-418, 2004.

MARTINEZ, M. B.; TRABULSI, L. R. **Enterobacteriaceae**: microbiologia. São Paulo: Atheneu, 2008.

MATHEWSON, J. J.; SALAMEH, B. M.; DUPONT, H. L.; JIANG, Z. D.; NELSON, A. C.; ARDUINO, R.; SMITH, M. A.; MASOZERA, N. HEp-2 cell-adherent *Escherichia coli* and intestinal secretory immune response to human immunodeficiency virus (HIV) in outpatients with HIV-associated diarrhea. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 5, p. 87-90, 1998.

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.

MONTEIRO-NETO, V.; BANDO, S. Y.; MOREIRA-FILHO, C. A.; GIRON, J. A. Characterization of an outer membrane protein associated with haemagglutination and adhesive properties of enteroaggregative *Escherichia coli* O111:H12. **Cell. Microbiol.**, v. 5, p. 533-547, 2003.

MORABITO, S.; KARCH, H.; MARIANI-KURKDJIAN, P.; SCHIMIDT, H.; MINELLI, F.; BINGEN, E.; CAPRIOLI, A. 1998. Enteroaggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, p. 840-842, 1998.

MOREIRA, F. C.; VIEIRA, M. A. M.; FERREIRA, A. J. P.; GIRÃO, D. M.; VAZ, T. M. I.; ROSA, C. P.; KNOBL, T.; IRINO, K.; FREYMÜLLER, E.; GOMES, T. A. T. *Escherichia coli* strains of serotype O151:H40 comprise typical and atypical enteropathogenic *E. coli* strains and are potentially diarrheagenic. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, p. 1462-1465, 2008.

MORIN, N.; SANTIAGO, A. E.; ERNEST, R. K.; GUILLOT, S. J.; NATARO, J. P. Characterization of the AggR regulon in enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 81, n. 1, p. 122-132, 2013.

MOSSORO, C.; GLAZIOU, P.; YASSIBANDA, S.; LAN, N. T.; BEKONDI, C.; MINSSART, P.; BERNIER, C.; LE BOUGUÉNEC, C.; GERMANI, Y. Chronic diarrhea, hemorrhagic colitis, and hemolytic-uremic syndrome associated with HEp-2 adherent *Escherichia coli* in adults infected with human immunodeficiency virus in Bangui, Central African Republic. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 3086-3088, 2002.

MUNIESA, M.; HAMMERL, J. A.; HERTWIG, S.; APPEL, B.; BRÜSSOW, H. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: a New challenge for microbiology. **J. Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78, n. 12, p. 4065-4073, 2012.

NARA, J. M. **Adesinas fimbriais em *Escherichia coli* enteropatogênica atípica: prevalência e proteômica.** 2012. 148 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

NAKATA, N.; SASAKAWA, C.; OKADA, N.; TOBE, T.; FUKUDA, I.; SUZUKI, T.; KOMATSU, K.; YOSHIKAWA, M. Identification and characterization of *virK*, a virulence-associated large plasmid gene essential for intercellular spreading of *Shigella flexneri*. **Mol. Microbiol.**, v. 6, p. 2387-2395, 1992.

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.; DENG, Y.; COOKSON, S.; CRAVIOTO, A.; SAVARINO, S. J.; GUERS, L. D.; LEVINE, M. M.; TACKET, C. O. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers. **J. Infect. Dis.**, v. 171, p. 465-468, 1995.

NATARO, J. P.; DENG, Y.; MANEVAL, D. R.; GERMAN, A. L.; MARTIN, W. C.; LEVINE, M. M. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Escherichia coli* mediate adherence to HEp-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 2297-2304, 1992.

NATARO, J. P.; HICKS, S.; PHILLIPS, A. D.; VIAL, P. A.; SEARS, C. L. T84 cells in culture as a model for enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. **Infect. Immun.**, v. 64, p. 4761-4768, 1996.

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

NATARO, J. P.; KAPER, J. B.; ROBINS-BROWNE, R.; PRADO, V.; VIAL, P. A.; LEVINE, M. M. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 16, p. 829-831, 1987.

NATARO, J. P.; YIKANG, D.; GIRON, J. A.; SAVARINO, S. J.; KOTHARY, M. H.; HALL, R. Aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli* requires two unlinked plasmid regions. **Infect. Immun.**, v. 61, p. 1126-1131, 1993.

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.

NEVES, B. C.; SHAW, R. K.; FRANKEL, G.; KNUTTON, S. Polymorphism within EspA filaments of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 71, p. 2262-2265, 2003.

NEWTON, H. J.; SLOAN, J.; BENNETT-WOOD, V.; ADAMS, L. M.; ROBINS-BROWNE, R. M.; HARTLAND, E. L. Contributing of long polar fimbriae to the virulence of rabbit-specific enteropathogenic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 72, p. 1230-1239, 2004.

NICHOLLS, L.; GRANT, T.H.; ROBINS-BROWNE, R.M. Identification of a novel genetic locus that is required for *in vitro* adhesion of a clinical isolate of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to epithelial cells. **Mol. Microbiol.**, v. 35, p. 275-288, 2000.

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.

NOWICKI, B.; LABIGNE, A.; MOSELEY, S.; HULL, R.; HULL, S.; MOULDS, J. The Dr hemagglutinin, afimbrial adhesins AFA-I and AFA-III, and F1845 fimbriae of uropathogenic and diarrhea-associated *Escherichia coli* belong to a family of hemagglutinins with Dr receptor recognition. **Infect. Immun.**, v. 58, p. 279-281, 1990.

NOWROUZIAN, F. L.; MONSTEIN, H. J.; WOLD, A. E.; ADLERBERTH, I. Effect of human milk on type 1 and P-fimbrial mRNA expression in intestinal *Escherichia coli* strains. **Lett. Applied Microbiol.**, v. 40, p. 74-80, 2005.

OKEKE, I. N.; LAMIKANRA, A.; CZECZULIN, J.; DUBOVSKY, F.; KAPER, J. B.; NATARO, J. P. Heterogeneous virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children in Southwest Nigeria. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p. 252-60, 2000.

OKEKE, I. N.; NATARO, J. P. Enteroaggregative *Escherichia coli*. **Lancet**, v. 1, 304-313, 2001.

OKHUYSSEN, P. C.; DUPONT, H. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. **J. Infect. Dis.**, v. 15, n. 202, p. 503-505, 2010.

PARSOT, C. Shigella spp. and enteroinvasive Escherichia coli pathogenicity factors. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 252, p. 11-18, 2005.

PEDROSO, M. Z.; FREYMULLER, E.; TRABULSI, L. R.; GOMES, T. A. Attaching-effacing lesions and intracellular penetration in HeLa cells and human duodenal mucosa by two *Escherichia coli* strains not belonging to the classical enteropathogenic *E. coli* serogroups. **Infect. Immun.**, v. 61, p. 1152-1156, 1993.

PERNA, N. T.; PLUNKETT, G. R. D.; BURLAND, V.; MAU, B.; GLASNER, J. D.; ROSE, D. J.; MAYHEW, G.F.; EVANS, P. S.; GREGOR, J.; KIRKPATRICK, H. A.; PÓSFAL, G.; HACKETT, J.; KLINK, S.; BOUTIN, A.; SHAO, Y.; MILLER, L.; GROTBECK, E. J.; DAVIS, N. W.; LIM, A.; DIMALANTA, E. T.; POTAMOUSIS, K. D.; APODACA, J.; ANANTHARANMAN, T. S.; LIN, J.; YEN, G.; SCHWARTZ, D. C.; WELCH, R. A.; BLATTNER, F. R. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **Nature**, v. 409, p. 529–533, 2001.

POUTTU, R.; WESTERLUND-WIKSTROM, B.; LANG, H.; ALSTI, K.; VIRKOLA, R.; SAARELA, U.; SIITONEN, A.; KALKINEN, N.; KORHONEN, T. K. *matB*, a common fimbriin gene of *Escherichia coli*, expressed in a genetically conserved, virulent clonal group. **J. Bacteriol.**, v. 183, p. 4727-4736, 2001.

PRAGER, R.; LANG, C.; AURASS, P.; FRUTH, A.; TIETZE, E.; FLIEGER, A. Two novel EHEC/EAEC hybrid strains isolated from human infections. **Plos One**, v. 9, n. 4, p. 1-10, 2014.

RAJAKUMAR, K.; LUO, F.; SASAKAWA, C.; ADLER, B. Evolutionary perspective on a composite *Shigella flexneri* 2a virulence plasmid-borne locus comprising three distinct genetic elements. **FEMS Microb. Lett.**, v. 144, p. 13-20, 1996.

REID, S. D.; HERBELIN, C.; BUMBAUGH, A. C.; SELANDER, R. K.; WHITTAM, T. S. Parallel evolution of virulence in pathogenic *Escherichia coli*. **Nature**, v. 406, p. 64-67, 2000.

RENDON, M. A.; SALDANA, Z.; ERDEM, A. L.; MONTEIRO-NETO, V.; VAZQUEZ, A.; KAPER, J. B.; PUENTE, J. L.; GIRÓN, J. A. Commensal and pathogenic *Escherichia coli* use a common pilus adherence factor for epithelial cell colonization. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104, p. 10637-10642, 2007.

RICH, C.; BONTE-FAVRE, S.; SAPENA, F.; JOLY, B.; FORESTIER, C. Characterization of enteropathogenic *E. coli* isolates. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 173, p. 55-61, 1999.

RILEY, L. M.; TEMIS, R. S.; HLGERTSON, S. D.; MCGEE, H. B.; WELLS, J. G.; DAVIS, B. R.; HEBERT, R. J.; OLCOTT, E. S.; JOHNSON, L. M. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **New Engl. J. Med.**, v. 308, p. 681-685, 1983.

ROBINS-BROWNE, R. M.; BORDUN, .; TAUSCHEK, M.; BENNETT-WOOD, V. R.; RUSSELL, J.; POOEDISANO, F.; LISTER, N. A.; BETTELHEIM, K. A.; FAIRLEY, C. K.;

SINCLAIR, M. I.; HELLARD, M. E. *Escherichia coli* and community-acquired gastroenteritis, Melbourne, Australia. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 10, p. 1797-1805, 2004.

ROCHA, S.P.D.; ABE, C.M.; SPERANDIO, V.; BANDO, S.; ELIAS, W.P. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* that contain functional LEE genes can be attaching and effacing negative in cultured epithelial cells. **Infect. Immun.**, v. 79, p. 1833-1841, 2011.

RODRIGUES, J.; ACOSTA, V. C.; CANDEIAS, J. M.; SOUZA, L. O.; FILHO, F. J. Prevalence of diarrheogenic *Escherichia coli* and rotavirus among children from Botucatu. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 35, p. 1311-1318, 2002.

RODRIGUES, J.; SCALETSKY, I. C. A.; CAMPOS, M L. C.; GOMES, T. A. T.; WHITTAM, T. S.; TRABULSI, L. R. Clonal structure and virulence factors in strains of *Escherichia coli* of the classic serogroup O55. **Infect. Immun.**, v. 64, p. 2680-2686, 1996.

ROSA, A. C.; MARIANO, A. T.; PEREIRA, A. M.; TIBANA, A.; GOMES, T. A. T.; ANDRADE, J. R. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* isolated from infants with acute diarrhea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Med. Microbiol.**, v. 47, p. 781-790, 1998.

RUSSEL, P. W.; ORNDORFF, P. E. Lesions in two *Escherichia coli* type 1 pilus genes alter pilus number and length without affecting receptor binding. **J. Bacteriol.**, v. 174, p. 5923-5935, 1992.

SALDAÑA, Z.; ERDEM, A. L.; SCHÜLLER, S.; OKEKE, I. N.; LUCAS, M.; SIVANANTHAN, A.; PHILLIPS, A. D.; KAPER, J. B.; PUENTE, J. L.; GIRÓN, J. A. The *Escherichia coli* common pilus and the bundle-forming pilus act in concert during the formation of localized adherence by enteropathogenic *E. coli*. **J. Bacteriol.**, v. 191, p. 3451-3461, 2009.

SAMADDER, P.; XICOHTENCATL-CORTES, J.; SALDANA, Z.; JORDAN, D.; TARR, P. I.; KAPER, J. B.; GIRON, J. A. The *Escherichia coli* *ycbQRST* operon encodes fimbriae with laminin-binding and epithelial cell adherence properties in Shiga-toxicogenic *E. coli* O157:H7. **Environ. Microbiol.**, v. 11, p. 1815-26, 2009.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. H. **Molecular cloning: a laboratory manual.** Cold Spring Harbor Laboratory Press. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor, 2001.

SAMPAIO, S. C.; GOMES, T. A. T.; PICHON, C.; DU MERLE, L.; GUADAGNINI, S.; ABE, C. M.; SAMPAIO, J. L.; LE BOUGUENEC, C. The flagella of an atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strain are required for efficient interaction with and stimulation of interleukin-8 production by enterocytes *in vitro*. **Infect. Immun.**, v. 77, p. 4406-4413, 2009.

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.; FASANO, A.; WATSON, J.; MARTIN, B. M.; LEVINE, M. M.; GUADALINI, S.; GUERRY, P. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. **Proc. Natl. Acad. USA**, v. 90, n. 7, p. 3093-3097, 1993.

SAVARINO, S. J.; FOX, P.; YIKANG, D.; NATARO, J. P. Identification and characterization of a gene cluster mediating enteroaggregative *Escherichia coli* aggregative adherence fimbria I biogenesis. **J. Bacteriol.**, v. 176, p. 4949-4957, 1994.

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.; MICHALSKI, J.; TORRES, A. G.; DULGUER, M. V.; KAPER, J. B. Identification and characterization of the locus for diffuse adherence, which encodes a novel afimbrial adhesion found in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 4753-4765, 2005.

SCALETSKY, I. C. A.; ARANDA, K. R.; SOUZA, T. B.; SILVA, N. P. Adherence factors in atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains expressing the localized adherence-like pattern in HEp-2 cells. **J. Clin. Microbiol.**, v. 48, n. 1, p. 302-306, 2010.

SCALETSKY, I. C.; ARANDA, K. R.; SOUZA, T. B.; SILVA, N. P.; MORAIS, M. B. Evidence of pathogenic subgroups among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains. **J. Clin. Microbiol.**, v. 47, p. 3756-3759, 2009.

SCALETSKY, I. C. A.; FABBRICOTTI, S. H.; CARVALHO, R. L. B.; 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.; 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.

SCAVIA, G.; STAFFOLANI, M.; FISICHELLA, S.; STRIANO, G.; COLLETTA, S.; FERRI, G.; ESCHER, M.; MINELLI, F.; CAPRIOLI, A. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with a foodborne outbreak of gastroenteritis. **J. Med. Microbiol.**, v. 57, p. 1141-1146, 2008.

SCHIMIDT, H.; KNOP, C.; FRANKE, S.; ALEKSIE, S.; HEESEMAN, J.; KARCH, H. Development of PCR for screening of enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 701-705, 1995.

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.

SCOTLAND, S. M.; SMITH, H. R.; CHEASTY, T.; SAID, B.; WILLSHAW, G. A.; STOKES, N.; ROWE, B. Use of gene probes and adhesion tests to characterize *Escherichia coli* belonging to enteropathogenic serogroups isolated in the United Kingdom. **J. Med. Microbiol.**, v. 44, p. 438-443, 1996.

SERVIN, A. L. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 18, p. 264-292, 2005.

SILVA, R. M.; GIRALDI, R.; KELLER, R.; CAMPOS, L. C.; GUTH, B. E. Diffuse adherence, ST-I enterotoxin and CFA/IV colonization factor are encoded by the same plasmid in the *Escherichia coli* O29:H25 strain. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, n. 8, p. 969-976, 1996.

SHEIKH, J.; CZECZULIN, J. R.; HARRINGTON, S.; HENDERSON, I. R.; LE BOUGUÉNEC, C.; GOUNON, P.; PHILLIPS, A.; NATARO, J. P. A novel dispersin protein in enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Clin. Invest.**, v. 110, p. 1329-1337, 2002.

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

SMITH, H. R.; SCOTLAND, S. M.; WILLSHAW, G. A.; ROWE, B.; CRAVIOTO, A.; ESLAVA, C. Isolates of *Escherichia coli* O44:H18 of diverse origin are enteroaggregative. **J. Infect. Dis.**, v. 170, p. 1610-1613, 1994.

SPENCER, J.; SMITH, H. R.; CHART, H. Characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from outbreaks of diarrhoeal disease in England. **Epidemiol. Infect.**, v. 123, p. 413-421, 1999.

STEINER, T. S.; LIMA, A. A. M.; NATARO, J. P.; GUERRANT, R. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* produce intestinal inflammation and growth impairment and cause interleukin-8 release from intestinal epithelial cells. **J. Infect. Dis.**, v. 177, p. 88-96, 1998.

SUZART, S.; GUTH, B. E. C.; PEDROSO, M. Z.; OKAFOR, U. M.; GOMES, T. A. T. Diversity of surface structures and virulence genetic markers among enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) strains with and without the EAEC DNA probe sequence. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 201, p. 163-168, 2001.

SZALO, I. M.; GOFFAUX, F.; PIRSON, V.; PIÉRARD, D.; BALL, H.; MAINIL, J. Presence in bovine enteropathogenic (EPEC) and enterohaemorrhagic (EHEC) *Escherichia coli* of genes encoding for putative adhesins of human EHEC strains. **Res. Microbiol.**, v. 153, p. 653-658, 2002.

TARR, C. L.; BILGE, S. S.; VARY, J. C.; JELACIC, S.; HABEEB, R. L.; WARD, T. R.; BAYLOR, M. R.; BESSER, T. E. Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H7 adherence-



conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. **Infect. Immun.**, v. 68, p. 1400-1407, 2000.

TATSUNO, I.; HORIE, M.; ABE, H.; MIKI, T.; MAKINO, K.; SHINAGAWA, H.; TAGUCHI, H.; KAMIYA, S.; HAYASHI, T.; SASAKAWA, C. *tox*B gene on pO157 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for full epithelial cell adherence phenotype. **Infect. Immun.**, v. 69, p. 6660–6669, 2001.

TAYLOR, K. A.; LUTHER, P. W.; DONNENBERG, M. S. Expression of the EspB protein of EPEC within HeLa cells affects stress fibers and cellular morphology. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 120-125, 1999.

TENNANT, S. M.; TAUSCHEK, M.; AZZOPARDI, K.; BIGHAM, A.; BENNETT-WOOD, V.; HARTLAND, E. L.; QI, W.; WHITTAM, T. S.; ROBINS-BROWNE, R. M. Characterisation of atypical enteropathogenic *E. coli* strains of clinical origin. **BMC Microbiol.**, v. 9, p. 117, 2009.

THRELFALL, E. J.; ROWE, B.; FERGUSON, J. L.; WARD, L. R. Characterization of plasmids conferring resistance to gentamicin and apramycin in strains of *Salmonella typhimurium* phage type 204c isolated in Britain. **J. Hyg.**, v. 97, p. 419-426, 1986.

TOBE, T.; HAYASHI, T.; HAN, C. G.; SCHOOLNIH, G. K.; OHTSUBO, E.; SASAKAWA, C. Complete DNA sequence and structural analysis of the enteropathogenic *Escherichia coli* adherence factor plasmid. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 5455-54632, 1999.

TOMA, C.; HIGA, N.; IYODA, S.; RIVAS, M.; IWANAGA, M. The Long Polar fimbriae genes identified in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* are present in other diarrheagenic *E. coli* and in the standard *E. coli* collection of reference (ECOR) strains. **Res. Microbiol.**, v. 157, p. 153-161, 2006.

TORRES, A. G.; BLANCO, M.; VALENZUELA, P.; SLATER, T. M.; PATEL, S. D.; DAHBI, G.; LÓPEZ, C.; BARRIGA, X. F.; BLANCO, J. E.; GOMES, T. A.; VIDAL, R.; BLANCO, J. Genes related to long polar fimbriae of pathogenic *Escherichia coli* strains as reliable markers to identify virulent isolates. **J. Clin. Microbiol.**, v. 47, p. 2442-2451, 2009.

TORRES, A. G.; GIRON, J. A.; PERNA, N. T.; BURLAND, V.; BLATTNER, F. R.; AVELINO-FLORES, F.; KAPER, J. B. Identification and characterization of lpfABCC'DE, a fimbrial operon of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 5416-5427, 2002.

TORRES, A. G.; KANACK, K. J.; TUTT, C. B.; POPOV, V.; KAPER, J. B. Characterization of the second long polar (LP) fimbriae of *Escherichia coli* O157:H7 and distribution of LP fimbriae in other pathogenic *E. coli* strains. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 238, p. 333-344, 2004.

TORRES, A. G.; MILFLORES-FLORES, L.; GARCIA-GALLEGOS, J. G.; PATEL, S. D.; BEST, A.; LA RAGIONE, R. M.; MARTINEZ-LAGUNA, Y.; WOODWARD, M. J.

Environmental regulation and colonization attributes of the long polar fimbriae of *Escherichia coli* O157:H7. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 297, p. 177-185, 2007.

TORRES, A. G.; ZHOU, X.; KAPER, J. B. Adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains to epithelial cells. **Infect. Immun.**, v. 73, p. 18-29, 2005.

TSEN, H. Y.; JIAN, L. Z. Development and use of a multiplex PCR system for the rapid screening of heat labile toxin I, heat stable toxin II and shiga-like toxin I and II genes of *Escherichia coli* in water. **J. Appl. Microbiol.**, v. 84, p. 585-592, 1998.

TRABULSI, L.R.; KELLER, R.; GOMES, T.A.T. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 8, p. 508-513, 2002.

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.

UBER, A. P.; TRABULSI, L. R.; IRINO, K.; BEUTIN, L.; GHILARDI, A. C. R.; GOMES, T. A. T.; LIBERATORE, A. M. A.; CASTRO, A. F. P.; ELIAS, W. P. Enteroaggregative *Escherichia coli* from humans and animals differ in major phenotypical traits and virulence genes. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 256, p. 251-257, 2006.

VALLE, G. R. F; GOMES, T. A. T; IRINO, K.; TRABULSI, L. R. The tradicional enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) serogroup O125 comprises serotypes which are mainly associated with the category of enteroaggregative *E. coli*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 152, p. 95-100, 1997.

VELARDE, J. J.; VARNEY, K. M.; INMAN, K. G.; FARFAN, M.; DUDLEY, E.; FLETCHER, J.; WEBER, D. J.; NATARO, J. P. Solution structure of the novel dispersin protein of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Mol. Microbiol.**, v. 66, p. 1123-1135, 2007.

VIAL, P.A.; ROBINS-BROWNE, R.; LIOR, H.; PRADO, V.; KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MANEVAL, D.; ELSAYED, A.; LEVINE, M.M. Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. **J. Infect. Dis.**, v. 158, n. 1, p. 70-79, 1988.

VIEIRA, M. A.; ANDRADE, J. R. C.; TRABULSI, L. R.; ROSA, A. C. P.; DIAS, A. M. G.; RAMOS, S. R. T. S. Phenotypic and genotypic characteristics of *Escherichia coli* strains of non-enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) serogroups that carry *eae* and lack the EPEC adherence factor and Shiga toxin DNA probe sequences. **J. Infect. Dis.**, v. 183, p. 762-772, 2001.

VIEIRA, M. A.; SALVADOR, F. A.; SILVA, R. M.; IRINO, K.; VAZ, T. M.; ROCKSTROH, A. C, GUTH, B. E.; GOMES, T. A. Prevalence and characteristics of the O122 pathogenicity island in typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains. **J. Clin. Microbiol.**, v. 48, p. 1452-1455, 2010.

WAI, S. N.; TAKADE, A.; AMAKO, K. The hydrophobic surface protein layer of enteroaggregative *Escherichia coli* strains. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 135, p. 17-22, 1996.

WAKSMAN, G.; HULTGREN, S. J. Structural biology of the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis. **Nature Rev. Microbiol.**, v. 7, p. 765-774, 2009.

WELCH, R. A.; BURLAND, V.; PLUNKETT, G.; REDFORD, P.; ROESCH, P.; RASKO, D.; BUCKLES, E. L.; LIOU, S. R.; BOUTIN, A.; HACKETT, J.; STROUD, D.; MAYHEW, G. F.; ROSE, D. J.; ZHOU, S.; SCHWARTZ, D. C.; PERNA, N. T.; MOBLEY, H. L. DONNENBERG, M. S.; BLATTNER, F. R. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 99, p. 17020–17024, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Programme for control of diarrheal diseases (CDC/83.3 Rev 1). **Manual for laboratory investigations of acute enteric infections**. Geneva, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World health statistics**. Geneva: WHO Press, 2012.

YATSUYANAGI, J.; SAITO, S.; SATO, H.; MIYAJIMA, Y.; AMANO, K.; ENOMOTO, K. Characterization of enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from diarrheal outbreaks. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 294–297, 2002.

XICOHTENCATL-CORTES, J. ; MONTEIRO-NETO, V. ; LEDESMA, M. A. ; JORDAN, D. M. ; FRANCETIC, O. ; KAPER, J. B. ; PUENTE, J. L. ; GIRON, J. A. Intestinal adherence associated with type IV pili of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **J. Clin. Invest.**, v. 117, p. 3519-3529, 2007.