

## CARACTERÍSTICAS PATOGÊNICAS DE *Escherichia coli*

CRISTINA PACHECO<sup>a</sup>  
IONICE FELIPE<sup>b</sup>

PACHECO, C.; FELIPE, I. Características patogênicas de *Escherichia coli*. *Semina*, 12(2): 83-90, jun. 1991.

### RESUMO

Esta revisão aborda, de modo geral, características patogênicas de cepas de *Escherichia coli* que provocam infecções intestinais e extra-intestinais assim como as estratégias que os microrganismos apresentam em oposição aos mecanismos de defesa do hospedeiro.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Escherichia coli*; Características patogênicas; Infecção.

### 1 - INTRODUÇÃO

Embora sejam encontrados como componentes da flora normal, algumas cepas de *Escherichia coli*, devido a alterações do organismo, como o comprometimento do mesmo pelo uso indiscriminado de antibióticos, podem expressar determinados genes localizados em plasmídios, que conferem a estas cepas a capacidade de invasão e consequente patogenicidade.

Certas cepas de *E. coli* têm sido identificadas como agentes causadores de diarreia em adultos e crianças, além de serem isoladas do trato urinário e de casos de meningite em neonatos e bacteremias (6, 20, 41, 46, 65, 66, 73).

A patogenicidade de *E. coli* se deve a várias propriedades tais como I) capacidade de aderir e mudar a fisiologia das células hospedeiras; II) invadir tecidos; III) resistência à antibióticos; IV) resistência sérica e V) produção de toxinas.

De acordo com estas características, alguns autores, classificam as cepas de *E. coli* em responsáveis por infecções intestinais e extra-intestinais (22, 29, 36, 41, 64).

#### 1. *Escherichia coli* CAUSADORAS DE INFECÇÕES INTESTINAIS

O reconhecimento de *E. coli* como agente etiológico de diarreias, vem de estudos da diarreia de verão em crianças na Europa e América do Norte, no início da década de 40, realizados por Bray<sup>7</sup> e Bray & Beavan<sup>8</sup>. A partir de então, vários autores dedicaram-se a estudos mais aprofundados, para melhor conhecimento dos fatores patogênicos envolvidos nesses casos de diarreia (5, 6, 21, 36, 40).

As cepas pertencentes a este grupo, são divididas em quatro categorias, de acordo com o tipo de infecção por elas causada (Fig. 1).

a - Mestranda do Curso de Microbiologia - Departamento de Patologia Geral/CCB - Universidade Estadual de Londrina

b - Departamento de Patologia Geral/CCB - Universidade Estadual de Londrina

**FIGURA 1 - CATEGORIAS DISTINTAS DE *Escherichia coli* CAUSADORAS DE DIARRÉIAS\***

1. ENTEROTOXIGÊNICA	ETEC
2. ENTEROINVASIVA	EIEC
3. ENTEROPATOGÊNICA	EPEC
Classe	Aderência célula Hep-2
I	Localizada
II	Ausente ou Difusa
4. ENTEROHEMORRÁGICA	

\* Segundo Levine, M.M., 1987 (36)

**TABELA 1 - FATORES DE ADESÃO ENCONTRADOS EM ANTÍGENOS SUPERFICIAIS DE *Escherichia coli* ENTEROTOXIGÊNICAS**

Fator de adesão	Hospedeiro	Sorogrupos O	Controle Genético
K88	leitão	8, 45, 138, 141, 147, 149, 157	plasmídeo
K99	bezerro, cordeiro, leitão	8, 9, 20, 64, 101	plasmídeo
987P	leitão	9, 20, 141	?
F41	cordeiro	9, 101	?
CFA/I	homem	4, 15, 25, 63, 78, 90, 110, 114, 126, 128, 153	plasmídeo
CFA/II	homem	6, 8, 9, 78, 80, 85, 115, 139, 168	plasmídeo
E8775	homem	25, 115, 167	plasmídeo

\* Segundo Smith, H.R. et al, 1985 (68)

A tabela apresenta os fatores de adesão encontrados nos vários sorogrupos de ETEC, seus principais hospedeiros assim como o controle da expressão da maioria desses fatores.

### 1.1. *Escherichia coli* ENTEROTOXIGÊNICAS (ETEC)

As bactérias pertencentes a esta categoria, têm sido relacionadas com casos de diarreia desde 1960 e início da década de 70 (26, 57). São as maiores causas de diarreia infantil em países menos desenvolvidos, relacionadas com diarreia dos viajantes e infecções correlacionadas com consequências nutricionais adversas (5, 6, 21, 40).

Estes microrganismos aderem e colonizam o intestino delgado do homem e animais, onde liberam enterotoxinas, denominadas termolábeis (TL) e/ou termoestáveis (TE). Os fatores de ligação e colonização parecem estar localizados em fímbrias ou pilis (21, 60). A produção de toxinas é codificada por plasmídios, sendo que estes também podem sintetizar fatores de colonização, que facilitam a aderência de algumas cepas de *E. coli* ao epitélio intestinal por meio de antígenos superficiais (35) Tabela 1.

### 1.2. *Escherichia coli* ENTEROINVASIVAS (EIEC)

As cepas deste grupo estão envolvidas em doenças intestinais lembrando as *Shigellas* por sua capacidade de penetrar células epiteliais da mucosa intestinal particularmente do cólon (20). Pouco é conhecido sobre o processo de invasão; a primeira alteração no hospedeiro é uma destruição localizada das vilosidades da borda, devido a multiplicação intracelular da bactéria, resultando em desenteria bacilar (25). Deste foco de infecção, o patógeno invade e destrói células adjacentes, causando inflamação e ulceração do epitélio (20, 28).

### 1.3. *Escherichia coli* ENTEROPATOGÊNICAS (EPEC)

Cepas de EPEC também causam diarreia em crianças de países em desenvolvimento. Elas pertencem a um sorogrupo restrito que em geral diferem daqueles pertencentes à ETEC e EIEC (36), entretanto, sorogrupos EPEC ocasionalmente apresentam cepas que produzem enterotoxinas termolábeis (TL) e termoestáveis (TE), normalmente produzidas por ETEC.

A capacidade de colonizar a mucosa epitelial do intestino delgado é importante na patogenicidade de EPEC; entretanto, em contrastes às ETEC, o mecanismo de colonização é desconhecido. A capacidade de adesão foi estudada em modelos *in vitro*, com culturas de tecidos de células HEp-2 e HeLa, usando-se a cepa *E. coli* 0111, muito frequente nas infecções tipo EPEC (17, 63, 58). A categoria EPEC assim pode ser subdividida dentro de duas classes, Classe I, exibindo aderência localizada às células HEp-2, enquanto a Classe II apresenta aderência difusa ou não adere às mesmas (36). Baldini et al (1983) relataram que 30 de 31 sorotipos clássicos de cepas de EPEC, possuíam um plasmídeo de aproximadamente 60 MDa que codifica a propriedade de aderência às células HEp-2, descrito por Cravioto et al (1979), como fator de aderência de EPEC (EAF) (590; Scaletsky et al (1984) diferenciaram a aderência de *E. coli* 0111,



às células HeLa e HEp-2, como localizada e difusa, sendo as mesmas mediadas por plasmídeo.

Marques et al (1986) e Cleary et al (1985), constataram que algumas cepas de EPEC, elaboram moderada quantidade de citotoxina, muito similar à toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1, tendo sido sugerida a participação desta toxina na patogenicidade de EPEC.

#### 1.4. *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICAS (EHEC)

O sorogrupo identificado desta categoria é uma *E. coli* O157:H7, responsável por diarreia sanguinolenta descrita recentemente nos Estados Unidos e Canadá (56). As EHEC produzem duas citotoxinas, Shiga-like I e II ou Verotoxinas I e II, ambas codificadas por bacteriófagos lisogênicos. Estudos sugerem que tais toxinas sejam responsáveis por hemorragia intestinal e também pela síndrome hemolítica-urêmica que, às vezes, acompanha a colite hemorrágica. Estas bactérias aderem à mucosa do intestino grosso por meio de fímbrias codificadas por plasmídeos. Tzipori et al (1986), mostraram por fotomicrografias a ligação da bactéria aos enterócitos e eliminação dos mesmos, com destruição dos microvilos, uma lesão lembrando o sorotipo clássico de EPEC (45).

A identificação de EHEC é feita pela dosagem de toxinas em cultura de tecidos (célula Vero ou HeLa) ou através de sondas genéticas que detectam os genes que as codificam, além de vários modelos animais para demonstrar as características patológicas da infecção por O157:H7 (24).

#### 2. *Escherichia coli* CAUSADORA DE INFECÇÕES EXTRA-INTESTINAIS

Em adição às cepas causadoras de infecções intestinais no homem e animais, cepas de *E. coli* são uma importante causa de infecções extra-intestinais (73). Cepas pertencentes a este grupo são responsáveis por infecções generalizadas ou septicemia, e são certamente invasivas, mas suas propriedades são distintas de EIEC. *E. coli* causadoras de infecções extra-intestinais, possuem diferentes mecanismos patogênicos necessários para sobreviverem em habitats diferentes, como trato urinário e sistema vascular (67, 44).

Os fenótipos encontrados mais comumente em cepas extra-intestinais incluem: produção de hemolisina, biossíntese de colicina V e hemaglutinação de eritrócitos humanos na presença de D-manose (34), Tabela 2.

#### 3. ESTRATÉGIAS MICROBIANAS COM RELAÇÃO ÀS DEFESAS DO HOSPEDEIRO

A fim de eliminar microrganismos patogênicos, o hospedeiro apresenta mecanismos bem definidos, dos quais alguns serão descritos aqui. Dentre os principais pode-se mencionar a atividade antibacteriana do sangue, constituída por anticorpos específicos e fatores protéicos de complemento, efetivos na eliminação de bacteremias (9, 23). O sistema complemento desempenha importante papel de reconhecimento e eliminação de agentes infecciosos e células

TABELA 2 - MECANISMOS PATOGENICOS DE *Escherichia coli* CAUSADORAS DE INFECÇÕES EXTRA-INTESTINAIS

Fatores	Mecanismos
Hemolisinas	o papel da hemolisina na patogenicidade não foi estabelecida
Plasmídeos Col V	aumentam a virulência da bactéria
Plasmídeos Vir	associados com antígenos de superfície e síntese de toxina TL
Antígeno KI	permite a invasão de cepas de <i>E. coli</i> do sistema nervoso central de neonatos
Fímbrias	Permitem a adesão das bactérias na presença de manose. Está associada com fatores de colonização

Resumo dos principais fatores de patogenicidade encontrados em cepas de *E. coli* extra-intestinais e seus mecanismos de ação no organismo do hospedeiro (67).

alteradas do hospedeiro. Ele facilita interações com muitas células efetoras incluindo neutrófilos, monócitos, macrófagos, basófilos e linfócitos, o que leva a liberação de mediadores secundários, aumentando a fagocitose e modulação de várias reações imunológicas (15).

O sistema complemento junto com seus fatores reguladores e receptores consiste de mais de 25 proteínas do plasma e membrana (16, 33). As reações dos componentes do complemento e fatores que compreendem as vias de ativação com uma bactéria, vírus ou outros ativadores podem ser agrupados em várias etapas (Fig. 3). Cada uma das duas vias de ativação, via clássica e alternativa inteiramente separadas podem ser ativadas na completa ausência de anticorpos, por uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias, víruses, células infectadas por vírus, fungos e muitos outros agentes com potencial patobiológico. Ambas as vias também podem ser ativadas ou ter sua ativação aumentada por anticorpos específicos. Ativação do complemento, um pré-requisito para todas as atividades biológicas do sistema, leva a formação sequencial de um número de complexos enzima-substrato e proteína-proteína. A geração da clivagem dos fragmentos e complexos multimoleculares caracterizam esta porção da sequência da reação, a qual culmina com ativação da membrana, que leva a formação de um grande complexo multiprotéico que possui a capacidade lítica sobre lipídios das membranas biliares, que envolvem os vírus e outras células.



As ações dos fragmentos C<sub>3a</sub>, C<sub>4a</sub> e C<sub>5a</sub>, ativados, juntos com fragmento C<sub>2</sub> e fator B, são responsáveis pela capacidade do sistema complemento para produzir uma resposta inflamatória aguda (Fig. 2) (30). Estes peptídeos capacitam permeabilidade, liberação de aminas vasoativas tais como histamina de células masticas e basófilos, estímulo do metabolismo do ácido aracônico com liberação de leucotrienos e disparo da liberação de enzimas lisossomais. C<sub>5a</sub> estimula a migração direta de leucócitos dentro da área de ativação do complemento. A respostas inflamatória aguda representa a maior função *in vivo* retardando a disseminação de um processo infeccioso.

Patógenos podem ser destruídos por diferentes ações dependentes do complemento (Fig. 2). Estas incluem fagocitose, destruição extracelular por liberação de substâncias citotóxicas e inativação direta por complemento. Durante a ativação do complemento, uma porção de moléculas ligam-se à superfície do patógeno. A ativação dos fragmentos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, que ligam-se covalentemente ao ativador, possui a capacidade de interagir especificamente com receptores do complemento localizados na superfície de múltiplos tipos celulares (Tabela 3). Neste tipo de reação, fragmentos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> mediam a ligação do complexo complemento-patógeno à superfície de células efectoras apresentando receptores para o complemento. Em adição a este potencial opsonico do complemento que leva a destruição intracelular, patógenos ligados via fragmentos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, à receptores do complemento em linfócitos e fagócitos, podem ser mortos extracelularmente pela ação de substâncias tóxicas liberadas de células com receptores do complemento ocupados (15).

A interação do complemento, como mencionado, com células efectoras do sistema imune, ativa as mesmas. Como exemplo pode-se citar o neutrófilo polimorfonuclear, o qual apresenta importante atividade microbicida, quando ocorre a formação do fagolisossomo. Esta atividade é dividida em dois mecanismos, I) dependente de oxigênio, conhecido por "burst respiratório" e II) independente de oxigênio (15, 14, 42), figura 3.

Por outro lado, o microorganismo ao infectar um hospedeiro, tenta evadir-se destes mecanismos de defesa, recorrendo à algumas estratégias, dentre as quais menciona-se os componentes de superfície: lipopolissacarídeo, pili e cápsula, esta última impedindo a fagocitose e ação de opsoninas, inibição da absorção do microorganismo à superfície da célula fagocítica, assim como a capacidade da bactéria de invadir tecidos, produzir toxinas e quelantes de ferro (43).

### 3.1. COMPONENTES DE SUPERFÍCIE

A primeira etapa a ser vencida pelo hospedeiro, está relacionada a presença de Lipopolissacarídeo (LPS), uma molécula de superfície complexa, característica da parede celular de bactérias Gram-negativas, constituída de três porções: lipídio A, oligossacarídeo e antígeno O (3, 38). Esta molécula está correlacionada com resistência à morte por complemento (32), a qual se deve a interação do LPS com uma variedade de componentes do soro, particularmente do sistema complemento.

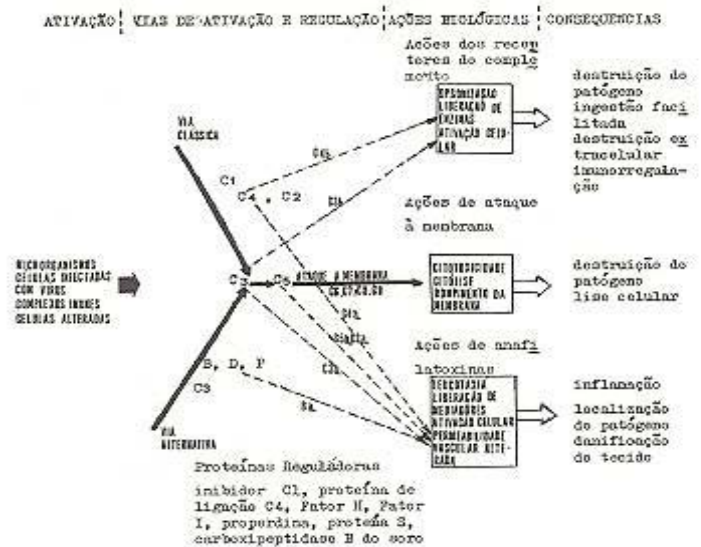


FIGURA 2 - Vias e Consequências Biológicas da Ativação do Complemento.

O microorganismo, formando ou não complexo imune com seu anticorpo específico, desencadeia a ativação das proteínas do sistema complemento, as quais são clivadas, originando dois fragmentos, dos quais, uns fixam à parede do microorganismo e possuem atividade enzimática, resultando em lise do patógeno; e outros, que vão para os fluidos e possuem atividades biológicas diversas funcionando como anafilotoxinas, opsoninas e substâncias quimiotáticas.

\*Segundo Cooper N.R., 1988 (15).

O lipídio A do LPS interage diretamente com C<sub>1</sub>, produzindo um mecanismo independente de anticorpos para ativação da via clássica do complemento (14). A porção polissacarídica, parece mediar a ativação da via alternativa do complemento e apesar de ocorrer a formação do complexo C<sub>5b-9</sub>, o mesmo se desprende da parede bacteriana pelo fato do LPS impedir-lhe o acesso a membrana, o que poderia explicar a resistência ao complemento. Outros componentes de superfície como cápsula e pili são responsáveis pela evasão das bactérias às defesas do organismo. O antígeno capsular de *E. coli* 07:K1, antígeno K, tem sido associado à capacidade da mesma produzir septicemia, meningite ou pielonefrites (2, 12, 55, 71). O mecanismo pelo qual o antígeno K promove a virulência é incerto, mas ele está relacionado à capacidade do organismo resistir à fagocitose e a atividade bactericida do soro, já que a cápsula impede a lise pela via alternativa do complemento (15, 32, 47, 54). Tem sido sugerida também, a correlação entre virulência de microorganismo e capacidade do mesmo para aderir à superfície de um órgão ou célula, a qual está relacionada a presença de pili e outros fatores de superfície no microorganismo, estudado em *E. coli* pili Tipo 1 (31, 35). Esta aderência é um importante



TABELA 3 - RECEPTORES PARA COMPLEMENTO

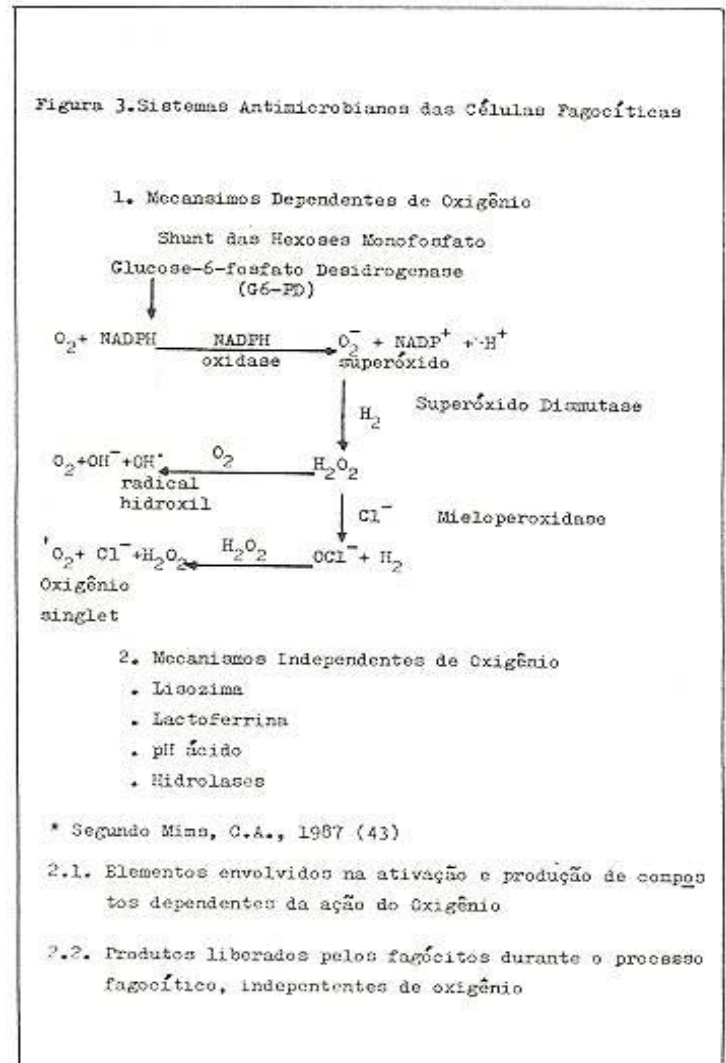
Receptor	Especificidade	Tipos de células	Resposta biológica
C <sub>3a</sub>	C <sub>3a</sub> , C <sub>4a</sub>	fagócitos células másticas	secreção, ati- vação celular secreção, ati- vação celular
CR 1	C <sub>3b</sub> , C <sub>4b</sub>	eritrócitos linfócitos fagócitos	regulação do complemento aumento ADCC* aumento da in- gestão, ativa- ção celular
CR 2	C <sub>3d</sub> , g, C <sub>3d</sub>	linfócitos B	ativação do linfócito
CR 3	C <sub>3bi</sub>	fagócitos	aumenta in- gestão, ativa- ção celular
CR 4	C <sub>3d</sub> , g	fagócitos	desconhecido
C <sub>3e</sub>	C <sub>3e</sub>	neutrófilo	leucocitose
C <sub>5a</sub>	C <sub>5a</sub>	fagócitos células másticas	secreção, ati- vação celular, quimiotaxia secreção ati- vação celular, quimiotaxia
C <sub>1q</sub>	C <sub>1q</sub>	fagócitos linfócitos B	desconhecido desconhecido
H	H	fagócitos linfócitos B	desconhecido desconhecido

\* ADCC = citotoxicidade celular dependente de anticorpo

Segundo Cooper N.R., 1988 (15)

A tabela mostra os tipos celulares que expressam receptores para componentes do complemento e as respostas imunológicas desencadeadas pela interação receptor-complemento.

Figura 3 - Sistemas Antimicrobianos das Células Fagocíticas



fator de virulência já que a mesma permite que o microrganismo colonize mucosas e outros tecidos, assim opondo-se ao potente mecanismo peristáltico de defesa, permitindo a liberação de toxinas (44).

### 3.2. PLASMÍDIOS

Trabalhos com cepas de *E. coli* portadoras de plasmídeo, mostram que o mesmo está relacionado com fatores de virulência, como resistência à antibióticos e produção de toxinas (22, 51).

Estudos com *E. coli* (pKCO21), portadora de plasmídeo R6-5, mostrou que a presença do plasmídeo permitia a codificação da proteína Tra T, um componente de superfície cujos estudos mostraram atuar como um fator antifagocítico e conferindo fatores de aderência requeridos para a completa expressão da patogenicidade. Além disso, a expressão do gene tra t resulta na restrição da deposição do complemento (C<sub>3</sub>) e também afeta a distribuição de opsonina, tanto que a deposição do mesmo é difusa e irregular (1, 19, 33, 43).



A cepa de *E. coli* Col V, I-K94, portadora do plasmídeo Col V, apresentou propriedades de transferência F, bem como síntese de colicina V (45). Embora não seja tóxica para animais, a colicina, segundo Ozanne et al (1977), aumenta a permeabilidade vascular e impede a fagocitose. Além disso, cepas portadoras deste plasmídeo, apresentam resistência sérica e produção de quelantes de ferro (18, 68, 72).

### 3.3. CAPTAÇÃO DE FERRO

O ferro é requerido como elemento essencial para o crescimento bacteriano, porém no hospedeiro, este encontra-se combinado à proteínas, o que impede o acesso bacteriano a tal elemento (61). Para contornar este dilema nutricional e assimilar o ferro necessário para funções metabólicas, a bactéria sintetiza e secreta compostos quelantes de ferro, sideróforos, que se ligam ao ferro e o levam para o interior da célula bacteriana, por ligação às proteínas de transporte da membrana. O ferro é então liberado do sideróforo para ser usado no metabolismo celular pela bactéria (48, 49). Estudos realizados com 516 cepas de *E. coli*, para investigar a presença e expressão de um sistema quelante de ferro (aerobactina), mostrou que 68,8% de cepas isoladas de septicemia, 74,6% de pielonefrites, 59,8% e 63,2% de infecções do trato urinário sintomático e assintomático, respectivamente, eram positivas para captação de ferro (10).

*E. coli* portadoras de plasmídeo Col V, apresentam dois tipos de sideróforos, a enterocolina e aerobactina (27). O sistema aerobactina, confere resistência à morte por fagocitose, devido a competição com a transferrina a qual compete com estes microrganismos pelo ferro livre (53). O plasmídeo Col V permite às cepas portadoras manterem sua catalase ativa, neutralizando a ação do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), discutido a seguir.

### 3.4. EVASÃO DA ATIVIDADE MICROBICIDA DOS FAGÓCITOS

Cepas col V<sup>+</sup> apresentam a capacidade de crescer em meios que possuem pH ácido (3,5 a 4,5), como no fagolisossomo. Tal propriedade auxilia na patogenicidade quando o fagócito libera microrganismos viáveis (47, 62, 11).

O êxito da evasão de um microrganismo deve-se a vários fatores, entre eles inibição da absorção do mesmo à superfície da célula fagocítica e bloqueio do "burst respiratório" através da neutralização de seus produtos. A presença de cápsulas impede a absorção do microrganismo à superfície da célula fagocítica e também a fagocitose por opsonização (43). Os produtos do "burst respiratório" ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ , OH,  $O_2^-$ ) gerados a partir de mudanças metabólicas induzidas por interação ligante-receptor, do microrganismo com o fagócito ou vice-versa, têm sua citotoxicidade minimizada pela ação de enzimas bacterianas; por exemplo, o ânion superóxido é neutralizado pela presença do superóxido dismutase, encontrada no espaço periplasmático de *E. coli* B, que possibilita à bactéria escapar da atividade microbicida dos fagócitos (27, 50). O peróxido de hidrogênio, mieloperoxidase lisossomal e haletos participam da potente atividade microbicida (39), porém alguns microrganismos produzem catalase, que cliva  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , tornando-o inofensivo para a célula invasora. Estes agentes também mediam a lise através da geração de oxigênio *singlet*  $O_2$ , (63) ver Figura 3.

Os mecanismos aqui relacionados mostram a organização e capacidade de *E. coli*, uma bactéria comum do trato intestinal, tornar-se invasiva e os possíveis mecanismos que a mesma apresenta para evadir às defesas do hospedeiro, causando vários quadros clínicos, desde a diarreia até septicemia, infectando o homem e animais domésticos.

### AGRADECIMENTOS

Ao professor Rubens Cecchini, departamento de Patologia Geral, pelo auxílio na elaboração do texto em inglês.

PACHECO, C.; FELIPE, I. Pathogenic features of *Escherichia coli*. *Semina*, 12(2): 83-90, jun. 1991.

### ABSTRACT

This review focused, in general terms, on the pathogenic features of *Escherichia coli* strains that can yield intestinal and extraintestinal infection, as well as on strategies that the micro-organisms present in opposition to the host's defense mechanisms.

**KEY-WORDS:** *Escherichia coli*, pathogenics features, infection.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUERO, M.E.; ARON, L.; De LUCA, A.G.; TIMMIS, K.N.; CABELLO, F.C. A plasmid-encoded outer membrane protein, Tra T, enhances resistance of *Escherichia coli* to phagocytosis. *Infect. and Immun.* 46 (3): 740-746. 1984.
2. ALLEN, P.M.; ROBERTS, I.; BOUBNOIS, G.J.; SAUNDERS, J.R.; HART, C.A. Contribution of capsular polysaccharide and surface properties to virulence of *Escherichia coli* K1. *Infect. and Immun.* 55: 2662-2668. 1987.
3. AUSTIN, E.A.; GRAVES, J.F.; HITE, A.L.; GRAIG, T.P.; SCHNAITMANS, C.A. Genetic analysis of lipopolysaccharide core biosynthesis by *Escherichia coli* K12.: Insertion mutagenesis of the *rfa* locus. *J. Bacteriol.* 172: 5312-5325, 1990.
4. BALDINI, M.; KAPER, J.B.; LEVINE, M.M.; CANDY, D.C.A.; MOON, H.W. Plasmid-mediated adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2: 534-538. 1983.



5. BLACK, R.E.; BROWN, K.H.; BECKER, S.; ABDUL ALIM, A.R.M.; HUQ, I. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. II Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *Am. J. Epidemiol.* 115: 315-324. 1982.
6. BLACK, R.E.; BROWN, K.H. BECKER, S. Effects of diarrhea associated with specific enteropathogens on the growth of children in Bangladesh. *Pediatrics.* 73: 799-805. 1984.
7. BRAY, J. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from summer diarrhoea of infants. *J. Pathol.* 57: 239-47. 1945.
8. BRAY, J. BEAVAN, T. Slide agglutination of *Bacterium coli* var. *neapolitanum* in summer diarrhea. *J. Pathol.* 60: 395-401. 1948.
9. CABELLO, J. TIMMIS, K.N. Plasmids of medical importance. p. 55-69. In: K. TIMMIS and H. PUTTER (ed). Plasmids of medical environmental and commercial importance. Elsevier North Holland Biomedical Press. Amsterdam. The Netherlands. 1979.
10. CARBONETTI, N.H.; BOONCHAI, S.; PARRY, S.H.; VAISANEN, K.; KORHONEN, T.K.; WILLIAMS, P.H. Aerobactin-mediated iron uptake by *Escherichia coli* isolates from extraintestinal infections. *Infection, and Immun.* 51: 966-68. 1986.
11. CECH, P.R.; LEHNER, R.I. Phagolysosomal pH of human neutrophils. *Blood.* 63: 88-95. 1984.
12. CHEASTY, T.; GROSS, R.J.; ROWE, B. Incidence of K1 antigen in *Escherichia coli* isolated from blood and cerebrospinal fluid of patients in United Kingdom. *J. Clin. Pathol.* 30: 945-47. 1977.
13. CLEARY, T.G.; MATHEUSON, J.J.; FARIS, E.; PICKERING, L.K. Shiga-like cytotoxin production by enteropathogenic *Escherichia coli* serogroups. *Infect. Immun.* 47:335-37. 1985.
14. COOPER, N.R.; MORRISON, D.C. Binding and activation of the first component of human complement by the lipid A of lipopolysaccharides. *J. Immunol.* 118-362. 1978.
15. COOPER, N.R. Complement and infectious agents. *Infect. Dis* 10: 5447-5449. 1988.
16. COOPER, N.R. The classical complement pathway: activation and regulation of the first complement component. *Adv. Immun.* 37: 151-216. 1985.
17. CRAVIOTO, A.; G. ROSS, R.J.; SCOTLAND, S.M.; ROWE, B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Current Microbiol.* 3: 95-99. 1979.
18. DARJA, Z-B.; MODRIC, E.; GRABNAR, M. Aerobactin uptake system, Col V production, and drug resistance encoded by a plasmid from an urinary tract infection. *E. coli* strain of human origin. *Can. J. Microbiol.* 36: 297-99. 1990.
19. DLABAC, V. On the significance of the lipopolysaccharide structure of *Salmonella* mutant in different immune reactions. *Collo. Int. Clin. Notes Resp. Dis.* 174: 297-305. 1969.
20. DuPONT, H.L.; FORMAL, S.B.; SNYDER, M.J.; LIBONATI, J.P.; SHEAHAN, D.G. LaBREC, E.H.; KALAS, J.P. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N. Engl. J. Med.* 285: 1-9. 1971.
21. DuPONT, H.L.; OLARTE, J.; EVANS, D.G.; PICKERING, L.K. GALINDO, E.; EVANS, D.J. Comparative susceptibility of Latin American and United States students to enteric pathogens. *N. Engl. J. Med.* 295: 1520-21.
22. ELWELL, L.P.; SHIPLEY, L.P. Plasmid-mediated factors associated with virulence of bacteria to animals. *Ann. Rev. Microbiol.* 34: 465-496. 1980.
23. FALKOW, S. Bacterial pathogenicity, an overview. p. 91-100. In S.B. LEVY, R.C. CLOWES and E.L. KOENING (ed.) Molecular biology, pathogenicity and ecology of bacterial plasmids. Plenum Publishing Corp. New York, 1981.
24. FRANCIS, D.H.; COLLINS, J.E.; DUIMSTRA, J.R. Infection of gnotobiotic pigs with an *E. coli* 0157:H7 strain associated with an outbreak of hemorrhagic colitis. *Infect Immun.* 51: 953-6. 1986.
25. FORMAL, S.L.; HORNICK, R.B. Invasive *Escherichia coli*. *Infect. Dis.* 137: 641-644. 1978.
26. GORBACH, S.L.; BANWELL, J.G.; CHATTERJEE, B.D.; JACOBS, B.; SACK, R.B. Acute indifferntiated human diarrhea in the tropics. I. Alterations in intestinal microflora. *J. Clin. Invest.* 53: 881-889. 1971.
27. GREGORY, M.E.; YOST, F.J. Jr; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases of *Escherichia coli*: intracellular localization and functions. *J. Bacteriol.* 115:987-91. 1973.
28. HALE, T.L.; SANSONETTI, P.J.; SCHAD, P.A.; AUSTIN, S.; FORMAL, S.B. Characterization of virulence plasmids and plasmids-associated outer membrane proteins in *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 40: 340-350. 1983.
29. HEMSLEY, R.V.; BARNUM, D.A.; INGRAM, D.G. Biochemical and serological studies of avian strains of *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 11:90-97. 1967.
30. HUGLI, T.E.; Bioactive factors of the blood complement system. In: Proteins in biology and medicine. New York. Academic Press, 91-117. 1983.
31. JAYAPPA, H.G.; GOODNOW, R.A.; GEARY, S.J. Role of *E. coli* type 1 pilus in colonization of porcine ileum and its protective nature as a vaccine antigen controlling colibacillosis. *Infect. Immun.* 48: 350-354. 1985.
32. JOINER, K.A.; SCHMETZ, M.A.; GOLDMAN, R.C.; LEIVE, L.; FRANK, M.M. Mechanism of bacterial resistance to complement-mediated killing inserted C5b-9 correlates with Killing for *Escherichia coli* 0111-B4 varying in O antigen capsule and O-polysaccharide. *Infect. Immun.* 45: 113-117. 1984.
33. JOINER, K.A.; BROWN, E.J.; FRANK, M.M. Complement and bacteria: chemistry and biology in host defense. *Annu. Rev. Immunol.* 2: 461-91. 1984.
34. LEVINE, M.M.; RENNELS, M.B.; DAYA, V.; HUGHES, T.P. Hemagglutination and colonization factors in enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* that cause diarrhea. *Infect. Dis.* 141: 733-737. 1980.
35. LEVINE, M.M.; RISTANO, P.; SACK, R.B.; KAPER, J.B.; ORSKOV, F.; ORSKOV, I. Colonization factor antigens I and II and type 1 somatic pill in enterotoxigenic *Escherichia coli*: reaction to enterotoxin type. *Infection Immun.* 39: 889-897. 1983.
36. LEVINE, M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. *Infect. Dis.* 155: 377-89. 1987.
37. MARQUES, L.R.M.; MOORE, M.A.; WELLS, J.G.; WACHSMUTH, I.K.; O'BRIEN, A.D. Production of Shiga-like toxin by *Escherichia coli*. *Infect. Dis.* 154: 338-41. 1986.
38. MARVIN, H.J.; MARTIN, B.A.; WITHOLT, B. Release of outer membrane fragments from wild-type *Escherichia coli* lipopolysaccharide mutants by EDTA and heat shock treatments. *J. Bacteriol.* 171: 5662-67. 1989.



39. MANDELL, G.L. Intraphagosomal pH of human polymorphonuclear neutrophils. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134:347. 1970.
40. MERSON, M.H.; MORRIS, G.K.; SACK, D.A.; WELLS, J.G.; FEELEY, J.C.; SACK, R.B.; CREECH, W.B.; KAPIKIAN, A.Z.; GANGAROSA, E.J. Traveler's diarrhea in Mexico. A prospective study of physicians and family members attending a congress. *N. Engl. J. Med.* 294: 1299-1305. 1976.
41. MINSHEW, B.H.; JORGENSEN, J.; SWANSTRUM, M.; GROOTES-REUVECAM, G.A.; FALKOW, S. Some characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal infections of human. *Infect. Dis* 137: 648-654. 1978.
42. MOLL, A.; MANNING, P.A.; TIMMIS, K.N. Plasmid-determined resistance to serum bactericidal activity: a major outer membrane proteins, the tra t gene produced, is responsible for plasmid-specified serum resistance in *E. coli*. *Infect. Immun.* 28: 359-67. 1980.
43. MIMS, C.A. The encounter of the microbe with phagocytic cell. 63-91. In: The pathogenesis of infectious disease. Third edition. Academic Press. 1987.
44. MONTEGOMERIE, J.Z. Factors affecting virulence in *Escherichia coli* urinary tract infections. *Infect Dis.* 137: 645-47. 1978.
45. MOON, H. W.; WHIPP, S.C.; ARGENZIO, R.A.; LEVINE, M. M.; GIANNELLA, R.A. Attaching and effacing activities of rabbit intestines. *Infect. Immun.* 41:1340-51. 1983.
46. MORRIS, J.A.; SOJKA, W.J. *Escherichia coli* as a pathogen in animals, 47-77. in M. SUSMAN (ed). The virulence of *Escherichia coli*. Reviews and Methods. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1985.
47. MORRISON, D.C.; KLINE, L.F. Activation of the classical and properdin pathways of complement by bacterial lipopolysaccharides. *J. Immunol.* 177:362. 1977.
48. MURPHY, C.K.; KALVE, V.I.; KLEBBA, P.E. Surface topology of the *Escherichia coli* K12 ferric enterobactin receptor. *J. Bacteriol.* 172: 2736-2746. 1990.
49. NAHLIK, M.S.; FLEMING, T.P.; McINTOSH. Cluster of genes controlling synthesis and activation of 2-3-dehydroxybenzoic acid in production of enterobactin in *E. coli*. *J. Bacteriol.* 169: 4163-4170. 1987.
50. NIEDERHOFFER, E.C.; NARANJO, C.M.; BRADLEY, K.L.; FEE, J.A. Control of *Escherichia coli* superoxide dismutase (sod A and sod B) genes by the ferric uptake regulation (fur) locus. *J. Bacteriol.* 172: 1930-1938. 1990.
51. OGATA, R.T.; LEVINE, R.P. Characterization of complement resistance in *Escherichia coli* conferred by the antibiotic resistance plasmid R100. *J. Immunol.* 125: 1494-98. 1980.
52. OZANNE, G.; MATHIEU, L.G.; BARIL, J.P. Production of colicin V *in vitro* and *in vivo* and observations on its effects in experimental animals. *Infect. Immun.* 17: 497-503. 1977.
53. PIERCE, J.R.; EARHART, C.F. *Escherichia coli* K12 envelope proteins specifically required for ferrienterobactin uptake I. *J. Bacteriol.* 166: 930-936. 1986.
54. PLUSHKE, G.; ACHTMAN, M. Degree of antibody independent activation of the classical complement pathway by K1 *Escherichia coli* differs with virulence of meningitis in newborns. *Infect Immun.* 43: 684-692. 1984.
55. ROBBINS, J.B.; McCracken, G.H.; GOTSCHLICH, E.C.; ORSKOV, F.; ORSKOV, I.; HANSON, L.A. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *N. Engl. J. Med.* 290: 1216-1220. 1984.
56. RILEY, L.W.; REMIS, R.S.; HELGERSON, S.D.; Mc GIE, H.B.; WELLS, J.G.; DAVIS, B.R.; HEBERT, R.J.; OLCOTT, E.S.; JOHNSON, L.M.; HARGRETT, N.T.; BLAKE, P.A.; COHEN, M.L. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.* 308: 681-5. 1982.
57. SACK, R.B. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Identification and characterization. *J. Infect. Dis.* 142: 279-86. 1980.
58. SCALETISKY, I.C.A.; SILVA, M.L.M.; TRABULSI, L.R. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to Hela cells. *Infect. Immun.* 45: 534-36. 1984.
59. SCALETISKY, I.A.C.; MILANI, S.R.; TRABULSI, L.R. and TRAVASSOS, L.R. Isolation and characterization of localized adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Infect. Immun.* 56: 2979-2983. 1988.
60. SHOMOLL, T.; OTT, M.; OUDEGA, B.; HACKER, J. Use of a wildtype gene fusion to determine the influence of environmental conditions on expression of the S fimbrial adhesin in an *Escherichia coli* pathogen. *J. Bacteriol.* 172: 5103-11. 1990.
61. SCHRYVERS, A.; GONZALEZ, G.C. Receptors for transferrin in pathogenic bacteria are specific for the host's protein. *Can. J. Microbiol.* 36: 145-47. 1990.
62. SEGAL, A.W.; GEISOW, M.; GARCIA, R.; HARPER, A.; MILLER, R. The respiratory burst of phagocytic cells is associated with a rise vacuolar pH. *Nature.* 290: 406-9. 1981.
63. SILVA, M.L.M.; MORTARA, R.A.; BARROS, H.C.; De SOUZA, W.; TRABULSI, L.R. Aggregation of membrane-associated actin filaments following localized adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to Hela cells. *J. of Cell Science.* 93: 439-46. 1989.
64. SOJKA, W.J. *Escherichia coli* in domesticated animals and poultry. Eastern Press. Ltda. London. 1965.
65. SARFF, L.D.; McCracken, G.H. Jr.; SCHIFFER, M.S.; GLODE, M. D.; ROBBINS, J.B.; ORSKOV, I.; ORSKOV F. Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased new borns. *Lancet.* 1099-1104. 1975.
66. SMITH, H.W.; HOGGINS, M.B. The association of the O18, K1 and H7 antigens and the Col V plasmid of a strain of *E. coli* with its virulence and immunogenicity. *J. Genet. Microbiol.* 121: 387-400. 1980.
67. SMITH, H.R.; SEOTHAND, S.M.; ROWE, B. Genetics of *E. coli* virulence 227-69. In: The virulence of *E. coli*. Reviews and Methods. M. Seissman. 1985. Society for General Microbiology.
68. TAYLOR, P.W. Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against gram-negative bacteria. *Microbiol. Rev.* 46: 46-83. 1983.
69. THOMAS, E.L. LEHRER, R.I.; REST, R.F. Human neutrophil antimicrobial activity. *Infect. Dis.* 10: 5450-5456. 1988.
70. TIZIOPORI, S.; WACHSMUTH, I.K.; CHAPMAN, C.; BIRNER, R.; BRITTINGHAM, J.; JACKSON, C.; HOGG, J. The pathogenesis of hemorrhagic colitis caused by *E. coli* O157:H7 in gnotobiotic piglets. *J. Infect. Dis.* 154: 712-6. 1986.
71. VALVANO, M.V.; CROSA, J.H. Molecular cloning and expression in *Escherichia coli* K12 of chromosomal genes determining invasive strain of *Escherichia coli* O7: K1. *Infect. Immun.* 57: 937-943. 1989.
72. WILLIAMS, P.H. Novel iron uptake system specified by Col V plasmids: an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 26: 925-932. 1979.
73. WHITTAM, J.S.; WILSON, R.A. Genetic relationships among pathogenic strains of avian *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 56: 2458-2466. 1988.