



ORIGINAL

Caracterización molecular de *Escherichia coli* diarreogénica proveniente de población pediátrica ambulatoria con diarrea, atendida en dos hospitales de Buenos Aires, Argentina

Nora Beatriz Molina^{a,*}, Sebastián Oderiz^b, Marisa Ana López^a, Juan Ángel Basualdo^a y Mónica Delfina Sparo^a

^a Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos, Comisión de Investigaciones Científicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

^b Sala de Microbiología, Hospital Interzonal de Niños Sor María Ludovica, La Plata, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 27 de diciembre de 2022; aceptado el 8 de junio de 2023

Disponible en Internet el 25 julio 2023

PALABRAS CLAVE

Escherichia coli;
EAEC;
STEC;
ETEC;
EPEC;
EIEC

Resumen *Escherichia coli* diarreogénica abarca un grupo heterogéneo de patotipos o variantes patogénicas que comparten características fenotípicas con marcadas diferencias en genes de virulencia, sitios de colonización, patogenia, presentación clínica y epidemiología de la infección. Los patotipos más estudiados son *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* enteroinvasiva (EIEC). El objetivo del estudio fue caracterizar los aislamientos de *E. coli* diarreogénica provenientes de población pediátrica ambulatoria con diarrea, atendida en dos hospitales públicos de Buenos Aires, Argentina. Los patotipos de *E. coli* diarreogénica se investigaron mediante la amplificación de fragmentos de genes de virulencia característicos: intimina (*eae*), toxina termolábil (*lt*), toxinas termoestables (*stx1*, *stx2*), antígeno plasmídico de invasión H (*ipaH*), activador transcripcional R (*aggR*) y toxinas Shiga (*stx1*, *stx2*). La subtipificación molecular de aislamientos se realizó mediante PFGE (XbaI). *E. coli* diarreogénica fue detectada en el 14% (84/601) de los casos. El patotipo EAEC fue prevalente, mientras que ETEC, STEC, EPEC y EIEC fueron hallados en menor proporción. Los aislamientos de EAEC presentaron un alto grado de diversidad genética. Todos los patotipos fueron hallados en niños menores de 5 años, mientras que solamente EAEC, EIEC y ETEC fueron detectados en población de mayor edad. Futuros estudios que incluyan la caracterización de aislamientos a partir de un mayor número de genes y población de otras áreas geográficas serán necesarios para determinar la relevancia de *E. coli* diarreogénica en Argentina.

© 2023 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: nbmolina@med.unlp.edu.ar (N.B. Molina).

KEYWORDS

Escherichia coli;
EAEC;
STEC;
ETEC;
EPEC;
EIEC

Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from an outpatient pediatric population with diarrhea attended in two hospitals from Buenos Aires, Argentina

Abstract Diarrheagenic *Escherichia coli* comprises a heterogeneous group of pathotypes or pathogenic variants that share phenotypic characteristics with marked differences in virulence genes, colonization sites, pathogenesis, clinical presentation, and epidemiology of infection. The most studied pathotypes are Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), and enteroinvasive *E. coli* (EIEC). The objective of the study was to characterize the isolates of diarrheagenic *E. coli* from an outpatient pediatric population with diarrhea attended in two public hospitals from Buenos Aires, Argentina. Diarrheagenic *E. coli* pathotypes were investigated by amplifying characteristic virulence gene fragments: intimin (*eae*), heat-labile toxin (*lt*), heat-stable toxins (*stx1*, *stx2*), invasion plasmid antigen H (*ipaH*), transcriptional activator R (*aggR*) and Shiga toxins (*stx1*, *stx2*). Molecular subtyping of isolates was performed using PFGE (XbaI). Diarrheagenic *E. coli* was detected in 14% (84/601) of cases. The EAEC pathotype was prevalent, while ETEC, STEC, EPEC and EIEC were found in a lower proportion. EAEC isolates exhibited a high degree of genetic diversity. All pathotypes were found in children under 5 years of age, while only EAEC, EIEC and ETEC were detected in the older population. Future studies that include the characterization of isolates from a greater number of genes and populations from other geographical areas will be necessary to determine the relevance of diarrheagenic *E. coli* in Argentina.

© 2023 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Escherichia coli es una bacteria gram negativa que forma parte de la microbiota del tracto digestivo del humano y de animales de sangre caliente. Los patotipos o variantes patogénicas más estudiados incluyen *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* enteroinvasiva (EIEC).

Los patotipos de *E. coli* asociados al tracto intestinal presentan marcadas diferencias en la fisiopatogenia, los factores de virulencia y la epidemiología de la infección. La adherencia es un paso crucial para la patogenia bacteriana. En EPEC, la unión íntima a los enterocitos produce una lesión característica denominada A/E (del inglés *attaching and effacing*) que conduce a la disminución de la superficie absorptiva intestinal asociada al cuadro diarreico. La patogenia de ETEC comienza con la adherencia a los enterocitos mediante sus factores de colonización seguido de la producción de enterotoxinas (termolábil y/o termoestable) que conducen a una diarrea secretoria. El patotipo EAEC presenta una gran diversidad de factores de virulencia. Esta variante patogénica suele formar microcolonias que subsisten en el intestino por largos períodos dando cuadros de diarrea aguda y persistente. Por el contrario, el principal factor de virulencia de STEC es la toxina Shiga, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis proteica celular. Dicha toxina interviene en la destrucción de la mucosa colónica dando cuadros de diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Por último, EIEC presenta un mecanismo de patogenia asociado a la invasión intestinal. La bacteria ingresa por las células M

de la mucosa colónica, luego invade a los enterocitos, se multiplica en el citoplasma y produce cuadros de diarrea disintérica^{3,5,8,14,16,17}. En las últimas décadas se han incorporado nuevos patotipos, como *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* adherente invasiva (AIEC). Sin embargo, el alcance epidemiológico de estas variantes patogénicas no está completamente esclarecido^{8,24}.

La frecuencia de infección con *E. coli* diarreogénica (DEC) en la población con diarrea ha presentado amplias variaciones. En países de Latinoamérica como Chile, México, Bolivia y Brasil reportaron una frecuencia de infección entre el 10% y el 25%, mientras que Uruguay, Perú, Venezuela y Paraguay informaron valores más elevados^{5,6,11,12,19,22,33,35}.

En Argentina, la mayoría de los estudios han sido realizados en STEC, un patógeno de gran relevancia clínica y epidemiológica para la salud pública. Sin embargo, los otros patotipos DEC no se investigan de manera sistemática en los pacientes pediátricos con diarrea. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue caracterizar los aislamientos de *E. coli* diarreogénica provenientes de población pediátrica ambulatoria con diarrea, atendida en dos hospitales públicos de Buenos Aires, Argentina.

Materiales y métodos

El diseño del estudio fue observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal. La población accesible estuvo constituida por pacientes menores de 15 años que se atendieron por un cuadro gastrointestinal en el Hospital de Niños Debilio Blanco Villegas de Tandil y en el Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. La selección se realizó aplicando un

procedimiento de colección por casos consecutivos durante 2017 y 2018. La población con antecedentes de enfermedad intestinal inflamatoria, inmunosuprimidos, con enfermedades oncohematológicas o con diarrea crónica fueron excluidos del estudio. El protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata. Los investigadores condujeron el estudio de acuerdo con las normas de buenas prácticas clínicas, la declaración de Helsinki con todas sus enmiendas y de conformidad con la normativa vigente aplicable. La confidencialidad de la investigación fue observada mediante la asignación de un código alfanumérico interno que permitió la disociación permanente de la información personal de los pacientes.

Los patotipos de *E. coli* diarreogénica (DEC) se investigaron mediante la amplificación de genes de virulencia característicos con dos PCR múltiples²⁰. La mPCR1 amplificó los codificantes de intimina (*eae*), la toxina termolábil LT (*lt*), las toxinas termoestables STP (*stp*) y STH (*sth*) y 16S. La mPCR2 amplificó los codificantes de antígeno plasmídico de invasión H (*ipaH*), el activador transcripcional R (*aggR*), las toxinas Shiga 1 (*stx1*) y Shiga 2 (*stx2*) y 16S^{7,20}. La detección molecular fue realizada aplicando una estrategia diagnóstica en etapas. La primera etapa consistió en la realización de las dos PCR múltiples con ADN proveniente del cultivo confluyente. En caso de que se hubiera observado amplificación de algún gen, la segunda etapa consistió en la identificación de la colonia positiva (con genes de virulencia). Para tal efecto, el ADN de 10 a 20 colonias aisladas se utilizó como molde para las PCR individuales. La colonia que presentó amplificación fue identificada por métodos fenotípicos (VITEK®2, bioMérieux) para confirmar la especie bacteriana²⁰. Los patotipos fueron identificados según los genes de virulencia hallados: EPEC (presencia de *eae*, ausencia de *stx1* y *stx2*), ETEC (presencia de *lt*, *stp* y/o *sth*), EIEC (presencia de *ipaH*), STEC (presencia de *stx1* y/o *stx2*, presencia o ausencia de *eae*) y EAEC (presencia de *aggR*)²⁰.

La recolección de las heces, el cultivo, la extracción de ADN y la amplificación molecular se llevaron a cabo según metodología previamente descrita²⁰. Brevemente, la materia fecal fue sembrada en agar MacConkey e incubada a 37 °C por 24 h. Las colonias características se resuspendieron en buffer TE con Tritón X-100, se lisaron a 100 °C y se centrifugaron a 10.000 rpm²⁰. El ADN se conservó a -20 °C. Las concentraciones en la mezcla de reacción fueron: buffer 1 X y dNTP, 0,1 mM; Taq pol, 0,03 U/μl y ADN, 1-5 μl. La concentración de MgCl₂ fue 1,5 mM para mPCR1 y 0,75 mM en la mPCR2. Las concentraciones de *primers* fueron 0,2 pmol/μl (SK1, SK2, STh-f, STh-r, STp-f y STp-r); 0,25 pmol/μl (LT-R, LT-F, IpaH8 e IpaH15); 1 pmol/μl (*aggR*ks1 y *aggR*ks2); 1,6 pmol/μl (*stx1*-F y *stx1*-R); 0,4 pmol/μl (*stx2*-F y *stx2*-R) y 0,125 pmol/μl (16S-f y 16S-r)²⁰ (Anexo, tabla S1). El protocolo de ciclado de mPCR1 consistió en 94 °C 5 min, 30 ciclos de 94 °C 30 s, 56 °C 1 min y 72 °C 1 min. El protocolo de mPCR2 fue 94 °C 5 min, 30 ciclos de 94 °C 30 s, 57 °C 1 min y 72 °C 30 s. La extensión final para ambos protocolos fue 72 °C 2 min²⁰. En cada amplificación se utilizaron cepas control: *E. coli* 2348/69 (*eae*), *E. coli* KNH-172 (*lt*, *stp*), *E. coli* O126-53 (*sth*), *E. coli* C-481 (*ipaH*), *E. coli* 17-2 (*aggR*), *E. coli* EDL 933 (*stx1*, *stx2*) y *E. coli* ATCC 25922. Los productos de amplificación fueron detectados en geles de agarosa y los

Tabla 1 Distribución de patotipos de *Escherichia coli* diarreogénica en pacientes con diarrea provenientes de La Plata y Tandil entre 2017 y 2018

Patotipo	n	%
EAEC (<i>E. coli</i> enteroagregativa)	52	61,9
ETEC (<i>E. coli</i> enterotoxigénica)	14	16,8
STEC (<i>E. coli</i> productora de toxina Shiga)	8	9,5
EPEC (<i>E. coli</i> enteropatogénica)	5	5,9
EIEC (<i>E. coli</i> enteroinvasiva)	5	5,9
TOTAL	84	100

perfiles de bandas fueron documentados con UVP Doc-It® LS, LifeScience Software.

La subtipificación molecular de aislamientos se realizó mediante PFGE según metodología descrita²³. Brevemente, el ADN contenido en bloques de agarosa fue digerido con 30 U de la enzima de restricción XbaI (Thermo Scientific) a 37 °C por 3 h. Los perfiles moleculares obtenidos por XbaI-PFGE fueron documentados utilizando el sistema de adquisición de imágenes MaestroGen slider® imager (Maestrogen Inc., Nevada, EE.UU.). Las imágenes en formato TIFF fueron analizadas con el software BioNumerics versión 6.6 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica). La relación entre los perfiles fue estimada mediante la proporción de bandas compartidas aplicando el coeficiente de similitud de Dice y generando dendrogramas basados en el método *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA). Las cepas fueron agrupadas en clústeres cuando mostraron idéntico patrón XbaI-PFGE (100% de similitud).

Resultados

El grupo de estudio incluyó 601 pacientes con diarrea. La población menor de 5 años representó el 76% de los casos. *E. coli* diarreogénica fue detectada en el 14% (84/601) (tabla 1). Las frecuencias de infección con EAEC, ETEC, STEC, EPEC y EIEC fueron del 8,7%, del 2,3%, del 1,3%, del 0,8% y del 0,8%, respectivamente. El patotipo hallado con mayor frecuencia fue EAEC. Las relaciones genéticas entre aislamientos de EAEC se muestran en la figura 1. Los genes de las toxinas halladas fueron *stx2*, *lt*, *stp* y *sth*. Todos los aislamientos STEC presentaron los genes *eae* y *stx2* (100%, 8/8). En ETEC, el gen *lt* fue prevalente (85,7%, 12/14). La distribución de genes fue *lt* (9/14), *lt* + *stp* (3/14), *stp* (1/14) y *sth* (1/14) (figs. 2 y 3). Todos los patotipos fueron hallados en pacientes menores de 5 años, mientras que solamente EAEC, EIEC y ETEC fueron detectados en pacientes de mayor edad (fig. 4).

Discusión

Los resultados de este estudio han permitido caracterizar los aislamientos de *E. coli* diarreogénica provenientes de población pediátrica ambulatoria con diarrea, atendida en dos hospitales públicos de Buenos Aires, Argentina.

La frecuencia de infección entérica por DEC fue del 14%. Este valor está en concordancia con un estudio previo de nuestro grupo²⁰. Resultados similares también han

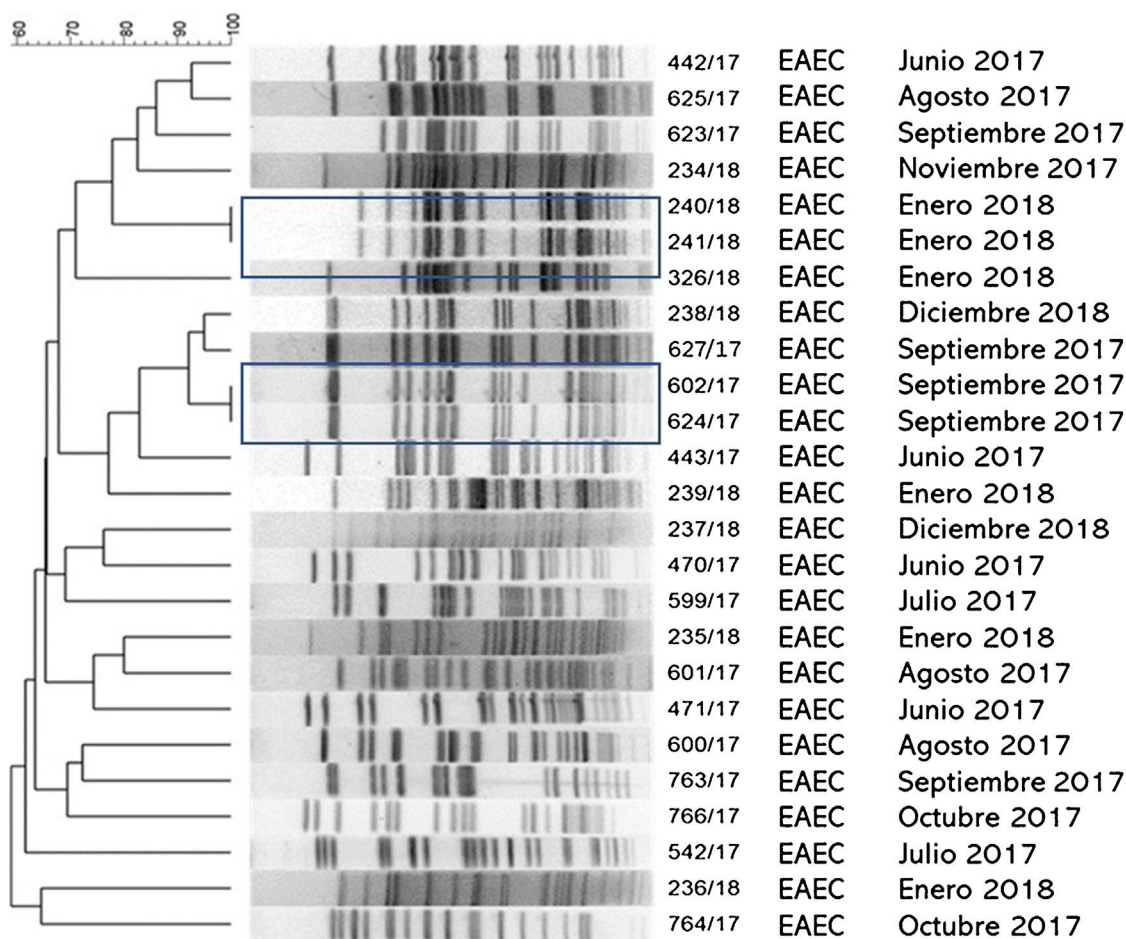


Figura 1 Relación clonal de aislamientos EAEC recuperados de heces de pacientes con diarrea durante 2017-2018 en dos ciudades de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Dice (Opt: 1,50%) (Tol 1,5%-1,5%) (H > 0,0% S > 0,0%) [0,0%-100,0%] PFGE-Xbal.

sido reportados en Chile, Perú, Venezuela, Costa Rica y Paraguay^{13,25,29,35,36}. Por el contrario, otros estudios realizados en Argentina, Brasil, Bolivia y México señalaron frecuencias de infección por DEC mayores a las reportadas en este estudio^{4,6,10,12,18}. La disparidad en los valores reportados en los estudios podría deberse a diferencias en el grupo etario investigado, en el diseño del estudio, en las características sociodemográficas de los participantes, en el sesgo en la selección de las muestras fecales o en los genes de virulencia amplificados^{20,23}.

El principal factor de virulencia de STEC son las toxinas Shiga. En este estudio, la frecuencia de infección fue del 1,3% y todos los aislamientos presentaron el gen de la toxina STX2. Dicho predominio está en concordancia con lo reportado en otros estudios realizados en el país^{17,23,39}. Frecuencias similares fueron reportadas en niños con diarrea de otros países, como Bangladesh, México, Perú, Kenia, Tailandia y Arabia Saudita^{6,15,16,22,30,31}. Por el contrario, un estudio retrospectivo realizado en Argentina por Oderiz et al.²³ reportó una frecuencia de infección con STEC del 4,8%. Sin embargo, dichos autores solamente estudiaron las heces de niños con cuadros de diarrea sanguinolenta. Estas diferencias en las tasas de infección con STEC pueden deberse a diversos factores, entre los que se encuentran el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la recolección

de la muestra fecal, la metodología de detección bacteriana, el uso de terapia antimicrobiana antes del diagnóstico etiológico certero, y otros^{17,20,23}.

Los aislamientos ETEC mostraron un predominio del gen de la toxina termolábil. Este resultado está en concordancia con otros estudios de Argentina^{3,18,20,27}. La prevalencia de LT es coincidente con lo reportado en otros estudios. Por ejemplo, Isidean et al.¹⁴ señalaron el predominio de dicha toxina en más de 17.000 cepas estudiadas. Asimismo, los aislamientos ETEC con toxina LT fueron prevalentes en estudios realizados en México y en Perú. Por el contrario, las cepas productoras de ST fueron predominantes en Bangladesh, Egipto, Colombia, España y Tanzania^{21,26,34,37}.

En este estudio, el patotipo EAEC fue prevalente, mientras que los otros patotipos fueron hallados en una menor proporción. El predominio de EAEC está en concordancia con estudios realizados en Argentina, Bolivia, Brasil e India^{10,12,18,20,27,28}. El patotipo EAEC ha sido reconocido como un patógeno emergente, tanto por su reciente descripción como por su relevancia en cuadros gastrointestinales agudos y persistentes. La prevalencia de EAEC podría deberse a sus características patogénicas, ya que dicha bacteria es capaz de adherirse a la pared intestinal, favorecer la producción de moco, liberar enterotoxinas, estimular la respuesta infla-

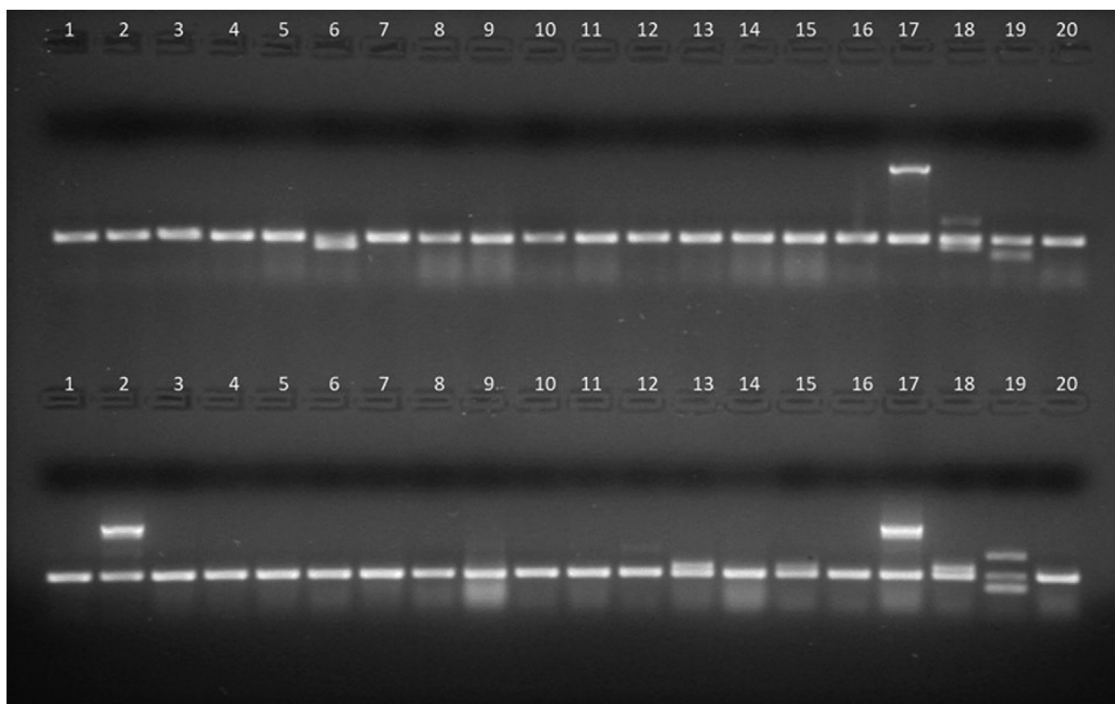


Figura 2 Productos de amplificación en gel de agarosa de aislamientos de *E. coli* intestinal (líneas 1 a 16) y cepas control (líneas 17 a 20). Arriba, PCR1. línea 6: gen *stp*, líneas 1 a 5 y 7 a 16: sin factores de virulencia, línea 17: gen *eae* (*E. coli* 2348/69), línea 18: genes *lt* y *stp* (*E. coli* KNH-172), línea 19: gen *sth* (*E. coli* O126-53), línea 20: gen *16S* (*E. coli* ATCC 25922, control de amplificación). Abajo, PCR2. Línea 2: gen *ipaH*; líneas 13 y 15: gen *aggR*; líneas 1, 3 a 12, 14 y 16: sin factores de virulencia; línea 17: gen *ipaH* (*E. coli* C-481); línea 18: gen *aggR* (*E. coli* 17-2); línea 19: genes *stx1* y *stx2* (*E. coli* EDL933); línea 20: gen *16S* (*E. coli* ATCC 25922, control de amplificación).

matoria intestinal, evadir el sistema inmune y persistir en el intestino.

En este trabajo se evaluó la diversidad genética de los aislamientos de EAEC mediante el método de electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE). Mediante dicha técnica se hallaron 23 patrones de bandas diferentes de EAEC, lo que demostró la circulación regional de aislamientos con un alto grado de diversidad genética. El PFGE permitió detectar dos pares de aislamientos con el 100% de similitud. Ambos pares de EAEC fueron recuperados dentro del mismo mes del año (enero de 2018 y septiembre de 2017); sin embargo, no se pudo establecer el nexo epidemiológico entre los portadores de dichos aislamientos debido a la ausencia de información personal, clínica o geográfica de los pacientes. Todos los patotipos fueron hallados en pacientes menores de 5 años, mientras que solamente EAEC, EIEC y ETEC fueron detectados en población de mayor edad. Diversos autores han postulado que la menor frecuencia de infección a mayor edad podría estar relacionada con la maduración de la respuesta inmune, con la persistencia intestinal o con cierta protección inmune generada por las reinfecciones en la infancia^{1,2,9,21,28,32,37,38}.

Esta investigación demostró la presencia de cinco patotipos diferentes de *E. coli* diarreogénica en los pacientes pediátricos con diarrea. La caracterización molecular de los aislamientos reveló que EAEC fue el patotipo prevalente y que presentó un alto grado de diversidad genética en la población estudiada. En relación con los genes de las toxinas de *E. coli* diarreogénica, se observó un marcado

predominio de la toxina termolábil en los aislamientos ETEC y la preponderancia absoluta de la STX2 en los aislamientos STEC. La detección de las toxinas Shiga forma parte del protocolo para el diagnóstico etiológico de síndrome urémico hemolítico, mientras que la detección de los genes de las toxinas contribuye a la vigilancia epidemiológica. Teniendo en cuenta el enfoque de Una Salud, los estudios moleculares podrían aportar información sobre los subtipos de toxinas Shiga circulantes en humanos, en animales y en el ambiente. Los resultados de este estudio constituyen un aporte relevante para la medicina pediátrica, ya que aporta información inédita sobre la infección con *E. coli* diarreogénica en la población atendida en dos hospitales públicos de la provincia de Buenos Aires. Sin embargo, en este estudio solamente se realizó la subtipificación molecular de EAEC debido a la baja frecuencia de infección de los otros patotipos. Además, este trabajo fue realizado en la población de áreas urbanas y podría no representar exactamente las características genotípicas de *E. coli* diarreogénica en otras regiones del país.

En conclusión, *E. coli* diarreogénica fue detectada en el 14% de los casos. El patotipo EAEC fue prevalente, mientras que ETEC, STEC, EPEC y EIEC fueron hallados en menor proporción. Los aislamientos de EAEC presentaron un alto grado de diversidad genética. Todos los patotipos fueron hallados en niños menores de 5 años, mientras que, solamente EAEC, EIEC y ETEC fueron detectados en población de mayor edad. En las últimas décadas se han hecho grandes avances en el diagnóstico de los agentes productores de diarrea. Sin embargo, la investigación de los patotipos

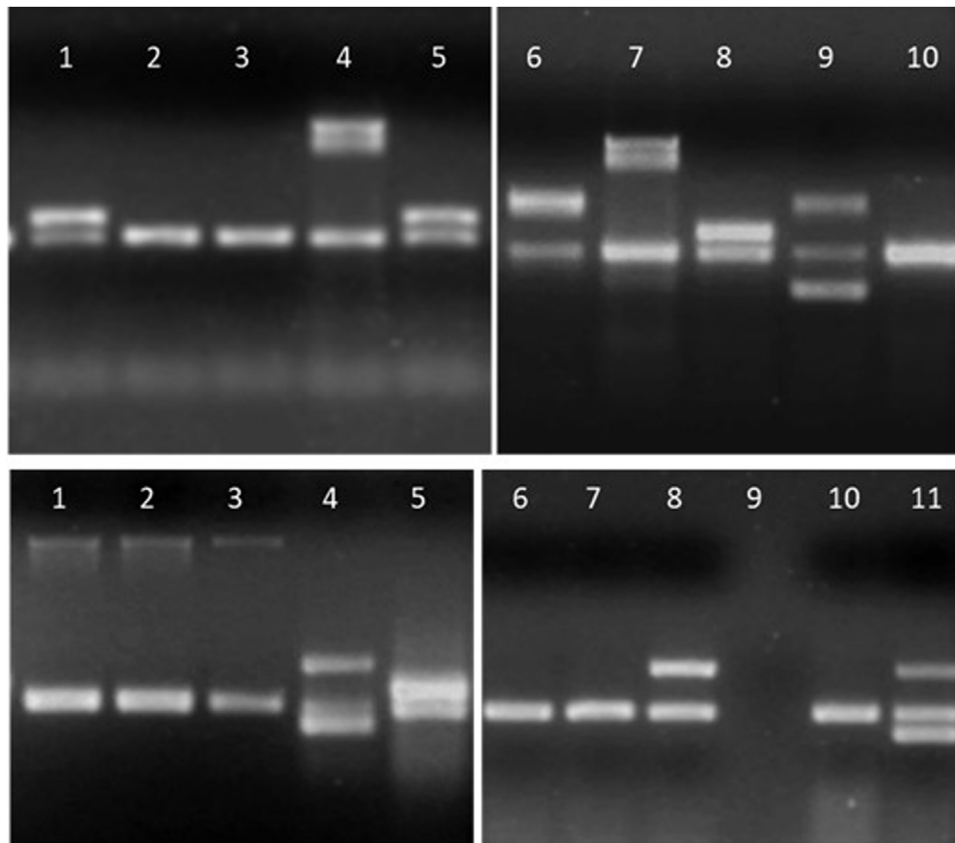


Figura 3 Detalle de los productos de amplificación en gel de agarosa de aislamientos de *E. coli*. Arriba, línea 1, 5 y 8: gen *aggR*; líneas 4 y 7: gen *ipaH*; línea 6: gen *stx2*; línea 9: genes *stx1* y *stx2*; líneas 2, 3 y 10: sin factores de virulencia. Abajo, líneas 1 a 3: gen *eae*; líneas 4 y 11: genes *lt* y *stp*; línea 5: gen *aggR*; línea 8: gen *lt*; línea 9: sin muestra; líneas 6, 7 y 10: sin factores de virulencia.

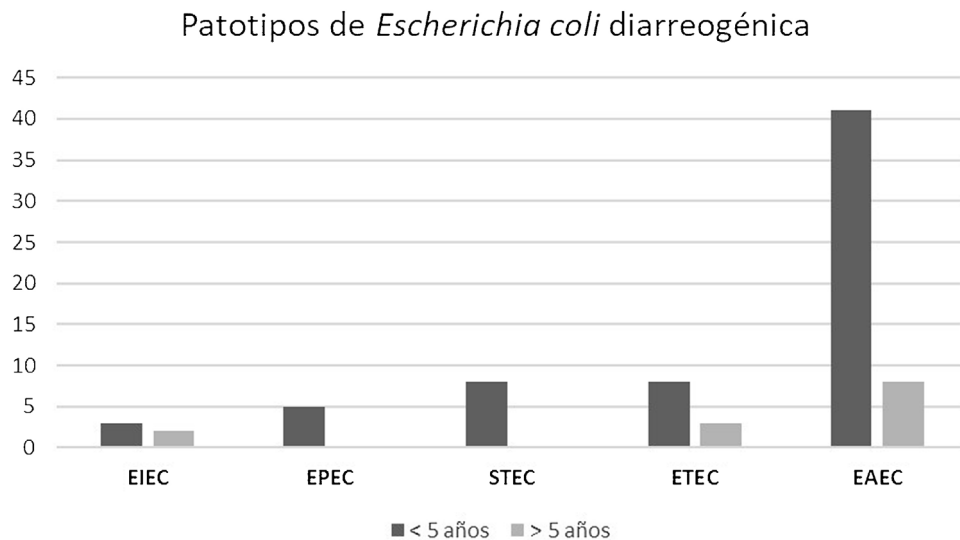


Figura 4 Distribución de patotipos de *Escherichia coli* diarreogénica según la edad de los pacientes. EAEC (*E. coli* enteroagregativa), ETEC (*E. coli* enterotoxigénica), STEC (*E. coli* productora de toxina Shiga), EPEC (*E. coli* enteropatógena) y EIEC (*E. coli* enteroinvasiva) provenientes de La Plata y Tandil, entre 2017 y 2018.

diarreogénicos de *E. coli* por métodos moleculares no se realiza en forma rutinaria en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico clínico. Futuros estudios que incluyan la caracterización de aislamientos a partir de un mayor número de genes y población de otras áreas geográficas serán necesarios para determinar la relevancia de *E. coli* diarreogénica en Argentina.

Financiación

El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por un subsidio a la investigación clínica de la Fundación Alberto J. Roemmers.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.ram.2023.06.002](https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.06.002).

Bibliografía

- Afset JE, Bergh K, Bevanger L. High prevalence of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Norwegian children with diarrhoea. *J Med Microbiol*. 2003;52:1015–9.
- Anvikar AR, Dolla C, Dutta S, Rao VG, Gadge VS, Shukla GP, Rao S, Karforma C. Role of *Escherichia coli* in acute diarrhoea in tribal preschool children of central India. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2008;22:40–6.
- Binshtein N, Jouve M, Viboud G, Lopez Moral L, Rivas M, Orskov I, Ahren C, Svennerholm A. Colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from children with diarrhea in Argentina. *J Clin Microbiol*. 1991;29:1893–8.
- Bueris V, Palma Sircili M, Romano Taddei C, Fernandes dos Santos M, Franzolin MR, Baquerizo Martinez M, Ramos Ferrer S, Lima Barreto M, Rachid Trabulsi L. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* from children with and without diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:839–44.
- Canata MG, Navarro R, Velázquez G, Rivelli S, Rodríguez F, Céspedes A, Espinola C, Canese J, Guillén R. Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en 2012. *Pediatría (Asunción)*. 2016;43:13–7.
- Canizalez-Roman A, Flores-Villaseñor HM, Gonzalez-Núñez E, Velazquez-Roman J, Vidal JE, Muro-Amador S, Alapizco-Castro G, Díaz-Quinonez JA, León-Sicaños N. Surveillance of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrhea cases from children, adults and elderly at Northwest of Mexico. *Front Microbiol*. 2016;7:1924–35.
- Carbonari CC, Deza N, Flores M, Gasparini A, Manfredi E, Rivas M. First isolation of enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 from a diarrhea case in Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2014;46:302–6.
- Croxen M, Law R, Scholz R, Keeney K, Wlodarska M, Finlay B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:822–80.
- Dutta S, Guin S, Ghosh S, Pazhani G, Rajendran K, Bhattacharya M, Takeda Y, Nair G, Ramamurthy T. Trends in the prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* among hospitalized diarrheal patients in Kolkata, India. *PLoS One*. 2013;8:e56068.
- Esquivel P, Lifschitz V, Losch L, Medina M, Pato A, Cacciamani A, Merino L. Caracterización molecular de aislamientos de *Escherichia coli* productores de diarrea en niños y adultos de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Rev Panam Infectol*. 2010;12:17–21.
- Franzolin MR, Barbosa Alves RC, Keller R, Tardelli Gomes TA, Beutin L, Lima Barreto M, Milroy C, Strina A, Ribeiro H, Trabulsi LR. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100:359–63.
- Gonzales L, Joffre E, Rivera R, Sjoling A, Svennerholm AM, Iniguez V. Prevalence, seasonality and severity of disease caused by pathogenic *Escherichia coli* in children with diarrhoea in Bolivia. *J Med Microbiol*. 2013;62:1697–706.
- Hannaoui E, Villalobos L, Martínez R, Maldonado A, Hagel I, Bastardo J. *Escherichia coli* diarreogénica asociada a casos de diarrea aguda en niños de Cumaná, Venezuela. *Invest Clín*. 2010;51:489–500.
- Isidean S, Riddle M, Savarino S, Porter C. A systematic review of ETEC epidemiology focusing on colonization factor and toxin expression. *Vaccine*. 2011;29:6167–78.
- Islam MA, Heuvelink A, de Boer E, Sturm P, Beumer R, Zwietering M, Faruque AS, Haque R, Sack D, Talukder K. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhoea in Bangladesh. *J Med Microbiol*. 2007;56:380–5.
- Leelaporn A, Phengmak M, Eampoklap B, Manatsathit S, Tritanunt S, Siritantikorn S, Nagayama K, Iida T, Niyasoma C, Komolpit P. Shiga toxin- and enterotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from subjects with bloody and nonbloody diarrhea in Bangkok, Thailand. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;46:173–80.
- Leotta GA, Miliwebsky E, Chinen I, Espinosa EM, Azzopardi K, Tennant S, Robins-Browne R, Rivas M. Characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from humans in Argentina, Australia and New Zealand. *BMC Microbiol*. 2008;8:46–54.
- Medina MG, Esquivel P, Lifschitz V, Medina M, Lösck L, Merino LA. Detección de *Escherichia coli* diarreogénicos en niños de barrios humildes de Corrientes, Argentina. *Rev Cubana Med Trop*. 2010;62:42–7.
- Michelli E, Millán A, Rodolfo H, Michelli M, Luiggi J, Carreño N, de Donato M. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela. *Biomédica*. 2016;36:118–27.
- Molina NB, Oderiz S, Vescina C, Córdoba A, Basualdo J, Sparo M. Primer reporte de *Escherichia coli* diarreogénica en población pediátrica ambulatoria con diarrea atendida en la ciudad de La Plata, Argentina. *Rev Arg Microbiol*. 2022;54:15–21.
- Moyo SJ, Maselle SY, Matee MI, Langeland N, Mylvaganam H. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infect Dis*. 2007;7:92–101.
- Ochoa TJ, Barletta F, Contreras C, Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102:852–6.
- Oderiz S, Leotta GA, Galli L. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children treated at an inter-zonal pediatric hospital in the city of La Plata. *Rev Argent Microbiol*. 2018;50:341–50.
- Odetyin B, Ogundipe O, Onanuga A. Prevalence, diversity of diarrhoeagenic *Escherichia coli* and associated risk factors in well water in Ile-Ife, Southwestern Nigeria. *One Health Outlook*. 2022;4:3–18.
- Pérez-Corrales C, Leandro-Sandí K. Diarrheagenic *Escherichia coli* in Costa Rican children: A 9-year retrospective study. *BMC Res Notes*. 2019;12:297–303.

26. Qadri F, Svennerholm A, Faruque A, Sack R. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: Epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:465–83.
27. Quiroga M, Oviedo P, Chinen I, Pegels E, Husulak E, Binztein N, Rivas M, Schiavoni L, Vergara M. Asymptomatic infections by diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Misiones, Argentina, during the first twenty months of their lives. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2000;42:9–15.
28. Rajendran P, Ajjampur S, Chidambaram D, Chandrabose G, Thangaraj B, Sarkar R, Samuel P, Rajan D, Kang G. Pathotypes of diarrheagenic *Escherichia coli* in children attending a tertiary care hospital in South India. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;68:117–22.
29. Salazar-Lindo E, Miranda-Langschwager P, Campos-Sanchez M, Chea-Woo E, Sack RB. *Lactobacillus casei* strain GG in the treatment of infants with acute watery diarrhea: A randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial [ISRCTN67363048]. *BMC Pediatrics.* 2004;4:18–27.
30. Sang WK, Boga H, Waiyaki P, Schnabel D, Wamae NC, Kariuki S. Prevalence and genetic characteristics of Shigatoxigenic *Escherichia coli* from patients with diarrhoea in Maasailand, Kenya. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6:102–8.
31. Sharaf EF, Shabana II. Prevalence and molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from human and sheep in Al-Madinah Al-Munawarah. *Infectio.* 2016;1:81–7.
32. Shrivastava A, Kumar S, Mohakud N, Suar M, Sahu P. Multiple etiologies of infectious diarrhea and concurrent infections in a pediatric outpatient-based screening study in Odisha, India. *Gut Pathog.* 2017;9:16–27.
33. Varela G, Jasinski C, Gadea P, Tanzi M, Mota M, Arenas C, Pardo L, González S, González G, Sirok A, Schelotto F. *Escherichia coli* enteropatógeno asociado a casos de diarrea en niños usuarios del Hospital Pereira Rossell. Aspectos clínicos y características de las cepas involucradas. *Rev Med Urug.* 2007;23:153–63.
34. Vargas M, Gascón J, Gallardo F, Jimenez M, Vila J. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains detected by PCR in patients with travelers' diarrhea. *Clin Microbiol Infect.* 1998;4:682–9.
35. Vidal M, Kruger E, Durán C, Lagos R, Levine M, Prado V, Toro C, Vidal R. Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheagenic *Escherichia coli* associated with enteric infections. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5362–5.
36. Weiler N, Orrego M, Alvarez M, Huber C. Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénica en pacientes pediátricos con síndrome diarreico agudo en Paraguay. *Mem Inst Investig Cienc Salud.* 2017;15:16–21.
37. Youssef M, Shurman A, Bougnoux M, Rawashdeh M, Bretagne S, Strockbine N. Bacterial, viral and parasitic enteric pathogens associated with acute diarrhea in hospitalized children from northern Jordan. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;28:257–63.
38. Zhou S, Wang L, Liu M, Zhang H, Lu Q, Shi L, Ren X, Wang Y, Lin S, Zhang C, Geng M, Zhang X, Zhu Y, Li Z, Fang L, Liu W, Yang W. Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among patients with acute diarrhea in China, 2009–2018. *J Infect.* 2021;83:424–32.
39. Zotta CM, Lavayén S, Deza N, Cepeda M, Zolezzi G, Morvay L, Chinen I, Rivas M. Infecciones por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga O121:H19 en pacientes atendidos en Mar del Plata. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2019;53:193–201.