



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação Farmácia-Bioquímica

CAROLLINA MAZZA ABRAMO OLIVEIRA

Enteropatógeno emergente: uma revisão sobre *Escherichia coli*
enteroagregativa

Araraquara, SP

2022

CAROLLINA MAZZA ABRAMO OLIVEIRA

**Enteropatógeno Emergente: uma revisão sobre *Escherichia coli*
enteroagregativa**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Farmacêutico(a) Bioquímico(a).

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Gallina Moreira

Coorientadora: Dr. Tamara R. Machado Ribeiro

Araraquara, SP

2022

O149e Oliveira, Carollina Mazza Abramo.
Enteropatógeno Emergente: uma revisão sobre *Escherichia coli*
enteroagregativa / Carollina Mazza Abramo Oliveira. – Araraquara: [S.n.],
2022.
56 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Cursos (Graduação – Farmácia Bioquímica) –
Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de
Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Cristiano Gallina Moreira.
Coorientadora: Tamara R. Machado Ribeiro.

1. Revisão bibliográfica. 2. EAEC. 3. *Escherichia coli* enteroagregativa.
4. Patogenicidade bacteriana. I. Moreira, Cristiano Gallina, orient. II. Ribeiro,
Tamara R. Machado, coorient. III. Título.

Dedicatória

À minha mãe, Nathalia que sempre me incentivou e me encorajou a superar todos os obstáculos, você é minha melhor amiga nesse mundo!

Ao meu pai, Jefferson, finalmente eu terminei de estudar papai.

Aos meus avós e padrinhos, Sônia e Fernando que acreditaram em mim e no meu potencial para ser uma farmacêutica.

Ao meu marido, Matheus, por aguentar todas as noites em claro e, em todas elas me oferecer conforto e aconchego.

Agradecimentos

Ao meu orientador prof. Dr. Cristiano Gallina Moreira, pela credibilidade e assistência durante minha trajetória acadêmica.

A minha coorientadora Dra. Tamara R. Machado Ribeiro, por acreditar no meu potencial, por me instruir e por toda paciência, muito obrigada pela nossa parceria.

Aos parceiros do laboratório PASIQUIBAC, por todas as conversas, sugestões e auxílio durante o período em que convivemos. Um agradecimento especial para Bruna Cardinali Lustri e Isabela Mancini Martins por me ajudarem com as Gallerias; para Luana Sales pela companhia durante a pandemia e para Fernanda Zani Manieri pelas risadas quando entrei para o time do laboratório.

As minhas amigas, Andressa F. Bonjorno e Ana Julia Sterzo Zabin, por dividirem comigo os cinco anos de graduação, com muita cumplicidade, risadas e ensinamentos.

Aos meus familiares pelo suporte, confiança e incentivo. E principalmente, para minha gata, Bilba Bolseira, por se esticar e deixar meus pés quentinhos enquanto eu escrevia esse trabalho.

“Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

Resumo

Escherichia coli enteroagregativa (EAEC) é um importante enteropatógeno bacteriano responsável por casos de diarreia aquosa aguda ou persistente em crianças e adultos, mundialmente. Até o momento, foram descritos inúmeros fatores de virulência para esse patótipo, tanto de origem plasmidial quanto cromossomal. Uma característica amplamente discutida sobre as cepas deste grupo é sua heterogenicidade genética. Contudo, o padrão de adesão agregativa (AA) em arranjo de “tijolos empilhados” e a formação de um espesso biofilme observados *in vitro* são características sempre presentes nessa categoria. Inúmeras adesinas, toxinas e proteínas associadas a virulência desta classe foram descritas, além de múltiplos fatores que contribuem para inflamação induzida pela presença de EAEC. O trabalho refere-se a uma revisão bibliográfica, com objetivo de apresentar dados acerca desta classe de patógenos emergentes e seus fatores de virulência descritos até o momento, além de trazer informações a respeito da sua identificação, diagnóstico e patogênese. Os artigos selecionados para confecção deste trabalho foram obtidos através do serviço PubMed pertencente a *National Library of Medicine* (NLM) e *Science Direct*, utilizando os termos EAEC, *pathogenesis*, *virulence factors*, durante o período compreendido entre 1985 e 2021.

Palavras-chave: Revisão bibliográfica; EAEC; *Escherichia coli* enteroagregativa, patogenicidade bacteriana.

Abstract

Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC) is an important bacterial enteropathogen responsible for cases of acute or persistent watery diarrhea in children and adults worldwide. Several virulence factors have been described for this pathotype, both of plasmidial and chromosomal origin. Like broadly discussed in the literature this pathogen displays genetic heterogeneity amongst these isolated strains. However, the aggregative adhesion (AA) pattern in a "stacked-brick" arrangement and the formation of a thick biofilm observed in vitro are features always present in this pathovar. Distinct adhesins, toxins, and virulence-associated proteins have been already described, and multiple factors contribute to inflammation induced by the presence of EAEC. This bibliography review brings as the main objective to discuss currently published data about this class of emerging pathogens and their virulence factors described; as well as basic information about their identification, diagnosis, and pathogenesis. The articles selected for this study were obtained through the PubMed service belonging to the National Library of Medicine (NLM) and Science Direct, using the terms EAEC, pathogenesis, virulence factors, during the period from 1985 to 2021.

Keywords: Bibliography review; EAEC; Enteroaggregative Escherichia coli, bacterial pathogenesis.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Patogênese das cepas de E.coli diarreiogênicas.....	15
Figura 2: Interação entre cepas de E. coli enteropatogênica (EPEC) e os enterócitos.....	17
Figura 3: Padrão Adesão Agregativa (AA) em cultura celular.	20
Figura 4: Interação entre E. coli enteroagregativa (EAEC) com célula epitelial do intestino.	20
Figura 5: Desenvolvimento da Patogênese de EAEC.....	31
Figura 6: Formação de biofilme.....	36

Lista de Abreviaturas e Siglas

A/E - *Attaching and Effacing*

AA - Padrão de Aderência Agregativa

AAF - Fímbria de Aderência Agregativa

AggR - Ativador Transcricional de EAEC

cGMP - *cyclic Guanosine Monophosphate*

DAEC - *Escherichia coli* difusamente aderente

EAEC - *Escherichia coli* enteroagregativa

EAST1 - *Enteragregative heat-stable toxin 1*

EHEC - *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC - *Escherichia coli* enteroinvasora

EPEC - *Escherichia coli* enteropatogênica

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

Irp-2 - *Iron-repressible high-molecular weight 2*

LEE - *Locus of Enterocyte Effacement*

LPS - Lipopolissacarídeo

LT - *Heat-labile*

MAP - *Membrane Associated Protein*

pAA - Plasmídeo de Aderência Agregativa

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

Pet - *Plasmid-encoded toxin*

Pic - *Protein involved in colonization*

Sat - *Secreted autotransporter toxin*

SepA - *Shigella extracellular protein*

ShET-1 - *Shigella Enterotoxin 1*

SHU - Síndrome Hemolítica Urêmica

SigA - *Shigella* IgA-like protease homologue of *Shigella flexneri*

SPATE - *Serine Protease Autotransportes of Enterobacteriaceae*

ST - *heat-stable*

STEC - *Escherichia coli* produtora de Toxina de Shiga

Stx -Toxina de Shiga

UPEC - *Escherichia coli* uropatogênica

Sumário

Dedicatória	4
Agradecimentos	5
Resumo	7
<i>Abstract</i>	8
Lista de Ilustrações	9
Lista de Abreviaturas e Siglas	10
1. Introdução	14
1.1. <i>Escherichia coli</i>	14
1.2. <i>Escherichia coli</i> diarreiogênicas	15
1.2.1. <i>Escherichia coli</i> enteropatogênica (EPEC)	16
1.2.2. <i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica (ETEC)	17
1.2.3. <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	18
1.2.4. <i>Escherichia coli</i> produtora de Toxina de Shiga (STEC)	18
1.2.5. <i>Escherichia coli</i> difusamente aderente (DAEC)	19
2. <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC)	19
2.1. Patogênese	21
2.2. Diagnóstico	22
2.3. Padrão de Adesão Agregativa (AA)	22
2.4. Surtos	23
2.5. Reservatórios	25
3. Objetivos	27
4. Metodologia	28
4.1. Tipo de Estudo	28
4.2. Critérios de seleção e inclusão de fontes bibliográficas	28
5. Resultados e Discussão	30
5.1. Fatores de Virulência	30
5.1.1. Regulador Transcricional AggR	32
5.1.2. Fímbrias	33
5.1.3. Dispersina	35
5.1.4. Biofilme	36
5.1.5. Sistemas de Secreção e Vesículas Bacterianas	37
5.1.6. SPATE (<i>Serino Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae</i>)	39
5.1.7. Toxinas	41
5.1.8. Sinalização química via sistema de 2-componentes QseBC	42

5.2. Enteropatógeno emergente	43
6. Conclusão.....	45
Referências Bibliográficas	46

1. Introdução

1.1. *Escherichia coli*

O gênero *Escherichia* contempla bacilos gram-negativos, anaeróbicos facultativos, pertencentes a família Enterobacteriaceae. A maioria das cepas de *Escherichia coli* vivem de forma comensal e inofensiva no intestino de hospedeiros mamíferos, e raramente provocam manifestação de doença em indivíduos saudáveis. Porém, algumas cepas adaptadas adquiriram atributos de virulência, que conferiram a capacidade de colonizar novos nichos e causar um largo espectro de doenças como infecções intestinais (doenças diarreicas/entéricas), infecções do trato urinário, além de sepSES e meningites (Kaper *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2016).

E.coli é capaz de colonizar o trato gastrointestinal humano horas após o nascimento, integrando a microbiota devido a suas habilidades de adaptação ao ambiente e suas mudanças, sendo reconhecida portanto, pela sua versatilidade (Kaper *et al.*, 2004; Leibach *et al.*, 2013). A relação entre *E.coli* e o hospedeiro é definida como mutualismo, em que as cepas recebem nutrientes a partir do muco intestinal, bem como proteção frente a condições de estresse, transporte e disseminação. Em contrapartida, promovem benefícios através da prevenção do estabelecimento de nichos de colonização por patógenos, através da produção de bacteriocinas e outros mecanismos (Tenaillon *et al.*, 2010).

As cepas patogênicas são divididas entre aquelas capazes de causar infecções intestinais - *Intestinal pathogenic E. coli* (IPEC) - e extra intestinais - *Extraintestinal pathogenic E. coli* (ExPEC) -, além disso são classificadas em subcategorias de acordo com suas características patogênicas como manifestações clínicas da doença, fatores de virulência e o *background* filogenético (Leibach *et al.*, 2013).

1.2. *Escherichia coli* diarreio gênicas

Doenças diarreicas são uma preocupação em relação a saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento, acometendo milhares de indivíduos de todas as idades por ano. Vale destacar que a diarreia está associada como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em recém-nascidos e crianças com idade inferior a 5 anos e a mortalidade idosos acima de 70 anos (Troeger *et al.*, 2018). Cepas de *E. coli* que são capazes de causar diarreia são classificadas como um dos mais importantes agentes etiológicos da doença, e recebem o nome de *E. coli* diarreio gênicas (Gomes *et al.*, 2016).

Figura 1: Patogênese das cepas de *E.coli* diarreio gênicas.

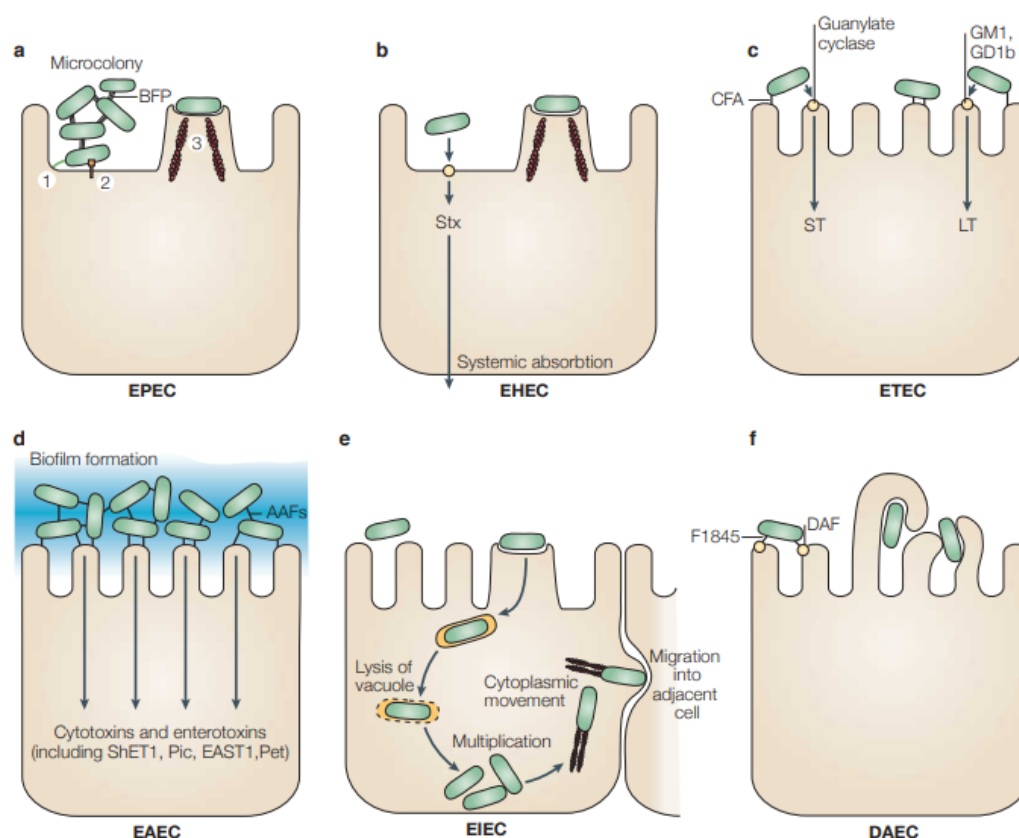


Fig.1: Esquema da patogênese das *E.coli* diarreio gênicas. **a)** EPEC adere aos enterócitos e forma um pedestal. **b)** Cepas de EHEC induzem lesões do tipo A/E e produzem toxinas absorvidas de forma sistêmica. **c)** Bactérias classificadas como ETEC liberam enterotoxinas termolábeis (LT) e/ou

termoestáveis (ST). **d)** Cepas de EAEC aderem ao epitélio do intestino formando um biofilme espesso. **e)** EIEC invade as células do epitélio intestinal através da formação de um fagossomo, se multiplica e migra para células adjacentes. **f)** A patogênese de cepas de DAEC é a transdução de sinal capaz de induzir os enterócitos a manifestarem projeções celulares que englobam a bactéria (Kaper *et al.*, 2004).

Os diferentes patótipos são classificados em categorias de acordo com o sítio de colonização, mecanismos de virulência e sintomas clínicos associados a infecção, além de serem distinguidas pelo antígeno O (lipopolissacarídeo) e H (flagelar). Dentre essas categorias, encontram-se: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* produtora de toxina de Shiga (STEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC) (Nataro e Kaper, 1998; Kaper *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2016).

1.2.1. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC)

O termo *E. coli* enteropatogênica foi utilizado inicialmente em 1995 por Neter e colaboradores para descrever um grupo de cepas relacionadas a surtos de diarreia em crianças durante os anos 1940 e 1950 (Gomes *et al.*, 2016).

A patogênese se inicia quando cepas de EPEC aderem aos enterócitos do intestino delgado, destruindo a arquitetura das microvilosidades induzindo lesões histopatológicas características A/E (*attaching and effacing*), com degeneração do citoesqueleto das células intestinais acompanhada de uma resposta inflamatória e diarreia (Kaper *et al.*, 2004).

E. coli enteropatogênicas podem ser classificadas de acordo com a presença do plasmídeo EAF (*EPEC adherence factor*) que codifica fímbrias do tipo IV e a ausência deste em típicas e atípicas, respectivamente (Gomes *et al.*, 2016).

Figura 2: Interação entre cepas de *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e os enterócitos.

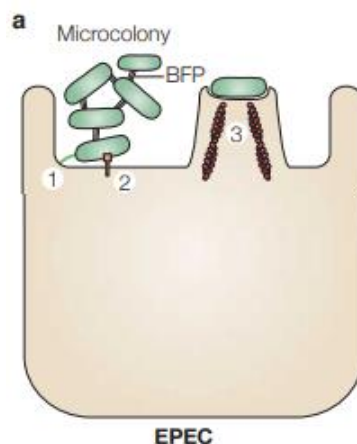


Fig.2: Um modelo de três estágios foi proposto para descrever a patogênese de cepas de EPEC: formação do padrão localizado de adesão (microcolônias), transdução de sinal e, por fim interação com a célula do enterócito via formação de pedestal. (Kaper *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2016).

1.2.2. *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC)

Cepas de *E. coli* enterotoxigênica são caracterizadas a partir da produção de duas enterotoxinas LT (*heat-labile*) e ST (*heat-stable*), reconhecidas como fatores de colonização (Gomes *et al.*, 2016). São capazes de provocar diarreia aquosa durante a infância e são a principal causa de diarreia entre viajantes em países desenvolvidos (Kaper *et al.*, 2004).

ETEC coloniza a superfície do intestino delgado e, em seguida elabora e secreta enterotoxinas termolábel (LT) e/ou termoestável (ST) aumentando a secreção de muco intestinal provocando diarreia aquosa (Kaper *et al.*, 2004).

Cepas dessa classe de *E.coli* são reconhecidas pela sua heterogeneidade fenotípica a partir da ampla diversidade da composição do lipopolissacarídeo (LPS) e flagelina (H), além dos fatores de colonização (CF) (Gomes *et al.*, 2016).

1.2.3. *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)

É sabido que cepas de *Escherichia coli* enteroinvasiva são relacionadas a *Shigella* spp no que diz respeito a sua constituição bioquímica, genética e patogênica (Nataro e Kaper, 1998). Essa categoria de *E. coli* diarreiogênica pode provocar colite inflamatória invasiva, disenteria, mas, na maioria dos casos de infecção, apresentam diarreia aquosa (Kaper *et al.*, 2004).

Inicialmente, cepas de EIEC invadem as células epiteliais do cólon, provocando a lise do fagossomo, multiplicando-se no espaço intracelular e, posteriormente migrando para célula adjacente. O fenótipo invasivo e a sobrevivência no trato gastrintestinal podem ser atribuídos ao plasmídeo de virulência com aproximadamente 213 Kb (*pInV*), similar ao encontrado em cepas de *Shigella flexneri* (Kaper *et al.*, 2004).

1.2.4. *Escherichia coli* produtora de Toxina de Shiga (STEC)

Cepas de STEC são reconhecidas pela habilidade de produzir variantes da toxina de Shiga (Stx) - inicialmente identificada em bactérias da espécie *Shigella* spp. -, e por causar colite hemorrágica e Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) (Kaper *et al.*, 2004). *E. coli* sorotipo O157:H7 foi a primeira cepa relacionada a casos de colite hemorrágica e SHU, no início dos anos 1980, após um grande surto de origem alimentar, a partir da ingestão de hambúrgueres malpassados (Nataro e Kaper, 1998).

E. coli produtora de toxina de Shiga também são capazes de provocar lesões do tipo A/E, no cólon, semelhantes às provocadas por EPEC. O ponto principal da sua patogênese envolve a produção de Stx, cuja absorção é sistêmica, acarretando complicações graves ao hospedeiro (Kaper *et al.*, 2004).

O mecanismo de citotoxicidade associado a toxina de Shiga engloba a produção no cólon e absorção na corrente sanguínea do hospedeiro, que encaminha a toxina para os rins. Assim, Stx provoca lesões no endotélio e obstrui a microvasculatura renal a partir da sua toxicidade e indução da produção de citocinas e quimiocinas que resultam na inflamação dos rins. O dano provocado

pode resultar na Síndrome Hemolítica Urêmica, caracterizada pela presença de anemia hemolítica, trombocitopenia e por fim, falência renal (Kaper *et al.*, 2004).

Cepas de STEC possuem uma subcategoria conhecida como EHEC, cuja toxina de Shiga é responsável pela sua virulência, além de apresentar a ilha de patogenicidade LEE (*Locus of Enterocyte Effacement*) (Kaper *et al.*, 2004).

1.2.5. *Escherichia coli* difusamente aderente (DAEC)

Escherichia coli difusamente aderente é definida pela presença do padrão de adesão difuso observado em monocamadas de células HEp-2. A maioria das bactérias pertencentes a essa classe de patógenos é capaz de produzir uma adesina fimbrial denominada F185, pertencente à família Dr de adesinas (Kaper e Nataro, 1998).

Cepas de DAEC produzem um efeito de transdução de sinal nos enterócitos do intestino delgado, que, por sua vez manifestam projeções celulares que envolvem a bactéria (Kaper *et al.*, 2004).

2. *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC)

E. coli enteroagregativa (EAEC) é amplamente reconhecida como agente causador de casos de diarreia mucoide aguda ou persistente, que pode durar 14 dias ou mais (Kaper *et al.*, 2004; Harrington *et al.*, 2006). EAEC foi inicialmente associada a casos de diarreia persistente em crianças de países em desenvolvimento (Nataro *et al.*, 1987), desde então, diversos relatos surgiram relacionando cepas de EAEC como importante causa de diarreia aguda ou persistente presente em populações pediátricas em países desenvolvidos e indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), além de provocar diarreia aguda em viajantes, e, ainda surtos de origem alimentar, sendo reconhecido, dessa forma, como enteropatógeno emergente (Huang *et al.*, 2004; Estragada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012). Notavelmente, um grande surto de origem alimentar que provocou colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica (SHU), ocorreu na Alemanha em 2011, acometendo em torno de 3800 indivíduos, associado a cepa de *E. coli* EAEC sorotipo O104:H4 (Bielaszewska *et al.*, 2011).

Figura 3: Padrão Adesão Agregativa (AA) em cultura celular.

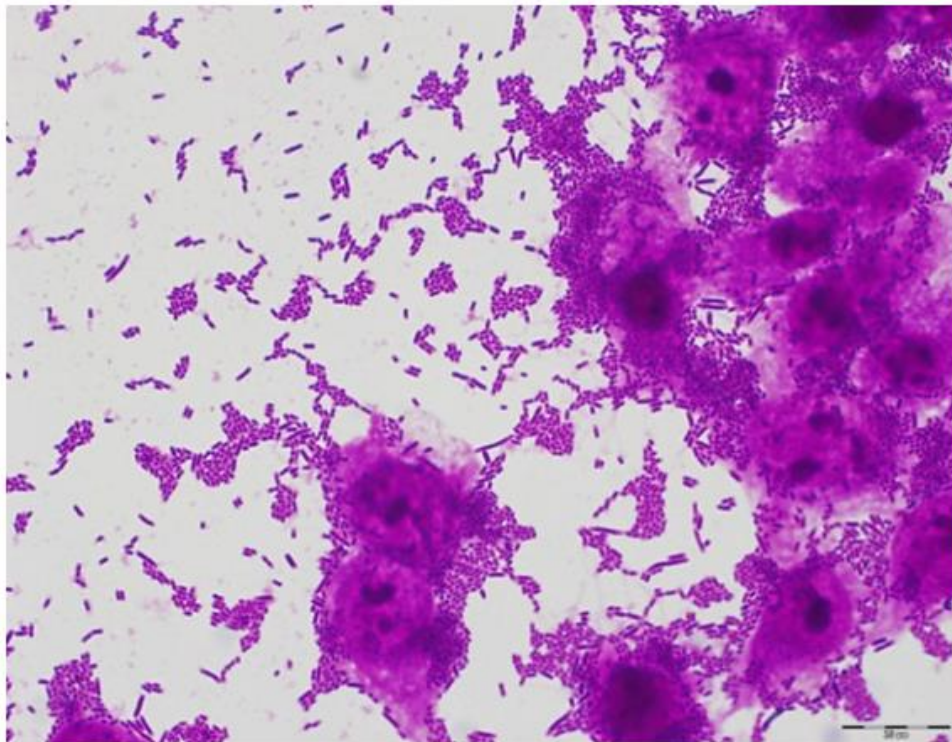


Fig 3: Padrão em formato de “tijolos-empilhados” observado quando cepas de EAEC são cultivadas em células HEp-2 (Jensen *et al.*, 2014).

Figura 4: Interação entre *E. coli* enteroagregativa (EAEC) com célula epitelial do intestino.

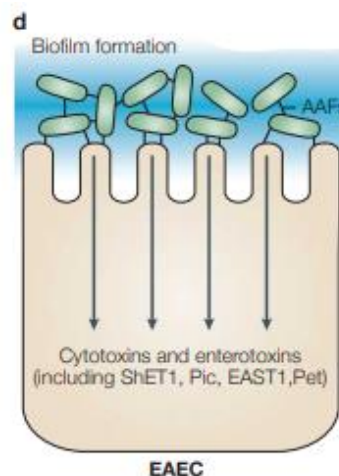


Fig.4: EAEC adere ao epitélio do intestino grosso e delgado, formando uma camada espessa de biofilme e secretando enterotoxinas e citotoxinas. AAF, Fímbrias de Adesão Agregativa; EAST1, toxina *E. coli* enteroagregativa; Pic,

protease; Pet, serinoprotease; ShET1, enterotoxina de *Shigella* (Kapper, *et al.*, 2004).

Este patótipo é definido pelo padrão de adesão agregativa (AA), em que uma bactéria adere a outra na configuração de “tijolos empilhados”, observado em culturas de células HEp-2. Esse padrão de adesão foi estabelecido em 1987 por Nataro *et al.*, durante um estudo em que distinguiu a adesão “difusa” descrita previamente, em adesão difusa verdadeira e adesão agregativa (Gomes, *et al.* 2016). Posteriormente, em 1995, Nataro e colaboradores demonstraram que, após a exposição de voluntários a diversas cepas de EAEC, a cepa 042, sorotipo O44:H18, originalmente identificada em uma criança diagnosticada com diarreia no Peru (Nataro *et al.*, 1985), foi capaz de provocar a doença em todos os voluntários testados, tornando-se assim o protótipo da classe, utilizada em diversos estudos a respeito da virulência, patogenicidade e genética desta categoria (Estragada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012). Recentemente, em 2010, Chaudhuri e colaboradores realizaram a caracterização genômica para cepa protótipo EAEC 042.

A natureza heterogênea desta categoria se dá pois nem todas as cepas são capazes de provocar doença no hospedeiro humano por possuírem importantes diferenças quando são analisados sorotipos, marcadores genéticos de virulência e grupos filogenéticos. Dessa forma, apenas aquelas que apresentam fatores de virulência específicos são capazes de provocar diarreia (Gomes, *et al.*, 2016; Jenkins, 2018). Inúmeras adesinas, toxinas e proteínas associadas a virulência foram descritas em diferentes cepas de EAEC, porém a prevalência dos genes codificadores é altamente variável dentre os isolados, com localizações distintas (Navarro-Garcia e Elias, 2011).

2.1. Patogênese

O desenvolvimento da patogênese ainda não foi completamente elucidado, as informações disponíveis na literatura descrevem que ocorre em três estágios: (1) adesão íntima do epitélio intestinal - padrão de aderência agregativa (AA) na forma de “tijolos empilhados” - e a formação de um espesso biofilme, (2) produção e liberação de enterotoxinas e citotoxinas, além de (3)

induzir a inflamação da mucosa. Vale ressaltar que no primeiro estágio, as fímbrias de aderência agregativa (AAF) medeiam tanto a adesão quanto a formação de biofilme. (Harrington *et al.*, 2006; Navarro-Garcia e Elias, 2011; Estragada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012).

2.2. Diagnóstico

O ensaio de adesão em células HEP-2 é um dos mais utilizados para a investigação de *E. coli* diarreiogênicas, e foi primeiramente descrito por Cravioto e colaboradores em 1979, e, corresponde ao método de referência para diagnóstico de infecções associadas a EAEC, a partir da identificação do fenótipo AA característico (Nataro e Kaper, 1998; Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012). Infelizmente, esse método apresenta uma série de limitações, incluindo a necessidade de laboratórios equipados e que possuam as linhagens celulares requeridas, além de pessoal capacitado. Por fim, não é possível distinguir cepas patogênicas de não patogênicas a partir deste ensaio (Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012).

Técnicas moleculares tem sido empregadas na identificação de cepas de EAEC, como PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a partir da amplificação de genes de virulência específicos dessa classe de patógenos, como o gene de origem cromossomal *aaiC*, presente em uma ilha genômica, que codifica o sistema de secreção tipo IV ou então os genes *aggR* e *aatA*. Ainda assim, a heterogeneidade genética dos isolados dificulta a classificação entre cepas patogênicas e não patogênicas (Jensen *et al.*, 2014).

2.3. Padrão de Adesão Agregativa (AA)

A habilidade de adesão é intercedida pelas fímbrias de aderência agregativa (AAF), que possuem cinco variantes relatadas (I, II, III, IV e V) (Jenkins, 2018). A expressão de AAF é mediada pelo ativador transcricional AggR – membro da família AraC de ativadores transcricionais (Kapper *et al.*, 2004), presente em plasmídeos de alto peso molecular designados pAA (Navarro-Garcia e Elias, 2011; Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012). A biogênese das AAFs emprega a via de secreção chaperona-proteína *usher*.

Assim, as fímbrias são consideradas integrantes da superfamília Afa-Dr de adesinas, que incluem cepas de *E. coli* uropatogênica e diarreiogênicas, seguindo sua arquitetura genética que consiste em chaperona, proteína *usher*, subunidade acessória e principal (Navarro-Garcia e Elias, 2011).

Existem outros fatores de adesão como as proteínas associadas a membrana (MAPs – *Membrane Associated Proteins*), conhecidas como adesinas não fimbriais. Dentre elas, podemos destacar a *aggregative protein 58* (Ap58), codificada pelo plasmídeo presente em cepas de EAEC O111:H12, associada a capacidade de adesão e hemaglutinação em células animais (Monteiro-Neto *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2004).

2.4. Surtos

Diversos surtos de gastroenterite oriundos da alimentação, relacionados a EAEC foram reportados ao longo dos anos (Estragada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012). Notavelmente, um surto de origem alimentar transcorreu no Japão, na cidade de Tajimi, em que 2697 crianças em idade escolar desenvolveram diarreia severa no ano de 1993, os isolados apresentaram o padrão de adesão agregativa (AA) em ensaios utilizando HEp-2. Nesse caso não foi possível identificar qual alimento foi a fonte de contaminação, uma vez que os ensaios de isolamento de microrganismos realizados nas amostras não apresentaram positividade para os sorotipos isolados nas fezes dos pacientes (Itoh *et al.*, 1997). Também no Japão, outro surto ocorreu em um instituto de polícia, no ano de 2005, em que, quatro indivíduos e um cozinheiro apresentaram contaminação por EAEC através da análise de amostra fecal (Harada *et al.*, 2007).

Em 1995, um surto ocorreu em um berçário na Sérvia, no qual as cepas de EAEC foram identificadas através de ensaios com linhagem celular HEp-2, e classificadas como pertencentes ao sorotipo O4, em 12 bebês dos 19 que apresentaram febre, diarreia e perda de peso. Amostras das mãos e vestimentas dos funcionários, itens presentes nos ambientes da enfermaria e sala de operação, foram coletadas a fim de identificar a fonte de contaminação, porém não houve crescimento de nenhum enteropatógeno nos ensaios. Entretanto, nas

amostras de fezes coletadas das mães, uma delas apresentou positividade para o sorotipo atribuído ao surto (Čobeljić *et al.*, 1996).

No ano de 2008, na Itália, um surto ocorreu após indivíduos hospedados em um resort apresentarem gastroenterite em decorrência do consumo de queijo não pasteurizado. Um estudo do tipo coorte retrospectivo identificou o laticínio como provável fonte de contaminação. Cepas de EAEC foram identificadas nas amostras fecais de 7 pessoas, e foram caracterizadas como pertencentes ao sorotipo O92:H33, testando positivo para os genes *aggR*, *aat*, *aap* e *set1A* através da técnica de PCR (Scavia *et al.*, 2008).

Já no Reino Unido podemos destacar algumas intercorrências: no ano de 1994, 4 surtos de origem alimentar foram identificados, no primeiro, 19 indivíduos desenvolveram diarreia após refeição em um restaurante, bem como no segundo, em que 14 indivíduos foram afetados. Já no terceiro surto, um grupo considerável de pessoas (51) foram afetadas após uma conferência. Por fim, a quarta ocorrência se deu após um jantar de Natal, no qual 53 dos presentes desenvolveram doença (Smith *et al.*, 1997). Em março de 2013, um surto de gastroenterite ocorreu no norte da Inglaterra após um festival de comida. Cerca de 430 casos reportaram manifestação de doença, incluindo sintomas como diarreia persistente e dor abdominal. Alguns casos foram associados a cepas de *Salmonella*, porém a maior parte foi atribuída a EAEC, identificada através de PCR pela presença do gene *aggR* (Dallman *et al.*, 2014).

Outro surto associado a EAEC sucedeu na Alemanha no ano de 2011, em que a cepa de EAEC sorotipo O104:H4, produtora da toxina de Shiga (Stx₂), foi responsável por 3842 casos de diarreia. Dentre eles, 855 (22%) indivíduos desenvolveram Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) e 54 morreram (Buchholz, *et al.*, 2011; Bielaszewska *et al.*, 2011). Devido ao aumento acelerado do número de indivíduos infectados pelo microrganismo e acometidos por manifestações gastrointestinais severas, rapidamente, o genoma da cepa responsável pelo surto foi sequenciado demonstrando uma combinação única entre EAEC e STEC, em que a *E.coli* enteroagregativa foi lisogenizada pelo fago codificador da toxina de Shiga 2a (Bielaszewska *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2016). A cepa em questão mostrou a capacidade de formar biofilme na conformação de “tijolos

empilhados” em cultivos celulares, além de testar positivo para genes de virulência específicos para EAEC, como *aggR*, *aggA*, *set1*, *pic* e *aap* (Bielaszewska *et al.*, 2011).

2.5. Reservatórios

O reservatório de EAEC ainda não está claramente definido, mas, é amplamente aceito o hospedeiro humano (Jensen *et al.*, 2014). Contudo, estudos presentes na literatura procuraram estabelecer a relação entre cepas de EAEC isoladas de seres humanos e animais como bezerros, leitões e cavalos (Uber *et al.*, 2006), além de galinhas (Trung *et al.*, 2016) e, em ambos os casos foi possível observar que as cepas presentes em amostras fecais de humanos carregavam o gene *aggR* (EAEC típicas) e outros marcadores de patogenicidade enquanto as obtidas dos animais foram classificadas como atípicas pela ausência do gene supracitado, bem como de outros marcadores de virulência, apresentando menor potencial patogênico para hospedeiros humanos.

Outro ponto importante a ser discutido está relacionado a forma de transmissão de doenças diarreicas provocadas por cepas de EAEC, que ocorre pela rota fecal-oral através de alimentos ou água contaminados (Itoh *et al.*, 1997). Um estudo investigou o crescimento e sobrevivência de *Escherichia coli* enteroagregativa em diferentes tipos de água: mineral em garrafas e água de fontes naturais. As bactérias foram inoculadas em ambos os tipos de água, e a cada três dias houve análise de viabilidade de cepas de EAEC. Foi possível observar que cepas de EAEC mantiveram sua viabilidade por até 60 dias em temperaturas de 4, 10 e 23°C. Além disso, água com presença de minerais como cálcio e magnésio promoveram maior taxa de sobrevivência das cepas em comparação a águas de fontes naturais (Vasudevan *et al.*, 2003). É sabido que folhas frescas são um importante vetor ambiental para patógenos humanos, dessa forma, uma pesquisa conduzida por Berger e colaboradores (2009), procurou estabelecer o nível de interação entre cepas de EAEC e folhas de rúcula (*Eruca vesicaria*). Os fenótipos de adesão obtidos foram classificados em alto, moderado e baixo. Foi possível identificar uma sutil formação de agregados bacterianos por toda superfície de folha e uma densa adesão bacteriana à célula

guarda dos estômatos. Ademais, os pesquisadores investigaram os fatores relacionados a capacidade de adesão da bactéria às folhas de salada. Os resultados obtidos demonstraram que AAF, essencial à adesão de cepas de EAEC a mucosa intestinal humana, é fundamental a interação dessas bactérias com folhas de rúcula. Assim, foi possível concluir que o consumo de folhas frescas contaminadas pode levar a ingestão de células bacterianas bem como ocasionar a infecção em hospedeiros humanos.

Diante das informações apresentadas, surgiram as questões que direcionaram o objetivo desse trabalho. Assim, essa revisão apresenta relevância na medida que mostra evidências científicas sobre a capacidade virulenta atribuída a essas cepas e oferece escopo a elaboração de hipóteses de combate ao progresso da patogênese e estabelecimento da infecção em seres humanos, tornando-se fonte de informação para o desenvolvimento de terapias farmacológicas futuras.

3. Objetivos

O objetivo deste trabalho é apresentar evidências científicas presentes na literatura específica acerca dos principais fatores de virulência descritos até o momento para a classe de *E.coli* enteroagregativa (EAEC), sua relação com o desenvolvimento da patogênese e sua classificação como enteropatógeno emergente.

Levando em consideração os seguintes questionamentos:

Por que as cepas pertencentes à categoria EAEC são classificadas como geneticamente heterogêneas?

Quais os fatores de virulência decisivos para o desenvolvimento da patogênese?

Qual a implicação da categorização de EAEC como um enteropatógeno emergente?

Estes possibilitaram a elaboração de uma discussão interessante a respeito de como cepas de *E. coli* enteroagregativa são capazes de provocar doença no hospedeiro e quais os mecanismos empregados, além de ressaltar sua importância como causador de doenças diarreio gênicas.

4. Metodologia

4.1. Tipo de Estudo

O presente documento trata-se de uma revisão narrativa da literatura, também denominada de revisão bibliográfica tradicional ou exploratória. Essa metodologia de estudo tem por objetivo mapear e analisar o conhecimento a respeito de uma questão abrangente. Não apresenta critérios rigorosos ou sistemáticos para busca de evidências científicas e sua avaliação, estando sujeita a uma seleção arbitrária das publicações, ou seja, passível de viés do autor (Cordeiro *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que os estudos que adotam essa metodologia têm como enfoque a educação continuada, permitindo ao leitor obter e atualizar o conhecimento a respeito de um assunto específico, de forma rápida e objetiva (Rother, 2007).

A escolha do método de revisão foi baseada na necessidade de uma ampla visão acerca dos dados presentes na literatura a respeito do objeto de estudo.

4.2. Critérios de seleção e inclusão de fontes bibliográficas

A fim de responder às questões norteadoras deste trabalho, foram acessadas as plataformas *PubMed* pertencente a *National Library of Medicine* (NLM) e *Science Direct* para seleção das fontes bibliográficas. Utilizando o painel de busca, no mês de outubro de 2021, foi feita a pesquisa aplicando os termos delimitantes *EAEC*, *pathogenesis* e *virulence factors* para o levantamento de dados no intervalo de anos entre 1985 e 2021, com os filtros *review articles*, *clinical trial* e *research articles*.

Os critérios de inclusão dos artigos envolveram a análise do título do trabalho, leitura do resumo e pertinência frente ao objeto de estudo. Os artigos que não eram específicos para *Escherichia coli* enteroagregativa foram descartados.

Após a procura e seleção do material a ser utilizado, houve a leitura do mesmo, o que possibilitou a elaboração de um texto coeso, que compôs os resultados e a discussão deste documento.

5. Resultados e Discussão

Com intuito de promover uma discussão com base nas questões norteadoras deste trabalho, após o levantamento de informações acerca do objeto de estudo na literatura, houve uma estruturação dos tópicos com base no desenvolvimento da patogênese de EAEC, bem como dos fatores de virulência envolvidos, e, por fim a abordagem do termo “enteropatógeno emergente”.

5.1. Fatores de Virulência

Escherichia coli enteroagregativa é reconhecida como um importante patótipo causador de diarreia ao redor do mundo. Essa classe de bactérias é definida pela habilidade de formar um espesso biofilme na forma de “tijolos empilhados” em culturas celulares HEP-2 (Nataro e Kaper, 1998; Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012).

Inúmeras adesinas, toxinas e proteínas associadas a virulência de cepas de EAEC vem sendo identificadas e descritas a fim de compreender qual papel desempenham durante a patogênese, bem como qual seu papel na inflamação induzida em hospedeiros humanos. Vale ressaltar que os fatores de virulência descritos não estão presentes em todas as cepas, contribuindo, dessa forma para a heterogeneidade genética atribuída a essa classe de patógenos (Navarro-Garcia e Elias, 2011; Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012).

De acordo com a literatura o desenvolvimento da patogênese ocorre por etapas, sendo a primeira delas, a adesão a mucosa intestinal promovida pelas Fímbrias de Adesão Agregativa (AAF), que possuem 5 variações na subunidade pili (AAF/I a AAF/V) (Bernier *et al.*, 2002; Boisen *et al.*, 2008; Czezulín *et al.*, 1997; Jønsson *et al.*, 2015; Nataro *et al.*, 1992). Porém para que as fímbrias possam exercer sua função é necessária a presença da proteína dispersina que altera a carga eletrostática da membrana bacteriana, (Sheikh *et al.*, 2002; Velarde *et al.*, 2007), possibilitando as fímbrias de se estenderem, ultrapassando a parede celular emergindo, portanto, no meio externo, de forma a se conectar a componentes da matriz extracelular. O padrão de adesão agregativo

observado para estas cepas ocorre pela adesão íntima às células epiteliais do intestino e entre as próprias bactérias.

Figura 5: Desenvolvimento da Patogênese de EAEC.

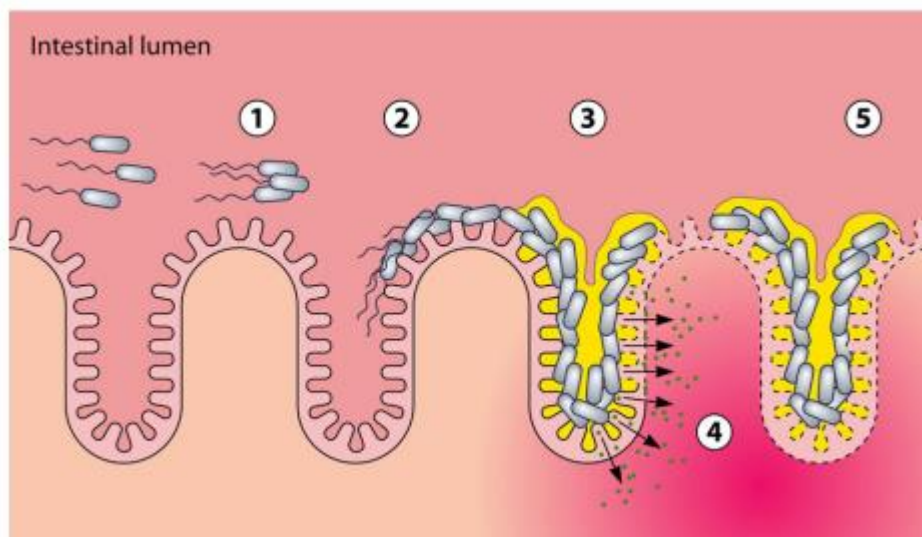


Fig. 5: O desenvolvimento da patogênese de EAEC ocorre por etapas identificadas por números na ilustração. (1) Aglutinação de cepas de EAEC. (2) Adesão íntima ao epitélio intestinal, seguida pela colonização. (3) Formação do biofilme. (4) Secreção de toxinas, de forma a promover danos ao epitélio. (5) Estruturação de nova camada de biofilme (Jensen *et al.*, 2014).

A etapa seguinte envolve a formação de um espesso biofilme, característica marcante de cepas de *E. coli* enteroagregativa, relacionada ao sucesso da colonização da camada mucosa do intestino, principalmente na porção do cólon. A capacidade de formação de biofilme torna-se fundamental para patogenicidade de EAEC, uma vez que é associada ao atributo de causar diarreia mucoide aguda ou persistente devido a estimulação da hipersecreção de muco, reduzindo a capacidade absorviva de nutrientes pelo epitélio intestinal, além de possibilitar a evasão das bactérias do sistema imune do hospedeiro, aliado ao fato de impedir a entrada de fármacos antibióticos (Estrada-Garcia e Navarro-Garcia *et al.*, 2012; Jensen *et al.*, 2014).

Uma vez que o biofilme está estabelecido, ocorre a secreção de toxinas, que por sua vez, desempenham um papel fundamental para o desenvolvimento de diarreia mucoide, característica clínica notável de infecções por EAEC

(Estrada-Garcia e Navarro-Garcia *et al.*, 2012; Harrington *et al.*, 2006). Os efeitos citotóxicos observados em infecções por *Escherichia coli* enteroagregativa estão relacionados principalmente a secreção de serinoproteases SPATEs (*Serine Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae*) (Henderson *et al.*, 1998). Os autortransportadores são divididos em duas classes filogenéticas diferentes: SPATEs 1, que apresentam efeitos citotóxicos para células epiteliais e contemplam proteínas codificadas pelos genes *pet*, *sigA* e *sat*, e SPATEs 2, que compreendem proteínas codificadas pelos genes *pic* e *sepA* (Henderson *et al.*, 1998; Boisen *et al.*, 2011). Vale ressaltar que os genes codificadores de SPATEs possuem origem tanto cromossomal quanto plasmidial (Jensen *et al.*, 2014).

Assim como as SPATEs, outras toxinas são secretadas promovendo danos ao epitélio intestinal. A EAST1 (*E. coli* heat-stable enterotoxin 1), codificada pelo gene *astA*, presente no plasmídeo pAA, é caracterizada como uma enterotoxina termoestável semelhante à toxina ST de ETEC, capaz de promover um aumento da concentração de cGMP intracelular (Savarino *et al.*, 1993; Ménard e Dubreuil, 2002). Já a enterotoxina ShET1 (*Shigella enterotoxin 1*), codificada pelos genes *setAB*, localizado na fita antisense ao gene *pic* está associada ao acúmulo de líquido no intestino (Fasano *et al.*, 1995).

Dessa forma, ocorre o estabelecimento da infecção bacteriana no hospedeiro humano, promovendo efeitos citotóxicos e enterotóxicos, responsáveis pela manifestação clínica associada a EAEC, a diarreia.

5.1.1. Regulador Transcricional AggR

Inúmeros fatores de virulência foram atribuídos as cepas de EAEC de acordo com a literatura, entretanto, nenhum deles está presente em todas as cepas patogênicas. Porém, um número considerável de fatores contribuintes para patogenicidade dessas cepas, possuem origens plasmidiais e cromossomais e estão sob o controle do Regulador Transcricional AggR (Nataro, 2005; Dudley *et al.*, 2006; Harrington *et al.*, 2006).

O gene *aggR* localizado no plasmídeo pAA, é responsável por codificar o regulador transcricional AggR, relacionado às proteínas da família AraC. Dessa forma, AggR controla diversas funções celulares bacterianas tais como

metabolismo, resposta ao estresse e principalmente, a síntese de fatores de virulência (Dudley *et al.*, 2006). Vale ressaltar que AggR promove a ativação da sua própria transcrição, bem como de genes como *aafDA*, *aap*, e *aatPABCD*, responsáveis pela codificação das Fímbrias de Adesão Agregativa, proteína antiagregativa dispersina e o sistema de transporte ABC, respectivamente (Elias *et al.*, 1999; Sheikh *et al.*, 2002; Nishi *et al.*, 2003).

É importante salientar que AggR não está restrito ao plasmídeo pAA (Dudley *et al.*, 2006), sendo atribuído a regulação do operon *aai* (*AggR – activated island*) presente na Ilha de Patogenicidade (PAI) inserida no *locus* de *pheU* no cromossomo bacteriano. Assim, AggR foi caracterizado como um regulador global dos genes de virulência em EAEC, definindo, portanto, a classificação entre cepas típicas que contêm o regulon e cepas atípicas, com a ausência do mesmo (Harrington *et al.*, 2006; Dudley *et al.*, 2006).

5.1.2. Fímbrias

A primeira etapa da patogênese atribuída a inúmeros enteropatogenos bacterianos envolve a colonização do trato gastrointestinal, mediada principalmente por fatores específicos de adesão. Assim, no caso das cepas de EAEC, a adesão nas células da mucosa intestinal é promovida pela presença das Fímbrias de Aderência Agregativa (AAF), cujos genes estão presentes nos plasmídeos de alto peso molecular denominados pAA (Nataro *et al.*, 1992; Czezulín *et al.*, 1997; Boisen *et al.*, 2008). As fímbrias ligam-se a componentes da matriz extracelular das células epiteliais como a laminina, colágeno IV, citoqueratina 8 e fibronectina, promovendo o fenótipo AA (Farfan *et al.*, 2008).

Segundo a literatura, os genes responsáveis pela codificação das AAFs estão sob controle do regulador global AggR. Além disso, as AAFs estão relacionadas a família Dr de adesinas, uma vez que sua biogênese depende da presença de uma chaperona periplasmática, uma proteína de membrana *usher* e, por fim duas subunidades, acessória e principal (Servin *et al.*, 2005; Boisen *et al.*, 2008). Até o momento, 5 variações da subunidade pili das fímbrias foram descritas, sendo elas: AggA (AAF/I), AafA (AAF/II), Agg3A (AAF/III), Agg4A

(AAF/IV) e Agg5A (AAF/V) (Bernier *et al.*, 2002; Boisen *et al.*, 2008; Czezulin *et al.*, 1997; Jønsson *et al.*, 2015; Nataro *et al.*, 1992).

Em 1988, Vial e colaboradores realizaram a caracterização de cepas de EAEC e concluíram que para cepa protótipo 17-2 a expressão do fenótipo de adesão agregativa estava associada à presença do plasmídeo pAA1 composto por 60 MDa. Posteriormente, utilizando a mesma cepa Nataro *et al.* (1992), evidenciaram a existência de uma fímbria disposta em feixes de diâmetro medindo 2 a 3 nm, denominada AAF/I, codificada por um conjunto de genes designados *aaf*, organizados em duas regiões, contidos no plasmídeo pAA1. A primeira região contém cluster dos genes *aggDCBA*, que codificam o pili (*aggA*), a proteína *usher* (*aggC*), a chaperona (*aggD*) e outra proteína (*aggB*) (Nataro *et al.*, 1993). Já a segunda região, contém o regulador transcricional AggR, necessário para expressão da AAF/I. Vale ressaltar que as regiões são separadas por um segmento de 9 kb, que corresponde aos genes de EAST1 (Nataro *et al.*, 1993; 1994).

Em relação a AAF/II, esta foi descrita na cepa protótipo de EAEC 042, e possui diferenças morfológicas e genéticas em relação a AAF/I. Sua estrutura é composta por feixes semirrígidos, responsáveis pelo padrão AA observado em cultura celular. Os genes que codificam AAF/II estão inseridos no plasmídeo pAA2 (65 MDa) e estão dispostos em duas regiões com um intervalo de 12 kb (Czezulin *et al.*, 1997). A primeira região é composta pelo *cluster* de genes que codificam a chaperona (*aafD*), o pili (*aafA*) e por fim o ativador transcricional AggR. A segunda região contém os genes *AafC* e *AafB*, que codificam, a proteína *usher* e críptica, respectivamente (Elias *et al.*, 1999).

Bernier e colaboradores (2002), identificaram na cepa de EAEC 55989 a fímbria AAF/III. Sua função, assim como as demais é promover a adesão agregativa tanto às células epiteliais do intestino, como entre as cepas bacterianas. Essa fímbria é codificada pelo operon *agg-3*, semelhante ao operon de adesinas denominado *Afa* presente em *E. coli* uropatogênica (UPEC) (Servin, 2005), e está disposta em filamentos individuais longos e flexíveis. Em relação a organização genética, apresenta semelhanças a AAF/I, com o cluster de genes

agg-3A, *agg-3B*, *agg-3C*, *agg-3D*. O gene homólogo a *aggR* está localizado à jusante do gene *agg-3A* (Bernier *et al.*, 2002).

No ano de 2008, Boisen, *et al.* descreveram uma nova adesina presente no plasmídeo pO86A1, responsável pelo fenótipo AA, na cepa de EAEC C1010-00, a qual denominaram HdaA. Porém, apesar de apresentar uma organização genética similar Afa-Dr, a análise da sequência demonstrou que a adesina pertence a um grupo filogenético distinto do formado pelas demais variantes de AAF. Paralelamente, HdaA não possui o domínio N-terminal característico das adesinas da família Dr (Boisen *et al.*, 2008). Ainda assim, na literatura alguns estudiosos consideram a denominação AAF/IV (Farfan *et al.*, 2008).

Recentemente, Jonson e colaboradores (2015) identificaram o gene *agg5A* no isolado clínico C338-14, responsável pela codificação de AAF/IV. O estudo demonstrou que assim como os outros quatro tipos de AAFs, AAF/IV é responsável por promover o padrão de aderência agregativa e a formação de biofilme. Além disso, sua expressão depende do ativador transcricional AggR. Vale ressaltar que à jusante do gene *agg5A*, três fases de leitura aberta (ORFs) idênticas aos genes acessórios de AAF/III, *add3D*, *agg3C* e *agg3B* foram identificadas (Jonson, *et al.*, 2015).

5.1.3. Dispersina

Dispersina é classificada como uma proteína imunogênica formada por 10.2 kDa de massa, que foi inicialmente identificada na cepa protótipo de *Escherichia coli* 042 (Sheikh *et al.*, 2002). A proteína é codificada pelo gene *aap* (*anti-aggregation portein*) e está sob controle do ativador transcricional AggR. A transcrição de *aap* gera uma sequência sinal que é secretada pelo sistema de transporte tipo ABC (Aat) presente no plasmídeo pAA2. A proteína permanece ligada de forma não-covalente à superfície bacteriana de EAEC 042 (Sheikh *et al.*, 2002; Nishi *et al.*, 2003; Velarde *et al.*, 2007).

Seu mecanismo de ação envolve a neutralização de cargas na membrana externa da bactéria, superando a atração eletrostática entre as Fímbrias de Adesão Agregativa (AAF) carregadas positivamente e o lipopolissacarídeo (LPS)

que apresenta carga negativa. Dessa forma as fímbrias ficam livres pela superfície bacteriana, promovendo a dispersão das bactérias na mucosa intestinal (Velarde *et al.*, 2007; Moraes *et al.*, 2020).

Recentemente, foi demonstrado a dispersina é capaz de ligar-se ao plasminogênio, que por sua vez é ativado, tornando-se uma potente protease degradando substratos fisiológicos como redes de fibrina e proteínas da matriz extracelular, promovendo a disseminação de bactérias para outros tecidos e órgãos (Moraes *et al.*, 2020).

5.1.4. Biofilme

Segundo a literatura, a formação de um biofilme espesso mediado pela presença de AAFs é um fenótipo característico e determinante de cepas de EAEC, e está relacionada com o sucesso da colonização da camada mucosa do intestino. Ademais, o estabelecimento do biofilme é associado a capacidade de causar diarreia mucoide aguda ou persistente devido a estimulação da hipersecreção de muco, além de reduzir a absorção de nutrientes pelo epitélio intestinal (Estragada-Garcia e Navarro-Garcia *et al.*, 2012). A estrutura também é considerada um importante mecanismo de sobrevivência, uma vez que auxilia na evasão de mecanismos de defesa do sistema imune do hospedeiro, além da ação de alguns antimicrobianos (Jensen *et al.*, 2014).

Figura 6: Formação de biofilme.

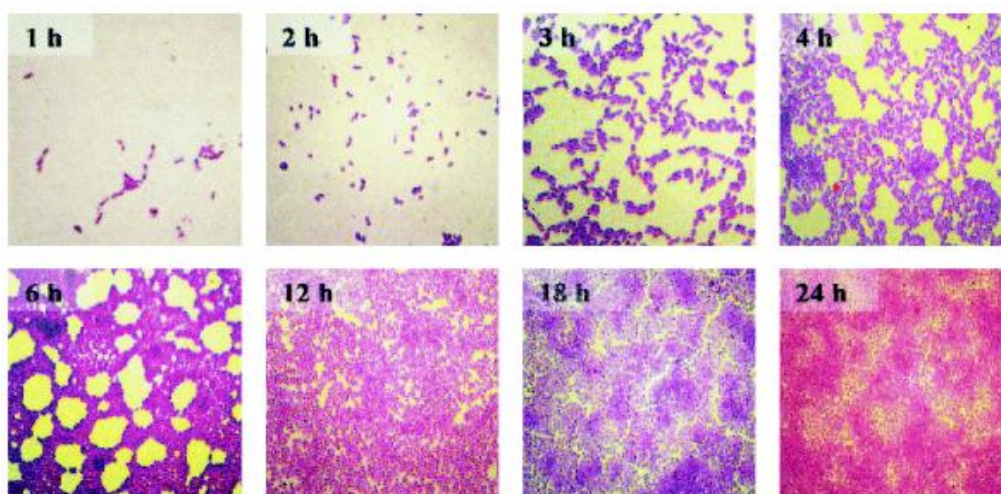


Fig. 6: A formação do biofilme ocorre por etapas, com a adesão inicial ao epitélio intestinal, adesão irreversível, seguida do processo de maturação. Por fim, ocorre a dispersão das bactérias para colonização e formação de um novo biofilme em outros sítios. (Sheikh *et al.*, 2008).

A formação do biofilme ocorre em cinco estágios: i) aproximação reversível das bactérias até a superfície da célula epitelial através dos fluidos ou motilidade flagelar, que geralmente ocorre após a superação da barreira eletrostática entre o organismo e a superfície promovida pela proteína dispersina (Velarde *et al.*, 2007; Moraes *et al.*, 2020), ii) ligação irreversível da cepa ao epitélio através da interação com adesinas específicas e as fímbrias (Boisen *et al.*, 2008; Sheikh, *et al.*, 2008; Izquierdo *et al.*, 2014), iii) desenvolvimento da arquitetura, iv) evolução para formação biofilme maduro, vale ressaltar que é nesse estágio que substâncias que servem como matriz adesiva são produzidas pelas cepas bacterianas a fim de captar os nutrientes do meio, v) por fim, ocorre o desprendimento de algumas bactérias para o ambiente ao redor, que retornam ao seu estado inicial para promover a formação de um novo biofilme (Houdt e Michiels, 2005).

Um estudo realizado por Mohamed *et al.* (2007), procurou estabelecer a relação entre os genes de virulência presentes em isolados clínicos de EAEC em viajantes e a capacidade de formar biofilme. Uma vez que *aggR* é um regulador global que controla tanto genes de origem cromossomal quanto plasmidial, as cepas de EAEC que continham os genes *aap*, *astA*, *irp2*, *pet* e *set1A* com ou sem *AggR* foram analisadas. As cepas que possuíam o regulador transcricional produziram um biofilme mais acentuado do que aquelas que não o continham. Dessa forma, foi possível sugerir que *aggR* regula outros genes essenciais para a formação de biofilme, além disso, Sheikh *et al.* (2001), comprovaram que a proteína Fis contribui para a formação de biofilme através da biogênese das Fímbrias de Adesão Agregativa tipo II, ativando a expressão de *aggR*.

5.1.5. Sistemas de Secreção e Vesículas Bacterianas

Um fator intimamente ligado ao processo de patogênese de cepas de *E. coli*, envolve a capacidade de sintetizar e secretar proteínas como SPATES e

enterotoxinas. Nesse contexto, as bactérias possuem sistemas de secreção cuja função envolve o transporte de substratos para o meio extracelular sendo fundamentais para virulência bacteriana e estabelecimento da colonização do trato gastrointestinal. Ao todo foram descritos nove sistemas de secreção do tipo I ao IX classificados com base na sua arquitetura e mecanismo de transporte. Em bactérias gram-negativas, os sistemas de secreção do tipo I (T1SS), III (T3SS), tipo IV (T4SS) e VI (T6SS) secretam proteínas em uma etapa até o meio extracelular. Os demais tipos – II (T2SS) e V – inicialmente importam as proteínas para o espaço periplasmático via Sec ou Tat para então ocorrer a translocação através da membrana externa (Tseng; Tyler e Setubal, 2009; Journet e Cascales, 2016).

Em relação a cepas de *E.coli* enteroagregativa, o sistema de Secreção do Tipo VI (T6SS) foi identificado em duas formas denominadas de Sci1 e Sci2, expressos sob diferentes condições. O cluster *sci2* de genes é regulado pelo ativador transcricional AggR, enquanto o cluster *sci1* é expresso sob controle duplo dos reguladores: Fur (*ferric uptake repressor*) e Dam (*DNA adenine methylase*). Sua função envolve a secreção de toxinas em células alvo eucarióticas ou procariontes, através de uma cauda contrátil responsável por impulsionar uma agulha molecular carregada de proteínas em células alvo. Na literatura, estudos relatam que bactérias equipadas com esse aparato colonizam um ambiente com maior eficiência além de obter recursos com maior facilidade (Brunet; Bernard e Cascales, 2020).

Outro mecanismo importante relacionado a secreção de fatores de virulência envolve vesículas de membrana externa, do inglês OMVs (*Outer Membrane Vesicles*). Essas nanoestruturas esféricas são formadas durante o crescimento bacteriano através da formação de bolhas na membrana externa bacteriana a partir de um distúrbio no envelope celular. O conteúdo das vesículas consiste em um “coquetel” de virulência composto por proteases, adesinas, hemolisinas e toxinas, que por sua vez fica protegido da degradação pela ação de enzimas presentes nas células alvo e outros fatores como ação do sistema imunológico do hospedeiro. As OMVs liberam as substâncias contidas em seu lúmen através de três mecanismos distintos, I) lise proximal, difusão e

internalização, II) por fusão ou então III) por endocitose, relacionado a cepas patogênicas (Kulp e Kuehn, 2010; Kusmann *et al.*, 2015).

Um fator importante associado às vesículas é sua capacidade de imunomodulação. Esse fenômeno ocorre devido a composição da membrana dessas estruturas, semelhante à das bactérias, que contém PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) como lipopolissacarídeo (LPS), peptideoglicano, flagelina e porinas, que são identificados pelos receptores TLRs (*Toll-like receptors*) presentes nas células dos hospedeiros desencadeando uma cascata de sinalização e acionamento da resposta imune (Kulp e Kuehn, 2010; Kusmann *et al.*, 2015).

Na literatura existem diversos relatos a respeito da produção dessas vesículas em bactérias patogênicas – *Pseudomonas aeruginosa*, EHEC e EAEC além de cepas não patogênicas como *E.coli* integrantes da microbiota (Kusmann *et al.*, 2015).

5.1.6. SPATE (*Serino Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae*)

Os autotransportadores pertencem a uma família de proteínas secretadas por bactérias da família Enterobacteriaceae via sistema de secreção tipo V, e compreendem três domínios principais: o peptídeo sinal formado por 48 a 59 resíduos de aminoácidos, responsável por marcar as proteínas com destino ao periplasma, o domínio passageiro N-terminal, considerado um sítio catalítico formado pelos resíduos Ser/His/Asp, com atividade similar a tripsina, responsável pelas características funcionais proteolíticas da proteína e, por fim, um domínio β -barril na porção C-terminal, que permite a secreção da proteína através da formação de poros fundamentais para translocação da enzima através da membrana externa bacteriana (Henderson *et al.*, 1998; Henderson *et al.*, 2004; Ruiz-Perez e Nataro 2014).

Estudos sugerem que as SPATEs estão envolvidas em processos distintos de degradação de substratos intra e extracelulares, o que desencadeia diversos efeitos nas células dos hospedeiros e promovem diversas funções virulentas tais como adesão bacteriana, citotoxicidade, enterotoxicidade,

atividade de mucinase e ainda, formação de biofilme (Ruiz-Perez e Nataro, 2014; Andrade *et al.*, 2017). A família de serinas proteases autotransportadoras é dividida em duas classes distintas com base na sua filogenética e atividade biológica. A primeira classe envolve as proteínas com função citotóxica, incluindo Pet, Sat, SigA, EspC e EspP. Em relação a classe II, são apresentadas as proteínas imunomoduladoras, como Pic, Tsh, Vat, SepA, EatA, EpeA e Espl (Ruiz-Perez e Nataro, 2014).

Pet (*Plasmid-encoded toxin*) foi originalmente identificada no plasmídeo de Aderência Agregativa pAA2 da cepa protótipo EAEC 042 (Eslava *et al.*, 1998). A protease foi classificada como entereotoxina/citotoxina, termolábil composta por 108 kDa, capaz de promover acúmulo de fluido, lesões necróticas e hemorrágicas no epitélio intestinal, além de causar a disrupção do citoesqueleto das células através da clivagem da proteína α -fodrina (Henderson *et al.*, 1999; Canizalez-Roman e Navarro-Garcia, 2003).

SigA (*Shigella IgA-like protease homologue*) é uma proteína de 139.6 kDa que foi inicialmente encontrada na ilha de patogenicidade *she* (PAI), pertencente a *Shigella flexneri* 2a (Al-Hasani *et al.*, 2000), e foi associada a EAEC através da presença do gene *sigA* em isolados clínicos como é o caso da cepa EAEC C227-11, responsável pelo surto na Alemanha em 2011 (Rasko *et al.*, 2011). Essa SPATE demonstrou efeitos citopáticos em cultura celular além de contribuir para o acúmulo de fluido no intestino em coelhos (Al-Hasani *et al.*, 2000).

A proteína de 107 kDa, Sat (*Secreted autotransporter toxin*), foi primeiramente identificada na cepa UPEC CFT073, e, posteriormente em isolados de EAEC (Boisen, *et al.*, 2009; Guyer *et al.*, 2000). Estudos *in vitro* demonstraram sua capacidade de provocar elongação e desprendimento das células do seu suporte, além da atividade proteolítica em relação a α -fodrina (Guyer *et al.*, 2000; Maroncle, *et al.*, 2006). Ademais, outras funções foram descritas como a indução de autofagia e o comprometimento da junção de células epiteliais intestinais (Lievin-Le Moal *et al.*, 2011).

Pic (*Protease involved in intestinal colonization*) é caracterizada por ser uma proteína extracelular com 109.8 kDa, originalmente identificada em *Shigella flexneri* 2A e, em seguida cepas de EAEC (Henderson *et al.*, 2011). Apresentou

atividade de mucinase, hemaglutinação nos enterócitos, degradação do fator V de coagulação, imunomodulação e colonização provocando hipersecreção de muco (Henderson *et al.*, 1999; Harrington *et al.*, 2009). Além disso, Abreu *et al.* (2015) demonstraram a capacidade de Pic evadir o sistema imunológico do hospedeiro através da clivagem de proteínas do sistema complemento.

SepA (*Shigella extracellular protein A*) é uma proteína de 110 kDa, codificada por plasmídeo inicialmente encontrada em *Shigella flexneri* e, posteriormente em isolados de EAEC (Benjelloun-Touimi *et al.*, 1995; Boisen *et al.*, 2009). Segundo o estudo promovido por Benjelloun-Touimi (1995), ao infectar coelhos com cepa mutante de *Shigella* para o gene *sepA*, houve atenuação de acúmulo de fluidos, atrofia da camada mucosa e diminuição da inflamação tecidual, em comparação a cepa selvagem M90T, sugerindo a função dessa serinoprotease

É importante salientar que isolados clínicos típicos e atípicos de EAEC apresentam combinações distintas de SPATEs, contribuindo para sua heterogeneidade genética (Andrade *et al.*, 2017).

5.1.7. Toxinas

Cepas de *Escherichia coli* enteroagregativa sintetizam e secretam, além das SPATEs, outras toxinas que induzem danos ao epitélio intestinal, promovendo a manifestação dos sintomas clínicos observados em infecções por EAEC. Codificado pelo gene *set1BA*, de origem cromossomal, ShET1 (*Shigella enterotoxin 1*) foi inicialmente identificada em *Shigella flexneri* 2A (Fasano *et al.*, 1995). A função dessa toxina não foi amplamente estudada em EAEC, entretanto em cepas de *S. flexneri* promove o acúmulo de líquidos de forma significativa em alça ligada de coelho em meio empobrecido de ferro (Henderson *et al.*, 1999).

Outra importante enterotoxina secretada por *E. coli* enteroagregativa, EAST1 (*E. coli heat-stable enterotoxin 1*) possui baixo peso molecular, apresenta homologia em relação a toxina ST de ETEC, é sensível a atividade de proteases, parcialmente termoestável, imunogênica e é geneticamente distinta de ST presente em cepas de ETEC (Savarino *et al.*, 1991). Codificada pelo gene *astA* presente no plasmídeo pAA, e sua função envolve a interação com a molécula

de adenilato ciclase, promovendo um aumento intracelular de cGMP, que por sua vez induz a alteração no transporte de íons provocando uma resposta secretória (Savarino *et al.*, 1991; 1993).

5.1.8. Sinalização química via sistema de 2-componentes QseBC

A sinalização química, ou *quorum sensing*, realizada pelas bactérias consiste na comunicação entre células com o objetivo de traduzir e transmitir informações acerca do ambiente de colonização, desencadeando a regulação da expressão de genes relacionados a adaptação e sobrevivência do microrganismo. QseC, é um sensor histidina quinase de membrana interna, que detecta e responde aos hormônios de estresse do hospedeiro, Epinefrina (Epi) e Norepinefrina (NE), assim como ao Autoindutor-3 (AI-3), produzido por bactérias gram-positivas e gram-negativas. Desse modo, ocorre a ativação do seu regulador de resposta citoplasmático QseB, resultando em uma cascata regulatória, diretamente envolvida no desenvolvimento da patogênese (Ribeiro *et al.*, 2019; 2021).

Esse sistema de sinalização química é codificado pelo operon *qseBC* cuja transcrição é regulada por QseB. O sensor histidina quinase é composto por dois domínios transmembrana, sendo um deles ATPase, que possibilita sua atividade de fosfatase. QseC possui a capacidade de se autofosforilar e transferir um grupamento fosfato para o regulador de resposta QseB, ativando por sua vez, a transcrição de genes relacionados a motilidade a partir da sua ligação na região promotora de FlhD, que codifica os genes pertencentes ao operon flagelar (Clarke; Sperandio, 2005).

Em enterobactérias, está amplamente distribuído o sistema QseBC, atuando diretamente na regulação da expressão de genes de virulência de diversos patógenos humanos, tais como cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), no qual QseC identifica as moléculas de estresse do hospedeiro e ativa a transcrição de genes de virulência presentes na ilha de patogenicidade LEE, responsáveis pela motilidade e produção da toxina de Shiga (Hughes *et al.*, 2009). Além disso, estudos recentes identificaram o papel de QseC no desenvolvimento da patogênese de EAEC O104:H4, relacionada ao

surto de CH e SHU na Alemanha em 2011, constatando que a sinalização química através desse sistema influencia a capacidade de colonização e expressão de genes de virulência dessa cepa, tornado QseC um alvo para o desenvolvimento de terapias farmacológicas de combate a infecção por EAEC (Ribeiro *et al.*, 2019; 2021).

De acordo com as informações dispostas, é possível concluir que a literatura traz um consenso a respeito da heterogeneidade genética atribuída as cepas de *Escherichia coli* enteroagregativa, uma vez que baseado nos ensaios de comparação entre composição genética em isolados clínicos, não houve prevalência de uma conformação de genes de virulência em detrimento de outra. Em relação aos fatores de virulência envolvidos no desenvolvimento da patogênese, os autores entram em convergência em relação a funcionalidade, entretanto, devido a ampla diferença entre a composição genética dentre as cepas é difícil determinar aqueles de fato imprescindíveis para que ocorra o sucesso da infecção. Vale ressaltar que apesar da divisão entre cepas típicas e atípicas pela presença de AggR, ainda assim, as que possuem o regulador transcricional não apresentam homogeneidade quanto à disposição dos genes de virulência, assim como as que não portam o gene *aggR* (Andrade *et al.*, 2017; Boisen *et al.*, 2009; Boisen *et al.*, 2011; Chaudhuri *et al.*, 2010; Estrada-Garcia e Navarro-Garcia, 2012; Herrington *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2014; Nataro *et al.*, 1995).

Destaca-se, ainda, que os fatores de virulência estão intimamente relacionados as manifestações clínicas observadas em indivíduos acometidos pela diarreia provocada devido a infecção por cepas de EAEC, sugerindo não apenas sua importância para patogênese dessas cepas, mas, também tornando-se alvo para desenvolvimento de terapias futuras (Meza-Segura *et al.*, 2020).

5.2. Enteropatógeno emergente

Escherichia coli enteroagregativa foi inicialmente isolada em um caso agudo de diarreia infantil em Lima no Peru (Nataro *et al.*, 1987), e desde então tem sido associada como agente etiológico de diarreia endêmica e epidêmica ao redor do mundo (Čobeljić *et al.*, 1996; Itoh *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 1997; Nataro

e Kaper, 1998; Harada *et al.*, 2007; Scavia *et al.*, 2008; Buchholz, *et al.*, 2011; Bielaszewska *et al.*, 2011; Lanata *et al.*, 2013; Dallman *et al.*, 2014).

O termo enteropatógeno emergente é frequentemente empregado a fim de designar cepas de EAEC uma vez que o conceito de emergente vem da noção de que há um aumento considerável de surtos de diarreia aguda e/ou persistente em países em desenvolvimento, principalmente entre crianças e pacientes HIV-positivos, bem como surtos em países desenvolvidos e segunda causa mais comum de diarreia entre viajantes (Huang *et al.*, 2004; Nataro, 2005).

Certos patógenos, incluindo EAEC, causam não apenas diarreia mucoide aguda e persistente, mas possuem a habilidade de permanecer no intestino do hospedeiro humano, induzindo uma condição crônica de inflamação (Okhusen e DuPont, 2010). Devido a heterogeneidade das cepas de EAEC e da resposta imune do hospedeiro, nem todas as infecções são sintomáticas (Huang *et al.*, 2004). Assim, EAEC pode incitar uma colonização assintomática provocando inflamação intestinal crônica com ausência de diarreia, e, dessa forma provocar desnutrição e problemas no crescimento e desenvolvimento em crianças (Steiner *et al.*, 1998; Navarro-Garcia e Elias, 2011).

Atualmente, os estudos envolvendo isolados clínicos de EAEC procuram entender a composição genética dessas cepas, bem como a divisão dos pacotes de genes de virulência, para agilizar o diagnóstico, identificar o perfil de resistência a antimicrobianos e sua alta prevalência em casos de diarreia crônica, a complexidade da morbidade gerada pelo patógeno em distintas comunidades, além de infecções extra intestinais (Lima, Medeiros e Havt, 2018; Bamidele, Jiang e DuPont, 2019; Dias *et al.*, 2020; Joffré e Rojas, 2020; Modgil *et al.*, 2021).

6. Conclusão

Com base nas informações expostas nessa revisão, é possível responder os questionamentos levantados no início deste documento, uma vez que as cepas de *Escherichia coli* enteroagregativa possuem inúmeras variações no seu pacote de genes de virulência e características fenotípicas dentre os isolados, definindo essa classe de bactérias como heterogênea, o que dificulta a sua identificação e classificação. Entretanto, os fatores de virulência destacados ao longo da discussão tornam-se relevantes à medida que apresentam certa prevalência dentre as cepas. Dessa forma, a caracterização dos genes de virulência torna-se importante por possibilitar o desenvolvimento de terapias farmacológicas a fim de prevenir e tratar infecções reduzindo o contingente de indivíduos acometidos.

Por fim, a classificação desta cepa como enteropatógeno emergente é fundamental por destacar a relevância da cepa a partir da ideia de aumento/ascensão de casos de diarreia aguda e/ou persistente em diferentes contextos, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, incentivando pesquisadores para a implementação de novas técnicas de diagnóstico, identificação perfis de resistência a antimicrobianos e a prevalência em casos de diarreia crônica e surtos de origem alimentar e entre viajantes além da determinação de alvos moleculares para ação dos fármacos existentes e novos compostos em desenvolvimento.

Referências Bibliográficas

1. AL-HASANI, Keith; HENDERSON, Ian R.; SAKELLARIS, Harry; RAJAKUMAR, Kumar; GRANT, Travis; NATARO, James P.; ROBINS-BROWNE, Roy; ADLER, Ben. The sigA Gene Which Is Borne on the Shiga Pathogenicity Island of *Shigella flexneri* 2a Encodes an Exported Cytopathic Protease Involved in Intestinal Fluid Accumulation. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 68, n. 5, p. 2457-2463, maio 2000. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.68.5.2457-2463.2000>.
2. ABREU, Afonso G.; FRAGA, Tatiana R.; MARTÍNEZ, Adriana P. Granados; KONDO, Marcia Y.; JULIANO, Maria A.; JULIANO, Luiz; NAVARRO-GARCIA, Fernando; ISAAC, Lourdes; BARBOSA, Angela S.; ELIAS, Waldir P.. The Serine Protease Pic From Enteroaggregative *Escherichia coli* Mediates Immune Evasion by the Direct Cleavage of Complement Proteins. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 212, n. 1, p. 106-115, 12 jan. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiv013>.
3. ANDRADE, Fernanda B.; ABREU, Afonso G.; NUNES, Kamila O.; GOMES, Tânia A.T.; PIAZZA, Roxane M.F.; ELIAS, Waldir P.. Distribution of serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae in typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infection, Genetics And Evolution**, [S.L.], v. 50, p. 83-86, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2017.02.018.4>
4. BAMIDELE, Oluwatosin; JIANG, Zhi-Dong; DUPONT, Herbert. Occurrence of putative virulence-related genes, *aatA*, *aggR* and *aaiC*, of Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) among adults with travelers' diarrhea acquired in Guatemala and Mexico. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 128, p. 97-99, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2018.12.030>.
5. BENJELLOUN-TOUIMI, Zineb; SANSONETTI, Philippe J.; PARSOT, Claude. SepA, the major extracellular protein of *Shigella flexneri*: autonomous secretion and involvement in tissue invasion. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 123-135, jul. 1995. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.mmi_17010123.x.
6. BERGER, Cedric N.; SHAW, Robert K.; RUIZ-PEREZ, Fernando; NATARO, James P.; HENDERSON, Ian R.; PALLAN, Mark J.; FRANKEL, Gad. Interaction of enteroaggregative *Escherichia coli* with salad leaves. **Environmental Microbiology Reports**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 234-239, ago. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00037.x>.
7. 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. doi: 10.1128/IAI.70.8.4302-4311.2002.
8. BIELASZEWSKA, Martina; MELLMANN, Alexander; ZHANG, Wenlan; KÖCK, Robin; FRUTH, Angelika; BAUWENS, Andreas; PETERS, Georg; KARCH, Helge. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 671-676, set. 2011. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(11\)70165-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70165-7).
 9. 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.
 10. BOISEN, N.; RUIZ-PEREZ F.; SCHEUTZ F.; KROGFELT A.; NATARO J. P.; High Prevalence of Serine Protease Autotransporter Cytotoxins among Strains of Enteroaggregative *Escherichia coli*. **Am. J. Trop. Med.**, 80(2): 249-301, feb, 2009.
 11. BOISEN, N.; SCHEUTZ, F.; RASKO, D. A.; REDMAN, J. C.; PERSSON, S.; SIMON, J.; KOTLOFF, K. L.; LEVINE, M. M.; SOW, S.; TAMBOURA, B.. Genomic Characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* From Children in Mali. **Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 205, n. 3, p. 431-444, 19 dez. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jir757>.
 12. BRUNET, Yannick R.; BERNARD, Christophe S.; CASCALES, Eric. Fur-Dam Regulatory Interplay at an Internal Promoter of the Enteroaggregative *Escherichia coli* Type VI Secretion *sci1* Gene Cluster. **Journal Of Bacteriology**, [S.L.], v. 202, n. 10, p. 1-9, 27 abr. 2020. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00075-20>.
 13. BUCHHOLZ, Udo; BERNARD, Helen; WEBER, Dirk; BÖHMER, Merle M.; REMSCHMIDT, Cornelius; WILKING, Hendrik; DELERÉ, Yvonne; HEIDEN, Matthias An Der; ADLHOCH, Cornelia; DREESMAN, Johannes. German Outbreak of *Escherichia coli* O104: h4 associated with sprouts. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 365, n. 19, p. 1763-1770, 10 nov. 2011. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1106482>.
 14. CANIZALEZ-ROMAN, Adrián; NAVARRO-GARCÍA, Fernando. Fodrin CaM-binding domain cleavage by Pet from enteroaggregative *Escherichia coli* leads to actin cytoskeletal disruption. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 947-958, 8 maio 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03492.x>.
 15. CHAUDHURI, Roy R.; SEBAIHIA, Mohammed; HOBMAN, Jon L.; WEBBER, Mark A.; LEYTON, Denisse L.; GOLDBERG, Martin D.; CUNNINGHAM, Adam F.; SCOTT-TUCKER, Anthony; FERGUSON, Paul R.; THOMAS, Christopher M.. Complete Genome Sequence and Comparative Metabolic Profiling of the Prototypical Enteroaggregative *Escherichia coli* Strain 042. **Plos One**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-19, 20 jan. 2010. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008801>.
 16. CLARKE, Marcie B.; SPERANDIO, Vanessa. Transcriptional autoregulation by quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C

- (QseBC) in enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC). *Molecular Microbiology*, [S.L.], v. 58, n. 2, p. 441-455, 31 ago. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04819.x>.
17. CORDEIRO, Alexander Magno et al. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 428-431, dez. 2007.
 18. ČOBELJIĆ, M.; MILJKOVIĆ-SELIMOVIĆ, B.; PAUNOVIĆ-TODOSIJEVIĆ, D.; VELIČKOVIĆ, Z.; LEPLANOVIĆ, Z.; ZEC, N.; SAVIĆ, D.; ILIĆ, R.; KONSTANTINOVIĆ, S.; JOVANOVIĆ, B.. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhoea in a neonatal nursery ward. **Epidemiology And Infection**, [S.L.], v. 117, n. 1, p. 11-16, ago. 1996. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0950268800001072>.
 19. CRAVIOTO, A.; GROSS, R. J.; SCOTLAND, S. M.; ROWE, B.. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. **Current Microbiology**, [S.L.], v. 3, n. 2, p. 95-99, mar. 1979. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02602439>.
 20. CZEZULIN, J. R.; BALEPUR, S; PHILLIPS, A.; HALL, R.; KOTARY, 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.
 21. DALLMAN, Timothy J.; CHATTAWAY, Marie A.; COWLEY, Lauren A.; DOUMITH, Michel; TEWOLDE, Rediat; WOOLDRIDGE, David J.; UNDERWOOD, Anthony; READY, Derren; WAIN, John; FOSTER, Kirsty. An Investigation of the Diversity of Strains of Enteroaggregative *Escherichia coli* Isolated from Cases Associated with a Large Multi-Pathogen Foodborne Outbreak in the UK. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 1-10, 20 maio 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098103>.
 22. DIAS, Regiane C. B.; TANABE, Rodrigo H. S.; VIEIRA, Melissa A.; CERGOLE-NOVELLA, Maria C.; SANTOS, Luís F. dos; GOMES, Tânia A. T.; ELIAS, Waldir P.; HERNANDES, Rodrigo T.. Analysis of the Virulence Profile and Phenotypic Features of Typical and Atypical Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) Isolated From Diarrheal Patients in Brazil. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-10, 22 abr. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2020.00144>.
 23. DUDLEY, Edward G.; THOMSON, Nicholas R.; PARKHILL, Julian; MORIN, Nicholas P.; NATARO, James P.. Proteomic and microarray characterization of the AggR regulon identifies a pheU pathogenicity island in enteroaggregative *Escherichia coli*. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 61, n. 5, p. 1267-1282, set. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05281.x>.
 24. ELIAS, Waldir P.; CZEZULIN, John R.; HENDERSON, Ian R.; TRABULSI, Luiz R.; NATARO, James P.. Organization of Biogenesis Genes for Aggregative Adherence Fimbria II Defines a Virulence Gene Cluster in Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Journal Of Bacteriology*,

- [S.L.], v. 181, n. 6, p. 1779-1785, 15 mar. 1999. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.181.6.1779-1785.1999>.
25. ESLAVA, Carlos; NAVARRO-GARCÍA, Fernando; CZECHULIN, John R.; HENDERSON, Ian R.; CRAVIOTO, Alejandro; NATARO, James P.. Pet, an Autotransporter Enterotoxin from Enteroaggregative Escherichia coli. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 66, n. 7, p. 3155-3163, jul. 1998. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.66.7.3155-3163.1998>.
 26. ESTRADA-GARCIA, Teresa; NAVARRO-GARCIA, Fernando. Enteroaggregative Escherichia coli pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. **Fems Immunology & Medical Microbiology**, [S.L.], v. 66, n. 3, p. 281-298, dez. 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695x.2012.01008.x>.
 27. A FASANO,; NORIEGA, F R; MANEVAL, D R; CHANASONGCRAM, S; RUSSELL, 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.. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 95, n. 6, p. 2853-2861, 1 jun. 1995. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci117991>.
 28. GOMES, Tânia A.T.; ELIAS, Waldir P.; SCALETSKY, Isabel C.A.; GUTH, Beatriz E.C.; RODRIGUES, Juliana F.; PIAZZA, Roxane M.F.; FERREIRA, Luís C.s.; MARTINEZ, Marina B.. Diarrheagenic Escherichia coli. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 47, p. 3-30, dez. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>.
 29. GUYER, Debra M.; HENDERSON, Ian R.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry L. T.. Identification of Sat, an autotransporter toxin produced by uropathogenic Escherichia coli. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 53-66, out. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02110.x>.
 30. 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**. 2007 Maio;60(2-3):154-5. PMID: 17515660.
 31. HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative Escherichia coli infection. **FEMS Microbiol Lett**, v. 254, n. 1, p. 12-8, Jan 2006. ISSN 0378-1097. Available at: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16451173> >.
 32. HARRINGTON, Susan M.; SHEIKH, Jalaluddin; HENDERSON, Ian R.; RUIZ-PEREZ, Fernando; COHEN, Paul S.; NATARO, James P.. The Pic Protease of Enteroaggregative Escherichia coli Promotes Intestinal Colonization and Growth in the Presence of Mucin. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 77, n. 6, p. 2465-2473, jun. 2009. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.01494-08>.
 33. HENDERSON, Ian R; NAVARRO-GARCIA, Fernando; NATARO, James P. The great escape: structure and function of the autotransporter proteins. **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 6, n. 9, p. 370-378, set. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x\(98\)01318-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x(98)01318-3).
 34. HENDERSON, Ian R.; HICKS, Susan; NAVARRO-GARCIA, Fernando; ELIAS, Waldir P.; PHILIPS, Alan D.; NATARO, James P.. Involvement of

- the Enteroaggregative Escherichia coli Plasmid-Encoded Toxin in Causing Human Intestinal Damage. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 67, n. 10, p. 5338-5344, out. 1999. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.67.10.5338-5344.1999>.
35. HENDERSON, Ian R.; CZECHULIN, John; ESLAVA, Carlos; NORIEGA, Fernando; NATARO, James P.. Characterization of Pic, a Secreted Protease of Shigella flexneri and Enteroaggregative Escherichia coli. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 67, n. 11, p. 5587-5596, nov. 1999. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.67.11.5587-5596.1999>.
 36. HENDERSON, Ian R.; NAVARRO-GARCIA, Fernando; DESVAUX, Mickaël; FERNANDEZ, Rachel C.; ALA'ALDEEN, Dlawer. Type V Protein Secretion Pathway: the autotransporter story. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 692-744, dez. 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mnbr.68.4.692-744.2004>.
 37. HENDERSON, Ian R.; CZECHULIN, John; ESLAVA, Carlos; NORIEGA, Fernando; NATARO, James P.. Characterization of Pic, a Secreted Protease of Shigella flexneri and Enteroaggregative Escherichia coli. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 67, n. 11, p. 5587-5596, nov. 1999. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.67.11.5587-5596.1999>.
 38. VAN HOUTT, Rob; MICHELIS, Chris W.. Role of bacterial cell surface structures in Escherichia coli biofilm formation. **Research In Microbiology**, [S.L.], v. 156, n. 5-6, p. 626-633, jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2005.02.005>.
 39. HUANG, David B; OKHUYSEN, Pablo C; JIANG, Zhi-Dong; DUPONT, Herbert L. Enteroaggregative Escherichia coli: an emerging enteric pathogen. American Journal Of Gastroenterology, [S.L.], v. 99, n. 2, p. 383-389, fev. 2004. **Ovid Technologies** (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04041.x>.
 40. HUGHES, David T.; CLARKE, Marcie B.; YAMAMOTO, Kaneyoshi; RASKO, David A.; SPERANDIO, Vanessa. The QseC Adrenergic Signaling Cascade in Enterohemorrhagic E. coli (EHEC). Plos Pathogens, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 1-13, 21 ago. 2009. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000553>.
 41. ITOH, Y; NAGANO, I; KUNISHIMA, M; EZAKI, T. Laboratory investigation of enteroaggregative Escherichia coli O untypeable: h10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 35, n. 10, p. 2546-2550, out. 1997. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.35.10.2546-2550.1997>.
 42. IZQUIERDO, Mariana; NAVARRO-GARCIA, Fernando; NAVA-ACOSTA, Raul; NATARO, James P.; RUIZ-PEREZ, Fernando; FARFAN, Mauricio J.. Identification of Cell Surface-Exposed Proteins Involved in the Fimbria-Mediated Adherence of Enteroaggregative Escherichia coli to Intestinal Cells. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 1719-1724, abr. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.01651-13>.

43. JENKINS, Claire. Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Current Topics In Microbiology And Immunology*, [S.L.], p. 27-50, 2018. **Springer International Publishing**. http://dx.doi.org/10.1007/82_2018_105.
44. JENSEN, Betina Hebbelstrup; OLSEN, Katharina E. P.; STRUVE, Carsten; KROGFELT, Karen Angeliki; PETERSEN, Andreas Munk. Epidemiology and Clinical Manifestations of Enteroaggregative *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 614-630, jul. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00112-13>.
45. JØNSSON, R.; STRUVE, C.; BOLSEN, N.; MATELU, R. V.; SANTIAGO, A. E.; JENSSEN H., NATARO, J. P.; KROGFELT, K. A. Novel Aggregative Adherence Fimbria Variant of Enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, vol. 83, p. 1396-1405.
46. JOURNET, Laure; CASCALES, Eric. The Type VI Secretion System in *Escherichia coli* and Related Species. *Ecosal Plus*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-9, 11 jan. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0009-2015>.
47. KAPER, James B.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry L. T.. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 123-140, fev. 2004. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro818>.
48. KUNSMANN, Lisa; RÜTER, Christian; BAUWENS, Andreas; GREUNE, Lilo; GLÜDER, Malte; KEMPER, Björn; FRUTH, Angelika; WAI, Sun Nyunt; HE, Xiaohua; LLOUBES, Roland. Virulence from vesicles: novel mechanisms of host cell injury by *escherichia coli* o104. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-18, 18 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep13252>.
49. KULP, Adam; KUEHN, Meta J.. Biological Functions and Biogenesis of Secreted Bacterial Outer Membrane Vesicles. *Annual Review Of Microbiology*, [S.L.], v. 64, n. 1, p. 163-184, 13 out. 2010. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413>.
50. LANATA, C. F; FISCHER-WALKER C. L. *et al.*, Global Causes of Diarrheal Disease Mortality in Children <5 years of age: A Systematic Review. **PLoS One**, v.8, n 9, p. e72788, 2013. dx.doi.org
51. LEIMBACH, Andreas; HACKER, Jörg; DOBRINDT, Ulrich. *E. coli* as an All-Rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. **Between Pathogenicity And Commensalism**, [S.L.], p. 3-32, 2013. Springer Berlin Heidelberg. http://dx.doi.org/10.1007/82_2012_303.
52. LIMA, Aldo A.M.; MEDEIROS, Pedro H.Q.s.; HAVT, Alexandre. Enteroaggregative *Escherichia coli* subclinical and clinical infections. **Current Opinion In Infectious Diseases**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 433-439, out. 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/qco.0000000000000477>.
53. MARONCLE, Nathalie M.; SIVICK, Kelsey E.; BRADY, Rebecca; STOKES, Faye-Ellen; MOBLEY, Harry L. T.. Protease Activity, Secretion, Cell Entry, Cytotoxicity, and Cellular Targets of Secreted Autotransporter Toxin of Uropathogenic *Escherichia coli*. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 74, n. 11, p. 6124-6134, nov. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.01086-06>.

54. MÉNARD, Louis-Philippe; DUBREUIL, J. Daniel. Enteroaggregative *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin 1 (EAST1): a new toxin with an old twist. **Critical Reviews In Microbiology**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 43-60, jan. 2002. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1040-840291046687>.
55. MEZA-SEGURA, Mario; ZAIDI, Mussaret B.; LEÓN, Arturo Vera-Ponce de; MORAN-GARCIA, Nadia; MARTINEZ-ROMERO, Esperanza; NATARO, James P.; ESTRADA-GARCIA, Teresa. New Insights Into DAEC and EAEC Pathogenesis and Phylogeny. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 10, n. 0, p. 1-16, 15 out. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2020.572951>.
56. MOAL, Vanessa Liévin-Le; COMENGE, Yannick; RUBY, Vincent; AMSELLEM, Raymonde; NICOLAS, Valérie; SERVIN, Alain L.. Secreted autotransporter toxin (Sat) triggers autophagy in epithelial cells that relies on cell detachment. **Cellular Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 992-1013, 26 abr. 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01595.x>.
57. MODGIL, Vinay; CHAUDHARY, Pankaj; BHARTI, Bhavneet; MAHINDROO, Jaspreet; YOUSUF, Md; KOUNDAL, Meenakshi; MOHAN, Balvinder; TANEJA, Neelam. Prevalence, Virulence Gene Profiling, and Characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* from Children with Acute Diarrhea, Asymptomatic Nourished, and Malnourished Children Younger Than 5 Years of Age in India. **The Journal Of Pediatrics**, [S.L.], v. 234, n. 1, p. 106-114, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2021.03.010>.
58. MONTEIRO-NETO, Valerio; BANDO, Silvia Y.; MOREIRA-FILHO, Carlos A.; GIRON, Jorge A.. Characterization of an outer membrane protein associated with haemagglutination and adhesive properties of enteroaggregative *Escherichia coli* O111: h12. **Cellular Microbiology**, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 533-547, ago. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1462-5822.2003.00299.x>.
59. MORAES, Claudia T. P.; LONGO, Jonathan; SILVA, Ludmila B.; PIMENTA, Daniel C.; CARVALHO, Eneas; MORONE, Mariana S. L. C.; RÓS, Nancy da; SERRANO, Solange M. T.; SANTOS, Ana Carolina M.; PIAZZA, Roxane M. F.. Surface Protein Dispersin of Enteroaggregative *Escherichia coli* Binds Plasminogen That Is Converted Into Active Plasmin. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 1-18, 18 jun. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.01222>.
60. 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. **Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 152, n. 3, p. 560-565, 1 set. 1985. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/152.3.560>.
61. NATARO, James P. et al. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Philadelphia, v. 6, n. 9, p. 829-831, jun. 1987.
62. NATARO, J. P.; DENG, Y.; MANEVAL, D. R.; GERMAN, A. L.; MARTIN, W.C.; LEVINE, M. M. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Eschecrihia coli* mediate adhrence to HEp-2 cells and

- hemmagglutination of human erythrocytes. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 2297-2304, 1992.
63. 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.
<https://doi.org/10.1128/iai.61.3.1126-1131.1993>
 64. 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.
 65. NATARO, J. P.; YIKANG, D.; COOKSON, S.; CRAVIOTO, A.; SAVARINO, S. J.; GUERS, L. D.; LEVINE, M. M.; TACKET, C. O.. Heterogeneity of Enteroaggregative *Escherichia Coli* Virulence Demonstrated. **Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 171, n. 2, p. 465-468, 1 fev. 1995. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/171.2.465>.
 66. NATARO, James P.; KAPER, James B.. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 142-201, jan. 1998. **American Society for Microbiology**.
<http://dx.doi.org/10.1128/cmr.11.1.142>.
 67. NATARO, James P., Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Current Opinion in Gastroenterology* 2005, 21: 4-B.
 68. NAVARRO-GARCIA, Fernando; ELIAS, Waldir P.. Autotransporters and virulence of enteroaggregative *E. coli*. **Gut Microbes**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 13-24, jan. 2011. Informa UK Limited.
<http://dx.doi.org/10.4161/gmic.2.1.14933>.
 69. NISHI, Junichiro; SHEIKH, Jalaluddin; MIZUGUCHI, Kenji; LUISI, Ben; BURLAND, Valerie; BOUTIN, Adam; ROSE, Debra J.; BLATTNER, Frederick R.; NATARO, James P.. The Export of Coat Protein from Enteroaggregative *Escherichia coli* by a Specific ATP-binding Cassette Transporter System. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 278, n. 46, p. 45680-45689, nov. 2003. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m306413200>.
 70. RASKO, David A.; WEBSTER, Dale R.; SAHL, Jason W.; BASHIR, Ali; BOISEN, Nadia; SCHEUTZ, Flemming; PAXINOS, Ellen E.; SEBRA, Robert; CHIN, Chen-Shan; ILIOPOULOS, Dimitris. Origins of the *E. coli* Strain Causing an Outbreak of Hemolytic-Uremic Syndrome in Germany. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 365, n. 8, p. 709-717, 25 ago. 2011. Massachusetts Medical Society.
<http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1106920>.
 71. RIBEIRO, Tamara Renata Machado. **Sinalização química e virulência de *Escherichia coli* O104:H4 (EAEC Stx+)**. 2017. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas À Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (Unesp), Araraquara, 2017.
 72. RIBEIRO, Tamara Renata Machado; LUSTRI, Bruna Cardinali; ELIAS, Waldir P.; MOREIRA, Cristiano Gallina. QseC Signaling in the Outbreak O104: h4 *Escherichia coli* strain combines multiple factors during infection.

- Journal Of Bacteriology, [S.L.], v. 201, n. 17, p. 1-17, set. 2019. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00203-19>.
73. RIBEIRO, Tamara Renata Machado; SALGAÇO, Mateus Kawata; ADORNO, Maria Angela Tallarico; SILVA, Miriam Aparecida da; PIAZZA, Roxane Maria Fontes; SIVIERI, Katia; MOREIRA, Cristiano Gallina. Human microbiota modulation via QseC sensor kinase mediated in the Escherichia coli O104: h4 outbreak strain infection in microbiome model. *Bmc Microbiology*, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1-14, 2 jun. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-021-02220-3>.
 74. ROTHER, Edna Terezinha. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 5-6, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-21002007000200001>.
 75. RUIZ-PEREZ, Fernando; NATARO, James P.. Bacterial serine proteases secreted by the autotransporter pathway: classification, specificity, and role in virulence. **Cellular And Molecular Life Sciences**, [S.L.], v. 71, n. 5, p. 745-770, 21 maio 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-013-1355-8>.
 76. SAVARINO, S J; A FASANO,; ROBERTSON, D C; LEVINE, M M. Enteroaggregative Escherichia coli elaborate a heat-stable enterotoxin demonstrable in an in vitro rabbit intestinal model. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 87, n. 4, p. 1450-1455, 1 abr. 1991. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci115151>.
 77. SAVARINO, S J; A FASANO,; WATSON, J; MARTIN, B M; LEVINE, M M; GUANDALINI, S; GUERRY, P. Enteroaggregative Escherichia coli heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of E. coli heat-stable toxin. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 90, n. 7, p. 3093-3097, abr. 1993. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.90.7.3093>.
 78. SCAVIA, Gaia; STAFFOLANI, Monica; FISICHELLA, Stefano; STRIANO, Gianluca; COLLETTA, Stefano; FERRI, Giovanni; ESCHER, Martina; MINELLI, Fabio; CAPRIOLI, Alfredo. Enteroaggregative Escherichia coli associated with a foodborne outbreak of gastroenteritis. **Journal Of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 57, n. 9, p. 1141-1146, 1 set. 2008. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.2008/001362-0>.
 79. Servin, Alain L., Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering Escherichia coli. **Clin. Microbiol. Rev.** [S.L.], v. 18, n. 2, 264-292, abr. 2005. American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/LAI.01646-07>
 80. SHEIKH, Jalaluddin; CZEZULIN, John R.; HARRINGTON, Susan; HICKS, Susan; HENDERSON, Ian R.; BOUGUÉNEC, Chantal Le; GOUNON, Pierre; PHILLIPS, Alan; NATARO, James P.. A novel dispersin protein in enteroaggregative Escherichia coli. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 110, n. 9, p. 1329-1337, 1 nov. 2002. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci16172>.
 81. SHEIKH, Jalaluddin; HICKS, Susan; DALL'AGNOL, Monique; PHILLIPS, Alan D.; NATARO, James P.. Roles for Fis and YafK in biofilm formation by enteroaggregative Escherichia coli. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 983-997, 7 jul. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02512.x>.

82. SMITH, Hr; CHEASTY, T; ROWE, B. Enteroaggregative *Escherichia coli* and outbreaks of gastroenteritis in UK. **The Lancet**, [S.L.], v. 350, n. 9080, p. 814-815, set. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)62611-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(05)62611-6).
83. 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. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 177, n. 1, p. 88-96, jan. 1998. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/513809>.
84. TENAILLON, Olivier; SKURNIK, David; PICARD, Bertrand; DENAMUR, Erick. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 207-217, mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2298>.
85. TROEGER, Christopher; BLACKER, Brigitte F; A KHALIL, Ibrahim; RAO, Puja C; CAO, Shujin; ZIMSEN, Stephanie Rm; ALBERTSON, Samuel B; STANAWAY, Jeffery D; DESHPANDE, Aniruddha; ABEBE, Zegeye. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 1211-1228, nov. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30362-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30362-1).
86. TRUNG, Nguyen Vinh; NHUNG, Hoang Ngoc; CARRIQUE-MAS, Juan J.; MAI, Ho Huynh; TUYEN, Ha Thanh; CAMPBELL, James; NHUNG, Nguyen Thi; VAN MINH, Pham; WAGENAAR, Jaap A.; MAI, Nguyen Thi Nhu. Colonization of Enteroaggregative *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in chickens and humans in southern Vietnam. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-6, 9 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-016-0827-z>.
87. TSENG, Tsai-Tien; TYLER, Brett M; SETUBAL, João C. Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-9, fev. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-9-s1-s2>.
88. UBER, Ana Paula; TRABULSI, Luiz R.; IRINO, Kinue; BEUTIN, Lothar; GHILARDI, Â...Ngela C. R.; GOMES, TãçNia A. T.; LIBERATORE, Ana Maria A.; CASTRO, Antãnio F. P.; ELIAS, Waldir P.. Enteroaggregative *Escherichia coli* from humans and animals differ in major phenotypical traits and virulence genes. **Fems Microbiology Letters**, [S.L.], v. 256, n. 2, p. 251-257, mar. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00124.x>.
89. VASCONCELLOS, Francieli Mahnic de. **Estudo do padrão de adesão agregativa de *Escherichia coli* do sorotipo O142:H34**. 2014. 113 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Interunidades em Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
90. VASUDEVAN, Pradeep; ANNAMALAI, Thirunavukkarasu; SARTORI, Luigi; HOAGLAND, Thomas; VENKITANARAYANAN, Kumar. Behavior of Enteroaggregative *Escherichia coli* in Bottled Spring and Mineral

- Water†. **Journal Of Food Protection**, [S.L.], v. 66, n. 3, p. 497-500, 1 mar. 2003. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-66.3.497>.
91. VELARDE, Jorge J.; VARNEY, Kristen M.; INMAN, Keith G.; FARFAN, Mauricio; DUDLEY, Edward; FLETCHER, Jonathan; WEBER, David J.; NATARO, James P.. Solution structure of the novel dispersin protein of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 66, n. 5, p. 1123-1135, dez. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05985.x>.
 92. 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. <https://doi.org/10.1093/infdis/158.1.70>
 93. YASIR, Muhammad; ICKE, Christopher; ABDELWAHAB, Radwa; HAYCOCKS, James R.; GODFREY, Rita E.; SAZINAS, Pavelas; PALLAN, Mark J.; HENDERSON, Ian R.; BUSBY, Stephen J. W.; BROWNING, Douglas F.. Organization and architecture of AggR-dependent promoters from enteroaggregative *Escherichia coli*. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 111, n. 2, p. 534-551, 18 dez. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/mmi.14172>.