

Originales | Theresa J. Ochoa<sup>1,2</sup>, Carmen Contreras<sup>1</sup>, Susan Mosquito<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. <sup>2</sup>University of Texas School of Public Health, Houston, USA

## Alcances sobre la situación epidemiológica de las *E. coli* diarreogénicas aisladas de niños peruanos

### RESUMEN

Las *E. coli* diarreogénicas (DEC) son una causa importante de diarrea en niños peruanos. La importancia de cada patotipo de *E. coli* es variable, y dependiente de diferentes factores, tales como la edad del niño y el nivel socioeconómico, el tipo de estudio y la metodología de laboratorio. Entre las DEC, los patotipos más frecuentes son *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteropatogénica y *E. coli* enteroagregativa. Es necesario realizar más estudios principalmente enfocados en el estudio de los alimentos y los reservorios animales para definir las rutas de transmisión y la situación epidemiológica local de estos agentes diarreicos importantes.

**Palabras clave:** *Escherichia coli* diarreogénicas, genes de virulencia, resistencia a antimicrobianos, niños, Perú.

### SUMMARY Scope of the epidemiological situation of diarrheagenic *E. coli* isolated in Peruvian children

The diarrheagenic *E. coli* (DEC) are important agents of acute and persistent diarrhea in children from Peru. The relative importance of each pathotype (and its variants) is variable and may be attributed to different factors such as age of children and socioeconomic level, type of study, and laboratory methodology used. However, within the DEC group the most common agents are enterotoxigenic *E. coli*, enteropathogenic *E. coli* and enteroaggregative *E. coli*. Further studies are needed, mainly in food and animal reservoirs, in order to better define the transmission and the local and regional epidemiology of these important diarrheal agents.

**Keywords:** Diarrheagenic *E. coli*, virulence genes, drug resistance, children, Peru.

*Can Pediatr* 2010; 34 (3) : 133-138

#### Correspondencia :

Theresa J. Ochoa  
 Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia,  
 Dirección: Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porras, Lima 33, Perú.  
 Teléfono: 51-1-482-3903;  
 Fax 51-1-482-3404;  
 E-mail: Theresa.J.Ochoa@uth.tmc.edu

### INTRODUCCIÓN

La diarrea continúa siendo un problema de salud en todo el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo, donde es responsable de 1.87 millones de muertes/año (95%, 1.5-2.19) en niños menores de 5 años<sup>1</sup>. Así mismo, la diarrea aguda contribuye a incrementar la morbilidad y el costo de los gastos en la salud de los niños de las ciudades desarrolladas<sup>1,2</sup>. En los países pobres, se ha estimado que los niños tienen de tres a cuatro episodios de diarrea por año<sup>2</sup>; esta alta morbilidad en los niños que viven en zonas pobres, se traduce en una tasa de mortalidad significativa a pesar de su baja letalidad<sup>1,3,4</sup>.

Dentro del grupo de bacterias asociadas con la enfermedad diarreica infantil, se encuentran los diferentes patotipos de *Escherichia coli* diarreogénicas (DEC, del término en inglés Diarrheagenic *E. coli*). Estas bacterias pueden colonizar el tracto gastrointestinal de los seres humanos y son transmitidas directamente de persona a persona, de animal a persona o indirectamente a través del agua y los alimentos contaminados. Basados en los factores de virulencia específicos y en su mecanismo de patogenicidad en el hospedero<sup>5</sup> se divide en seis patotipos: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC)<sup>6</sup>.

Las DEC causan de un 30 a un 40% de diarreas agudas en niños de países desarrollados<sup>3</sup>. En una revisión reciente de la Organización Mundial de la Salud, después de rotavirus, EPEC y ETEC se plantean como prioridad para el desarrollo de vacunas, debido a su alta morbilidad y mortalidad<sup>4</sup>. Por lo tanto, es importante conocer la distribución local y regional de estos patógenos.

### SITUACIÓN EN PERÚ

Los diferentes patotipos de las DEC han sido evaluados en estudios enfocados en poblaciones pediátricas y de adultos en el Perú, usando una variedad de métodos de diagnóstico (serotipado, cultivo de tejidos, ELISA, etc.) Sin embargo, no es hasta la década pasada, cuando los métodos moleculares empezaron a ser usados con más

frecuencia, en la que se realizó una búsqueda sistemática de los seis patotipos diarreogénicos de *E. coli*. En un primer momento, en los informes de Perú (sin utilizar métodos moleculares) se reportó que la prevalencia de EPEC en niños varía de 1 a 28% (Tabla 1). Este rango de variación, es un reflejo de las diferencias en las poblaciones estudiadas, grupos etarios, los criterios de diagnóstico y los métodos utilizados para el diagnóstico. Actualmente, usando métodos moleculares (identificación del gen de intimina, *eae*), EPEC es responsable del 5-10% de los episodios de diarrea infantil.

**TABLA I** Prevalencia de EPEC en niños peruanos con diarrea basada en los métodos de diagnóstico no moleculares

Otras técnicas usadas fueron, la evaluación del patrón de adherencia a cultivos de células HEp-2 y la serotipificación. Las tasas de prevalencia de EPEC obtenidas con estos métodos fueron más altas, en promedio 10-20%, con una gran variabilidad entre los estudios<sup>7</sup>.

Así mismo, como ya se mencionó antes, la prevalencia de cada patógeno varía en función de la edad, de la población y del tipo de estudio (vigilancia activa vs. a vigilancia pasivos; hospitales vs. la comunidad) (Tabla 2). En un estudio donde se evaluaron niños con diarrea y deshidratación (Tabla 2, estudio número 3), el patógeno más común fue ETEC, responsable del 20,8% de todos los episodios de diarrea. Por

Referencia	Población / Descripción del estudio	Prevalencia de EPEC (%)
Salazar-Lindo, 2004	179 niños hospitalizados con diarrea aguda (3 a 36 meses de edad). Ensayo clínico de <i>Lactobacillus</i>	15.4
Salazar-Lindo, 2000	135 niños hospitalizados con diarrea aguda (3 a 35 meses de edad). Ensayo clínico-Racecadotril	19.3
Salazar-Lindo, 1998	- 36 niños hospitalizados con diarrea persistente (18 meses de edad en promedio) - 64 niños hospitalizados con diarrea aguda (14 meses de edad en promedio) Estudio de diarrea aguda y persistente	8.3 1.5
Castro-Rodríguez, 1997	80 niños hospitalizados con diarrea acuosa (3 a 24 meses de edad). Estudio de diarrea osmótica vs. secretoria	27.8
Lopez, 1996	- 107 pacientes hospitalizados con diarrea persistente (< 1 año de edad) - 1325 pacientes hospitalizados con diarrea aguda (< 1 año de edad) Estudio de diarrea persistente y aguda	10.5 10.1
Figuroa-Quintanilla, 1993	- 107 pacientes hospitalizados con diarrea persistente (< 1 año de edad) - 1325 pacientes hospitalizados con diarrea aguda (< 1 año de edad) Estudio de diarrea persistente y aguda	26.9
Lanata, 1992	- 327 muestras de niños con diarrea aguda - 304 muestras de niños con diarrea persistente Estudio longitudinal de diarrea aguda y persistente en niños con diarrea <3 años de edad en área peri-urbana de Lima	3.4 4.9
Salazar-Lindo, 1993	72 niños con diarrea (10 meses de edad en promedio). Estudio clínico de Retinol y diarrea.	4.2
Greenberg, 1991	77 niños con diarrea aguda (< 5 años de edad). Estudio de diarrea asociada a sarampión (controles)	22.1
Pazzaglia, 1991	391 niños hospitalizados con diarrea aguda (< 18 meses de edad). Estudio clínico de <i>Aeromonas</i> (datos de referencia)	11.0

**TABLA 2** Estudios clínicos y epidemiológicos en niños peruanos usando diagnóstico molecular de las *E. coli* diarreogénicas

N	Investigador Principal	Localización	Año	Rango de edad	N° de niños	Descripción del estudio
1	Lanata CF	Huaraz, Ancash (Andes)	1987	0 – 36m	485	Estudio de cohorte. Vigilancia activa de diarrea en la comunidad
2	Zavaleta N	Villa el Salvador, Lima (Lima sur)	2004	6m – 18m	313	Estudio de cohorte. Vigilancia activa de diarrea en la comunidad (ensayo clínico)
3	Zavaleta N	Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima	2005	4m – 36m	120	Niños hospitalizados con deshidratación debido a diarrea aguda (ensayo clínico)
4	Ochoa TJ y Lanata CF	Chorrillos, Villa el Salvador, Villa María del Triunfo, San Juan de Miraflores, Lima (Lima sur)	2006-2007	2m – 12m	1034	Estudio de cohorte. Vigilancia pasiva de diarrea en la comunidad
5	Ochoa TJ, Lanata CF and Huicho L	Chorrillos, Lima (Lima sur)	2008	13m – 20m	529	Estudio de cohorte. Vigilancia pasiva de diarrea en la comunidad
6	Llanos A, Lee J y Lopez F	Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima	2007-2008	0 – 5y	135	Niños con diarrea sanguinolenta captados en sala de emergencia
7	Medina A, Rivera P y Romero L.	Instituto Nacional de Salud del Niño, Hosp. Nacional Cayetano Heredia and Hosp. Nacional Hipólito Unanue	2007-2009	1m – 18y	113	Niños con VIH captados en sala de emergencia o pacientes ambulatorios
8	Cleary TG, Chea E y Ochoa TJ.	Independencia, Lima (Northern Districts)	2008-2009	12m – 24m	350	Estudio de cohorte. Vigilancia activa de diarrea en la comunidad (ensayo clínico)

otro lado, en los niños del entorno de la comunidad, con diarrea leve o moderada, los patógenos más comunes fueron EAEC, EPEC y DAEC (Tabla 2, estudios 4 y 5)<sup>8</sup>, aunque la frecuencia de cada patógeno puede variar dependiendo de la edad de la población estudiada. STEC fue aislada con poca frecuencia de niños con diarrea del entorno de la comunidad (0,5-1%) (Tabla 3). Sin embargo, en un estudio llevado a cabo en niños que tuvieron episodios de diarrea sanguinolenta (captados en la sala de emergencias de un hospital), se encontró que STEC fue responsable de un 9% de todos los episodios (Tabla 2, estudio 6 y Tabla 3, estudio 6). Mientras que en niños infectados con el VIH (Tabla 2, estudio número 7), los patógenos más frecuentes

fueron la EAEC y EPEC9. En general entre las muestras de niños sanos (de todos los estudios), sin diarrea u otros síntomas gastrointestinales, el aislamiento de las DEC es menos frecuente, que en las muestras diarreicas. Así, las DEC más frecuentes fueron EAEC (8% -18%) y EPEC (10% -17%), seguido por ETEC (1% -9%) y DAEC (2% -3%) (Tabla 3).

Entre las DEC, las coinfecciones con otros agentes patógenos son más comunes en los episodios de diarrea que en los controles (40,1% vs 15,6%,  $p < 0,001$ ) (datos del estudio número 4, Tabla 2), principalmente en muestras diarreicas que incluía una DEC. Las infecciones mixtas representan un problema en el estudio de la epidemiología de la diarrea, pues es complicado

determinar qué patógeno es responsable de la enfermedad, o si hay un efecto aditivo de cada agente patógeno presente en una co-infección. Contrario con lo esperado, estos episodios mixtos tienden a tener una duración ligeramente más corta, pero con mayor frecuencia de deshidratación, en comparación con los episodios debido a una infección simple<sup>8</sup>.

**TABLA 3** *E. coli* diarreogénicas aisladas de muestras de diarrea de niños peruanos

N	Estudio (Investigador principal, año) tras	Nº de mues-	DAEC	EAEC	PEC	ETEC	EIEC	STEC
1	Lanata, 1987	598	2.7	6.2	2.7	7.2	0.2	0.5
2	Zavaleta, 2004	556	8.6	13.5	11.0	7.7	0.4	0.9
3	Zavaleta, 2005	120	15.0	5.0	6.6	20.8	0	0
4	Ochoa y Lanata, 2006-7	936	4.6	15.1	7.6	3.2	0	0.5
5	Ochoa, Lanata y Huicho, 2008	193	2.6	8.3	15.6	14.6	0	0.5
6	Llanos, Lee y Lopez, 2007-8	135	7.4	5.2	10.4	7.4	9.6	8.9
7	Medina, Rivera y Romero, 2007-8.	70	1.4	5.7	5.7	4.2	0	1.4
8	Cleary, Chea y Ochoa, 2008-9	703	2.8	6.7	11.1	8.0	0.6	0.3

## DIAGNÓSTICO

La identificación de EPEC en los laboratorios clínicos se basa en la determinación de los serotipos por aglutinación con antisueros O y H. Según lo demostrado en un estudio llevado a cabo en Lima donde se evaluaron 113 cepas de EPEC aisladas de niños y diagnosticadas por serología, sólo 15 cepas (13,3%) tenían el gen *eae* (intimina, usado en el diagnóstico molecular de EPEC); además, se encontraron tres cepas ETEC, tres cepas STEC, una cepa EAEC y una cepa EIEC, por lo que se concluyó que los métodos moleculares son más certeros en el diagnóstico de las DEC, aunque estos métodos aún no están disponibles en los laboratorios clínicos de todo el mundo<sup>10</sup>. Recientemente, fue desarrollado un PCR múltiple en tiempo real (RT-PCR) para la detección de los seis grupos de DEC conocidos, EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC, y STEC<sup>11</sup>. En este método los cebadores fueron diseñados para

detectar simultáneamente nueve genes diferentes en una sola reacción: *aggR* (EAEC), *st1*, *st2*, *lt* (ETEC), *eae* (EPEC), *eae*, *stx1*, *stx2* (STEC), *ipaH* (EIEC) y el *daaD* (DAEC)<sup>11</sup>. Para disminuir el costo de este análisis y facilitar su uso en los países en vías de desarrollo, este PCR se realiza a partir de un pool de ADN de cinco colonias lactosa positivas aisladas de placas de agar MacConkey. El análisis del pool tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 100% con un costo de la quinta parte de lo que representaría un análisis de colonias individuales<sup>12</sup>. Este PCR múltiple ha sido utilizado desde 2005 en más de 5000 muestras para el análisis de cepas aisladas de niños pertenecientes a diversos estudios clínicos y epidemiológicos, en los que se buscó determinar la prevalencia de DEC en el Perú (Tabla 3).

## ROL DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA

Las DEC usan una diversa variedad de factores de virulencia para interrumpir las funciones celulares del hospedero. La adquisición de factores de virulencia permite a las bacterias sobrevivir dentro del hospedero, incrementar su virulencia y patogenicidad. Las DEC de un mismo patotipo comparten los genes de virulencia específicos que los categorizan dentro de un mismo grupo; así mismo, dentro de estos grupos se ha observado que existe una diferencia en la composición de genes de virulencia<sup>13,14</sup>, en la diversidad alélica<sup>15</sup>, así como en la expresión de los mismos<sup>16</sup>. Estas diferencias genéticas observadas, hacen que una cepa sea más o menos patogénica. El rol de la variabilidad en los genes de virulencia ha sido demostrado en EPEC. En un estudio donde se evaluaron 120 cepas de EPEC aisladas de una cohorte de niños se demostró que existía una elevada diversidad alélica en tres genes relevantes en la patogenicidad de EPEC, *eae*, *bfpA* y *perA*. De los 13 alelos reportados para el gen *eae*, los más comunes fueron beta (34/120, 28%), theta (24/120, 20%), kappa (14/120, 12%) y mu (8/120, 7%). De estos el alelo kappa del gen *eae* tuvo una tendencia a estar asociado con los cuadros de diarrea más severos ( $p < 0.05$ )<sup>17</sup>. De los genes *bfpA* y *perA*, se observaron como más frecuentes los alelos, beta1/7 (10/26) y beta (8/16), respectivamente. Dentro de esta población también se observó que el subtipo de EPEC más frecuente fue aEPEC (EPEC atípicas, que no poseen el plásmido de virulencia EAF), encontrándose (54/74, 73%) en muestras de diarreas y (40/46, 87%) en controles<sup>17</sup>.

En otro estudio se evaluaron las características genotípicas (toxinas termo estable-st y termo sensible-lt) y fenotípicas (tipos y frecuencias de los factores de colonización) de 85 ce-



pas de ETEC aisladas de casos de diarrea (58 cepas) y controles sanos (27 cepas). ETEC-It fue el subtipo más común (31/60, 52%), seguido por ETEC-st (15/60, 25%) y cepas que tuvieron ambas toxinas ETEC-st/It (14/60, 23%). El factor de colonización más frecuente fue CS6 (14% y 7%), seguido por CS12 (12% y 4%) y CS1 (9% y 4%) en diarrea y control, respectivamente<sup>18</sup>.

En otro estudio, se evaluaron 29 cepas de STEC aisladas previamente de cuatro cohortes realizadas en diferentes comunidades de Perú. Se demostró que la mayoría de cepas de STEC fueron positivas al gen *stx1* (83% cepas), seguidas por *stx2* (17%). Otros genes evaluados en esta población fueron *eae*, *exhA* y *astA* que se encontraron con una frecuencia de 72%, 59% y 14%, respectivamente. El serotipo más frecuente fue el O26: H11 (14%)<sup>19</sup>. Adicionalmente, las DEC como grupo, muestran altos niveles de resistencia a los antimicrobianos en cepas aisladas de episodios de diarrea; así, revelan resistencia a ampicilina-85%, cotrimoxazol-79%, tetraciclina-65% y ácido nalidíxico-28 (datos del estudio número 4, Tabla 2). Entre los distintos grupos de las DEC, las DAEC y EAEC mostraron una frecuencia significativamente mayor de resistencia a la ampicilina, cotrimoxazol, tetraciclina y ácido nalidíxico<sup>20</sup>.

## CONCLUSIONES

En resumen, las DEC en conjunto son responsables del 34% de los casos de diarrea en niños peruanos en Lima. La tasa de aislamiento y la frecuencia relativa de cada patotipo varía en función de la edad de la población estudiada, el tipo y la ubicación del estudio. En la colonización del hospedero y el progreso de la enfermedad intervienen varios factores tales como la virulencia del patógeno, el huésped y el medio ambiente. Las DEC aisladas de los niños peruanos son muy heterogéneas (genes de virulencia variables y polimorfismo dentro de un mismo gen, fenotipo, etc.). Los laboratorios de microbiología en el Perú, como en muchos países, rutinariamente usan serología para detectar EPEC, el cual no es un método exacto para el diagnóstico, por lo que es necesario desarrollar métodos moleculares accesibles. Además, los estudios de epidemiología desarrollados a nivel nacional para identificar las DEC en Perú deben incluir no sólo las áreas peri-urbanas de Lima, sino también las zonas urbanas y rurales en el interior del país, donde la situación social es diferente. Adicionalmente, debe prestarse mayor atención a la situación epidemiológica relacionada con los reservorios en animales, con el objetivo de ampliar el conocimiento de la epidemiología local y regional. Las cepas de

DEC se muestran como importantes reservorios de genes de resistencia a los antimicrobianos, que pueden ser transferibles de una bacteria a otra y, sumado a su amplia distribución, es importante la vigilancia este grupo bacteriano.

## AGRADECIMIENTOS

Francesca Barletta<sup>1</sup>, Eric Mercado<sup>1</sup>, Paul Rivera<sup>1</sup>, Lucie Ecker<sup>2</sup>, Elsa Chea<sup>1</sup>, Ana I. Gil<sup>2</sup>, Nelly Zavaleta<sup>2</sup>, Eric R. Hall<sup>3</sup>, Ryan Maves<sup>3</sup>, Thomas G. Cleary<sup>4</sup>, Claudio F. Lanata<sup>2, 5</sup> (<sup>1</sup>Laboratorio de Enfermedades Entéricas y Nutrición, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Nutricional, Lima, Perú. <sup>3</sup>Naval Medical Research Center Detachment (NMRCD), Lima, Perú. <sup>4</sup>University of Texas School of Public Health, Houston, USA. <sup>5</sup>Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Perú).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. Bull World Health Organ 2008; 86:710-717.
2. Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bull World Health Organ 2003; 81:197-204.
3. O'Ryan M, Prado V, Pickering LK. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. Semin Pediatr Infect Dis 2005; 16:125-136.
4. Lanata CF, Mendoza W, Black RE. Improving diarrhea estimates. WHO ([http://www.who.int/child\\_adolescent\\_health/documents/pdfs/improving\\_diarrhoea\\_estimates.pdf](http://www.who.int/child_adolescent_health/documents/pdfs/improving_diarrhoea_estimates.pdf)) 2002.
5. Schmidt MA. LEeways: tales of EPEC, ATEC, and EHEC. Cell Microbiol 2010; 12: 1.544-1.552.
6. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11:142-201.
7. Ochoa TJ, Barletta F, Contreras C, Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. Trans R Soc Trop Med Hyg 2008; 102:852-856.
8. Ochoa TJ, Ecker L, Barletta F, Mispireta M, Gil A, Contreras C, Molina M, Amemiya I, Verastegui H, Hall ER, Cleary TG, Lanata CF. Age-related susceptibility to infection with diarrheagenic *Escherichia coli* in infants from Periurban areas in Lima, Peru. Clin Infect Dis 2009; 49:1.694-1.702.
9. Medina AM, Rivera FP, Romero LM, Kolevic LA, Castillo ME, Verne E, Hernandez R, Mayor YE, Barletta F, Mercado E, Ochoa TJ. Diarrheagenic *Escherichia coli* in human immunodeficiency virus (HIV) pediatric patients in Lima, Peru. Am J Trop Med Hyg 2010; 83:158-163.

10. Lluque A, Mercado E, Riveros M, Alvarado L, Carlos E, Colichon A, Salazar E, Ochoa T. Comparison of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) diagnosis by serology and by polymerase chain reaction (PCR). *Rev Gastroenterol Peru* 2010; 30:121-125.
11. Guion CE, Ochoa TJ, Walker CM, Barletta F, Cleary TG. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1.752-757.
12. Barletta F, Ochoa TJ, Ecker L, Gil AI, Lanata CF, Cleary TG. Validation of five-colony pool analysis using multiplex real-time PCR for detection of diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1.915-1.917.
13. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, Isaac-Renton J, Clark C, Rahn K, Kaper JB. Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* serotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol* 2003; 41:4.930-4.940.
14. Afset JE, Bruant G, Brousseau R, Harel J, Anderssen E, Bevanger L, Bergh K. Identification of virulence genes linked with diarrhea due to atypical enteropathogenic *Escherichia coli* by DNA microarray analysis and PCR. *J Clin Microbiol* 2006; 44:3.703-3.711.
15. Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Mora A, Alonso MP, Varela G, Gadea MP, Schelotto F, González EA, Blanco J. Typing of intimin (*eae*) genes from enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children with diarrhoea in Montevideo, Uruguay: identification of two novel intimin variants (*muB* and *xiR/beta2B*). *J Med Microbiol* 2006; 55:1.165-1.174.
16. Contreras CA, Bustamante VH, Ochoa T, Riveros M, Lanata CF, Cleary TG et al. Comparison of secreted proteins and actin polymerization among diarrhea and control Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains isolated from Peruvian. American Society of Tropical Medicine and Hygiene 59th Annual Meeting, 2010.
17. Contreras CA, Ochoa TJ, Lacher DW, DebRoy C, Navarro A, Talledo M, Donnenberg MS, Ecker L, Gil AI, Lanata CF, Cleary TG. Allelic variability of critical virulence genes (*eae*, *bfpA* and *perA*) in typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in Peruvian children. *J Med Microbiol* 2010; 59:25-31.
18. Rivera FP, Ochoa TJ, Maves RC, Bernal M, Medina AM, Meza R, Barletta F, Mercado E, Ecker L, Gil AI, Hall ER, Huicho L, Lanata CF. Genotypic and phenotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from Peruvian children. *J Clin Microbiol* 2010; 48:3.198-3.203.
19. Contreras CA, Ochoa T, Ruiz J, Lacher DW, Rivera FP, Saenz Y et al. Phylogenetic relationships of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from Peruvian children. *J Clin Microbiol* Submitted 2010.
20. Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil AI, Ecker L, Barletta F, Hall E, Cleary TG, Lanata CF. High Frequency of Antimicrobial Drug Resistance of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Infants in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81:296-301.