

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, CORRIENTES, ARGENTINA

Detección de *Escherichia coli* diarreogénicos en niños de barrios humildes de Corrientes, Argentina

Marcelo Gabriel Medina,¹ Patricia Esquivel,² Viviana Lifschitz,² Myriam Lucrecia Medina,³ Liliana Silvina Löscher⁴ y Luis Antonio Merino⁵

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: las diarreas agudas presentan elevada morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo y *Escherichia coli* diarreogénicos aparecen como agentes etiológicos frecuentes en todos ellos. **OBJETIVO:** estudiar la presencia de los diferentes tipos de *Escherichia coli* diarreogénicos en niños que concurren a Centros de Salud de barrios humildes de la ciudad de Corrientes, Argentina. **MÉTODOS:** se cultivaron heces de 120 pacientes con diarrea aguda y en aquellas muestras negativas para *Salmonella* y *Shigella* se seleccionaron aislamientos de *E. coli*, cuyos factores de patogenicidad fueron estudiados mediante reacción en cadena de la polimerasa múltiple. **RESULTADOS:** los 112 pacientes estudiados habitaban viviendas urbanas, con suministro de agua potable y baño instalado. En 41 muestras (37 %) se detectó algún tipo patogénico de *Escherichia coli* diarreogénico sin predominio marcado de ninguno de ellos. No se hallaron diferencias significativas entre la presencia de estos y el sexo o el grupo etario. **CONCLUSIONES:** *Escherichia coli* diarreogénico aparece como un agente etiológico habitual en niños y el reconocimiento de cada tipo implicado permitirá implementar medidas preventivas acordes con la epidemiología de cada uno de ellos.

Palabras clave: *Escherichia coli*, diarreas, niños.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad diarreica aguda es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países en desarrollo, principalmente entre niños menores de 5 años, y la *Escherichia coli* es un importante agente etiológico de estas enfermedades.¹ Este microorganismo coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y si bien forma parte de su flora habitual, en la

actualidad se describen al menos 5 categorías de *E. coli* que poseen capacidad para producir diarreas: *E. coli* enterotoxigénico (ECET), *E. coli* enteropatógeno (ECEP), *E. coli* enteroinvasivo (ECEI), *E. coli* productor de toxina Shiga (ECTS), dentro de los cuales se incluyen cepas enterohemorrágicas (ECEH) y *E. coli* enteroagregativo (ECEA).²

La determinación del grupo serológico sobre la base del antígeno somático O no es suficiente

¹ Magíster en Ciencias Médicas Tropicales. Especialista en Salud Pública. Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina.

² Magíster en Ciencias del Medio Ambiente y la Salud. Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina.

³ Magíster en Ciencias del Medio Ambiente y la Salud. Especialista en Salud Pública. Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina.

⁴ Magíster en Ciencias Médicas Tropicales. Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

⁵ Doctor en Bioquímica. Magíster en Ciencias del Medio Ambiente y la Salud. Especialista en Salud Pública. Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

para identificar una cepa como diarreogénica, porque este no siempre se correlaciona con la presencia de factores de virulencia³ y es por ello que se hace necesario la detección de estos factores en cada aislamiento mediante técnicas de biología molecular.⁴

Si bien existen trabajos previos en relación con las gastroenteritis producidas por *E. coli* diarreogénicos en otras poblaciones,^{5,6} el presente trabajo es el primero que pretendió estudiar la presencia de los diferentes tipos patogénicos de esta bacteria en la población infantil de barrios humildes en la Provincia de Corrientes, Argentina, a fin de conocer la frecuencia relativa de cada uno de ellos y con el propósito final de proyectar medidas de control y tratamiento.

MÉTODOS

Previo consentimiento informado de los padres o tutores y tras la realización de una encuesta epidemiológica, se estudiaron 120 muestras de heces diarreicas de niños que concurrieron a Centros de Salud de barrios periféricos de la ciudad de Corrientes, Argentina. Las muestras se procesaron por métodos habituales de coprocultivo para la

detección de bacterias enteropatógenas⁷ y, en aquellos casos en que estos cultivos hayan arrojado resultados negativos para *Salmonella* o *Shigella*, se seleccionaron 5 aislamientos bioquímicamente compatibles con *E. coli*. Una colonia de cada aislamiento se suspendió en 100 mL de Tritón 1 % en *buffer* Tris-EDTA (pH 8,0), luego de 10 min de incubación a 100 °C las suspensiones se centrifugaron a 10 000 rpm/min y el sobrenadante se usó como templado de ADN. La amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple se realizó de acuerdo con el protocolo estandarizado por Tomas y otros,⁴ utilizando el juego de cebadores que se presenta en la tabla 1. Como controles positivos se procesaron las cepas correspondientes a las diferentes categorías patogénicas siguientes: *E. coli* 933 (*stx+ / eae+*), *E. coli* 2348/69 (*eae+*), *E. coli* 481 (*IpaH+*), *E. coli* 17-2 (*aggR+*), *E. coli* EBa 35 (*elt+*); *E. coli* 125-53 (*est+*), todas provistas por el Instituto Nacional de Microbiología ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Como control negativo se utilizó la cepa de *E. coli* ATCC® 25922, que no posee ninguno de los factores de patogenicidad en estudio. Los datos fueron analizados mediante el programa Epi Info, se fijó la significación en un valor de $p < 0,05$.

TABLA 1. Características de los iniciadores utilizados para la detección de los tipos patogénicos de *E. coli* en niños con diarrea

Cebador	Concentración en la mezcla	Categoría de <i>E. coli</i>	Secuencia (5'-3')	Gen	Tamaño amplicón (pb)
SK1	0,125 µM	ECEP, ECEH	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC	<i>eae</i>	881
SK2	0,125 µM		CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCG		
VT-u	0,25 µM	ECTS	GAGCGAAATAATTTATATGTG	<i>stx</i>	518
VT-d	0,25 µM		TGATGATGGCAATTCAGTAT		
AL65	0,5 µM	ECET	TTAATAGCACCCGGTACAAGCAGG	<i>est</i>	147
AL125	0,5 µM		CCTGACTCTTCAAAAAGAGAAAATTAC		
LTL	0,25 µM	ECET	TCTCTATGTGCATACGGAGC	<i>elt</i>	322
LTR	0,25 µM		CCATACTGATTGCCGCAAT		
ipaIII	0,125 µM	ECEI	GTTCCCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC	<i>ipaH</i>	619
ipaIV	0,125 µM		GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC		
aggR1	0,25 µM	ECEA	GTATACACAAAAGAAGGAAGC	<i>aggR</i>	254
aggR2	0,25 µM		ACAGAATCGTCAGCATCAGC		

ECTS: *E. coli* productor de toxina Shiga, ECEH: *E. coli* enterohemorrágico, ECEP: *E. coli* enteropatógeno, ECEI: *E. coli* enteroinvasivo, ECEA: *E. coli* enteroagregativo y ECET: *E. coli* enterotoxigénico.

RESULTADOS

En total se incluyeron 112 pacientes pediátricos con diarrea aguda (53 del sexo femenino y 59 del sexo masculino) con edades comprendidas entre 1 mes y 14 años (promedio: 4 años). En todos los pacientes, la localización de la vivienda fue urbana, con suministro de agua potable y baño instalado interior.

Resultaron positivas 41 muestras (37 %) para algún tipo patogénico de *E. coli*, de las cuales 32 (78 %) fueron recuperadas de niños menores de 5 años y 9 (22 %) de niños mayores de 5 años,

sin que se evidencien diferencias significativas ($p=0,14$) entre los tipos patogénicos y los grupos etarios a los que pertenecían los pacientes (tabla 2).

El patrón de bandas obtenido con cada tipo patogénico se muestra en la figura 1.

Sobre la totalidad de muestras positivas, 19 (46 %) correspondieron a niños y 22 (54 %), a niñas. En la tabla 3 se presenta la distribución de los tipos patogénicos de *E. coli* obtenidos a partir de materia fecal en función del sexo de los pacientes, sin que se encuentran diferencias significativas entre ellos ($p=0,31$).

TABLA 2. Frecuencia de tipos patogénicos de *E. coli* encontrados en materia fecal según el grupo etario al que pertenecían los pacientes

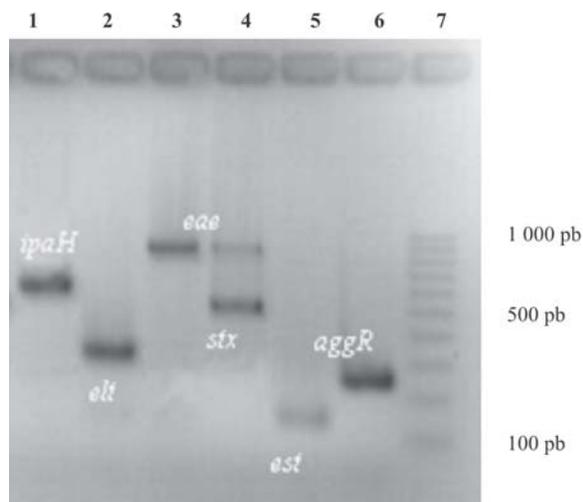
Grupo etario	Tipos de <i>E. coli</i>					Total positivos	Ninguno	Total de muestras
	ECTS	ECEP	ECEI	ECEA	ECET			
< 5 años	7	5	5	8	7	32 (29 %)	46 (41 %)	78 (70 %)
> 5 años	0	2	2	2	3	9 (8 %)	25 (22 %)	34 (30 %)
Total	7	7	7	10	10	41 (37 %)	71 (63 %)	112 (100 %)

ECTS: *E. coli* productor de toxina Shiga, ECEP: *E. coli* enteropatogénico, ECEI: *E. coli* enteroinvasivo, ECEA: *E. coli* enteroagregativo y ECET: *E. coli* enterotoxigénico.

TABLA 3. Relación entre el sexo de los niños y los tipos patogénicos de *E. coli* detectados en materia fecal

Sexo	Tipos de <i>E. coli</i>					Total positivos	Ninguno	Total de muestras
	ECTS	ECEP	ECEI	ECEA	ECET			
Masculino	5	3	4	4	3	19 (17 %)	40 (36 %)	59 (75 %)
Femenino	2	4	3	6	7	22 (20 %)	31 (27 %)	53 (25 %)
Total	7 (6,2 %)	7 (6,2 %)	7 (6,2 %)	10 (8,9 %)	10 (8,9 %)	41 (37 %)	71 (63 %)	112 (100 %)

ECTS: *E. coli* productor de toxina Shiga, ECEP: *E. coli* enteropatogénico, ECEI: *E. coli* enteroinvasivo, ECEA: *E. coli* enteroagregativo y ECET: *E. coli* enterotoxigénico.



Línea 1: *E. coli* enteroinvasiva (*IpaH*⁺); Línea 2: *E. coli* enterotoxigénica (*elt*⁺); Línea 3: *E. coli* enteropatogénica (*eae*⁺); Línea 4: *E. coli* enterohemorrágica (*stx*⁺/*eae*⁺); Línea 5: *E. coli* enterotoxigénica (*est*⁺); Línea 6: *E. coli* enteroagregativa (*aggR*⁺). Línea 7: Marcador de peso molecular de 100 pb

Fig. Patrón de bandas obtenido mediante electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación de cepas de *E. coli* diarreogénicas representativas de cada tipo patogénico.

DISCUSIÓN

En los últimos años, un número creciente de patógenos bacterianos y virales han sido asociados a la enfermedad diarreica aguda (EDA), gracias a la progresiva incorporación de nuevas tecnologías de detección, que han permitido establecer la relación causal entre los microorganismos y estas enfermedades mediante la identificación y caracterización de genes de patogenicidad y virulencia.²

Las diversas categorías patogénicas de *Escherichia coli* se encuentran entre los principales agentes bacterianos causantes de EDA, pero el protagonismo de cada una de ellas puede variar según las características socioeconómicas de los pacientes estudiados.⁸

Si bien en el presente trabajo no hubo predominancia de ningún tipo patogénico de *E. coli*, estudios epidemiológicos realizados en países en vías de desarrollo, incluida Latinoamérica, han demostrado que ECET y ECEP son 2 de los principales patógenos aislados en los casos de diarrea infantil.⁹

En Irán¹⁰ se ha encontrado ECEP en primer lugar con una prevalencia cercana a 45 %, en Brasil¹¹ fue encontrada en 8 % de los pacientes, mientras que en Finlandia¹² solo se encontró en 5,5 % de pacientes con diarrea, un valor muy similar al encontrado en el presente trabajo, lo cual indica la gran variabilidad de frecuencia entre diferentes países. Algunos autores sostienen que la diferenciación de los aislamientos de ECEP en ECEP típico y atípico sobre la base de la presencia o ausencia de determinantes de patogenicidad adicionales, permitiría conocer más aún acerca de la epidemiología de las enfermedades producidas por este grupo de bacterias.³ Tal es así, que se ha reportado mayor prevalencia de cepas ECEP típicas en países en desarrollo, mientras que las atípicas constituyen los aislados más frecuentes de en países industrializados.¹³

E. coli enterohemorrágico (EHEC) está incluido dentro de los denominados *E. coli* productores de toxina Shiga (ECTS) y aparece en la década de los 80, tanto en casos esporádicos de EDA como en brotes epidémicos, sobre todo en países desarrollados.² Este grupo de bacterias se identifica mediante la presencia del gen *stx* que codifica la toxina Shiga en sus 2 variedades, *stx1* y

stx2. Adicionalmente, pueden presentar otros determinantes de patogenicidad como ser el gen *eae*, también presente en ECEP, que determina la capacidad de unión al enterocito y borrado de las microvellosidades con formación de un pedestal.² Dentro de esta categoría, diferentes serotipos han sido implicados en la etiología de diarrea sanguinolenta, pero los aislamientos de *E. coli* O157:H7 pueden dar lugar a manifestaciones clínicas muy graves y se considera que son la principal causa de síndrome urémico hemolítico (SUH).¹⁴ Argentina es el país con mayor prevalencia mundial de SUH, las cepas O157 portadoras de los genes *stx2* y *eae* resultan más frecuentemente implicadas,¹⁵ sin embargo, en países como Cuba¹⁶ se encontró que ninguna de las 25 cepas de ECTS estudiadas pertenecía a este serotipo; se publicaron los primeros aislamientos recién en 2008.¹⁷ En Finlandia, ECTS fue encontrada en 8 % de los pacientes con diarrea estudiados y en Japón en 15 % de los pacientes.^{12,18} En el presente trabajo, este tipo patogénico fue encontrado en 7 muestras (6,2 %); de esos 7 aislamientos, ninguno pertenecía al serotipo O157, 2 presentaron los genes *stx* y *eae* y los 5 restantes presentaron solo el gen *stx*.

E. coli enteroinvasiva (ECEI) es productor de diarrea disenteriforme por causa de su capacidad para invadir el epitelio intestinal, la cual se debe, entre otros determinantes de patogenicidad, al gen *IpaH*;² este tipo ha sido reportado con una frecuencia cercana a 1 % o menor en niños de Brasil^{11,19} y en Tanzania,²⁰ mientras que en otros estudios ni siquiera ha sido buscado.^{12,18} En este trabajo, ECEI fue detectada en 6,2 % de los niños con diarrea, lo cual está indicando una frecuencia mayor a la encontrada en otros países, según los estudios antes mencionados.

Según estudios previos, *E. coli* enterotoxigénico (ECET) causa la mayoría de los casos de EDA en población infantil de países en vías de desarrollo y la virulencia de este grupo está dada por la producción de una toxina termoestable (ST) y una termolábil (LT), que dan como resultado una diarrea de tipo acuosa.² En el presente estudio se detectó ETEC en 10 muestras (8,2 %), en tanto que en Tanzania 15 % de los agentes etiológicos de diarrea eran ETEC²⁰ y en Brasil solo 5 % de los aislamientos correspondieron a este tipo

patogénico.⁶ Sobre las 10 cepas de ECET detectadas en este trabajo, 7 eran portadoras del gen *elt* que codifica la LT y 3 poseían el gen *est* que codifica para ST; en ningún aislamiento se detectaron simultáneamente ambos genes. De forma similar, en Tanzania²⁰ y en Perú²¹ se encontró que el gen *elt* fue mucho más frecuente en los aislamientos que el gen *est*, mientras que ambos genes aparecieron en muy pocas cepas de ECET.

E. coli enteroagregativa (ECEA) se caracteriza por presentar un característico patrón de adherencia al enterocito que condiciona la producción de una diarrea de tipo acuosa.² En el presente estudio, ECEA fue detectada en 8,9 % de las muestras, mientras que en Suiza fue hallada en 10 % de los niños con diarreas,²² en alrededor de 15 % de los pacientes en Tanzania²⁰ y en Brasil,⁶ pero solo en 1,3 % de los casos de diarrea en Dinamarca,²³ lo que refuerza la hipótesis planteada por otros autores de que este tipo patogénico está emergiendo entre los agentes etiológicos de diarrea en los países en vías de desarrollo.²⁴

En Argentina las EDA están entre las enfermedades de notificación obligatoria con mayor morbilidad y mortalidad, que afectan principalmente a niños menores de 5 años y de bajos recursos, con una tasa global de notificación de 52,4 casos por cada 100 000 habitantes; Corrientes se encuentra entre las provincias que presentaron casos por encima de lo esperado en 2005.²⁵ Sin embargo, sobre la base de las características de los hogares de los pacientes, puede afirmarse que otros factores diferentes a las condiciones de las viviendas y la disposición de las excretas estarían implicados en la transmisión de estos patógenos, entre los cuales pueden incluirse la higiene personal y el tratamiento de los alimentos.¹ Al respecto, el estudio realizado por Quiroga y otros en niños asintomáticos hace hincapié en que la lactancia materna es de gran valor en la lucha contra la diarrea, por lo que es necesario hacer esfuerzos para evitar las tendencias hacia el destete precoz.⁵

El presente trabajo es el primero en su tipo en nuestra región que aplica la técnica de PCR para detectar las diferentes categorías de *E. coli* diarreogénicas y demuestra que estas son agentes etiológicos frecuentes de gastroenteritis en niños de barrios humildes.

La correcta detección y caracterización de cada tipo patogénico debe realizarse solamente

mediante técnicas de biología molecular, por lo que debe contarse con esta herramienta en los centros provinciales de referencia, porque esto posibilitará alcanzar un diagnóstico de certeza que permita conocer la realidad epidemiológica de las EDA en este grupo de pacientes en condiciones de vulnerabilidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación “Alberto J. Roemmers” por el apoyo económico brindado, a Gerardo Deluca por su apoyo técnico, a los profesionales que derivaron las cepas para ser analizadas y al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” por la provisión de las cepas utilizadas como control.

Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in children from poor neighborhoods in Corrientes, Argentina

ABSTRACT

INTRODUCTION: acute diarrheas bring high morbidity and mortality in developing countries and diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) appears as frequent etiological agent in all these places. OBJECTIVE: to detect the presence of pathogenic types of DEC in children attending the Health Centers in poor neighborhoods in the city of Corrientes, Argentina. METHODS: Feces from one hundred and twenty patients were cultured; *E. coli* isolates were selected in those cases negative for *Salmonella* or *Shigella*, and they were studied by multiplex PCR in order to characterize the pathogenic types of DEC. RESULTS: one hundred and twelve patients were included. All of them had urban housing with drinking water supply and toilet. In 41 samples (37 %) some DEC type was detected but none of them (STEC 7, EPEC 7, EIEC 7, EAEC 10, and ETEC 10) was predominant. There were not significant differences between the DEC pathogenic types and the sex or the age group of patients. CONCLUSIONS: DEC is frequent etiologic agent in children and the recognition of each pathogenic type will allow implementing prophylactic measures according with its epidemiology.

Key words: *Escherichia coli*, diarrheas, children.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fewtrell L, Colford JM. Water, sanitation and hygiene: interventions and diarrhea. A systematic review and meta-analysis. The International Bank for Reconstruction and Development. Washington DC: The World Bank; 2004. p. 67.
2. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998;11(1):142-201.
3. Campos LC, Franzolin MR, Trabulsi LR. Diarrheagenic *Escherichia coli* categories among the traditional enteropathogenic *E. coli* O serogroups - A Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(6):545-52.

4. Toma C, Lu Y, Higa N, Nakasone N, Chinen I, Baschkier A, et al. Multiplex PCR assay for identification of human diarrheagenic *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2003; 41(6):2669-71.
 5. Quiroga M, Oviedo P, Chinen I, Pegels E, Husulak E, Binztein N, et al. Asymptomatic infections by diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Misiones, Argentina, during the first twenty months of their lives. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2000;42(1):9-15.
 6. Regua-Mangia AH, Gomes TAT, Vieira MAM, Andrade JRC, Irino K, Teixeira LM. Frequency and characteristics of diarrhoeagenic *Escherichia coli* strains isolated from children with and without diarrhea in Rio de Janeiro, Brazil. J Infect. 2004;48(2):161-7.
 7. Álvarez Martínez M, Buesa Gómez J, Castillo García J, Vila Estape J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Procedimientos en Microbiología Clínica Nº 30, 2ª ed. SEIMC; 2008 [Citado 20 Ago 2009]. Disponible en <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap30indice.htm>
 8. Kaper JB. Pathogenic *Escherichia coli*. Int J Med Microbiol. 2005;295:355-6.
 9. Guerrant R. Why America must care about tropical medicine: threats to global health and security from tropical infectious diseases. Am J Trop Med Hyg. 1998;59(1):3-16.
 10. Alikhani MY, Mirsalehian A, Aslani MM. Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhoea. J Med Microbiol. 2006;55(Pt9):1159-63.
 11. Tornieporth N, John J, Salgado K, De Jesus P, Latham E, Clotildes M, et al. Differentiation of pathogenic *Escherichia coli* strains in Brazilian children by PCR. J Clin Microbiol. 1995;33(5):1371-4.
 12. Keskimaki M, Eklund M, Pesonen H, Heiskanen T, Siitonen A, the Study Group. EPEC, EAEC and ECTS in stool specimens: Prevalence and molecular epidemiology of isolates. Diag Microbiol Infect Dis. 2001;40(4):151-6.
 13. Trabulsi LR, Keller R, Gomes TAT. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). Emerg Infect Dis. 2002;8(5):508-13.
 14. Kuntz TB, Kuntz ST. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. Prim Care Update Ob/Gyn. 1999;6(6):192-6.
 15. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. Medicina (Buenos Aires). 2006;66(Supl. III):27-32.
 16. Águila A, Bernedo R, Llop A, Ramírez M, Bravo L, Fernández A, et al. Estudio de marcadores fenotípicos y de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* entéricas. Rev Cubana Med Trop [serie en Internet]. 2007 [Citado 8 Ene 2009];59(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602007000200005&lng=es&nrm=iso
 17. Sánchez AA, Navarro RB, Márquez RF, Quintana MF, Pérez LS, Guilarte OD, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates from children in Cuba. Pediatr Infect Dis J. 2008;27(12):1122-3.
 18. Nishikawa Y, Zhou Z, Hase A, Ogasawara J, Kitase T, Abe N, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: Prevalence of Enterotoxigenic *E. coli* Heat-Stable Enterotoxin 1 Gene-Possessing *E. coli*. Jpn J Infect Dis. 2002;55(6):183-90.
 19. Franzolin MR, Barbosa Alves RC, Keller R, Tardelli Gomes TA, Beutin L, Lima Barreto M, et al. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100(4):359-63.
 20. Vargas M, Gascon J, Casals C, Schellenberg D, Urassa H, Kahigwa E, et al. Etiology of diarrhea in children less than five years of age in Ifakara, Tanzania. Am J Trop Med Hyg. 2004;70(5):536-9.
 21. Arias I, Huguet JC. Detección molecular de toxinas termoestable y termolábil de *Escherichia coli* mediante hibridación. Rev Peru Med Exp Salud Pub. 2002;19(4):193-6.
 22. Pabst WL, Altwegg M, Kind C, Mirjanic S, Hardegger D, Nadal D. Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* among children with and without diarrhea in Switzerland. J Clin Microbiol. 2003;41(6):2289-93.
 23. Olesen B, Neimann J, Bottiger B, Ethelberg S, Schiellerup P, Jensen C, et al. Etiology of diarrhea in young children in Denmark: a case control study. J Clin Microbiol. 2005;43(8):3636-41.
 24. Harrington SM, Dudley EG, Nataro JP. Pathogenesis of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. FEMS Microbiol Lett. 2006;254(1):12-8.
 25. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Boletín Epidemiológico Periódico. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación, Buenos Aires, Argentina [serie en Internet]. 2005 [Citado 10 Ene 2009]; 23:6. Disponible en: www.msal.gov.ar/htm/site/sala_situacion/PANELES/boletines/boletin_23-2005.pdf
- Recibido: 17 de abril de 2009. Aprobado: 30 de agosto de 2009.
Dr. Luis A. Merino. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2001 (3400). Corrientes, Argentina. Correo electrónico: lamerino@gigared.com