



11237₈
2^{ej}
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**CARACTERIZACION DE CEPAS TOXIGENICAS AISLADAS
DE NIÑOS CON DIARREA QUE PRESENTARON
COMPLICACIONES SEVERAS DIFERENTES A LA
DESHIDRATACION**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE :

ESPECIALIDAD EN PEDIATRÍA MÉDICA

P R E S E N T A :

Dra. Leyla María Arroyo Cabrales



México, D. F.

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION

Desde 1982 a la fecha, se han reportado en Estados Unidos de Norteamérica y en otros lugares, casos aislados y brotes de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (1).

Cepas de E. coli del serotipo 0157:H7 son las que con mayor frecuencia se han relacionado con este proceso (1). En 1977 Konowaiichuk y cols (2) describieron cepas de Escherichia coli que producían una toxina que era activa sobre células Vero (células de riñón de mono verde africano). Esta toxina inicialmente denominada verotoxina (por su efecto sobre células Vero) se encontró que era diferente de las ya conocidas enterotoxinas termolábil y termoestable de Escherichia coli. Existen estudios previos relacionados con la citotoxina Vero años antes a los brotes reportados con cepas 0157:H7. En 1971 Williams-Smith y Lingood (3), Wade en 1979 y posteriormente Thom y Evans (4), así como Scotland y cols en 1980 (5), quienes reportaron estudios sobre producción de una citotoxina en cepas de E. coli de los serogrupos 026 (que fue el primer agente etiológico reportado) y 0128:H2.

En 1983 Rytov y cols (6) relacionaron cepas de E. coli del serotipo 0157:H7 con casos de colitis hemorrágica, su caracterización posterior mostró que eran productoras de una citotoxina idéntica a la verotoxina antes descrita. O'Brien y cols (7,8) reportaron que ciertos serogrupos de Escherichia coli enteropatógenas y otras cepas de E. coli aisladas de casos de diarrea, así como tres cepas de E. coli 0157:H7 (asociadas con brotes de colitis hemorrágica) producían una citotoxina semejante a la de Shigella dysenteriae (toxina Shiga). La citotoxina de E. coli tipo Shiga era neutralizada por antitoxina preparada contra toxina purificada de Shigella dysenteriae 1. O'Brien y cols (9) compararon la toxina producida por una cepa de E. coli 026 con la toxina Shiga de S. dysenteriae 1 encontrando solo diferencias en su peso molecular. La toxina de E. coli tenía un peso molecular de 48 000 daltons contra 58 000 de la toxina de S. dysenteriae.

Actualmente se conoce por secuenciación de genes que la verotoxina y la toxina Shiga son idénticas (10). La toxina Shiga se encuentra entre los agentes biológicos conocidos más tóxicos, incluyendo las toxinas de tetanos y botulismo tipo A, ya que se requiere de una pequeña cantidad para producir toxicidad.

Algunas cepas de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* producen niveles bajos de una citotoxina asociada a células HeLa que puede ser neutralizada por antitoxina de Shiga polivalente y anticuerpos monoclonales preparados contra la subunidad B de toxina (Tipo Shiga (SLT I). *E. coli* además de producir la toxina semejante a la de Shiga elabora otra citotoxina que no es neutralizada por anticuerpos antitoxina de Shiga; así mismo anticuerpos elaborados contra ésta no neutralizan el efecto de SLT I. A esta citotoxina por su efecto se le conoce como SLT II o verotoxina 2 (11).

Se reconocen actualmente cuatro grupos de *E. coli* (12). *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), con cepas productoras de toxina termolábil y termestable. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), con cepas que penetran y se multiplican en las células epiteliales de manera similar a como actúa *Shigella*. *E. coli* enteropatógena (EPEC) con cepas pertenecientes a ciertos serogrupos que han sido relacionadas como patógenos entéricos en estudios epidemiológicos. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), con cepas asociadas con colitis hemorrágica, el serotipo mayormente relacionado es el O157:H7.

Las citotoxinas purificadas de una cepa de EPEC O26:H11 (330) y de una cepa de EHEC O157:H7 (330) tienen estructuras y actividad biológica similares a las de la toxina Shiga, son citotóxicas tanto en células HeLa como para células Vero, producen parálisis y son letales para el ratón y en el epitelio intestinal de conejos menores de 11 días de edad producen cambios morfológicos, aumentan la actividad mitótica en los enterocitos de las criptas, disminuyen la producción de moco y generan un infiltrado de leucocitos polimorfonucleares en la mucosa (8,9).

En un estudio realizado por Marques y cols (12) se demostró que la cepa de *E. coli* 933 produce niveles elevados de citotoxina, tam-

bién observaron que esta cepa producía dos citotoxinas que eran antigénicamente distintas pero tenían la misma actividad biológica. Una de estas citotoxinas, era neutralizada por anticuerpos Shiga - (SLI I) y la otra, solo era neutralizada con anticuerpos específicos pero no con antitoxina de Shiga (SLT II) (14). Estudios realizados con diferentes cepas mostraron que los niveles elevados de citotoxina son casi exclusivamente de cepas de *E. coli* aisladas de casos de diarrea, colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico. Esto sugirió que cepas productoras de citotoxina en cantidades elevadas pueden jugar un papel en la patogenesis de estas enfermedades. En cambio, cepas aisladas de individuos sanos elaboran la citotoxina en menor cantidad (14).

Es probable que la citotoxina solo sea un determinante de virulencia de *E. coli* cuando esta se produce en grandes cantidades. Sin embargo, pequeñas cantidades de citotoxina, quizá solo pueden dañar las células del huésped si son elaboradas por cepas de *E. coli* que se adhieran o que invadan las células epiteliales del intestino.

Los factores que determinan si un niño desarrollara diarrea, colitis hemorrágica, o síndrome urémico hemolítico, aún no se conocen; tampoco se conoce que determinantes de susceptibilidad porta el huésped para ser susceptible a padecer infecciones por *E. coli* productora de toxina tipo Shiga. El síndrome urémico hemolítico (15) esta constituido por una triada caracterizada por: insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática. típicamente este síndrome sigue a un prodromo de gastroenteritis aguda no febril, frecuentemente asociada a evacuaciones con sangre (16).

Si la edad de la incidencia de la infección por *E. coli* enterohemorrágica puede relacionarse con la etapa de la vida en que la incidencia del síndrome urémico hemolítico clásico es mayor, podría proponerse que la susceptibilidad a la infección por *E. coli* productora de citotoxinas, como es el caso en otras enfermedades infecciosas propias de la niñez, se relaciona con la ausencia de inmunidad específica a estos agentes (16). De confirmarse esta hipótesis, se ten

dría que considerar el uso de vacunas de toxoides y otros componentes bacterianos, para la prevención de esta enfermedad, la cual es grave no solo en niños, sino también en pacientes ancianos (17). La mortalidad reportada en niños con síndrome urémico hemolítico es del 5 al 10% (15,18).

Los antecedentes con respecto al período de incubación de *E. coli* 0157:H7 se han reportado entre 3.6 y 8 días. Lo que se conoce es que el período de incubación de la *E. coli* 0157:H7 productora de toxina vero es mayor que el establecido para *E. coli* enterotoxigénica (17).

Con respecto a los reservorios de *E. coli* productora de toxina shiga, se tiene poca información. El habitat de muchas de estas bacterias es el intestino de algunos animales, por lo tanto es probable que algunos productos alimentarios obtenidos de estos, sean fuente primaria de infección para humanos (19). Se han identificado diversos serogrupos e incluyendo los tipos 026 y 0111 en heces de bovinos (20) y 009 en quesos (2, 20 y 21). En un estudio reportado por Berezky y cols (19), se encontró evidencia de que el ganado vacuno podía ser el reservorio primario de la *E. coli* productora de toxina tipo shiga serotipo 0157:H7, bacteria asociada a enfermedad en humanos. Esto se apoya por antecedentes como son los dos primeros brotes reportados de *E. coli* 0157:H7 que se presentaron en personas que ingirieron alimentos carnicos preparados en una misma cadena de restaurantes, en los cuales se aislaron estos microorganismos. Otros reportes similares se relacionan con un brote en infantes de un jardín de niños que consumieron leche no pasteurizada (19).

Los métodos de identificación empleados rutinariamente para el diagnóstico de infección por EHEC son lentos y laboriosos (15). El desarrollo de pruebas de biología molecular y métodos inmunospectroscópicos facilitan el diagnóstico (15). Sin embargo la detección de toxina vero libre en heces es uno de los procedimientos microbiológicos más importantes para el diagnóstico temprano de EHEC.

Las implicaciones terapéuticas al hacerse el diagnóstico de EHEC asociada a colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico no son claras. No hay evidencia de que el uso temprano de antibióticos influya en el curso de la infección (15).

En México existe poca información sobre el aislamiento de cepas de *E. coli* O157:H7. Vázquez y cols (22), encontraron en un estudio sobre agentes etiológicos de diarrea aguda, que de 200 niños menores de 2 años estudiados, solo en 5 aislaron *E. coli* O157:H7. De estos tres presentaron un cuadro enteral (uno diarrea aguda, uno diarrea crónica y otro colitis hemorrágica aguda). Estos investigadores observaron que es suficiente la colonización intestinal para que se presente enfermedad demostrada.

Por otro lado en un estudio realizado en población abierta de origen rural (23), se observó que casi en la mitad de los niños estudiados (52 niños con diarrea y 52 controles) se aislaron cepas de *E. coli* productora de citotoxina tipo Shiga (ST 1), encontrándose que solo en los casos en que se identificaron cepas productoras de niveles moderados o elevados de citotoxina se asociaron con presencia de sintomatología. Esto parece indicar que la producción de niveles bajos de ST 1 no es un factor de patogenicidad importante en casos de diarrea aguda en niños que habitaban esta área rural de México. Por otro lado, concluyeron que la producción de niveles moderados o elevados de ST 1 parece estar relacionada con presencia de cuadros clínicos específicos, en especial diarrea con sangre y colitis hemorrágica, como se había informado en niños que habitaban zonas urbanas de países industrializados.

OBJETIVOS

Determinar la frecuencia de cepas de Escherichia coli productoras de citotoxinas en niños con complicaciones graves diferentes a deshidratación.

Describir el cuadro clínico y las complicaciones que presentan pacientes con diarrea en quienes se aislaron cepas productoras de citotoxinas.

HIPOTESIS

Si en la mayoría de niños ($p < 0.05$) que presentaron complicaciones severas de la diarrea diferentes a la deshidratación en los cuales no se logró establecer la causa aparente, se detectan toxina tipo Shiga I y/o II producida por cepas de E. coli, entonces estas cepas son un factor importante patogénico de equitlis hemorrágica y complicaciones severas.

MATERIAL Y METODOS

POBLACION OBJETIVO.

Pacientes menores de 4 años y mayores de 1 mes con cuadro diarreico agudo, hospitalizados en el servicio de Urgencias. Que presenten datos de choque: hipotensión arterial, llenado capilar mayor de 3 segundos, diuresis menor de 1 ml kg/h. Insuficiencia renal aguda: retención de azoados, oliguria, anuria, no relacionada con deshidratación. Colitis hemorrágica: presencia de sangre fresca en evacuaciones, acompañando al cuadro diarreico o si no existe este acompañando datos de endotoxemia, con búsqueda de amiba en fresco negativa. Crisis convulsivas.

Se excluyeron pacientes menores de 1 mes y mayores de 4 años, con historia de diarrea crónica, con diarrea aguda sin complicaciones, con diarrea aguda con más del 5% de deshidratación y portadores de algún padecimiento crónico que cause desnutrición o inmunodeficiencia.

Se tuvo un grupo control, de pacientes de la misma edad que las de la población objetivo, con cuadro diarreico agudo, que no presenten complicaciones. Este grupo se tomo de la consulta de Urgencias.

Se eliminaron los pacientes que fallecieron durante el estudio y a los que por algun motivo no se les tomaron las muestras requeridas para el protocolo (la inicial y a la semana).

Población estudiada: 10 pacientes.

Población control: 10 pacientes.

METODOLOGIA.

Se capturaron pacientes con diarrea que ingresaron al Instituto Nacional de Pediatría con complicaciones severas diferentes a la deshidratación, en el periodo comprendido entre Marzo y Agosto de 1989. El grupo control fueron pacientes de la consulta de Emergencias del mismo Instituto, con cuadro diarreico, que no presentaran complicaciones.

De ambos grupos de pacientes se obtuvo la siguiente información: edad, sexo, estado nutricional, características y número de evacuaciones, así como presencia de vómitos, distensión abdominal, crisis convulsivas, oliguria y estado de choque, tensión arterial. Del grupo estudiado se obtuvieron también datos de laboratorio como: hemoglobina, leucocitos, plaquetas, urea, creatinina, sodio, potasio, depuración de creatinina y FeNa. Del grupo control: hemoglobina, leucocitos, plaquetas, sodio y potasio.

De los pacientes que presentaron crisis convulsivas se investigó además del aspecto metabólico, la posibilidad de neuroinfección mediante citocentrífugo y cultivo de líquido cefalorraquídeo.

Se envió al Instituto de Ciencia y Tecnología-DIF una muestra de suero y una de materia fecal para cultivo al ingreso o momento de captación y una segunda muestra a los siete días, para aislamiento de *E. coli* e identificación de cepas productoras de toxina tipo Shiga I y o II.

La muestra de heces de cada niño fue colectada en recipientes estériles, inoculada en MacConkey, Tergitol 7 y agar de xilosa-licina-deoxicolato en el laboratorio. Los cultivos fueron enriquecidos con caldos de selenito y teratinito. Las placas y los tubos fueron incubados por una noche a 37°C y después transportados al Instituto de Salud Pública para su identificación.

Los caldos enriquecidos fueron inoculados en MacConkey, verde brillante, agar de xilosa-licina-deoxicolato y agar *Salmonella*-*Shigella*, e incubados por una noche a 37°C. Todas las colonias que crecieron en el medio enriquecido fueron identificadas por métodos bioquímicos. Cuando se encontró un solo tipo de colonia, cuando menos cinco colonias de cada placa fueron seleccionadas para su identificación.

Independientemente del número encontrado, todas las colonias individuales identificadas como *Escherichia coli* o *Klebsiella* fueron guardadas en medio de bursel a 4°C para estudios posteriores.

Una vez aisladas e identificadas las cepas se mantuvieron en medio de conservación para su caracterización posterior. Para la

Identificación de cepas citotóxicas, éstas se crecieron en caldo soya (tripticaseína y agar soya tripticaseína (para verificar pureza), se incubaron durante 18-24 horas, con una agitación de 150 RPM, se centrifugaron a 10 000 RPM a 4°C durante treinta minutos y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de 0.22µ. El filtrado se probó en cultivos de células Vero (células de riñón de mono verde).

En una microplaca de 96 pozos con monocapa de células Vero previamente preparada, se inoculan en cada pozo 20µ del filtrado obtenido, las microplacas se inoculan también con cuatro testigos (medio de cultivo, cepa positiva, cepa negativa y células sin inocular). Se incuban en estufa de CO₂ 18-24 horas hasta 96 horas. Se fijan con formaldehído, posteriormente se tiñen con cristal violeta quince minutos y por último se lavan y secan. Se observan con microscopio invertido.

RESULTADOS

El análisis comparativo del grupo en estudio y del grupo control muestra un predominio de pacientes del sexo masculino (cuadro 1, gráfica 1). Con respecto al promedio de edad en el grupo de estudio este fué de 3.2 meses y en el grupo control de 5.5 meses.

En el grupo de estudio, presentaron desnutrición: dos pacientes, de primer grado; tres de segundo grado, tres de tercer grado y dos, no presentaron desnutrición; mientras que en el grupo control, presentaron desnutrición: cuatro pacientes, de primer grado y seis de tercer grado (cuadro 1, gráfica 2).

Dos de los pacientes del grupo en estudio mostraron rectorragia, uno melena y dos evacuaciones purulentas; los restantes tanto del grupo de estudio como del grupo control solo presentaron evacuaciones líquidas (cuadro 1, gráfica 3). Cinco pacientes del grupo en estudio presentaron vómito, observándose la misma manifestación clínica en seis del grupo control, en estos últimos el número fue mayor, sin existir diferencia significativa con respecto a los del primer grupo (cuadro 1, gráfica 4). El número de evacuaciones así como la presencia de distensión abdominal no fué significativa en ninguno de los dos grupos.

En el grupo en estudio se presentaron además en siete de los niños crisis convulsivas (cuadro 1, gráfica 4). En éstos la temperatura fué normal, no mostraron alteraciones en los niveles séricos de sodio, potasio, calcio, fósforo, magnesio o glucosa; el estudio citoquímico del líquido cefalorraquídeo fué normal y el cultivo del mismo negativo. En el grupo control ninguno de los niños presentó crisis convulsivas, al determinar la significancia entre los dos grupos por Prueba exacta de Fisher, esta fue de 0.0015.

A los siete pacientes con crisis convulsivas se les practicó estudio electroencefalografico el cual mostró alteración grado I-II en dos pacientes, alteración II-III en dos y encefalopatía generalizada en tres de ellos. La evolución neurológica una vez egresados, mostró que uno de los dos pacientes con alteración grado I-II tuvo

una recuperación casi completa, al igual que uno de los pacientes con encefalopatía generalizada. En los cinco restantes se observaron alteraciones neurológicas permanentes.

Se apreciaron alteraciones hematológicas en ambos grupos. Se observó leucocitosis en siete pacientes del grupo de estudio y dos del grupo control, encontrándose significativa por Prueba exacta de Fisher de 0.0349 (cuadro I, gráfica 4). No hubo diferencia en la presencia de leucopenia. En el grupo de estudio dos niños presentaron trombocitopenia, asociándose ésta con la existencia de rectorragia. Cuatro de los pacientes del grupo de estudio presentaron anemia. Únicamente en un paciente existió la triada: trombocitopenia, anemia y uremia, sin embargo no se documentó microangiopatía.

De los pacientes caso cuatro cursaron con choque séptico y/o mixto; su evolución fue: cuatro presentaron insuficiencia renal, crisis convulsivas y daño neurológico, del cual dos se recuperaron. Los cuatro sobrevivieron.

Todos los pacientes del grupo en estudio cursaron con insuficiencia renal aguda, siete oligúrica y tres de gasto normal.

De los pacientes estudiados dos de ellos fueron dados de alta voluntariamente por presentar una evolución tórpida, en estos se observó rectorragia, trombocitopenia, insuficiencia renal oligúrica y anemia, no presentaron crisis convulsivas.

El estudio bacteriológico se hizo ciego, estudiándose 646 cepas bacterianas aisladas de los dos grupos. En la caracterización de las cepas se encontró que producían un efecto citotóxico poco común, en la línea de células Vero, se caracteriza por formación de sincicios en algunas áreas y en otras un efecto sobre la unión intercelular que deforma la estructura de la línea celular (Fig. 1 y 2). Al observar este efecto, también se realizó en células de ovario de hamster chino (células CHO), también en éstas se aprecia un efecto citotóxico con lisis de la línea celular.

Las bacterias encontradas correspondieron a *E. coli* y *Klebsiella*. En el grupo de pacientes sujetos a estudio se encontró *E. coli* en seis pacientes, *Klebsiella* en tres y en uno sus cultivos fueron ne-

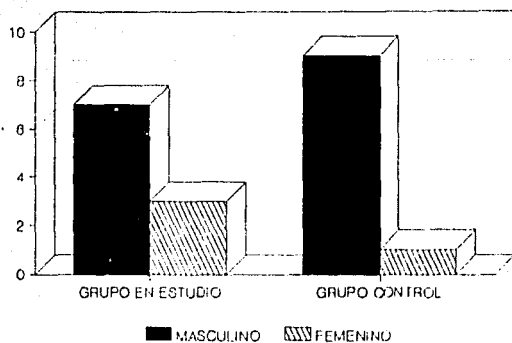
gativas. En el grupo control se encontró *E. coli* en tres pacientes, *Klebsiella* en seis pacientes y en uno ambas bacterias (Cuadro II, - gráfica 5).

Actualmente se encuentra en proceso la determinación de las - concentraciones de citotoxina en los dos grupos, ya que este efecto citotóxico apareció tanto en las cepas de *E. coli* como de *Klebsiella*.

CUADRO I

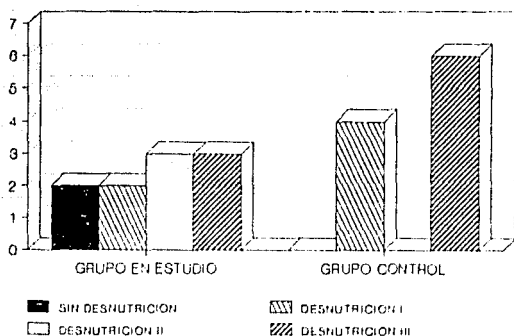
	GRUPO EN ESTUDIO	GRUPO CONTROL
SEXO		
Masculino	7	9
Femenino	3	1
DESNUTRICION		
Sin desnutrición	2	0
Desnutrición I grado	2	4
Desnutrición II grado	3	0
Desnutrición III grado	3	6
CARACTERISTICAS DE LAS EVACUACIONES		
Rectorragia	2	0
Melena	1	0
Purulentas	1	0
Líquidas	6	10
VOMITOS		
Presentaron	5	6
No presentaron	5	4
CRISIS CONVULSIVAS		
Presentaron	7	0
No presentaron	3	10
LEUCOCITOSIS		
Presentaron	7	2
No presentaron	3	8

SEXO



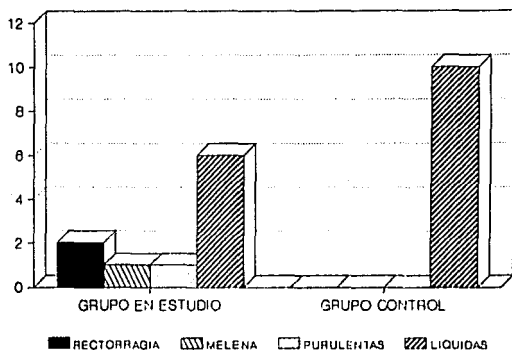
GRAFICA 1

DESNUTRICION



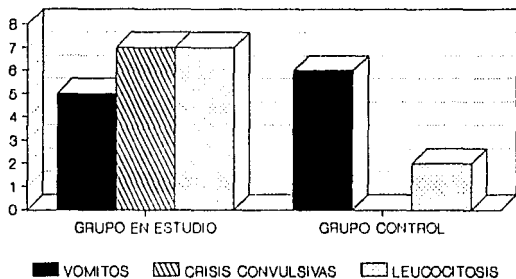
GRAFICA 2

CARACTERISTICAS DE LAS EVACUACIONES



GRAFICA 3

MANIFESTACIONES CLINICAS PRESENCIA DE VOMITOS, CRISIS CONVULSIVAS Y LEUCOCITOSIS

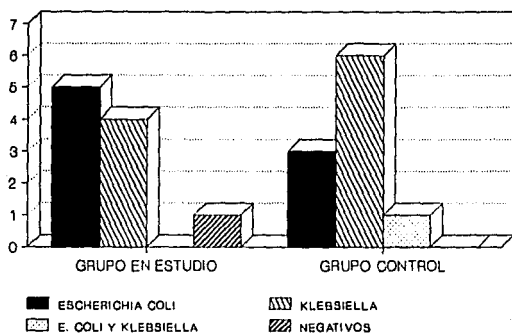


GRAFICA 4

CUADRO LI

CULTIVOS	GRUPO EN ESTUDIO	ESTUDIO CONTROL
ESCHERICHIA COLI	5	3
KLEBSIELLA	4	6
ESCHERICHIA COLI Y KLEBSIELLA	0	1
NEGATIVOS	1	0

COPROCULTIVOS



GRAFICA 5



FIG. 1. CELULAS NORMALES.



FIG. 2. EFECTO CITOCROMICO EN CELULAS VIVAS.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSIONES

Con respecto a la hipótesis propuesta, en este estudio no se encontraron cepas de *E. coli* productora de verotoxina en niños con complicaciones severas de diarrea. Se aisló *E. coli* productora de un citotoxigenidad diferente a la ya reportada, en seis pacientes del grupo en estudio y en tres del grupo control.

También se aisló *Klebsiella* productora de citotoxigenidad semejante a la producida por *E. coli*, en tres pacientes del grupo en estudio y seis del grupo control, así como en un caso mixto.

Este estudio muestra que la presencia de enfermedad sistémica secundaria a gastroenteritis parece estar relacionada con la presencia de un diferente tipo de citotoxigenidad de *E. coli* y *Klebsiella*, circunstancias que actualmente se encuentran en estudio para la correcta caracterización e interpretación de estos resultados.

La presencia de crisis convulsivas en los pacientes del grupo estudiado sugiere neurotoxicidad, una vez que se descartaron otros orígenes para las mismas. Actualmente se estudia la capacidad neurotóxica de estas colonias en el Instituto de Salud Pública.

Debemos señalar que tanto en los pacientes del grupo en estudio como en los pacientes del grupo control, el estado nutricional no participó como un factor de riesgo.

De los datos de ingreso, la leucocitosis y la presencia de crisis convulsivas son indicadores de gravedad en un paciente con gastroenteritis.

Por último, clínicamente en ningún paciente se encontró síndrome urémico hemolítico, el cual ha sido reportado como una complicación severa en pacientes con gastroenteritis particularmente la producida por *E. coli* 0157:H7.

BIBLIOGRAFIA

1. Orskov, F; Orskov, I; Villar JA. Cattle as reservoir of Vero toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 (letter). *Lancet* 1987; 1: 276.
2. Konowalchuk J; Speirs JI; Stavric S. Vero response to a - cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1977; 18: 775-9.
3. Williams Smith H, Lindood MA. The transmissible nature of - enterotoxin production in a human enteropathogenic strain of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 1971; 4: 301-305.
4. Wade, WG; Thom, BI; Evans, N. Cytotoxic enteropathogenic - *Escherichia coli* (letter). *Lancet* 1979; 2: 1235-6.
5. Scotland SM, Day NP, Rowe B. Production of a cytotoxin - affecting Vero cells by strains of *Escherichia coli* belonging to traditional enteropathogenic serogroups. *FEMS Microbiol Lett* 1983; 7: 15-17.
6. Riley LW, Remis RS, Helgersoh SD, McGeer HB, Wells JG. Haemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983; 308: 681-5.
7. O'Brien AD, LaVeck GD, Thompson MR, Formai SB. Production of *Shigella dysenteriae* type 1 like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, 1982; 146: 763-9.
8. O'Brien AD, Hively PA, Chang TW, Gorbach SL. Purification of *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga)-like toxin from *Escherichia coli* O157:H7 strain associated with haemorrhagic colitis. *Lancet* 1983; 2: 573.
9. O'Brien AD, LaVeck GD. Purification and characterization of a *Shigella dysenteriae* 1 like toxin produced by *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1983; 40: 675-83.
10. O'Brien AD, Holmes, RK. Shiga and Shiga-like toxins. *Microbiol Rev*, 1987; 51: 206-20.
11. Stephen J, Pi-irwiski RA. Toxins which transverse cell membranes and kill cells. *In* Bacterial toxins. 2nd ed. ASM - Washington: ASM, 1986: 34-8.
12. Levine MM, Edelman R. Enteropathogenic *Escherichia coli* of - classus serotypes associates with infant diarrhea; - epidemiology and pathogenesis. *Epidemiol Rev* 1983; 6: 31-51.
13. Marques, Lillian EM, Moore N, Willis JG, Wachsmuth K, O'Brien AD. Production of Shiga-like toxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1986; 154: 338-341.

14. Strockbine, NA; Marques, LRM; Newland, JW; Smith BW; Holmes, RK; O'Brien, AD. Two toxin converting phages from *Escherichia coli* 0157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biological activities. *Infect Immun*, 1986; 53: 135-140.
15. Karnali NA, Petric M, Iim C, Fleming PT, Arbus GS, Lior H. The association between idiopathic haemolytic uremic syndrome and infection by Verotoxin producing *Escherichia coli*. *Infect Dis* 1985; 151: 775-82.
16. The Lancet. Unravelling HUS. *Lancet* 1987; 19: 1437-9.
17. Carter AO, Berczyk AA, Carlson JAK, Harvey B, Hockin JC, Karnali MA, Krishnan C, Korn DA, Lior H. A severe outbreak of *Escherichia coli* 0157:H7 associated haemorrhagic colitis in a nursing home. *N Engl J Med* 1987; 317: 1596-1600.
18. Fong JS, de Chadarevian JP, Kaplan BS. Hemolytic-uremic syndrome: current concepts and management. *Pediatr Clin North Am* 1982; 29: 835-56.
19. Berczyk AA, Karnali AA, Lior H, Duncan IMC. Bovine Reservoir for Verotoxin producing *Escherichia coli* 0157:H7. *Lancet* 1987; 10: 98 (letter).
20. Sherwood D, Snodgrass DR, O'Brien AD. Shiga-like toxin production from *Escherichia coli* associated with calf diarrhea. *Vet Record* 1985; 116: 217-18.
21. Mohammad A, Peiris JSM, Wijemanta EA, Mahalingam S, Gunasekara G. Role of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in cattle and buffalo calf diarrhea. *FEMS Microbiol Letters* 1985; 26: 281-83.
22. Vázquez V, Arredondo M, Trujillo F y Cravioto A. Relación entre aislamiento de cepas de *Escherichia coli* 0157:H7 y presencia de colitis hemorrágica en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1987; 44 (8): 342-47.
23. Cravioto A, Vázquez V, Soria A, Navarro A y Ortiz M. Producción de citotoxina tipo Shiga (SLT) I en cepas de *Escherichia coli* aisladas de niños con diarrea en una comunidad rural. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1988; 45 (4): 206-10.
24. Cravioto A, Reyes RE, Trujillo F, Uribe F, Navarro A, De La Rocha JN, Hernández JM, Pérez G y Vázquez V. Risk of diarrhea during the first year of life associated with initial and subsequent colonization by specific enteropathogens. *Am J Epidemiol* 1990; 131 (5): 886-904.

INDICE

	Pag.
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	6
HIPOTESIS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	11
CONCLUSIONES.....	20
BIBLIOGRAFIA.....	21