

Enterotoksijenik *Escherichia Coli*

ENTEROTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI*: SCIENTIFIC LETTER

Dr. Latife İŞERİ ABUT^a

^aMikrobiyoloji ABD, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, KIRIKKALE

Özet

Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), gelişmekte olan ülkelerde turistler ve infantlarda ishalin önemli bir nedenidir. Kontamine yiyecek ve suların alınması ile geçer. Isıya duyarlı ve ısıya dirençli toksinler üretir. Bu toksinlerin genleri plazmidler tarafından kodlanır. Hastalık bakterinin kolonizasyonunu ve bir ya da daha fazla toksinin salınmasını gerektirir. Bakteri gastrointestinal sisteme, bir fimbrial adezin aracılığı ile kolonize olur, kolonizasyon faktör I ve II gibi. ETEC invaziv değildir. Isı labil toksin (LT) konak hücrede "cyclic adenosine monophosphate" (cAMP) artmasına neden olur. Isı stabil toksin (ST) konak hücre sitoplazmasında "cyclic guanosine monophosphate" (cGMP) seviyelerini artırır. Hücresel cAMP ve cGMP, sıvı ve elektrolitlerin salınımının artmasına yol açar. Bu, ateşsiz ishale sonuçlanır. ETEC enfeksiyonu tanısı, gayta örneklerinden bakteri toksinleri saptandığı zaman konur. Oral rehidratasyon sıvısı çocuklarda hayat kurtarıcıdır. Çoğu hasta uygun destekleyici tedavi ile iyileşir. ETEC enfeksiyonundan bakteri ile kontamine yiyecek ve içeceklerden kaçınarak korunulabilir. Endemik alanda yetişkinlerde bağışıklık gelişir. Toksin ve "colonization-factor antigens" (CFA) temeline dayanan aşılar, bağışıklamada en geniş yeri tutar.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*; *Escherichia coli* enfeksiyonları; ısıya duyarlı enterotoksin; ısıya dirençli enterotoksin

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:768-773

Abstract

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) is a major cause of diarrhea in infants and tourists in underdeveloped countries. It is transmitted by ingestion of contaminated food and water. Enterotoxigenic *E. coli* produces a heat-labile toxin (LT) and a heat-stable toxin (ST). The genes of these toxins are encoded by plasmids. The disease requires colonization of bacteria and elaboration of one or more enterotoxins. The bacteria colonize the gastrointestinal tract by means of a fimbrial adhesin, i.e. colonization factor Antigen I and II (CFA I and CFA II). ETEC is a noninvasive pathogen. The LT enterotoxin is very similar to cholera toxin. It binds to the same intestinal receptors. Enzymatic activity of LT is identical to that of the cholera toxin. While LT causes an increase in cyclic AMP in the host cell, ST increases cyclic GMP levels in the host cell cytoplasm. Cellular cyclic AMP and GMP lead to increased secretion of electrolytes and fluid, which results with diarrhea without fever. ETEC infection is diagnosed by determination of toxins in stool samples. Oral rehydration therapy is often lifesaving in children. Most patients recover with appropriate supportive therapy. Antibiotics are usually not required. ETEC infection can be prevented by avoiding foods and beverages that may be contaminated with bacteria. Adults in endemic areas evidently develop immunity. Toxin- and CFA-based vaccines are the major tools for immunization.

Key Words: *Escherichia coli*; *escherichia coli* infections; enterotoxin LT; heat stable toxin (*E.coli*)

ETEC'in önemi 1960'ların sonlarında kaydedilmiştir.¹ Risk grubu; infantlar, küçük çocuklar ve duyarlı turistlerdir. Özellikle tropikal bölgelerde enfeksiyöz ishalin en yaygın nedenidir. Gelişmekte olan ülkelerde arındırma yetersizliğine bağlı kirli su ve yiyeceklerle bulaşır.²

Özellikle çocuklarda olmak üzere önemli bir ishal etkenidir. Bu ülkelerde çocukların yılda 7-8 defa ishal atağı geçirdiği saptanmıştır. Her üç ataktan birinin nedeni ETEC'dir.³ Gelişmiş ülkelerde de su ve besin kökenli salgınlar rapor edilmesine rağmen asıl sorun gelişmekte olan ülkelere giden turistlerde turist ishali oluşturmasıdır.⁴

Çok şiddetli olmayan bol sulu, ateşsiz ishal vardır. Hastalık nadiren şiddetli ve salgın şeklinde olabilir de dehidratasyon tedavisi uygulandığında ölüm seyrek olur. İnkübasyon periyodu 1-2 gün, ishali süresi ise 3-4 gündür.⁵

Geleş Tarihi/Received: 30.09.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 29.11.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Latife İŞERİ ABUT
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji ABD, KIRIKKALE
liseri2000@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

Bu yayını hazırlarken amaç dünyanın değişik bölgelerinden 0-5 yaş çocuklar için %6.4-20 arasında bildirilen, ülkemizde de Malatya'da %10 oranında saptadığımız önemli bir çocuk ve turist ishali etkeni olan ETEC'e dikkat çekmek ve özelliklerini gözden geçirmektir.⁶⁻¹⁰

Epidemiyoloji

Kimin, ne zaman ve nerede bulunduğu ile bağlantılı olarak incelenmektedir. İshal etkenleri için geçerli olan kurallar bu bakteri için de geçerlidir.

Kişi ile ilgili ele alınması gereken konular; yaş, yaşam koşulları, kişisel ve kültürel alışkanlıklardır. Yaş açısından bakıldığında anne sütü ile beslenen infantlar ETEC'e karşı dirençlidir.¹¹ Bunun nedeni bulaşlı yiyecek ve suyla temastan uzak olmaları ve sütle geçen anneye ait antikolar, laktoferrin gibi koruyucu faktörler olmalıdır. Yetişkinler de uzun yıllar aynı yerde yaşadıkları için mikroorganizmaların asemptomatik rezervuarı olabilirler, fakat bağışiktırlar. Bağışıklık açısından o bakteriye açık olan, normal beslenmeye başlayan çocuklar ve bölge dışından gelen duyarlı turistler risk altındadır.

Çevre ve yaşam koşulları, sıklıkla ülkenin ve bireyin sosyoekonomik durumuna bağlıdır. Toplumun yoğunluğu, yaşanılan bölgenin ve evin sanitasyon özellikleri, su kaynakları enterik patojenle karşılaşmada önemli faktörlerdir.

Diğer faktör ise; ne zaman orada olunduğudur. Genellikle ETEC sıcak ve yağmurlu aylarında pik yapar ancak, İsrail'den ılık ve kuru mevsimde pik yaptığı da bildirilmiştir.¹² Hastalığın pik sezonunda o bölgede bulunmak önemlidir.^{6,13,14}

E. coli'nin ishali hastalıklarının hepsi insandan insana geçer. Bakteriyel etkenin insanlar arasında taşınımına neden olan önemli bir vektör bilinmiyor. Enfeksiyon etkeninin taşınımı tamamıyla hijyenle ilgilidir. Bulaş açıkça kişisel, toplumsal ve endüstriyel olmak üzere her aşamada genel temizlik kurallarına uyulmamasına bağlıdır. ETEC için coğrafik sıklık sanitasyon standartları ile ilgilidir. Tek kaynak kontamine yiyecek ve sular olarak gösterilmiştir. Ilıman iklimlerden tropik bölgelere seyahat eden yetişkinler de önemlidir.¹⁴

Patogenezi

İnce bağırsak epiteline CFA'ları aracılığı ile tutunan ETEC, invazyon yapmadan LT ve ST salgılayarak ishal oluşturur. Bu toksinlerin genleri plazmidlerle taşınırlar.¹⁵

LT cAMP, ST ise cGMP üzerinden etkileyerek lümen aşırı su salınmasına neden olur. LTb, Gm1 gangliozit olarak tanımlanan hedef hücredeki özel reseptöre bağlanır. LTa bir peptid bağının ayrılmasıyla aktive olur ve adenilat siklazı aktive eder, hücre içi cAMP üretimi başlar. Lümen elektrolit ve aşırı su salınımı olur.¹⁴

STI (STIP) intestinal guanilat siklazı aktive eder. GTP'yi cGMP'ye çevirir. Sıvı emilimi baskılanır, sıvı salınımı artar. STII'nin etki mekanizması henüz bilinmemektedir. cGMP ve cAMP üzerinden etkilemediği ve Na-Cl pompasına etkisi olmadığı saptanmıştır. HCO₃'ün aktif salınımı gözlenmiştir. Prostaglandin E2 üzerinden sıvı salınımı artırıyor olabileceği üzerinde durulmaktadır.^{14,16}

CFA'lar

CFA ETEC suşlarının %34-80'inde vardır.^{7,8} Çeşitli çalışmalarda CFA'ların virülans faktör olarak önemli olduğu üzerinde durulmasına rağmen patogenezdaki rolü hala karanlıktır.⁷ Bakterinin ince bağırsak epitel yüzeyine tutunmasını sağlarlar. CFA'larının antijenik yapıda olmaları nedeni ile aşı çalışmalarında umut vermektedirler. Birine karşı oluşan immünite, diğer faktörleri salgılayan ETEC'lere karşı da koruyucudur.⁷

CFAI: İlk tanımlanan CFA'dır. Homojen yapıda bir proteindir. İnsanlarda kolonizasyon faktörü ve koruyucu antijen olarak görev yapar.¹⁷

CFAII: Daha sonra bulunmuştur. Üç koli yüzey antijeninden oluştuğu gösterilmiştir. CS1, CS2, CS3 (coli surface antijenler). CS3'ün ataklarda rol aldığı ve bunu taşıyan suşların patojen olduğu bir yayında bildirilmektedir.⁵ Son zamanlarda aşı çalışmalarında bu küçük gruplar araştırılmaktadır.¹⁸

CFAIV: CS4, CS5, CS6 koli yüzey komponentlerinden oluşur.¹⁸

CFA I, II, IV en sık rastlananlardır. Ayrıca daha birçok "coli surface" antijeni bulunmuştur.

CS17, CS9, CS7 ise sık rastlanan coli yüzey anti-jenleridir.¹⁸

Toksinleri: ETEC'in tanımlanması toksinlerinin saptanması ile mümkündür. Çeşitli yayınlarda yalnız ST'nin %49-65, yalnız LT'nin: %21-34, her ikisini birlikte salgılayan ETEC suşlarının %13-25.2 oranlarında olduğu bildirilmiştir.^{3,8,9,19}

LT

Vibrio koleranın toksini ile aminoasit dizilimi %80 homologdur ve aynı şekilde etkiye sahiptirler. Ancak ETEC ve *Vibrio cholera* arasında yakın bağlantı yoktur. Isı LT I ve II olmak üzere 2 türü vardır.

Labil toksin I:

Porsin'de üretileni için LTp, P-LT, LTp-I kullanılırken, insanda üretilene LTh, H-LT, LTh-I, LT kısaltmaları kullanılarak ifade edilir. Reseptöre bağlanan 11.5 kDa'luk B subüniti ve enzimatik aktivite gösteren 28 kDa'luk bir A subünitinden oluşur. Yuvarlak bir şekil oluşturan B pentamerinin çok stabil bir yapısı vardır. B subünitinin yapısal bir parçası olan disülfid bağları molekülün önemli bir parçasıdır. A ve B subünitleri ayrı sentezlenir. A subüniti B pentamerinin şekillenmesi ve disülfid bağları için gereklidir. A subünitinin C terminalinin son 4 kalıntısıdır ve bu toksinin son kısmının stabilitesi için esastır. A ve B subünitleri sitoplazmik membranı geçerek periplazmik aralıkta toplanır. Bağırsak sisteminde normalde var olan tripsin, safra tuzları ve demir eksikliği, *E. Coli*'den LT'nin salınmasını uyarır. LTI'nin yapısal genleri plazmidlerde yer alır. Bu plazmidler ETEC'in adherans faktörlerini kodlayan genler ile birlikte antimikrobiyal direnç genlerini de taşır. Kromozomal genler salınım seviyesini etkileyebilir. LTh-I, LTp-I ve kolera toksin (CT) arasında sıkı bir homoloji vardır. LT-I ve CT immünolojik olarak açıkça bağlantılıdır. Hatta LT genlerinin koleradan köken aldığına işaret edenler vardır. Her iki toksin de toksik etkilerinin yanı sıra güçlü antijen ve adjuvanlardır. CT'nin B subünitinin LT salgılayan ETEC suşlarına karşı koruyucu olduğuna dair deliller bulunmaktadır.^{14,16,20}

LT'nin B pentameri, intestinal sistem içine salınımı takiben, gangliozit GMI reseptörünü içe-

ren bağırsak hücre membranı bölgesine bağlanır. Spesifik olarak laktoz kalıntılarına tutunur. Her LT molekülü 5 GMI' reseptörü ile bağlantı kurar. B subünitinin Glu-51, Gln-61, Asn-90, Lys-91, His-57, Trp-88'i ve galaktoz kalıntıları arasında sıkı bağlar vardır. Sadece bu 5 ünit bağlandığı zaman A subüniti hücreye alınır. Muhtemelen B pentameri, hücre membranına yerleşebilmek için gözeneğe neden olan bir iris gibi davranır. Fakat işlem tam olarak anlaşılammıştır. Hücre içinde enzimatik olarak inaktif olan A subünitinin aktif olması için, protein yıkımı durmalı veya azaltılmalıdır. A1 peptidi, adenosin difosfat (ADP)- ribosil transferaz gibi davranır. Adenilaz siklaz sisteminin 42-kDa stimülatör guanin nükleotide bağlanan düzenleyici protein subünitinde bir arjinin kalıntısına, nükleotit adenin dinükleotit (NAD)'den, ADP-riboz, transfer ederek adenilat siklaz aktivitesini stimüle eder. Hücre içi cAMP seviyesi yükselir. Normalin 100 katından fazla yükseldiği gözlenmiştir. Bu Na iyonlarının absorpsiyonunun inhibisyonunu ve Cl iyonlarının sekresyonunu stimüle eder. Bağırsak lümeninde iyon içeriği artar. İyonların osmotik etkisine bağlı olarak hücreler arasında su çıkışı olur ve sonuçta bol sulu osmotik ishal gelişir. Bu mekanizmaya ilave diğer mekanizmalar olaya çeşitli sekonder metabolitlerin karışmasına zemin hazırlar.^{14,16,20}

Isı labil enterotoksin II (LTII):

LT II'nin, LTIIa ve LTIIb olmak üzere iki serolojik varyantı vardır. Enzimatik aktivite açısından LTI'e benzer şekilde cAMP seviyelerini artırır. LTI den farklı olarak, GM1 den ziyade GD1 reseptörlerini kullanır. Primer olarak hayvan izolatlarında nadiren insan izolatlarında bulunmuştur. Ancak her ikisinde de hastalıkla birliktelik gözlenmemiştir.^{14,16,20}

ST:

Toksik peptidaz ailesindedir. 100°C'de 15 dk. dayanır. Suda erir. Aside ve proteolitik enzimlere dirençli, alkaliye duyarlıdır. Antijen özelliği zayıftır. ETEC suşlarının %75'inde yalnız veya LT ile birlikte olarak görülür. ETEC suşları ile ishal ve ST salınımı sıklıkla beraber bulunmuştur. Bu nedenle çeşitli çalışmalarda bir patojen faktör olarak

gösterilmiştir. Isı ST'nin yapısal olarak birbirinden farklı, STI ve STII olmak üzere 2 türü vardır. STI yerine STa, STII yerine STb de kullanılmaktadır.^{14,16,20}

Isı stabil enterotoksin I:

Bağırsak epitelinin fırçası kenarında spesifik glikoprotein reseptörlerinin heterojen grubuna bağlanır. Son zamanlarda kopyalanan reseptörün 120 kDa transmembran guanil siklazı olduğu gösterilmiştir. Beş dakika içinde cGMP'de en üst seviyede bir yükselmeye yol açarak guanil siklazı aktive eder. cGMP seviyesinde artma Cl⁻ salınımını 2'ye katlar. Na⁺'un inhibisyonuna yol açar. Sıvı sekresyonunda artma ile sonuçlanır. Bağırsak lümenine sıvı ve elektrolitlerin hızlı salınımı ishale neden olur. STI'nin neden olduğu konak sıvı dengesindeki bozulmada araşidonik asidin, prostaglandinlerin, lökotrienlerin de rolü olduğu bildirilmektedir. STI genellikle plazmid bağlantılıdır ve sıklıkla kolonizasyon fimbriaları, ilaç direnci ve kolisinogen genleri ile beraber bulunmaktadır.^{14,16,20}

STI'nin STIa ve STIb olmak üzere birbirinden hafifçe farklı 2 tipi vardır. Her ikisi de 2000 civarında molekül ağırlığına sahiptir ve 11 aminoasit içeren bir kor bölgesi vardır. Fakat N-terminalinde farklılık bulunmaktadır. Altı sistein içeren disülfid köprüleri vardır. Bunlar antijenite ile bağlantılıdır. ETEC insan, sığır ve oklu kirpelerde STIa (STIp) üretirken, STIb (STIh)'yi sadece insanda üretir.^{14,16,20}

Isı stabil enterotoksin II:

Plazmidle taşınır ve sıklıkla STI ve LT ile birlikte bulunur. STII'nin protein sekansları STI ile homolog değildir. Epitel hücrelerinde buna karşı bir reseptör bilinmiyor. Ancak son zamanlarda plazma membranına non-spesifik bağlanıyor olabileceği tartışılmaktadır. STI'den farklı olarak STII parsiyel villus atrofi ve epitel hücre villuslarının kaybını içeren histolojik hasara neden olur. Orta derecede histolojik hasar yaparak bağırsaktan emilimi bozduğu bildirilmektedir. cAMP, cGMP seviyelerinde değişiklik ve Na⁺, Cl⁻'nin üzerine etkisi saptanmamıştır. İntestinal hücrelerden bikarbonat sekresyonunu artırır. Hücre içi kalsiyum seviyesinde

artışa neden olur. Prostaglandin E2 salınımını uyarır. Prostaglandin E2'nin sıvı salınımında aracı olabileceği düşünülmektedir. Farelerle yapılan deneysel çalışmalarda STII'nin sıvı cevabı gözlenmesine rağmen "porcine"de STII üretimi sınırlı olarak gözlenmiştir. İshalli insanlardan STII nadiren izole edilmiştir.^{14,16,20}

Tanı

ETEC enfeksiyonu tanısı gaytadan üretilen *E. coli* suşlarının toksin üretip üretmediği araştırılarak konulmaktadır. Bunların araştırılmasında kullanılan pratik bir yöntem yoktur. ST ve LT'nin araştırılmasında lateks aglütinasyon, "enzyme-linked immunosorbent assay" ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri tanımlanmıştır.²¹⁻²³ Bu yöntemlerin pahalı ve zahmetli çalışmaları gerektirmesi, hastaların çoğunlukla özel tedavi gerektirmeden iyileşmesi gibi nedenlerden dolayı ülkemizde ETEC pek araştırılmamaktadır. Dolayısıyla ülkemizde görülme oranları ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır.

Tedavi

Çoğunda hastalığın seyrinin kendi kendini sınırlayıcı olması ve antibiyotiklerin pahalılığı ve direnç gelişimi gibi nedenler göz önüne alındığında ampirik tedavi gereksizdir. Çocuklarda kaybedilen sıvının yerine konması yeterli görünmektedir. Seyahat ishallerinde akut dönemde kısa süreli verilebilir. Genellikle diğer *E. coli*'lere oranla daha dirençli mikroorganizmalardır. Kinolonlar daha yaygın kullanılmaktadır.¹⁸ Ancak invaziv ve uzamış ishallerde, özellikle yaşlılar, diyabetliler, sirozlular, immünkompromize kişilerde, komplikasyon oluşturmaları nedeni ile antibiyotik tedavisi düşünülmektedir.

Bağışıklama

Henüz ETEC için insanda kullanılacak aşı elde edilememiştir. LT, ST ve CFA'ları içeren aşular temel alınmıştır. LT ümit veren bir birim olmasına rağmen ST zayıf bir antijendir.¹⁸ İlk prototipi kolera toksin B (CTB) subüniti içinde CFA/II'nin CS faktörlerini ve CFA/I salgılayan formalinle öldürülmüş ETEC'leri içeriyordu. Aşı-

lananların %80'ninden daha fazlasında hem kanda hem de intestinal mukozada, CTB, CFA/I, CFA/II'ye karşı IgA salgılayan hücrelerde artış gözlemlendi.¹⁷

Daha sonra CTB, CFI, II, IV'ü içeren aynı şekilde hazırlanmış bir başka aşıda cevap en iyi CFA/I'e olmuş, 2 doz aşından sonra, aşılananların lavaj sıvılarında CFA'ların farklı türlerine karşı % 61-87, dışkıda %38-81 oranında IgA cevabı gösterilmiştir.¹⁷ Bir çalışmada, ishal etkeni olan ve CS6 taşıyan ETEC'lere karşı kan ve feçeste immünglobülin A gelişimi saptanmıştır.²⁴ Bu konuda çalışmalar devam etmektedir.

Sonuç

Gelişmekte olan ülkelerde, çocuklar ve turistler için başlıca ishal etkenlerinden olan ETEC, bizim ülkemizde de önemli bir etken olabilir. Bu konuda henüz yeterli sayıda araştırma yoktur. İshalli hastalarda, özellikle kırsal alanda, bu etken ihmal edilmemelidir. Besin ve bulaşlı sularla taşındığı gözönüne alınmalı, turizm ve toplum sağlığı açısından, korunma amaçlı tedbirlere özen gösterilmelidir.

KAYNAKLAR

- Guth BE. Enterotoxigenic *Escherichia coli*--an overview. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95 Suppl 1:95-7.
- Huerta M, Grotto I, Gdalevich M, Mimouni D, Gavrieli B, Yavzori M, et al. A waterborne outbreak of gastroenteritis in the Golan Heights due to enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infection 2000;28:267-71.
- Qadri F, Das SK, Faruque AS, Fuchs GJ, Albert MJ, Sack RB, et al. Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated during a 2-year period from diarrheal patients in Bangladesh J Clin Microbiol 2000;38:27-31.
- Daniels NA, Neimann J, Karpati A, Parashar UD, Greene KD, Wells JG, et al. Traveler's diarrhea at sea: three outbreaks of waterborne enterotoxigenic *Escherichia coli* on cruise ships. J Infect Dis 2000;181:1491-5. Epub 2000 Apr 13.
- Özerol İ, Özbilge H. *E. coli* ishallerinin patogenezinde son gelişmeler. Turgut Özal Tıp Merkezi Derg 1995;2:86-102.
- Albert MJ, Faruque SM, Faruque AS, Neogi PK, Ansaruzzaman M, Bhuiyan NA, et al. Controlled study of *Escherichia coli* diarrheal infections in Bangladeshi children. J Clin Microbiol 1995;33:973-7.
- Viboud GI, Jouve MJ, Binsztein N, Vergara M, Rivas M, Quiroga M, et al. Prospective cohort study of enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in Argentinean children. J Clin Microbiol 1999;37:2829-33.
- Nirdnoy W, Serichantalergs O, Cravioto A, LeBron C, Wolf M, Hoge CW, et al. Distribution of colonization factor antigens among enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with diarrhea in Nepal, Indonesia, Peru, and Thailand J Clin Microbiol 1997;35:527-30.
- Abu-Elyazeed R, Wierzbza TF, Mourad AS, Peruski LF, Kay BA, Rao M, et al. Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea in a pediatric cohort in a periurban area of lower Egypt J Infect Dis 1999;179:382-9
- Ozerol IH, Bayraktar MR, Iseri L, Otlu B, Durmaz R. The prevalence and molecular typing of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic stools in Malatya, Turkey. New Microbiol 2005;28:237-43.
- Long K, Vasquez-Garibay E, Mathewson J, de la Cabada J, DuPont H. The impact of infant feeding patterns on infection and diarrheal disease due to enterotoxigenic *Escherichia coli*. Salud Publica Mex 1999;41:263-70.
- Porat N, Levy A, Fraser D, Deckelbaum RJ, Dagan R. Prevalence of intestinal infections caused by diarrheagenic *Escherichia coli* in Bedouin infants and young children in Southern Israel. Pediatr Infect Dis J 1998;17:482-8.
- Guerrant RL, Steiner TS. Gastrointestinal infections and food poisoning. Enterobacteriaceae. In: Mandel G, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p.1076-93.
- Qadri F, Svennerholm AM, Faruque ASG, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention. Clin Microbiol Rev 2005;18:465-83.
- Paniagua M, Espinoza F, Ringman M, Reizenstein E, Svennerholm AM, Hallander H. Analysis of incidence of infection with enterotoxigenic *Escherichia coli* in a prospective cohort study of infant diarrhea in Nicaragua. J Clin Microbiol 1997;35:1404-10.
- Sánchez J, Holmgren J. Virulence factors, pathogenesis and vaccine protection in cholera and ETEC diarrhea. Curr Opin Immunol 2005;17:388-98.
- Ahrén C, Jertborn M, Svennerholm AM. Intestinal immune responses to an inactivated oral enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine and associated immunoglobulin A responses in blood. Infect Immun 1998;66:3311-6.
- Wolf MK. Occurrence, distribution, and associations of O and H serogroups, colonization factor antigens, and toxins of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1997;10:569-84.
- Binsztein N, Jouve MJ, Viboud GI, López Moral L, Rivas M, Orskov I, et al. Colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from children with diarrhea in Argentina. J Clin Microbiol 1991;29:1893-8.
- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998;11:142-201.
- Huang YH, Chang HC, Chang TC. Development of a latex agglutination test for rapid identification of *Escherichia coli*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;20:97-103.

22. Stacy-Phipps S, Mecca JJ, Weiss JB. Multiplex PCR assay and simple preparation method for stool specimens detect enterotoxigenic *Escherichia coli* DNA during course of infection. J Clin Microbiol 1995;33:1054-9.
23. Yavzori M, Porath N, Ochana O, Dagan R, Orni-Wasserlauf R, Cohen D. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in stool specimens by polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis 1998;31:503-9.
24. Helander A, Wennerås C, Qadri F, Svennerholm AM. Antibody responses in humans against coli surface antigen 6 of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect Immun 1998;66:4507-10.