

CARACTERÍSTICAS DA INFECÇÃO POR *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC)

Vanessa Sperandio*

SPERANDIO, V. Características da infecção por *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 2(3): 283-287, 1998.

RESUMO: *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) é um importante agente causador de diarreia em países desenvolvidos. O principal meio de infecção é através da ingestão de alimentos e água contaminados pela bactéria. Esta bactéria apresenta como principais mecanismos de virulência: 1) a presença de uma ilha de patogenicidade em seu cromossomo que codifica todos os genes envolvidos numa lesão que causa a destruição das microvilosidades, o rearranjo do citoesqueleto culminando com a formação de uma estrutura em pedestal sobre a qual a bactéria se adere intimamente à célula epitelial; 2) a produção de toxinas *Shiga* que parecem causar a síndrome urêmica hemolítica (SUH), que é a principal causa de mortalidade entre crianças de até 5 anos de idade infectadas por esta bactéria. Este manuscrito visa discutir os principais mecanismos de virulência desta bactéria, como as interações desta com a célula epitelial através de um sofisticado mecanismo de transdução de sinais entre bactéria e célula eucariótica e através de produção de potentes toxinas.

PALAVRAS-CHAVE: *Escherichia coli* enterohemorrágica; toxinas; virulência.

CHARACTERISTICS OF THE INFECTION BY ENTEROHEMORRAGIC *Escherichia coli* (EHEC)

SPERANDIO, V. Characteristics of the infection by enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 2(3): 283-287, 1998.

ABSTRACT: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) is an important causative agent of diarrhea in developed countries. The major means of infection is the ingestion of bacteria-contaminated food and water. This bacterium has as the main mechanisms of virulence: 1) the presence of a patogenicity island in its chromosome, which codifies all the genes involved on a lesion that destroys microvilli, rearranges the cytoskeleton and culminates with the formation of a pedestal-like structure on which the bacterium adheres firmly to the epithelial cell; 2) the production of Shiga toxins which seem to cause the hemolytic uremic syndrome (SUH), the major cause of mortality in children up to 5 years old infected with this bacterium. This manuscript aims to discuss the primary mechanisms of virulence of this bacterium, such as the interactions between the bacterium and the epithelial cell through a sophisticated mechanism of signal transduction between bacterium and the eucariotic cell and through the production of potent toxins.

KEY WORDS: enterohemorrhagic *Escherichia coli*; toxins; virulence.

Introdução

A bactéria gram-negativa *Escherichia coli* é um dos principais constituintes da flora aeróbica intestinal humana. Porém, além de ser um organismo comensal, também pode causar diarreia (ROBINS-BROWNE, 1987). Existem, atualmente, seis grupos de *E. coli* associados com diarreia. Entre eles, *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) foi recentemente reconhecida como um agente causador de disenteria, parecida com a disenteria causada por *Shigella*, em surtos ligados ao

consumo de carne bovina e produtos laticínios de origem bovina nos países desenvolvidos como Estados Unidos, Japão e Inglaterra. Uma complicação decorrente da infecção por EHEC é a Síndrome Urêmica Hemolítica (SUH) que pode conduzir à morte por insuficiência renal. Por ser um patógeno apenas recentemente reconhecido o seu papel como agente etiológico de disenterias nos países em desenvolvimento ainda não é conhecido (RILEY, 1987). O principal sorotipo de EHEC isolado na maioria dos surtos epidêmicos foi o

* Doutoranda pela University of Maryland/USA. Docente de Pós-graduação da Universidade de Campinas, Universidade de São Paulo e Universidade Federal do Rio de Janeiro. Pesquisadora na Universidade Paranaense.

Endereço para correspondência: Vanessa Sperandio. Instituto de Pesquisa, Estudos e Ambiente Científica. Universidade Paranaense. Pça. Mascarenhas de Moraes, s/n. Umuarama – PR. 87502-210. E-mail: vsper001@umaryland.edu

O157:H7, entretanto sorotipos como O26:H11/H- e O111:H11/H também são importantes causas de epidemias.

Desenvolvimento

Lesão *Attaching and Effacing* (destruição das microvilosidades e adesão íntima da bactéria a célula epitelial):

EHEC produz uma lesão nas células epiteliais igual a produzida por *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC). Esta constitui-se da destruição das microvilosidades e aderência íntima da bactéria à membrana da célula epitelial. Diretamente abaixo da bactéria aderida, são observadas mudanças marcantes no citoesqueleto celular, com o acúmulo de actina polimerizada e a formação de uma estrutura tipo pedestal (Figura 1). Este padrão foi denominado *attaching and effacing* (aderência íntima e destruição das microvilosidades, AE) por MOON *et al.*, (1983)

e foi observado em culturas celulares (ANDRADE *et al.*, 1989; JERSE *et al.*, 1990; KNUTTON *et al.*, 1987), modelos animais (MOON *et al.*, 1983; POLOTSKY *et al.*, 1977; STALEY *et al.*, 1969; TZIPORI *et al.*, 1986), e em biópsias de intestinos humanos infectados com EPEC (ROTHBAUM *et al.*, 1982; TAYLOR *et al.*, 1986; ULSHEN & ROLLO, 1980). O *attaching and effacing* em cultura de células pode ser detectado por um teste de actina fluorescente (*fluorescent actin staining*, FAS) desenvolvido por KNUTTON *et al.* (1989). Neste teste, faloidina, que é uma proteína que se liga especificamente ao filamento de actina, marcada com isotiocianato fluorescente liga-se especificamente ao filamento de actina que se encontra polimerizada logo abaixo da bactéria aderida, sendo que a actina polimerizada torna-se fluorescente tornando possível a observação desta lesão através de microscopia de fluorescência.

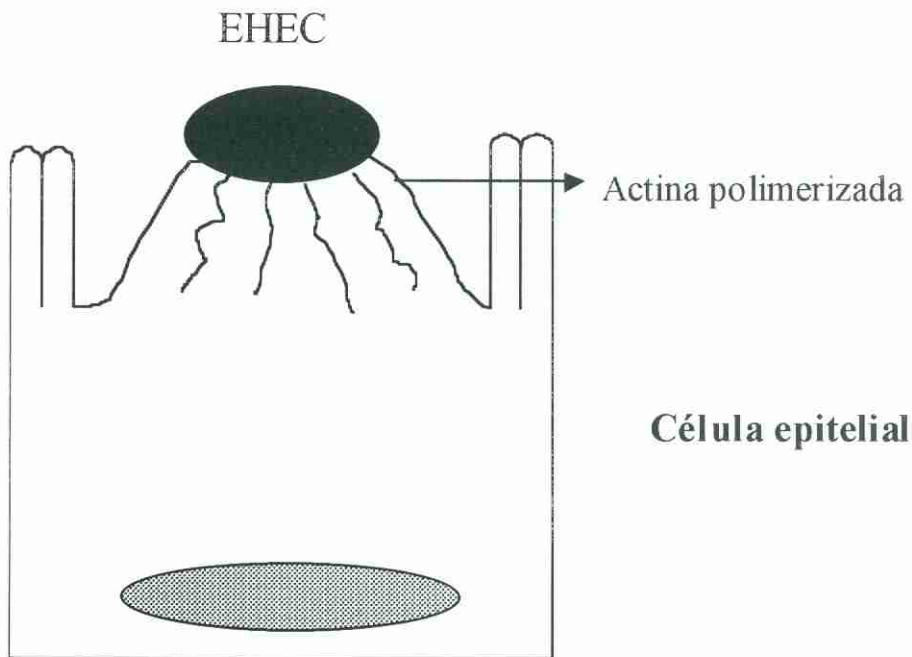


FIGURA 1 – Representação da lesão de aderência íntima e destruição das microvilosidades.

Locus of enterocyte effacement (LEE):

A lesão AE é produto de diversos genes, os quais são codificados em uma ilha de patogenicidade de 35Kb denominada LEE para *locus of enterocyte effacement* (Locus que codifica a destruição das microvilosidades e adesão íntima) (Figura 2) em EPEC, EHEC, *Cytrobacter freundii*, RDEC e *Hafnia alvei* (McDANIEL *et al.*, 1995). Esta região encontra-se inserida no cromossomo de *E. coli* a 82

minutos no que codifica o tRNA para selenocisteína (*selC*), o qual é um *hotspot* de inserção no genoma de *E. coli*. Esta também é a região de inserção do retrofago fR73 e de uma ilha de patogenicidade de 70Kb (PAI) em *E. coli* uropatogênica (UPEC) que contém os genes para hemolisina (*hly*) e fimbrias P (*prf*) (BLUM *et al.*, 1994). A localização de LEE no genoma de *E. coli* varia conforme a filogenia clonal dos diferentes sorotipos de EHEC, estando inserida

no gene *selC* no sorotipo O157:H7, e no locus *pheU*, que codifica o tRNA para fenilalanina nos sorotipos O26:H11 e O111:H8/H (WIELER *et al.*, 1997; SPERANDIO *et al.*, 1998).

Recentemente foi demonstrado que a introdução da região LEE em amostras de *E. coli* K12 e de flora normal, confere a estas bactérias o fenótipo AE (McDANIEL *et al.*, 1997).

Entre os genes de virulência localizados na região LEE em EPEC encontram-se aqueles que codificam um sistema tipo III de secreção, que é um sistema que secreta proteínas associadas

com virulência: *sepZ, Q* e *escRSTUCJVNDF* (McDANIEL *et al.*, 1995; ELLIOTT *et al.*, 1998; JARVIS *et al.*, 1995). O gene *eaeA* que codifica uma proteína de 94kDa, denominada intimina, a qual participa da adesão íntima de EHEC às células epiteliais (JERSE *et al.*, 1990). Os genes *espA*, *espB* e *espD* estão localizados abaixo do gene *eaeA* e estão envolvidos na transdução de sinais que conduzem à fosforilação de tirosina e à liberação de fosfatos inositol em células HeLa (DONNENBERG *et al.*, 1992; McDANIEL *et al.*, 1995; LAI, *et al.*, 1997; KENNY *et al.*, 1996).

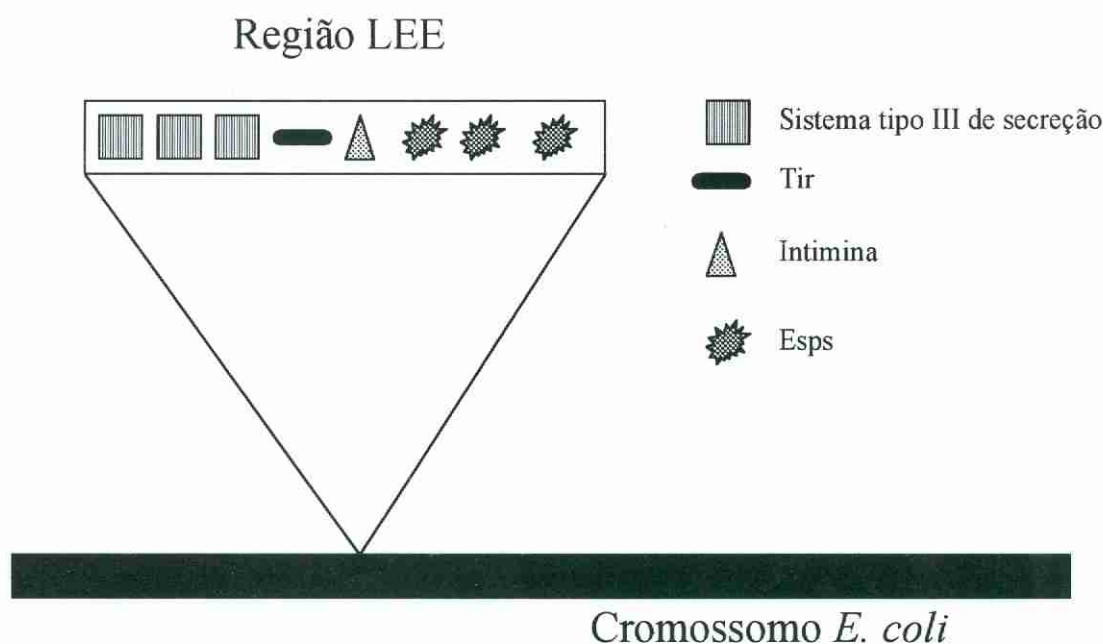


FIGURA 2 - Representação do cromossomo de *E. coli*.

Transdução de sinal na célula eucariótica

Após o contato inicial de EPEC e EHEC com a célula, parece haver um processo de transdução de sinal que leva a um aumento da concentração de cálcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) (BALDWIN *et al.*, 1991). Acredita-se que este aumento do $[Ca^{2+}]_i$ produza mudanças no citoesqueleto através da ativação de uma proteína de clivagem de actina dependente de cálcio, que poderia clivar a actina presente nas microvilosidades (BALDWIN *et al.*, 1991). Ocorre, também, fosforilação de várias proteínas celulares pela proteína quinase C (BALDWIN *et al.*, 1990). As principais proteínas fosforiladas

possuem massas moleculares de 21 e 29 kDa, sendo que a primeira corresponde a cadeia leve da miosina (BALDWIN *et al.*, 1991). A ativação da proteína quinase C induz mudanças rápidas na secreção intestinal de água e eletrólitos *in vivo* e *in vitro* (RAO & DeJONGE, 1990), sugerindo assim, outro possível mecanismo para a resposta secretora da infecção por EPEC. A proteína denominada Tir (Tyrosine phosphorylated intimin receptor) codificada por EPEC e EHEC, é inserida pelas bactérias na célula eucariótica, onde esta proteína vai servir como receptora para a adesina bacteriana intimina (KENNY *et al.*, 1997) (Figura 3).

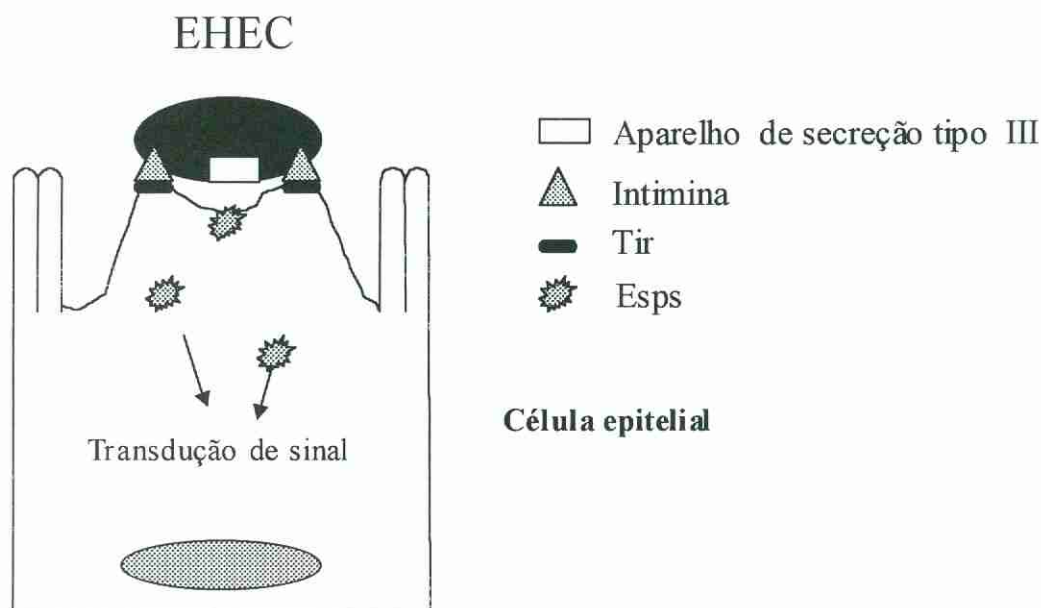


FIGURA 3 – Representação da transdução de sinal da célula eucariótica.

Outros fatores de virulência

Algumas amostras de EHEC produzem Toxina Shiga (Stx), que é uma potente toxina que pára a síntese de proteína na célula epitelial, ocasionando a sua morte. Estas amostras produtoras de Toxina Shiga são as que mais oferecem risco de SUH aos hospedeiros (ACHESON & KEUSCH, 1996).

Várias amostras de EHEC também produzem hemolisina. O operon da hemolisina de EHEC foi clonado em uma amostra do sorotipo O157:H7 e apresenta homologia com a-hemolisina de *E. coli*. Este operon encontra-se em um plasmídeo de alto peso molecular e a hemolisina purificada foi detectada no soro de pacientes infectados por EHEC e com SUH, sugerindo que esta hemolisina possa estar envolvida na SUH (SCHMIDT *et al.*, 1995).

Conclusão

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) é um organismo epidemiologicamente importante como causa de diarreia sanguinolenta, sobretudo para crianças com menos de 5 anos de idade que sofrem maior risco de desenvolverem síndrome urêmica hemolítica após a infecção com esta bactéria.

O entendimento dos mecanismos de virulência utilizados por esta bactéria permitirá o desenvolvimento de vacinas e métodos de tratamento mais eficientes e adequados, diminuindo, desta forma, a morbidade e mortalidade associadas a esta infecção.

Referências Bibliográficas

- ACHESON, D. W. K.; KEUSCH, G. T. Which Shiga Toxin-producing types of *E. coli* are important? *ASM News*, 62: 302-306, 1996.
- ANDRADE, J. R., *et al.* An endocytic process in HEp-2 cells induced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, 1989.
- BALDWIN T. J., *et al.* Protein phosphorylation by protein kinase C in HEp-2 cells infected with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 58: 2024, 1990.
- BALDWIN, T. J., *et al.* Elevation of intracellular free calcium levels in HEp-2 cells infected with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 59: 1599-1604, 1991.
- BLUM, G., M., *et al.* Excision of large DNA regions termed pathogenicity islands from tRNA-specific loci in the chromosome of an *Escherichia coli* wild type pathogen. *Infect. Immun.*, 62: 606-614, 1994.
- DONNENBERG, M. S.; KAPER, J. B. Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 60: 3953-3961, 1992.
- ELLIOTT, S., *et al.* The complete sequence of the locus of enterocyte effacement (LEE) from enteropathogenic *Escherichia coli* E2348/69. *Molec. Microbiol.* in press, 1998.
- JARVIS, K. G., *et al.* Enteropathogenic *Escherichia coli* contains a specialized secretion system necessary for the export of proteins involved in attaching and effacing lesion formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 7996-8000, 1995.
- JERSE, A. E., *et al.* A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 7839-7843, 1990.
- KENNY, B., *et al.* Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell*, 91: 511-520, 1997.
- KENNY, B., *et al.* EspA, a protein secreted by enteropathogenic *Escherichia coli*, is required to induce signals in epithelial cells. *Mol. Microbiol.*, 20: 313-324, 1996.
- KNUTTON, S., *et al.* Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of a new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia*

- coli*. *Infect. Immun.*, 57: 1290-1298, 1989.
- KNUTTON, S.; LLOYD, D. R.; McNEISH, A. S. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and culture human intestinal mucosa. *Infect. Immun.*, 55: 69-77, 1987.
- LAI, L. C., *et al.* A third secreted protein that is encoded by the enteriopathogenic *Escherichia coli* pathogenicity island is required for transduction of signals and for attaching and effacing activities in host cells. *Infect. Immun.*, 65: 2211-2217, 1997.
- McDANIEL, T. K., *et al.* A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 1664-1668, 1995.
- McDANIEL, T. K.; KAPER, J. B. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on K12 *E. coli*. *Mol. Microbiol.*, 23: 399-407, 1997.
- MOON, H. W., *et al.* Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. *Infect. Immun.*, 41: 1340-1351, 1983.
- POLOTSKY, Y. E., *et al.* Pathogenic effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Escherichia coli* causing infantile diarrhea. *Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 24: 221-236, 1977.
- RAO, M. C.; DeJONGE, H. R. Ca and phospholipid-dependent protein kinases, *In E. Lebenthal and M. Duffey (ed.)*, *Textbook of Secretory Diarrhea*. New York: Raven Press, 1990. p.209-232.
- RILEY, L. W. The epidemiologic, clinical, and microbiologic features of hemorrhagic colitis. *Ann. Ver. Microbiol.*, 41: 383-407, 1987.
- ROBINS-BROWNE, R. M. Traditional enteropathogenic *Escherichia coli* of infantile diarrhea. *Rev. Infect. Dis.*, 9: 28-53, 1987.
- ROTHBAUM, R., *et al.* A clinicopathological study of enterocyte-adherent *Escherichia coli*: a cause of protracted diarrhea in infants. *Gastroenterology.*, 83: 441-454, 1982.
- SCHMIDT, H.; BEUTIN, L.; KARCH, H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933. *Infect. Immun.*, 63:1055-1061, 1995.
- SPERANDIO, V., *et al.* Characterization of the locus of enterocyte effacement (LEE) in different enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) serotypes. *submitted*, 1998.
- STALEY, T. E, JONES, E. W.; CORLEY, L. D. Attachment and penetration of *Escherichia coli* into intestinal epithelium of the ileum in newborn pigs. *Am J. Pathol.*, 56: 371-392, 1969.
- TAYLOR, C. J. Ultrastructural and biochemical changes in human jejunal mucosa associated with enteropathogenic *Escherichia coli* (O111) infection. *J. Pediatr. gastroenterol. Nutr.*, 5: 70-73, 1986.
- TZIPORI, S. Enteropathogenic *Escherichia coli* enteritis: evaluation of the gnotobiotic piglet as a model of human infection. *Gut.*, 26: 570-578, 1986.
- ULSHEN, M. H.; ROLLO, J. L. Pathogenesis of *Escherichia coli* gastroenteritis in man-another mechanism. *N. Engl. J. Med.*, 302: 99-101, 1980.
- WIELER, L. H. *et al.* Insertion site of the locus of enterocyte effacement in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* differs in relation to the clonal phylogeny of the strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, 156: 49-53, 1997.

Recebido em: 10/03/1998
Aceito em: 10/08/1998