

ARTÍCULO DE REVISIÓN/ARTIGO DE REVISÃO

Interacciones celulares en el proceso de invasión de *Shigella* sp

Cellular interactions in the invasion process of *Shigella* sp

Kenia Barrantes Jiménez¹
Rosario Achí Araya¹

¹Microbióloga, Investigadora de la Sección Infección Nutrición, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Rev Panam Infectol 2009;11(2):56-61.

Conflicto de intereses: ninguno

Resumen

Shigella, como agente etiológico de la disentería bacilar, es un problema importante de salud pública a nivel mundial. Para el establecimiento de la infección este microorganismo emplea las funciones celulares y de defensa propias del hospedero como son las células M, los macrófagos y la “endocitosis” en su célula blanco, el enterocito para lograr la replicación y diseminación intra e intercelular. Las proteínas denominada Ipa (por “invasión plásmid antígeno”) son importantes efectoras bacterianas involucradas directamente con el proceso de invasión celular. Estas proteínas se secretan al exterior por medio de un sistema denominado Sistema de Secreción tipo III o SSTT. Tanto los genes del SSTT como de las proteínas ipa (ipaB, ipaC, ipaD, ipaA, e IpgD) están codificados en los operones *mxi/spa* e *ipa*, en el plásmido de invasión de *Shigella*. Existen otros determinantes de virulencia codificados tanto en el pINV (icsA, ipaH) como en el cromosoma bacteriano (lipopolisacárido o LPS, enterotoxina 1, toxina Shiga, etc), que cumplen distintos roles durante la invasión. La transmigración de polimorfonucleares neutrófilos y la liberación de citoquinas proinflamatorias, disgregan la integridad de la barrera intestinal, facilitan la invasión y determinan el desarrollo clínico durante la shigelosis.

Palabras clave: *Shigella*, shigelosis, diarrea, patogénesis, interacciones celulares.

Abstract

Shigella, as an etiological agent of bacillary dysentery, is considered an important public health problem around the world. To establish infection, *Shigella* uses host cellular and defense mechanisms such as M cells, macrophages and “endocytosis” in the target cell: the enterocyte, followed by intracellular replication and spreading into adjacent cells. The invasion plasmid antigen (ipa) proteins are important bacterial effectors directly involved in the cellular invasion process. Ipa proteins are excreted by the Secretion System Type III (SSTT). SSTT and ipa genes (ipaB, ipaC, ipaD, ipaA, e IpgD) are encoded in the *mxi/spa* and *ipa* operons, carried on the *Shigella* invasion plasmid (pINV). Virulence factors as icsA and ipaH are encoded on pINV. Others such as lipopolisaccharide (LPS), enterotoxin and Shiga toxin are encoded in the bacterial chromosome and play different roles in the invasion process. Transmigration of polymorphonuclear leucocytes and the release of proinflammatory cytokines disrupt the

Recibido en 28/4/2008.

Aceptado para publicación en 2/9/2008.

intestinal barrier which facilitates the invasion process and define the clinical symptoms of shigellosis.

Key words: *Shigella*, shigellosis, diarrhea, pathogenesis, cellular interactions.

Introducción

Shigella sp., como agente etiológico de la disentería bacilar, es un problema importante de salud pública a nivel mundial. Aunque los países desarrollados no se ven exentos de este problema, la morbi-mortalidad asociadas a esta infección son significativamente más altas en los países en vías de desarrollo. De acuerdo con un estudio de revisión para el período 1966-1997, se promedian 164,7 millones de casos de shigelosis por año alrededor del mundo. De esta cifra, 163,2 millones (99%) corresponden a países en vías de desarrollo y 1,5 millones (1%) a países industrializados. Las poblaciones más afectadas son niños menores 5 años (69% de los casos), con mayor mortalidad en este grupo etéreo.⁽¹⁻⁴⁾

El género *Shigella* incluye 4 especies: *S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. flexneri*, y *S. sonnei*. Las especies más comunes en países en vías de desarrollo son *S. flexneri* y *S. dysenteriae*. En países industrializados, los brotes epidémicos por esta bacteria se asocian principalmente a *S. sonnei*.^(1,2)

La shigelosis inicia como una diarrea acuosa que puede progresar a deposiciones mucoides y sanguinolentas (disentería) debido a la invasión y replicación de *Shigella* en las células epiteliales del colon.^(1,2,5) La vía de infección para la shigelosis es fecal-oral, predominantemente por contacto persona a persona, sin embargo se transmite también por agua y alimentos, asociado a brotes epidémicos.⁽⁶⁻¹⁰⁾ Algunos estudios corroboran que *Shigella* sp. es un agente endémico en la región centroamericana (R.Achí *et al.*, manuscrito en elaboración), asociado a diarrea severa que puede requerir hospitalización en niños.⁽¹¹⁾

Objetivos

El objetivo de esta revisión es ofrecer una descripción actualizada de las distintas interacciones que ocurren a nivel celular en el proceso de invasión al epitelio intestinal en la shigelosis en sus distintas etapas, desde el ingreso por sistema digestivo y la resistencia al ácido de la mucosa gástrica, hasta la colonización del epitelio intestinal por medio de trans migración de las células M, fagocitosis e inducción de apoptosis en macrófagos, invasión por la superficie basolateral del enterocito y diseminación intra e intercelular. Los objetivos específicos son describir la interacción de los siguientes factores o determinantes de virulencia: sistemas de resistencia al ácido, proteínas efectoras (Ipa A, Ipa B, Ipa C, Ipa D,

IpgD), sistema de secreción tipo III, proteínas para la diseminación intra e intercelular (IcsA-VirG, VirA), genes codificantes en el plásmido de invasión y finalmente, describir otros factores de virulencia asociados como el lipopolisacárido y las toxinas (toxina Shiga, enterotoxinas 1 y 2).

Metodología

Para la presente revisión se realizaron búsquedas de publicaciones en bases de datos bibliográficas como PubMed y Medline, utilizando como palabras clave: *shigella*, *secretion system SSTT*, *shigellosis*, *ipaB*, *ipaC*, *ipaD*, *invasion plasmid*, *shigella enterotoxins*, *shigella pathogenesis*, *Shiga toxin*, entre otras. Se utilizaron las publicaciones relacionadas con la patogénesis molecular de *Shigella*, específicamente estudios experimentales sobre la caracterización y función de distintos factores de virulencia (sistema de secreción tipo III, las proteínas Ipa, enterotoxinas, toxina Shiga) relacionados con el proceso de invasión al epitelio intestinal. Un criterio para esta búsqueda fue el año de publicación, pues se utilizaron las referencias bibliográficas a partir del año 2001 hasta el 2008, con algunas excepciones por ser artículos considerados como relevantes en este tema. Se utilizó además publicaciones del INISA, producto de nuestras investigaciones en este campo y literatura especializada en patogénesis molecular de *Shigella*.

Resultados

Primeros pasos en el proceso de invasión: Resistencia bacteriana a la acidez gástrica

La ingestión de 10 a 500 células viables de cualquiera de las 4 especies de *Shigella* es suficiente para causar shigelosis en individuos susceptibles.^(1,6,12) Se ha demostrado que *Shigella* sp. y *Escherichia coli* poseen mecanismos que les confieren resistencia a la acidez,^(12,13) tales como el mecanismo de resistencia al ácido 1, inducido por acidez y reprimido por glucosa y el mecanismo 2, conocido como GDAR por sus siglas en inglés (*Glutamate Dependend Acid Resistance*), dependiente de descarboxilasa de aminoácidos y sistemas antiporter.⁽¹²⁾ La presencia de estos sistemas puede contribuir a la tolerancia que *Shigella* muestra a la acidez gástrica, lo cual podría explicar al menos parcialmente, la baja dosis infectante que caracteriza a esta bacteria.^(13,14)

Células M y neutrófilos como la puerta de entrada

Luego de su paso por la mucosa gástrica, *Shigella* coloniza el epitelio intestinal en colon y transita a través de las células M, que recubren los nódulos linfoides

del epitelio intestinal. Posteriormente, a bacteria es fagocitada por los macrófagos residentes, siendo este proceso facilitado por la secreción de proteínas efectoras, conocidas como Ipa (siglas de "Invasion Plasmid Antigen").^(1,14,15)

Las Ipa están involucradas directamente en el proceso de invasión del epitelio intestinal y se secretan al exterior por medio de un sistema denominado Sistema de Secreción tipo III o SSTT.^(1,14-16) Los genes que codifican tanto para el SSTT como las proteínas efectoras (ipaB, ipaC, ipaD, ipaA, e IpgD) se encuentran localizados en los operones *mxi* (*membrane expression of ipa antigens*) /*spa* (*surface presentation of ipa antigens*) e *ipa*, en una isla de patogenicidad del plásmido de *Shigella*, denominado como plásmido de invasión o pINV. Este plásmido posee otros determinantes de virulencia con diversos roles durante la invasión.^(1,14,16-18)

Fagocitosis e inducción de apoptosis en el macrófago

La fagocitosis de *Shigella* por parte de los macrófagos residentes en el epitelio intestinal se facilita por la secreción de la proteína ipaC, que induce la fagocitosis mediante la transducción de una señal de ingreso.⁽¹⁹⁾ Una vez dentro del macrófago, *Shigella* escapa del fagosoma e induce apoptosis o muerte celular programada de tipo proinflamatorio, siendo este mecanismo dependiente de la proteína ipaB.⁽²⁰⁾ Esta proteína activa por proteólisis a la enzima Caspasa-1, la cual activa el mecanismo de apoptosis y la secreción de citoquinas proinflamatorias como la interleukina 1- β (IL-1- β) y la IL-18.^(1,14,19)

Shigella se libera del macrófago apoptótico en una ubicación que favorece el contacto e invasión de su célula blanco, el enterocito, por la superficie basolateral. La otra ruta de invasión basolateral del enterocito es vía polimorfonucleares neutrófilos, que migran por las uniones epiteliales en respuesta a la presencia de *Shigella* invasora y a la liberación de citoquinas como la IL-1 β . El proceso de transmigración de estas células hacia el lumen intestinal contribuye a desestabilizar la integridad de la barrera epitelial, facilitando así la exposición de la superficie basolateral del enterocito y el ingreso de *Shigella* a su célula blanco.^(1,14,15)

Ingreso por la superficie basolateral de las células epiteliales

El ingreso de *Shigella* al citoplasma del enterocito es un proceso complejo, que involucra una serie de pasos o mecanismos de interacción entre las distintas proteínas efectoras bacterianas y la célula hospedera.^(17,22)

La primera etapa es de preinteracción, en la que las proteínas efectoras se acumulan en el ci-

toplasma bacteriano y se asocian con chaperonas para evitar su degradación por proteólisis, como el caso de ipaB-C y la chaperona IpgC.^(14,17) El SSTT se ensambla en la membrana de la bacteria a 37°C, para iniciar con la secreción de proteínas efectoras hacia el citoplasma del enterocito.⁽¹⁷⁾ En una segunda etapa, conocida como interacción, se desarrolla una plataforma para la transducción de señales. Un evento de reconocimiento toma lugar en la punta del SSTT, activando un proceso de secreción proteica.⁽¹⁷⁾ En una tercera etapa ocurre la macropinocitosis de la bacteria, hay rearrreglos localizados y masivos de la superficie celular del enterocito, caracterizado por la formación de las estructuras conocidas como filopodios y lamelipodios. Los rearrreglos del citoesqueleto de actina permiten la formación de un "foco de entrada".^(1,17) Una proteína codificada en el plásmido de invasión de *Shigella*, llamada VirA, es secretada por medio del SSTT, e induce una desestabilización local del citoesqueleto. Esta desestabilización es producida por la activación de pequeñas guanosina trifosfatasa (GTPasas) de la familia Rho y por una cascada que involucra a src y su sustrato fosforilado, la cortactina, ambos inducen la nucleación y el ensamblaje de actina, por medio del complejo Arp2/3.^(1,22)

En la cuarta y última etapa se da la depolimerización de actina y cierre del macropinocitoma. La efectora ipaA, es secretada por medio del SSTT, se une a un dominio N Terminal de la vinculina e induce la depolimeración de actina.^(1,17) Una vez dentro del enterocito, la bacteria se multiplica dentro del citoplasma, nicho que la protege de los componentes del sistema inmunológico del espacio extracelular. La habilidad de *Shigella* para la diseminación inter e intracelular requiere de una proteína de membrana externa denominada IcsA (VirG), codificada en el plásmido de invasión y de otra proteína secretada por SSTT, la cistein proteasa VirA.^(1,14,15)

El proceso de locomoción permite que la bacteria encuentre la membrana plasmática eucariota, en donde forma protusiones que son endocitadas por las células adyacentes, permitiendo la formación de vacuolas o endosomas de doble membrana, y la diseminación inter celular.⁽¹⁷⁾ Luego de la lisis de la doble membrana, la cual depende del SSTT y de las efectoras IpaB, IpaC e IpaD, *Shigella* se libera en el citoplasma de la célula adyacente e inicia un nuevo ciclo de replicación y diseminación intra e intercelular.^(1,14,15)

El proceso de invasión intracelular genera una fuerte respuesta inflamatoria que destruye la integridad de la barrera epitelial intestinal, exponiendo la submucosa al espacio luminal.^(1,14) Conjuntamente hay debilitamiento de las uniones intercelulares por

la trans migración de los PMN al lumen intestinal y por la alteración de la composición proteica entre las uniones por efecto de la propia bacteria. Estas estrategias permiten a *Shigella* acceder a su célula blanco obviando la transitosis mediada por células M.^(1,14) Los leucocitos PMN son los principales efectores que logran eliminar a la bacteria y delimitar la infección. Adicionalmente, el INF- es esencial en la respuesta innata de defensa contra *Shigella*.^(1,14)

El plásmido de invasión de *Shigella*

Las interacciones que se desarrollan a nivel celular en la shigelosis y sus manifestaciones clínicas son producto de una interacción compleja entre una amplia gama de factores de virulencia, muchos de los cuales están codificados en su plásmido de invasión (pINV). El cromosoma bacteriano también codifica para genes de virulencia (como LPS, enterotoxina 1), islas de patogenicidad (SHI-1, SHI-2, SHI-3, SHI-O y SRL) y elementos de regulación y existe una red global de regulación que controla la expresión de todos estos determinantes de virulencia, tanto en el pINV como en el cromosoma.⁽¹⁴⁾

La secuenciación completa del pINV de distintas cepas de *Shigella*, ha revelado que este plásmido es un mosaico de alrededor de unos 100 genes, con alta densidad de secuencias de inserción (elementos IS) y bajo contenido de guanina y citosina (G+C) en genes de virulencia reconocidos, como la región *mxi-spa* e *ipa* (G+C=30 a 35%) en relación con el resto del pINV y el propio cromosoma de *Shigella* (G+C=47,6 a 50%).^(14,18) Se ha observado además, una homología en los genes de virulencia y secuencias flanqueantes de las islas de patogenicidad de *Shigella*, *Yersinia* y *Pseudomonas syringae*, indicando la posibilidad de un ancestro común para las islas de patogenicidad en los plásmidos de estas 3 bacterias.⁽¹⁸⁾ Otros estudios sugieren que *Shigella* sp. no es género separado de *E. coli*, pues ha evolucionado a partir de esta especie, ambas bacterias poseen una divergencia en sus genomas de sólo el 1,5%.^(14,18)

Otros factores de virulencia

Lipopolisacárido (LPS)

El LPS es el mayor componente en la membrana externa de *Shigella*, así como de bacterias Gram negativas en general y su estructura completa es esencial para la multiplicación y la sobrevivencia intracelular de estos patógenos en su hospedero.⁽²⁵⁾ En el caso de *Shigella*, se ha observado que la glicosilación del LPS afecta la exposición del SSTT en la membrana bacteriana, y de ese modo limita el proceso de invasión en células intestinales de aspas ligadas de conejo.⁽²⁶⁾

Por otro lado, se ha observado que la ausencia del antígeno O afecta la motilidad generada por la polimerización de actina⁽¹⁾ y que existe una correlación entre la distribución y longitud del antígeno O y la habilidad de cepas de *S. flexneri* para formar placas y colas de F-actina, pues afecta la viabilidad de IcsA.⁽²⁷⁾

Toxinas

Shigella produce varias toxinas, como la toxina Shiga (Stx) asociada al serotipo A1 en *S. dysenteriae*. La toxina Shiga o Stx es una exotoxina que no es secretada por la bacteria, sino que se libera únicamente durante la lisis celular y su efecto es bloquear la síntesis proteica en la célula eucariota. El receptor conocido para esta toxina se denomina Globotriaosil o Gb3, y se expresa de forma variable en células del endotelio vascular, encontrándose en mayor cantidad en el endotelio intestinal y renal.^(28,29) Existen además las toxinas similares a toxina de Shiga, denominadas *Shiga like toxin* o SLT 1 y 2, detectadas en *Escherichia coli* enterohemorrágica.⁽³⁰⁾ Algunos estudios han demostrado una asociación significativa entre la presencia de genes de intimina (una proteína involucrada en la unión íntima de *E. coli* enterohemorrágica a su célula blanco en el epitelio intestinal) y la forma SLT 2 en aislamientos de *Shigella* de pacientes con colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, suponiendo una actividad sinérgica entre el gen de intimina y la toxina SLT 2.⁽²⁸⁾

En el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico o SUH, enfermedad sistémica que se asocia más frecuentemente con *E. coli* enterohemorrágica, la toxina pasa desde el intestino al endotelio renal por vía vascular, produciendo daño celular como necrosis cortical renal en algunos casos con trombosis y destrucción de los capilares glomerulares.^(1,30) Otro órgano que se puede ver afectado en el SUH es el cerebro, con serias complicaciones como convulsiones, ceguera cortical y accidente vascular cerebral por trombosis. Se han descrito además, problemas cardiopulmonares como síndrome de distress respiratorio, fallo cardiaco congestivo y miocarditis.⁽³⁰⁾

Shigella produce otras toxinas como la enterotoxina 1, codificada en el cromosoma en los genes *set1A* y *set1B*, y la enterotoxina 2, codificada en un plásmido de 63 kDa.^(1,14,31-33) Ambas enterotoxinas alteran el transporte de agua y electrolitos en intestino de conejo tanto *in vitro* como *in vivo*.⁽³¹⁾

La importancia de la enterotoxina 1 en la virulencia de *Shigella* se ha descrito más recientemente. Esta toxina parece relacionarse con la fase temprana de la diarrea acuosa en la shigelosis, expresándose con mayor frecuencia en *S. flexneri* 2a. Sin embargo el mecanismo por el cual inicia la diarrea durante la shi-

gelosis no está aún claramente definido.^(14,32) Estudios realizados en Malasia han detectado los genes *set1A* y *set1B* en el 42% de los aislamientos de *Shigella* provenientes de pacientes con shigelosis disintérica, mientras que en España se ha registrado hasta un 60,78% en casos de diarrea del viajero.⁽³¹⁻³³⁾

Por otra parte, la enterotoxina 2 fue descrita inicialmente en aislamientos de en *E. coli* enteroinvasora (EIEC) y se ha detectado en más del 80% de los serotipos de *Shigella* analizados.⁽³¹⁾

Conclusión

Shigella, como patógeno de humanos, es un agente importante de enfermedad diarreaica y disentería que muestra una alta capacidad de adaptación. Para establecer una infección exitosa, *Shigella* utiliza los mecanismos celulares y de defensa de su hospedero, así como diferentes tipos de efectores bacterianos (proteínas ipa BCDA, ipgD, icsA-virG, virA, entre otras) secretados por medio del Sistema de Secreción tipo III (SSTT) que promueven su ingreso y sobrevivencia dentro de la célula hospedera, así como su replicación y diseminación intra e intercelular. Los operones *mxi*, *spa* e *ipa*, que codifican para el SSTT y las proteínas ipa, se encuentran codificados en el plásmido de invasión de *Shigella* y se transcriben al contacto de la bacteria con el enterocito. Existen además otros factores de virulencia, como el lipopolisacárido (LPS) y toxinas como la toxina Shiga, que cumplen un papel importante en este proceso infeccioso.

En esta revisión, se han resumido algunas de las características más relevantes del proceso de invasión celular, lo que permite mayor comprensión de las interacciones celulares que se desarrollan en la shigelosis. El estudio molecular de la patogénesis de *Shigella* se ha acelerado en los últimos años, sin embargo, aunque es mucha la información disponible bajo este enfoque, aumentan las preguntas sin respuestas claras que ameritan más investigaciones. Numerosos estudios evidencian la presencia de este agente en comunidad, en población pediátrica hospitalizada por diarrea y en muestras de agua y alimentos. Al compararlo con otros países como EEUU, que registra a la shigelosis como la tercera causa de enfermedad transmitida por alimentos, para el período 1996-2006 se podría postular que, al menos para la región centroamericana, la vía de transmisión por alimentos y aguas contaminados puede ser también importante y por lo tanto, se considera relevante el continuar investigaciones en este campo.

Financiamiento

No existió ayuda financiera para la elaboración de este artículo. De modo que declaramos que no hay conflicto de intereses.

Referencias

1. Sansonetti PJ, Egile C and Wennerás C. Shigellosis: From symptoms to molecular and cellular pathogenesis. En: Groisman E (ed.). Principles of Bacterial Pathogenesis. United States: Academic Press;2001. p. 336-343.
2. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ et al. Global burden of *Shigella* infections: Implications for the development of vaccines and application of control strategies. Bull World Health Organ 1999;77:651-666.
3. Wang X, Du L, Von Seidlein L, Xu Z, Zhang Y, Hao Z et al. Occurrence of shigellosis in the young and elderly in rural China: Results of a 12-month population-based surveillance study. Am J Trop Med Hyg 2005;73:416-422.
4. Jones F, Sánchez J, Meza R, Batsel T, Burga R, Canal E et al. Short report: high incidence of shigellosis among peruvian soldiers deployed in the amazon river basin. Am J Trop Med Hyg 2004;70:663-665.
5. Shim D, Suzuki T, Chang S, Park S, Sansonetti P, Sasakawa C et al. New animal model of shigellosis in the guinea pig: its usefulness for protective efficacy studies. J Immunol 2007;178:2476-2482.
6. Organización Panamericana de la Salud. El control de las enfermedades transmisibles. Chin J (ed.). 17va ed. American Public Health Association. 2001. p. 552-557.
7. Surveillance Report for 2006. Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FOODNET). Centers for Disease Control and Prevention (CDC);Marzo, 2008. Disponible en: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5614a4.htm?s_cid=mm5614a4_e
8. Barrantes K, Veko P y Achí R. Brote de diarrea asociado a *Shigella sonnei* debido a contaminación hídrica. San José, Costa Rica, 2001. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 2004;25:15-22.
9. Valiente C y Mora D. Estudio bacteriológico del agua asociado a brotes de diarrea en Costa Rica, 1999-2005. Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica. Noviembre 2005;11(suplemento):11-14.
10. Barrantes K, Achí R, Bolaños S, Cerdas M y Cortés X. Calidad microbiológica y aislamiento de *Shigella flexneri* en vegetales frescos del Area Metropolitana de Costa Rica, 2001-2002. Boletín Avances de Investigación en Seguridad Alimentaria y Nutricional (SAN). Publicación INCAP, Número ME/11(2006). 42-48.
11. Achí R, Siles X, Mata L and Lindberg AA. *Shigellae* assays based on immunomagnetic separation in children from urban marginal communities of Costa Rica. J Infect 1996;32:211-218.

12. Jennison A and Verma N. The acid-resistance pathways of *Shigella flexneri* 2457T. *Microbiology* 2007;153:2593-2602.
13. Foster J. *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. *Nature* 2004;2:698-906.
14. Schroeder G and Hilbi H. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp: Controlling host cell signalling, Invasion, and death by Type III Secretion. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:134-156.
15. Suzuki T and Sasakawa C. Molecular basis of the intracellular spreading of *Shigella*. *Infect Immun* 2001;69:5959-5966.
16. Kenjale R, Wilson J, Zenk S, Saurya S, Picking W and Picking W. The needle component of the type III secretin of *Shigella* regulates the activity of the secretion apparatus. *J Biol Chem* 2005;52:42929-42937.
17. Cossart P and Sansonetti P. Bacterial invasion: the paradigms of entero invasive pathogens. *Science* 2004;304:242-248.
18. Venkatesan MM, Goldberg MB, Rose DJ, Grotbeck EJ, Burland V and Blattner FR. Complete DNA sequence and análisis of the large virulence plasmid of *Shigella flexneri*. *Infect Immun* 2001;69:3271-3285.
19. Schroeder G, Naja J and Hilbi H. Intracellular type III secretion by cytoplasmic *Shigella flexneri* promotes caspase-1-dependent macrophage cell death. *Microbiology* 2007;153:2862-2876.
20. Paetzold S, Lourido S, Raupach B and Zychlinsky A. *Shigella flexneri* phagosomal escape is independent of invasion. *Infect Immun* 2007;75:4826-4830.
21. Schroeder G and Hilbi H. Cholesterol is required to trigger caspase-1 activation and macrophage apoptosis after phagosomal escape of *Shigella*. *Cellular Microbiology* 2007;9:265-278.
22. Sansonetti P. The bacterial weaponry. Lessons from *Shigella*. *Ann NY Acad Sci* 2006;1072:307-312.
23. Espina M, Olive A, Kenjale R, Moore D, Ausar S, Kaminski R et al. IpaD localizes to the tip of the type III secretion system needle of *Shigella flexneri*. *Infect Immun* 2006;74:4391-4400.
24. Purdy G, Fisher C and Payne S. IcsA surface presentation in *Shigella flexneri* requires the periplasmic chaperones DegP, Skp and SurA. *J Bacteriol* 2007;189:5566-5573.
25. Jones B, Langford P, Kroll S and Yu J. The role of the *Shigella flexneri* yihE gene in LPS synthesis and virulence. *Microbiology* 2004;150:1079-1084.
26. West N, Sansonetti P, Mounier J, Exley R, Parsot C, Guadagnini S et al. Optimization of virulence functions through glucosylation of *Shigella* LPS. *Science* 2005;307:1313-1316.
27. Morona R, Daniels C and Van Den Bosch L. Genetic modulation of *Shigella flexneri* 2a lipopolysaccharide O antigen modal chain length reveals that it has been optimized for virulence. *Microbiology* 2003;149:925-939.
28. Fasano A. Toxins and the gut: role in human disease. *Gut* 2002;50:9-14.
29. Henhly H, Sheff D and Stamnes M. Shiga toxin facilitates its retrograde transport by modifying microtubules dynamics. *Mol Biol Cell* 2006;17:4379-4389.
30. Tzipori S, Sheoran A, Akiyoshi d, Donohue-Rolfe A and Trachtman H. Antibody therapy in the management of Shiga Toxin-induced hemolytic uremic syndrome. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:926-941.
31. Fasano A, Noriega F, Wang W and Levine M. Effect of *Shigella* enterotoxin 1 (ShET1) on rabbit intestine in vitro and in vivo. *Gut* 1997;40:505-511.
32. Vargas M, Gascon J, Jiménez MT and Vila J. Prevalence of *Shigella* enterotoxins 1 y 2 among *Shigella* strains isolated from patients with travel's diarrhea. *J Clin Microbiol* 1999;37(11):3608-3611.
33. Lin Thong K, Ling Hoe S, Puthuchery SD y Yasin RM. Detection of virulence genes in Maylasian *Shigella* species by Multiplex-PCR assay. *BMC Infectious Diseases* 2005;5(8):1-7.

Correspondencia:

Kenia Barrantes Jiménez

Instituto de Investigaciones en Salud (INISA),

Universidad de Costa Rica

Apartado Postal: 11501-2060,

San Pedro Montes de Oca, San José, Costa Rica.

e-mail: kenia.barrantes@ucr.ac.cr