

***Escherichia coli* verocitotoxigénico: varias cuestiones... y los tambos también**

DANIEL FERNÁNDEZ, NORA L. PADOLA*

Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil, CONICET-CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Pinto 399 (7000) Tandil, Argentina.

*Correspondencia. E-mail. nlpadola@vet.unicen.edu.ar

RESUMEN

Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC) es causante de brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH). En Argentina el SUH es endémico, con 500 nuevos casos por año y una incidencia de 17/100 000 niños menores de 5 años. El serotipo aislado con mayor frecuencia es el O157:H7, aunque hay serotipos no-O157 que están asociados con la enfermedad en el hombre. VTEC produce verocitotoxinas y factores de virulencia accesorios como intimina, enterohemolisina y una proteína autoaglutinante llamada Saa. Diversos estudios realizados en varios países han confirmado que los bovinos de diferente edad son los principales reservorios de VTEC, y han demostrado altas prevalencias tanto de serotipos O157:H7 como no-O157, muchos de ellos involucrados en brotes de SUH y CH a nivel mundial. La transmisión de VTEC al hombre se produce por el consumo de carne mal cocida, de verduras y agua contaminadas por heces de portadores, así como por el contacto persona-persona y con el medio ambiente contaminado. Los tambos pueden contribuir al riesgo de infección por VTEC en humanos mediante el consumo de leche cruda, de productos lácteos o carne contaminada proveniente de bovinos lecheros, y también a través del propio medio ambiente del tambo. Existe una amplia distribución y una alta prevalencia de serotipos VTEC en bovinos lecheros de Argentina, por lo cual es importante aplicar medidas de control y manejo que eviten la transmisión de cepas entre animales, ambiente y humanos.

Palabras clave: *Escherichia coli*, bovino, tambo, toxina Shiga

ABSTRACT

Verocytotoxigenic *Escherichia coli*: several aspects....and also the dairy farms. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) is associated with outbreaks and sporadic cases of hemorrhagic colitis (HC) and hemolytic-uremic syndrome (HUS), the most severe form of these human diseases. In Argentina HUS is endemic, with 500 new cases per year and an incidence of 17/100,000 in children under 5 years of age. VTEC O157:H7 is the most frequently isolated serotype, although there are non-O157 serotypes that have been associated with human disease. VTEC produces verocytotoxins and accessory virulence factors such as intimin, an enterohemolysin and an autoagglutinating protein called Saa. Cattle are VTEC carriers and several studies in Argentina have confirmed that bovines are the main reservoir of serotypes O157:H7 and non-O157, many of them involved in HUS and HC worldwide. Transmission of VTEC to humans occurs through consumption of undercooked meat, vegetables and water contaminated by feces of carriers, person-to-person and contaminated environment contact. Dairy farms can contribute to the risk of VTEC infection in humans through the consumption of raw milk, dairy products, and contaminated meat from dairy cattle and through contamination of the dairy environment. There is wide distribution and high prevalence of VTEC serotypes in dairy cattle in Argentina; therefore, it is important to improve the measures of control and management and to prevent the transmission of VTEC strains among animals, environment and humans.

Key words: *Escherichia coli*, cattle, dairy farms, Shiga toxin

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es la bacteria anaerobia facultativa más abundante de la flora normal del tracto gastrointestinal y es una de las primeras especies bacterianas que colonizan al mamífero recién nacido, el cual adquiere las primeras cepas del canal del parto y de las heces de su madre (4).

A pesar de esta simbiosis entre la bacteria y el huésped, hay diversas cepas de *E. coli* que pueden transformarse en patógenas tras adquirir genes de virulencia móviles localizados en islas de patogenicidad, bacteriófagos integrados y/o plásmidos (4). Es decir que si bien la cepas de *E. coli* patógenas poseen un genoma similar al de las que normalmente viven en el intestino de un mamífero, las primeras portan genes extras que contienen la información necesaria para producir un efecto perjudicial.

Los aislamientos de *E. coli* que causan enfermedad entérica se dividen en 6 virotipos o patotipos, agrupados según sus factores de virulencia y los mecanismos por los cuales causan enfermedad. Estos son *E. coli* enterotoxigénico [*enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)], *E. coli* enterohemorrágico [*enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)], *E. coli* enteropatógeno [*enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)], *E. coli* enteroinvasivo [*enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)], *E. coli* enteroagregativo [*enteroaggregative Escherichia coli* (EAggEC)] y *E. coli* de adherencia difusa [*diffusely adhering E. coli* (DAEC)] (10, 55, 60, 90). Las cepas de cada virotipo presentan mecanismos de patogenicidad específicos, serotipos distintos y producen infecciones y síndromes diferentes.

UNA DEFINICIÓN PARA EHEC

Son un subgrupo de cepas de *E. coli* verocitotoxigénicas (VTEC) que se caracterizan por compartir caracteres clínicos, patogénicos y epidemiológicos con la cepa prototipo O157:H7 (47). Su nombre se debe a la capacidad que tienen las cepas de este virotipo de producir colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH) en el hombre. Actualmente, un informe de la *American Academy of Microbiology* define a EHEC como sinónimo de VTEC (<http://academy.asm.org/images/stories/documents/EColi.pdf>).

FACTORES DE VIRULENCIA DE VTEC

Entre los factores de virulencia de VTEC se encuentra la producción de potentes citotoxinas denominadas verocitotoxinas (VT), Shiga toxinas o *shiga-like toxins*, las que están codificadas en el

genoma de profagos integrados en el cromosoma bacteriano (68). Las VT son factores de virulencia críticos de VTEC y responsables de la sintomatología observada en el SUH. Existen dos tipos de VT: VT1 y VT2, esta última con múltiples variantes.

Algunas VTEC expresan la proteína de membrana externa íntima (codificada por el gen *eae* del cromosoma bacteriano), responsable de la lesión conocida como *Attaching and Effacing* (A/E), que le permite a la bacteria adherirse y borrar las microvellosidades intestinales. Aquellas bacterias que no poseen íntima pueden presentar una proteína autoaglutinante denominada Saa, la que está codificada en un megaplásmido de 60 MDA (Mp) y tendría funciones en la adherencia bacteriana (69). El Mp o plásmido enterohemorrágico se encuentra presente en *E. coli* O157 y en algunos serotipos no-O157. Algunas cepas VTEC producen una enterohemolisina codificada en el gen *exhA* del Mp. El rol del Mp de O157 en la adherencia de este serotipo fue inicialmente sugerido por Karch *et al.* (41), quienes encontraron que la presencia de este plásmido se correlaciona con la expresión de fimbrias y la adherencia a células Henle 407, pero no a células Hep-2. En modelos animales, Tzipori *et al.* (91) demostraron que la presencia o ausencia del plásmido no afecta la capacidad de VTEC de colonizar el colon o causar lesión A/E en cerdos gnotobióticos.

Jenkins *et al.* (39) demostraron que no existe una asociación significativa entre VTEC aisladas de pacientes con SUH y la presencia del gen *saa*, sin embargo, se ha informado que algunos serotipos VTEC *saa*-positivos y *eae*-negativos son capaces de colonizar el tracto gastrointestinal del hombre y causar SUH (1, 6).

Existen nuevos factores de adherencia que no se detectan rutinariamente en las cepas VTEC, como el Iha (proteína de membrana externa) (85) y el Efa-1 (factor de adherencia de EHEC) (62, 82). Efa-1 es una adhesina producida por cepas no-O157, necesaria para la adherencia a la línea celular CHO *in vitro* y para la hemaglutinación, la autoagregación y la colonización del intestino de bovinos (62, 82). En un estudio realizado en Argentina, Galli *et al.* (26) detectaron el gen *iha* en el 85 % de las cepas aisladas de bovinos, mientras que el gen *efa1* no fue detectado en ninguno de los aislamientos.

El gen *efa1/lifA* está presente en la mayoría de los patógenos productores de lesión A/E, pero no es necesario para la formación de dicha lesión. Este gen está presente en una isla de patogenicidad denominada PAI O122, y está involucrado en la represión de la activación de los linfocitos del huésped (45) y en la adhesión a cultivos celulares (62). La presencia de este gen ha sido asociada in

vivo con la capacidad de las bacterias que lo portan de colonizar el tracto intestinal del bovino y de inducir diarrea en terneros jóvenes (82). Se ha informado también la existencia de adhesinas fimbriales y afimbriales (AFA-8, F17, CS31A) (83).

ARGENTINA A LA VANGUARDIA DE CASOS DE SUH

En el hombre, los síntomas clínicos asociados a infección con VTEC aparecen luego de 3 a 5 días de ingerir la bacteria (32) y pueden causar diarrea acuosa, CH, púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) y SUH (42).

Las manifestaciones gastrointestinales comienzan con diarrea acuosa, dolor abdominal grave y, ocasionalmente, náuseas y vómitos (49). La fiebre no es una característica de la infección (87). En uno o dos días la diarrea acuosa puede progresar a CH, con evidencia de edema y erosión de la mucosa colónica (32). La CH es una manifestación clínica caracterizada por dolores abdominales, presencia de sangre en las heces y, ocasionalmente, fiebre (50). En la mayoría de los casos, los síntomas desaparecen en una semana, sin secuelas evidentes. Sin embargo, pueden ocurrir complicaciones como PTT, SUH, falla renal aguda y muerte (61, 68) (Figura 1).

El SUH se caracteriza por la presencia de insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia grave, con microangiopatía de localización renal selectiva y manifestaciones de lesión isquémica en el sistema nervioso central, retina, miocardio, páncreas e intestino (77, 86).

Los primeros casos de SUH en Argentina fueron estudiados por el Dr. Carlos Giannantonio a partir de 1964, aunque no fue hasta 1983 que se atribuyó

a VTEC la etiología de la enfermedad (28). López *et al.* (49) demostraron que el serotipo O157:H7 estaba presente en menos de la mitad de los casos de SUH en niños de Argentina, lo cual sugirió la presencia de serotipos no-O157. Esto fue confirmado por Rivas *et al.* (75), aunque con una prevalencia de VTEC no-O157 menor del 30 %.

El SUH es la principal causa de insuficiencia renal aguda y la segunda causa de insuficiencia renal crónica y trasplante renal en niños de la Argentina (74, 93), donde adopta características de enfermedad endémica. Actualmente, nuestro país presenta el registro más alto de SUH de todo el mundo, con aproximadamente 420 casos declarados anualmente y una incidencia de 17/100 000 en niños menores de 5 años (76). Se registra un aumento estacional del número de casos en primavera y verano, y afecta principalmente a niños de entre 6 meses y 5 años. Generalmente los pacientes son niños eutróficos, de clase media, con buenas condiciones sanitarias y ambientales (93).

TRANSMISIÓN DEL RESERVORIO AL HOMBRE

El bovino: principal reservorio

Los rumiantes son el principal reservorio de VTEC (1, 21, 38, 79). Esta bacteria puede transmitirse al hombre a través de la ingestión de alimentos o agua contaminados con heces de animales, o por medio del contacto directo con estos animales o con su medio ambiente (8, 57, 58, 66, 67).

En contraste con lo que ocurre en el humano, los bovinos infectados con VTEC O157:H7 y no-O157 se mantienen tolerantes a la enfermedad, por lo cual la mayoría de los serotipos de VTEC implicados en

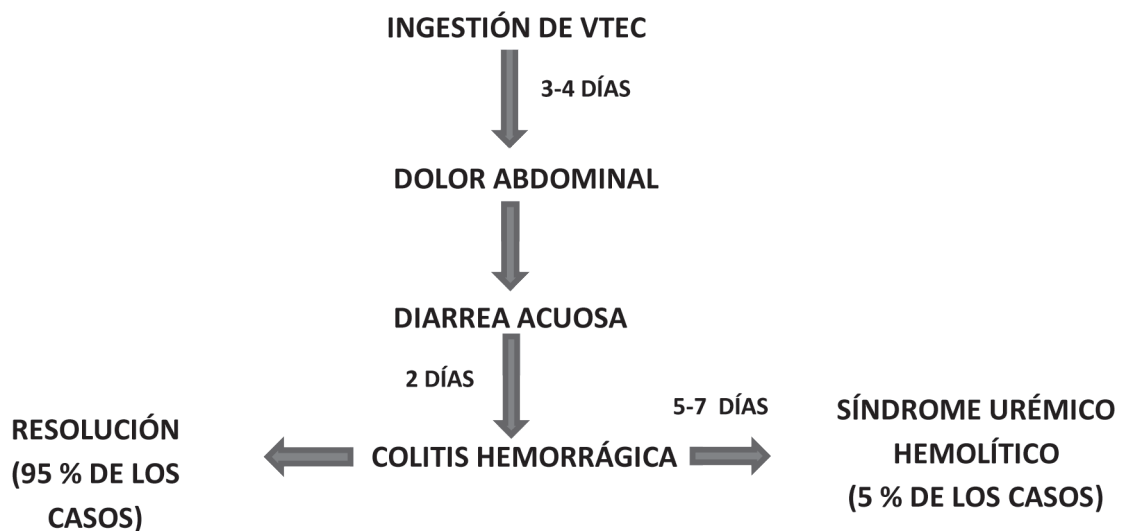


Figura 1. Desarrollo de la infección por VTEC. Adaptado de: Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. Lancet 1998; 10: 1207-12.

enfermedad en humanos no causan enfermedad en bovinos. Sin embargo, VTEC O157:H7 puede causar ileocolitis fatal en terneros recién nacidos, aunque no se han detectado lesiones vasculares extraintestinales ni manifestaciones sistémicas de enfermedad (9, 71).

Las causas de la naturaleza refractaria de los bovinos a la enfermedad por VTEC son aún contradictorias: según Pruijboom-Brees *et al.* (71), puede deberse a la ausencia del receptor (Gb3) de las VT en la mayoría de los tejidos de estos animales. Sin embargo, otros estudios demuestran que los bovinos expresan receptores para VT, pero en tejidos diferentes y con una nueva distribución celular. Se ha demostrado que las células apicales no unen VT1, lo que probablemente se corresponde con la pérdida de este receptor a medida que las células migran y se diferencian. La unión de la VT al epitelio intestinal bovino contrasta con la ausencia de este receptor en el epitelio intestinal humano y esto podría ser significativo durante la colonización del bovino (71).

VTEC puede ser incorporado por los terneros recién nacidos de sus madres, de otros animales y del medio ambiente. Los terneros de menor edad han sido considerados la categoría de mayor prevalencia de VTEC (63), pero en otro estudio se encontraron mayores prevalencias en vaquillonas (13). Si bien se desconocen las razones por las que ciertos grupos etarios de bovinos son más afectados, factores tales como diferencias en el desarrollo ruminal, en la respuesta inmune, en la dieta y en aspectos de manejo podrían ser relevantes (92). Los periodos de excreción fecal de VTEC en el bovino son intermitentes, con variaciones en la duración de la eliminación; se ha informado que esta es más prolongada en animales de menor edad (92).

Las condiciones climáticas representan otro factor de influencia en la excreción de VTEC en bovinos (15). Diversos estudios de estacionalidad en otros países están referidos solo a VTEC O157:H7 y documentan una excreción fecal baja en invierno, la que se incrementa en primavera y alcanza niveles pico en los meses de verano. Esta tendencia también fue demostrada en Argentina por Fernández *et al.* (21, 22) con respecto a la detección de VTEC no-O157 y de los genes codificantes de VT. Los brotes humanos de infecciones imitan este modelo de excreción, y tienen principalmente lugar en los meses cálidos (19, 64). Si bien la estacionalidad de VTEC no ha sido atribuida a un factor en especial, Edrington *et al.* (19) demostraron una relación entre el modelo de excreción estacional en bovinos y las horas de luz en el día. Estos autores corroboraron que la melatonina se excreta en forma similar al modelo de excreción de VTEC O157:H7, con una mayor secreción durante

los meses de verano. Esta hormona tendría un efecto inmunosupresor en el bovino, lo que explicaría la mayor excreción de VTEC durante meses calurosos. Por otra parte, la glándula tiroidea también podría estar influenciada por los cambios relacionados con la estacionalidad, dado que se detectan en suero menores niveles de hormonas tiroideas en épocas cálidas, por lo que podría existir una relación entre estas hormonas y la variación estacional de VTEC (43). Sin embargo, Schultz *et al.* (81) no encontraron diferencias en la eliminación de VTEC O157:H7 entre bovinos con baja concentración de hormonas tiroideas en suero y animales con niveles normales de estas hormonas.

El tipo de alimentación es otro de los factores que influyen la colonización por VTEC en bovinos (23, 51), ya que se ha observado que dietas a base de granos inducen una resistencia ácida de VTEC en el rumen y permiten que la bacteria sobreviva al pH del abomaso, con incremento de su excreción fecal (7). Sin embargo, aunque algunos investigadores atribuyen una mayor excreción de VTEC a dietas ricas en fibra, otros no encontraron diferencias significativas al comparar ambas dietas (30, 31, 36).

El estrés dietario es otro factor implicado en la variación de la excreción de VTEC, ya que en animales bien alimentados, la actividad metabólica de la flora ruminal anaeróbica produce una concentración de ácidos grasos volátiles que limita el número de coliformes, mientras que durante el ayuno, este efecto inhibitorio se vería disminuido y los animales excretarían una mayor cantidad de VTEC (92).

De la vaca al hombre

El consumo de alimentos de origen bovino (sobre todo, carne mal cocida y leche sin pasteurizar) contaminados con VTEC son las principales vías de transmisión de la bacteria al hombre (33). También el consumo de agua contaminada y el contacto directo con animales portadores de estas bacterias, o con pasturas o aguas recreacionales, han sido causantes de casos esporádicos y brotes de enfermedad (42, 48, 72) (Figura 2). Otros alimentos crudos como frutas y vegetales (alfalfa, lechuga, espinaca y rábano) y sidra de manzana contaminados con VTEC han sido responsables de enfermedad en el hombre (17, 33).

En Argentina, Parma *et al.* (67) detectaron VTEC en el 29 % de muestras de hamburguesas y en el 25 % de muestras de carne picada; los serotipos aislados fueron O20:H19, O91:H21, O113:H21, O116:H21, O117:H7, O171:H2 y OX3:H21. Otro estudio en Argentina determinó que el 8,4 % de las muestras de hamburguesas congeladas fueron VTEC positivas y documenta el hallazgo de los serotipos O8:H16, O113:H21 y O39:H4 (30), mientras que Chinen *et al.* (11) analizaron 279 muestras de carne y detectaron VTEC



Figura 2. Vías de transmisión de VTEC al hombre. Adaptado de: Fairbrother JM, Nadeau E. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. Rev Sci Tech 2006; 25: 555-69.

O157:H7 en el 3,8 % de las muestras de carne picada, el 4,8 % de las muestras de chorizo fresco y el 3,3 % de las muestras de chorizo seco. En la ciudad de Tandil, en particular, Sanz *et al.* (80) analizaron muestras de carne picada y hamburguesas, y detectaron VTEC en el 43 % de ellas.

La lechería argentina: niveles de producción para tener en cuenta

Luego de Brasil, Argentina es el segundo productor de leche de América Latina y se ubica en el décimo primer lugar a nivel mundial en exportaciones globales, tercero en el rubro leche en polvo entera y, recientemente, ha incorporado el suero deshidratado y la leche condensada a sus exportaciones (SAGPyA, Lácteos - Dirección de Industria Alimentaria - Centro de la Industria Lechera. <http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>).

La producción nacional creció a lo largo del siglo XX, pero en la última década, a partir de la estabilidad económica, la tasa de crecimiento alcanzó el 7,2 % anual acumulativo, con lo que pasó de 5937 millones de litros en 1991 hasta un récord de 10 329 millones de litros en 1999, y nuevamente en 2006, unos 10 162 millones de litros (<http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>). En 2009, se produjeron en el país alrededor de

10 100 millones de litros de leche, una cifra apenas superior a la registrada en 2008. Esto permitió un pleno abastecimiento al mercado doméstico y más exportaciones (<http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>).

Las estadísticas oficiales argentinas distinguen, dentro de la producción total de leche, una cierta cantidad (7,16 % en 2006) que se procesa fuera de la industria formal, y por ello se la denomina “leche informal”. En el pasado se la denominaba “leche cruda”, y de allí que en muchos casos se la relacionara con la leche fluida, aunque en realidad su destino mayoritario es la producción familiar de quesos y en mucha menor medida, el consumo directo. En 2006 se alcanzó el mayor volumen histórico destinado a este rubro (727,5 millones de litros), lo cual debería poner en alerta sobre las condiciones sanitarias y fiscales de este mercado.

Actualmente, el país produce alrededor de 800 millones de litros de leche al mes, con un pie de cría que cuenta con 50 millones de bovinos, dentro de los cuales 5 millones están destinados a la producción de leche (<http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>).

Si bien VTEC ha estado asociado al consumo de hamburguesas contaminadas, producto de los grandes brotes que han involucrado casas

de comidas rápida en todo el mundo, los tambos –como se mencionó anteriormente– también pueden contribuir al riesgo de infección por VTEC en humanos a través del consumo de leche cruda, de productos lácteos elaborados con leche sin pasteurizar, de carne contaminada proveniente de bovinos lecheros –ya sean vacas de descarte o terneros (18)–, o bien por contacto directo con animales o con el medio ambiente del tambo (70). Esto constituye un factor importante si se tienen en cuenta los niveles de producción de leche en Argentina recién citados.

En Argentina, entre el año 2008 y 2009, la ingestión de lácteos contaminados con VTEC ocupó el segundo lugar con respecto a su relación con los casos de SUH, vinculado con un 16,39 % de estos (dato proporcionado por la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires). La contaminación de la leche se produciría por contaminación fecal durante el ordeño, debido a que VTEC comúnmente no se excreta en leche y, sin embargo, ha sido aislado de muestras de leche cruda, ya sea de bovinos individuales o de leche del tanque (56).

En Argentina, Fernández *et al.* (22) determinaron una prevalencia de VTEC en vacas en ordeño del 32 %, en tanto que Sanz *et al.* (79) documentaron valores de 32,8 % y 44 % para bovinos en pastoreo y de matadero, respectivamente, de la misma zona de nuestro país. Estas prevalencias varían no solo de acuerdo con la región geográfica, sino también con las distintas estrategias de diagnóstico utilizadas, por lo cual se debe tener especial cuidado al comparar prevalencias entre diferentes países.

Los pequeños también

La prevalencia de VTEC en terneros de guachera en tambos de Argentina (43 %) y en terneros recién nacidos (25 %) (Fernández *et al.*, datos no publicados) sugiere que esa población bovina se encuentra expuesta a esta bacteria desde el nacimiento e indicaría un papel importante de la transmisión vertical de VTEC. En terneros, al igual que en bovinos adultos, también se observó mayor prevalencia de VTEC en épocas cálidas (21). La mayor prevalencia observada en bovinos de menor edad comparada con aquella de vacas en ordeño también se detectó en bovinos de matadero de Argentina (54) y en bovinos de otras partes del mundo (13, 92), y puede deberse a diferentes factores, como por ejemplo, una mejor colonización del tracto gastrointestinal favorecida por el estrés por destete, un menor desarrollo del sistema inmunológico, cambios en la dieta y el pH intestinal, o cambios anatómicos y fisiológicos del tracto gastrointestinal.

Épocas de calor: época de mayor riesgo

En épocas cálidas, no solo se presenta un mayor riesgo de transmisión de VTEC al hombre dado por la mayor excreción de esta bacteria por parte del bovino, sino que además, en un estudio realizado en Argentina por Fernández *et al.* (21), se pudo observar un alto porcentaje de cepas portadoras del gen *vt2* en todas las estaciones del año, con un aumento de cepas portadoras de los genes *vt1+vt2* y una disminución de aquellas portadoras de *vt1* en estaciones cálidas. Este factor es importante si se tiene en cuenta que el genotipo *vt2* es más citotóxico que *vt1*, puesto que algunos datos epidemiológicos indican que las cepas productoras de VT2 son más frecuentemente aisladas en los casos de SUH, y que los casos de SUH se producen con más frecuencia en los meses cálidos (73).

Las razones específicas de estas fluctuaciones se desconocen, pero las diferencias en la dieta y el manejo de los animales en las diferentes estaciones pueden tener un impacto sobre la selección de cepas que causan enfermedades en los seres humanos. Además, las secuencias de estos genes se encuentran en elementos genéticos móviles y pueden tener diferentes patrones de movilidad (82).

Varios autores establecieron una relación entre la edad de los bovinos y el gen *vt* e indicaron que *vt1* predomina en terneros y *vt2* en bovinos adultos (12, 14). Sin embargo, Fernández *et al.* (21) mostraron un incremento en primavera y verano de los porcentajes de bacterias portadoras de genes *vt1+vt2* en terneros y vacas, lo que sugiere que el tipo de *vt* está influenciado por la estación de año, más que por la edad de los animales.

Distintos nombres y apellidos para una misma familia

En cepas de VTEC aisladas de vacas en ordeño de Argentina, el principal perfil de virulencia encontrado fue *vt1, vt2, saa, ehxA*, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en bovinos de matadero y en carcasas en Argentina (54), y en bovinos de carne y lecheros en Brasil (65). Sin embargo, Padola *et al.* (66) encontraron una alta prevalencia de cepas con perfil *vt2, eae* y *ehxA*, lo cual demuestra la variabilidad de cepas dependiendo del sistema de producción estudiado.

La mayor parte de los estudios realizados en bovinos de tambo se han centrado en la detección selectiva de VTEC O157. En Argentina, utilizando métodos no selectivos, se detectó una baja prevalencia de este serogrupo en vacas en ordeño (0,2 %) y terneros de guachera (0,8 %) (21), mientras que en frigoríficos, Masana *et al.* (53) encontraron VTEC O157 en el 4,1 % y 2,6 % de las muestras de heces y carcasas, respectivamente, utilizando

metodología selectiva para este serotipo. Por otra parte, Tanaro *et al.* (84) detectaron el serotipo O157 en 3,8 % de las muestras de heces de bovinos de Argentina. Estos datos indican que O157:H7 es un serotipo poco común en vacas de Argentina, aunque ha sido aislado de heces humanas, animales y alimentos por otros autores en este país (11, 60, 75).

En la Argentina, VTEC no-O157 se ha aislado en todas las categorías de bovinos de tambo, y muchos de estos serotipos (O5:H⁻, O11:H⁻, O15:H⁻, O26:H11, O55:H⁻, O91:H21, O103:H⁻, O103:H2, O105:H18, O111:H⁻, O113:H21, O130:H11, O141:H19, O145:H⁻, O153:H25, O163:H19, O172:H⁻, O174:H21 y O178:H19) han sido aislados previamente de pacientes humanos con SUH, diarrea o CH en varios países (6, 22, 24, 29, 40, 89). Los serotipos EHEC O91:H21, O113:H21, O130:H11 y O178:H19 fueron los más frecuentemente aislados de vacas en Argentina (22). Estos serotipos también fueron encontrados con alta prevalencia en heces de bovinos de matadero y en carcasas (54).

Se ha informado la presencia de los serotipos O8:H16, O91:H21, O113:H21, O171:H2, O178:H19, ONT:H⁻ y ONT:H21 en bovinos lecheros de Argentina y en ganado de carne de este país (6, 22, 57, 66).

El serotipo enterohemorrágico O26:H11 se encontró en terneros recién nacidos de Argentina (Fernández *et al.*, datos no publicados). Este serotipo es el más comúnmente asociado a casos de diarrea y SUH en Europa, aunque también se han descrito casos de enfermedad en el hombre en otras partes del mundo, incluyendo Sudamérica (27).

En terneros de guachera y recién nacidos también se detectó el serotipo EHEC O145:H⁻, que fue aislado por primera vez en Argentina en bovinos de *feedlot* por Padola *et al.* (66) y que ha sido anteriormente involucrado en brotes de SUH en Japón (46). Actualmente, este serotipo es el segundo en importancia aislado de casos de SUH en Argentina, después de O157:H7.

El aislamiento de una gran variedad de serotipos en todas las categorías de bovinos de tambo de Argentina, mucho de ellos EHEC y portadores de todos los factores de virulencia, sugiere un alto riesgo para la salud pública.

El medio ambiente y VTEC

El medio ambiente puede proveer una forma de transmisión y diseminación de VTEC entre los bovinos de diferentes edades debido a la contaminación fecal repetida y a la supervivencia y crecimiento de la bacteria en aquel (13).

La principal vía de contaminación del medio ambiente del tambo con VTEC son las heces de los bovinos excretadas directamente sobre el suelo y las pasturas, otros animales domésticos, animales silvestres e insectos. Otra forma de ingreso de

VTEC al ambiente es a través del agua de efluentes de los tambos, especialmente luego de períodos prolongados de lluvia (88).

Al igual que en las heces bovinas, VTEC posee la capacidad de sobrevivir durante largos períodos en el suelo, el agua y el sedimento de los bebederos. Esa supervivencia depende de varios factores, como exposición a la luz solar, temperatura, competencia con la microflora nativa, disponibilidad de nutrientes, concentración de electrolitos y pH del medio (2).

La secreción oral también es una posible fuente de contaminación de aguas para consumo animal, ya que VTEC O157 ha sido aislado de tonsilas, rumen, retículo y abomaso de bovinos infectados. El microorganismo puede ser regurgitado en los pre-estómagos durante el proceso de rumia, contaminando de esta manera el medio ambiente acuático (20).

Los líquidos efluentes del tambo pueden ser otro medio de supervivencia de VTEC, y este proceso se encuentra marcadamente influenciado por la temperatura del medio ambiente. Las altas temperaturas generalmente están asociadas a una disminución en la concentración de VTEC O157:H7 en efluentes, mientras que con temperaturas menores la supervivencia de la bacteria es mayor. Este fenómeno podría deberse a una disminución de la actividad metabólica de la flora competitiva del medio acuático (84, 94).

La contaminación con VTEC de los alimentos para bovinos (por ejemplo, granos, pasturas, silo de pastura y silo de maíz) puede ocurrir durante el transporte y por la contaminación de los comederos. También puede darse una contaminación precosecha a causa de la utilización de heces bovinas como abonos, o poscosecha, mediante la contaminación por heces de aves, roedores e insectos durante el almacenamiento (47).

Se observó que VTEC O157:H7 es más ácido-resistente que otras cepas de *E. coli*, lo cual le da mayor capacidad de sobrevivir en alimentos ácidos, como los silajes (5). Se ha demostrado una larga persistencia de VTEC O157:H7 en suelo de potreros, y su persistencia se asoció con condiciones del medio ambiente y cantidad de VTEC inoculados (25). Fremaux *et al.* (25) determinaron que el serotipo O26:H11 puede sobrevivir por más de un año en el suelo, por lo que representa un factor importante en la contaminación inicial y recontaminación del bovino.

Entre los factores que son importantes para la persistencia de VTEC en el suelo y que pueden afectar la supervivencia de esta bacteria en el ecosistema se pueden citar factores abióticos (pH y estructura del suelo) y parámetros bióticos (predación, competencia y antagonismo) (44).

También son importantes otros factores, como el nivel de lluvias, la radiación solar y las variaciones de temperatura (95, 96). Se ha observado que VTEC puede sobrevivir en superficies inorgánicas durante períodos prolongados. La importancia de la persistencia de estos microorganismos en el medio ambiente es que, como ya fue mencionado, cada vez con más frecuencia el contacto con el medio ambiente contaminado con VTEC ha sido implicado en casos de enfermedad humana (8).

El bajo porcentaje de aislamiento de VTEC en el medio ambiente podría deberse a una baja concentración de la bacteria en este, o a que *E. coli* tiene la capacidad de entrar en estado de células viables pero no cultivables (VNC) cuando se encuentra en un ambiente estresante (70). Las bacterias VNC son células metabólicamente activas, pero incapaces de multiplicarse y formar colonias en los medios regularmente utilizados en los laboratorios, a menos que sean incubadas en presencia de metabolitos antioxidantes, ácido pirúvico y la enzima catalasa, con una alta disponibilidad de nutrientes. En este caso, el uso de métodos tradicionales de diagnóstico de VTEC basados en el cultivo de las muestras podría dar resultados falsos negativos, lo que representa un potencial riesgo para la salud si se emplean para la detección de contaminación. Por lo tanto, es indispensable la búsqueda del patógeno con técnicas que no requieran el cultivo del microorganismo, como PCR directa. Los métodos basados en PCR pueden detectar de manera específica y sensiblemente *E. coli* O157 y otras VTEC, aun en bajas concentraciones, si bien no distinguen células vivas de muertas (70).

Y finalmente, los lácteos

En estudios realizados en leche de tanque en otros países, se detectó solo el serotipo O157:H7 (35, 54). Otros autores no detectaron *E. coli* O157:H7 a partir de muestras de leche y productos lácteos (16).

En varios estudios se ha documentado una baja detección de VTEC a partir de leche almacenada en tanques, lo que resulta poco esperable teniendo en cuenta la alta prevalencia de este patógeno en los establecimientos de ordeño. Esto podría deberse al gran factor de dilución que representa la mezcla en el tanque de almacenamiento de la leche proveniente de todas las vacas del tambo, obtenida durante uno o más ordeños (34, 59). Además, algunos componentes de la leche (en especial, el sistema lactoperoxidasa) tienen un efecto inhibitorio sobre las bacterias contaminantes, y si bien el citado sistema actúa preferentemente sobre bacterias gram positivas, tiene poder bactericida sobre las gram negativas, incluyendo a *E. coli* (52). Estudios con leche contaminada

artificialmente demostraron que el agregado de los componentes del sistema lactoperoxidasa produce la inactivación de VTEC O157. Este sistema es más efectivo cuando el inóculo inicial y la temperatura son bajos, condiciones existentes en un tanque de almacenamiento, en donde la leche es mantenida a temperaturas cercanas a los 3 °C y en donde cabe esperar, además, una baja concentración de *E. coli* O157:H7 debido al efecto de dilución (78).

Varios trabajos han demostrado la capacidad de *E. coli* O157:H7 para sobrevivir en productos lácteos fermentados y quesos, por lo que VTEC también ha sido detectada en productos lácteos sin pasteurizar, como por ejemplo, yogurt, quesos, manteca y crema (37). La presencia de *E. coli* O157:H7 en leche destinada a la fabricación de estos productos, aun cuando se encuentre en bajas concentraciones, puede constituir una amenaza a la salud del consumidor (78). En Argentina, Balagué *et al.* (3) y Gómez *et al.* (30) aislaron VTEC de queso de pasta blanda, principalmente de serotipos no-O157.

PARA TENER EN CUENTA

Como ya se ha manifestado, VTEC puede causar enfermedad en el hombre. Si bien la mayoría de los casos han sido causados por el consumo de carne mal cocida, no se debe subestimar la importancia que tiene el consumo de lácteos contaminados en la transmisión de VTEC y el contacto con bovinos de tambo portadores de VTEC. Esto constituye un riesgo, principalmente para trabajadores rurales y personas que visitan los tambos en diversos países del mundo.

Se ha verificado que todas las categorías de bovinos de tambo de Argentina y de otros países pueden ser portadoras de VTEC O157:H7 y no-O157, y que el medio ambiente y las instalaciones del tambo constituyen un hábitat no animal de este grupo bacteriano.

Como fue descrito anteriormente, la detección de serotipos EHEC en épocas cálidas y la determinación de la estacionalidad en la presencia de cepas portadoras de vt2, concuerdan con datos epidemiológicos que describen un aumento de casos en niños en los meses de verano, y alertan sobre la patogenicidad de estas cepas.

Considerando la amplia distribución de VTEC en bovinos de tambo, las altas tasas de prevalencia descritas y el aislamiento de serotipos EHEC en bovinos lecheros de Argentina, es importante establecer la aplicación de medidas de control y de manejo tendientes a evitar la transmisión de cepas entre animales y la contaminación del ambiente. Entre estas medidas se debería considerar la higiene de los lugares en donde se encuentran las diferentes

categorías de bovinos, evitar el contacto de animales de diferente edad, considerar el adecuado tratamiento de los efluentes del tambo y realizar una adecuada rutina de ordeño para disminuir la probabilidad de contaminación de la leche.

Agradecimientos: los autores agradecen al Dr. Alberto Parma por la revisión del manuscrito y por su guía incondicional en el estudio de reservorios de VTEC. Los estudios que involucran a los autores fueron financiados por FONCyT (PICT 2005 Proy 38058; PICT 2010 Bicentenario Proy 1655), CIC y SECAT-UNICEN.

BIBLIOGRAFÍA

- Aidar-Ugrinovich L, Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Leomil L, Dahbi G, Mora A, Onuma DL, Silveira WD, Pestana de Castro AF. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from calves in Sao Paulo, Brazil. *Int J Food Microbiol* 2007; 115: 297-306.
- Avery LM, Williams AP, Killham K, Jones DL. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in waters from lakes, rivers, puddles and animal-drinking troughs. *Sci Total Environ* 2008; 389: 378-85.
- Balagué C, Khan AA, Fernández L, Redolfi A L, Aquili V, Voltattorni P, Hofer C, Ebner G, Dueñas S, Cerniglia CE. Occurrence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ready-to-eat food from supermarkets in Argentina. *Food Microbiol* 2006; 23: 307-13.
- Bell C. Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *Int J Food Microbiol* 2002; 78: 197-216.
- Benjamin MM, Datta AR. Acid tolerance of enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 1669-72.
- Blanco M, Blanco JE, Mora A, Dahbi G, Alonso MP, González EA, Bernárdez MI, Blanco J. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (*ea-*). *J Clin Microbiol* 2004; 42: 645-51.
- Boukhors K, Pradel N, Girardeau JP, Livrelli V, Ou Saïd AM, Contrepolis M, Martin C. Effect of diet on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) growth and survival in rumen and abomasum fluids. *Vet Res* 2002; 33: 405-12.
- Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005; 36: 289-311.
- Chase-Topping M, Gally D, Low C, Matthews L, Woolhouse M. Super-shedding and the link between human infection and livestock carriage of *Escherichia coli* O157. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 904-12.
- Chen HD, Frankel G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 83-98.
- Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, Baschkier A, Scapin M, Manfredi E, Rivas M. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Protect* 2001; 64: 1346-51.
- Cho S, Diez-Gonzales F, Fossler CP, Wells SJ, Hedberg CW, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB. Prevalence of Shiga toxin-encoding bacteria and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from dairy farms and county fairs. *Vet Microbiol* 2006; 118: 289-98.
- Cobbold R, Desmarchelier P. A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. *Vet Microbiol* 2000; 71: 125-37.
- Cobbold RN, Desmarchelier P. Characterisation and clonal relationships of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from Australian dairy cattle. *Vet Microbiol* 2001; 79: 323-35.
- Cobbold R, Desmarchelier P. Horizontal transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* within groups of dairy calves. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 4148-52.
- Conedera G, Dalvit P, Martín M, Galiero G, Gramaglia M, Goffredo E, Loffredo G, Morabito S, Ottaviani D, Paterlini F, Pezzotti G, Pisanu M, Semprini P, Caprioli A. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in minced beef and dairy products in Italy. *Int J Food Microbiol* 2004; 96: 67-73.
- De Boer E, Heuvelink AE. Foods as vehicles of VTEC infection. En: Duffy G, Garvey P, McDowell DA, editors. Verotoxigenic *E. coli*. Connecticut, USA, Food Science and Nutrition Press, 2001, p.120.
- Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int J Food Microbiol* 1991; 12: 289-302.
- Edrington TS, Callaway TR, Ives SE, Engler MJ, Loofer ML, Anderson RC, Nisbet DJ. Seasonal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants: a new hypothesis. *Food Path Dis* 2006; 3: 413-21.
- Fairbrother JM, Nadeau E. *Escherichia coli*: on farm contamination of animals. *Rev Sci Tech* 2006; 25: 555-69.
- Fernández D, Rodríguez E, Arroyo GH, Padola NL, Parma AE. Seasonal variation of Shiga toxin-encoding genes (*stx*) and detection of *E. coli* O157 in dairy cattle from Argentina. *J Appl Microbiol* 2009; 106: 1260-7.
- Fernández D, Irino K, Sanz ME, Padola NL, Parma AE. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from dairy cows in Argentina. *Lett Appl Microbiol* 2010; 51: 377-82.
- Franz E, Klerks MM, De Vosm OJ, Termorshuizen AJ, van Bruggen AHC. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* *stx1*, *stx2*, *ea*A, and *rfa*E genes and survival of *E. coli* O157:H7 in manure from organic and low-input conventional dairy farms. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 2180-90.

24. Fremaux B, Raynaud S, Beutin L, Vernozy Rozand C. Dissemination and persistence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains on French dairy farms. *Vet Microbiol* 2006; 117: 180-91.
25. Fremaux B, Prigent-Combaret C, Vernozy-Rozand C. Longterm survival of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle effluents and environment: an updated review. *Vet Microbiol* 2008; 132: 1-18.
26. Galli L, Miliwebsky E, Irino K, Leotta GA, Rivas M. Virulence profile comparison between LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from cattle and humans. *Vet Microbiol* 2010; 143: 307-13.
27. Geue L, Klare S, Schnick C, Mintel B, Meyer K, Conraths FJ. Analysis of the clonal relationship of serotype O26:H11 enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolates from cattle. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 6947-53.
28. Giannantonio CA, Vitacco M, Mendilaharsu F, Gallo G. The hemolytic-uremic syndrome. Renal status of 76 patients at long-term follow-up. *J Pediatr* 1968; 72: 757-65.
29. Giugno SM, Bibiloni N, Rahman R, Miliwebsky E, Chinen I, Rivas M. Asociación del síndrome urémico hemolítico con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Acta Bioq Clin Latin* 2007; 41: 27-33.
30. Gómez D, Miliwebsky E, Fernández Pascua C, Baschkier A, Manfredi E, Zotta M, Nario F, Piquin A, Sanz M, Etcheverría A, Padola N, Parma A, Rivas M. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productora de verotoxina de hamburguesas congeladas y quesos blandos. *Rev Argent Microbiol* 2002; 34: 66-71.
31. Grauke LJ, Wynia SA, Sheng HQ, Yoon JW, Williams CJ, Hunt CW, Hovde CJ. Acid resistance of *Escherichia coli* O157:H7 from the gastrointestinal tract of cattle fed hay or grain. *Vet Microbiol* 2003; 95: 211-25.
32. Griffin PM. Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans in the United States. In: Kaper, JB, O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Washington DC, ASM Press, 1998, p. 15-22.
33. Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Animal Sci* 2006; 85: E45-E62.
34. Hancock DD, Besser TE, Rice DH. Ecology of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle and impact of management practices. In: Kaper JB, O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Washington DC, ASM Press, 1998, p. 85-91.
35. Hayashi T, Makino K, Ohnishi M, Kurokawa K, Ishii K, Yokoyama K, Han CG, Ohtsubo E, Nakayama K, Murata T, Tanaka M, Tobe T, Iida T, Takami H, Honda T, Sasakawa C, Ogasawara N, Yasunaga T, Kuhara S, Shiba T, Hattori M, Shinagawa H. Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. *DNA Res* 2001; 8: 11-22.
36. Hovde CJ, Austin PR, Cloud KA, Williams CJ, Hunt CW. Effect of cattle diet on *Escherichia coli* O157:H7 acid resistance. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 3233-5.
37. Hussein HS, Sakuma T. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J Dairy Sci* 2005; 88: 450-65.
38. Irino K, Kato MAMF, Vaz TMI, Ramos II, Souza MAC, Cruz AS, Gomes TAT, Vieira MAM, Guth BEC. Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in Sao Paulo State, Brazil. *Vet Microbiol* 2005; 105: 29-36.
39. Jenkins C, Perry NT, Cheasty T, Shaw DJ, Frankel G, Dougan G, Gunn GJ, Smith HR, Paton AW, Paton JC. Distribution of the *saa* gene in strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of human and bovine origins. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1775-8.
40. Johnson KE, Thorpe CM, Sears CL. The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1587-95.
41. Karch H, Heeseemann J, Laufs R, O'Brien AD, Tacket CO, Levine MM. A plasmid of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for expression of a new fimbrial antigen and for adhesion to epithelial cells. *Infect Immun* 1987; 55: 455-61.
42. Karmali MA. Infection by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Mol Biotechnol* 2004; 26: 117-22.
43. Karsch FJ, Dahl GE, Hachigian TM, Thrun LA. Involvement of thyroid hormones in seasonal reproduction. *J Reprod Fertil Suppl* 1995; 49: 409-22.
44. Kerry BR. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annu Rev Phytopathol* 2000; 38: 423-41.
45. Klapproth JM, Scaletsky IC, McNamara BP, Lai LC, Malstrom C, James SP, Donnenberg MS. A large toxin from pathogenic *Escherichia coli* strains that inhibits lymphocyte activation. *Infect Immun* 2000; 68: 2148-55.
46. Kudoh Y, Kai A, Obata H, Kusunoki J, Monma C, Shingaki M, Yanagawa Y, Yamada S, Matsushita S, Itoh T, Ohta T. Epidemiological surveys on verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in Japan. 2nd International Symposium and Workshop on Verocytotoxin (Shiga-like toxin)-Producing *Escherichia coli* Infections. Recent advances in Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Infections, 1994, p. 53-6.
47. Levine MM, Xu JG, Kaper JB, Lior H, Prado V, Tall B, Nataro J, Karch H, Wachsmuth IK. A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic syndrome. *J Infect Dis* 1987; 156: 175-82.
48. Liang JL, Dziuban EJ, Craun GF, Hill V, Moore MR, Gelting RJ, Calderon RL, Beach MJ, Roy SL. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking - United States, 2003-2004. *MMWR Surveill Summ* 2006; 55: 31-65.
49. López EL, Díaz M, Grinstein S, Devoto S, Mendilaharsu F, Murray BE. Hemolytic uremic syndrome and diarrhea in

- Argentine children; the role of Shiga-like toxins. *J Infect Dis* 1989; 160: 469-75.
50. López EL, Contrini MM, de Rosa MF. Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in South America. In: Kaper JB and O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Washington DC, ASM Press, 1998, p. 30-7.
 51. Lynn TV, Hancock DD, Besser TE, Harrison JH, Rice DH, Stewart NT, Rowan LL. The occurrence and replication of *Escherichia coli* in cattle feeds. *J Dairy Sci* 1998; 8: 1102-8.
 52. MacLay JC, Kennedy MJ, O'Rourke RM, Elliot RS, Simmonds RS. Inhibition of bacterial foodborne pathogens by the lactoperoxidase system in combination with monolaurin. *Int J Food Microbiol* 2002; 73: 1-9.
 53. Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, D'Astek BA, Palladino PM, Galli L, Vilacoba E, Carbonari C, Rodríguez HR, Rivas M. Prevalence, characterization, and genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from selected beef exporting abattoirs of Argentina. *J Food Prot* 2010; 73: 649-56.
 54. Masana MO, D'Astek BA, Palladino PM, Galli L, Del Castillo LL, Carbonari C, Leotta GA, Vilacoba E, Irino K, Rivas M. Genotypic characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef abattoirs of Argentina. *J Food Prot* 2011; 12: 2008-17.
 55. Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1998; 352: 1207-12.
 56. Mechie SC, Chapman PA, Siddons CA. A fifteen month study of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd. *Epidemiol Infect* 1997; 118: 17-25.
 57. Meichtri L, Gioffré A, Miliwebsky E, Chinen I, Chillemi G, Masana M, Cataldi A, Rodríguez H, Rivas M. Prevalence and characterization of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in beef cattle from Argentina. *Int J Food Microbiol* 2004; 96: 189-98.
 58. Mercado E. Control de *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) en el ganado bovino. *Medicina* (Buenos Aires) 2006; 66: 33-6.
 59. Murinda SE, Nguyen LT, Ivey SJ, Gillespie BE, Almeida RA, Draughon FA, Oliver SP. Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee. *J Food Prot* 2002; 65: 752-9.
 60. Nataro JP. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 4-8.
 61. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 142-201.
 62. Nicholls L, TH Grant, RM Robins-Browne. Identification of a novel genetic locus that is required for *in vitro* adhesion of a clinical isolate of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to epithelial cells. *Mol Microbiol* 2000; 35: 275-88.
 63. Nielsen EM, Scheutz F. Characterisation of *Escherichia coli* O157 isolates from Danish cattle and human patients by genotyping and presence and variants of virulence genes. *Vet Microbiol* 2002; 88: 259-73.
 64. Ogden ID, MacRae M, Strachan NJC. Is the prevalence and shedding concentrations of *E. coli* O157 in beef cattle in Scotland seasonal? *FEMS Microbiol Lett* 2004; 233: 297-300.
 65. Oliveira MG, Brito JRF, Gomes TAT, Guth BEC, Vieira MAM, Naves ZVF, Vaz T MI, Irino K. Diversity of virulence profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes in food-producing animals in Brazil. *Int J Food Microbiol* 2008; 127: 139-46.
 66. Padola NL, Sanz ME, Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Etcheverría AI, Arroyo GH, Usera MA, Parma AE. Serotypes and virulence genes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates from a feedlot in Argentina. *Vet Microbiol* 2004; 100: 3-9.
 67. Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, Blanco J, Viñas MR, Blanco M, Padola NL, Etcheverría AI. Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina. Importance in Public Health. *Europ J Epidemiol* 2000; 16: 757-62.
 68. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 450-79.
 69. Paton AW, Srimanote P, Woodrow MC, Paton JS. Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect Immun* 2001; 69: 6999-7009.
 70. Polifroni R, Etcheverría AI, Padola NL, Parma AE. *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC). Características de virulencia y persistencia en el medio ambiente. *In Vet* 2009; 11: 65-70.
 71. Pruiimboom-Brees IM, Morgan TW, Ackermann MR, Nystrom ED, Samuel JE, Cornick NA, Moon HW. Cattle lack vascular receptors for *Escherichia coli* O157:H7 Shiga toxins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10325-9.
 72. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 603-9.
 73. Rasooly R, Do PM. Shiga toxin Stx2 is heat-stable and not inactivated by pasteurization. *Int J Food Microbiol* 2010; 136: 290-4.
 74. Rivas M, Caletti MG, Chinen I, Refi SM, Roldán CD, Chillemi G, Fiorilli G, Bertolotti A, Aguerre L, Sosa Estani S. Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1184-6.
 75. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Roldán CD, Balbi L, García B, Fiorilli G, Sosa-Estani S, Kincaid J, Rangel J, Griffin PM. The Case-Control Study Group. Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in

- Argentina. Foodborne Pathog Dis 2006; 3: 88-96.
76. Rivas M, Padola NL, Luchessi PM, Masana M. Diarrheogenic *Escherichia coli* in Argentina. En: Torres AG, editor. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. Oak Park IL, USA, Bentham Science Publishers Ltd, 2010, p. 142-61.
77. Rivero MA, Padola NL, Etcheverría AI, Parma AE. *Escherichia coli* enterohemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Argentina. Medicina (Buenos Aires) 2004; 64: 352-6.
78. Roldán ML, Chinen I, Otero JL, Miliwebsky ES, Alfaro N, Burns P, Rivas M. Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Rev Argent Microbiol 2007; 39: 113-9.
79. Sanz ME, Viñas RM, Parma AE. Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. Eur J Epidemiol 1998; 14: 399-403.
80. Sanz E, Villalobo C, Elichiribety E, Arroyo G. Prevalencia de *Escherichia coli* verocitotoxigénico en productos cárnicos de la ciudad de Tandil. La Ind Cárnica Lat 2007; 146: 56-8.
81. Schultz CL, Edrington TS, Schroeder SB, Hallford DM, Genovese KJ, Callaway TR, Anderson RC, Nisbet DJ. Effect of the thyroid on faecal shedding of *E. coli* O157:H7 and *Escherichia coli* in naturally infected yearling beef cattle. J Appl Microbiol 2005; 99: 1176-80.
82. Stevens MP, van Diemen PM, Frankel G, Phillips AD, Wallis TS. Efa1 influences colonization of the bovine intestine by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O5 and O111. Infect Immun 2002; 70: 5158-66.
83. Szalo IM, Goffaux F, Pirson V, Pièrard D, Ball H, Mainil J. Presence of bovine enteropathogenic (EPEC) and enterohaemorrhagic (EHEC) *Escherichia coli* of genes encoding for putative adhesins of human EHEC strains. Res Microbiol 2002; 153: 653-8.
84. Tanaro JD, Leotta GA, Lound LH, Galli L, Piaggio MC, Carbonari CC, Araujo S, Rivas M. *Escherichia coli* O157 in bovine feces and surface water streams in a beef cattle farm of Argentina. Foodborne Path Dis 2010; 7: 475-7.
85. Tarr PI, Bilge SS, Vary JC Jr, Jelacic S, Habeeb RL, Ward TR, Baylor MR, Besser TE. Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H7 adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. Infect Immun 2000; 68: 1400-7.
86. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet 2005; 365: 1073-86.
87. Thorpe CM. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. Clin Infect Dis 2004; 38: 1299-303.
88. Thurston-Enriquez JA, Gilley JE, Eghball B. Microbial quality of runoff following land application of cattle manure and swine slurry. J Water Health 2005; 3: 157-71.
89. Timm CD, Irino K, Gomes TAT, Vieira MM, Guth BEC, Vaz TMI, Moreira CN, Aleixo JAG. Virulence markers and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, isolated from cattle in Rio Grande do Sul, Brazil. Lett Appl Microbiol 2007; 44: 419-25.
90. Torres AG, Zhou X, Kaper JB. Adherence of diarrheogenic *Escherichia coli* strains to epithelial cells. Infect Immun 2005; 73: 18-29.
91. Tzipori S, Karch H, Wachsmuth KI, Robins-Browne RM, O'Brien AD, Lior H, Cohen ML, Smithers J, Levine MM. Role of a 60-megadalton plasmid and Shiga-like toxins in the pathogenesis of infection caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in gnotobiotic piglets. Infect Immun 1987; 55: 3117-25.
92. Vicente HIG, Amaral LA, Cerqueira AMF. Shigatoxigenic *Escherichia coli* serogroups O157, O111 and O113 in feces, water and milk samples from dairy farms. Braz J Microbiol 2005; 36: 217-22.
93. Voyer LE. Síndrome urémico hemolítico: aspectos epidemiológicos de clínica y patogenia. En: Seijo A, Larghi O, Espinosa M, Rivas M, Sabatini M, editores. Temas de zoonosis y enfermedades emergentes. Buenos Aires, Asociación Argentina de Zoonosis, 1998, p. 46-9.
94. Wang G, Zhao T, Doyle MP. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. Appl Environ Microbiol 1996; 62: 2567-70.
95. Yaun BR, Sumner SS, Eifert JD, Marcy JE. Response of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 to UV energy. J Food Protect 2003; 66: 1071-3.
96. Yaun BR, Sumner SS, Eifert JD, Marcy JE. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. Int J Food Microbiol 2004; 90: 1-8.