

INVESTIGACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EN PLANTA DE FAENA DE POLLOS

OTERO, J. L.¹; MENDOSA, A.²; BARBERIS, A.¹; LUNGI, M.¹ & ROLDAN, L.²

RESUMEN

Escherichia coli O157:H7 es un patógeno emergente transmitido por alimentos. Se ha asociado con diarrea, colitis hemorrágica (CH), síndrome urémico hemolítico (SUH) y púrpura trombocitopénica trombótica (PTT). Se describió a la especie bovina como el principal reservorio. La presencia de *E. coli* enterohemorrágico en los alimentos es considerado un grave problema de Salud Pública a nivel mundial. En nuestro país, que cuenta con la tasa de incidencia de SUH más alta del mundo se han realizado estudios sobre la frecuencia de aislamiento de *E. coli* O157:H7 en enfermedad humana, pero hay pocos trabajos sobre el papel e importancia de los alimentos de origen animal, particularmente los pollos, en su transmisión. En este estudio, se tomaron muestras de materia fecal de pollos y de mesadas de evisceración durante la faena. Luego del aislamiento, usando separación inmunomagnética, se realizó la identificación bioquímica y serotipificación. No se pudo confirmar la presencia de *E. coli* O157:H7. Es necesario continuar con este tipo de relevamientos en un mayor número de establecimientos faenadores.

Palabras claves: *Escherichia coli*, O157:H7, toxinas Shiga, pollos.

SUMMARY

Characterization of *Escherichia coli* strains isolated from chickens.

Escherichia coli O157:H7 is an emergent foodborne pathogen associated to bloody and non-bloody diarrhea, hemorrhagic colitis (HC), hemolytic-uremic syndrome (HUS) and thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). The bovine cattle is described as the main reservoir. The presence of *E. coli* O157:H7 in foods is considered a serious public health problem throughout the world. In our country, where the HUS rate is the highest in the world, very few studies have been done to establish the role and the importance of animal food, particularly chickens, in the transmission of this pathogen. In this study, samples of chicken feces and evisceration surfaces were taken at slaughterhouse. After the isolation by using immunomagnetic separation, biochemical identification and serotyping, were determined. It was not possible to confirm the presence of *Escherichia coli* O157. These results make necessary to continue with this kind of assay in a larger number of chicken slaughterhouses.

Key words: *Escherichia coli*, O157:H7, Shiga toxins, chickens.

1.- Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL). Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe.

3.- Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL).

Manuscrito recibido el 26 de junio de 2010 y aceptado para su publicación el 27 de diciembre de 2010.

INTRODUCCIÓN

Las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxinas denominadas verocitotoxinas, toxinas similares a Shiga, o toxinas Shiga ("Shiga toxins producing *Escherichia coli*" o STEC), han emergido en los últimos treinta años como una causa importante de enfermedad gastrointestinal grave en seres humanos, con complicaciones que ponen en peligro la vida del paciente. Estas cepas patógenas pertenecen a un amplio rango de serotipos capaces de causar enfermedades severas en el hombre, como Colitis Hemorrágica (CH), Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), y Púrpura Trombótica Trombocitopénica (PTT) (Griffin & Tauxe, 1991).

Escherichia coli O157:H7 está comúnmente asociado con brotes de enfermedades producidas por STEC transmitidos por los alimentos y es el serotipo más estudiado en animales productores de alimentos (Feng, 1995; Paton & Paton, 1998). *Escherichia coli* O157:H7 fue identificado por primera vez como causa de enfermedad en el año 1982 y hay muy pocos reportes de aislamientos previos a esa fecha. Este serotipo, así como otros serotipos de STEC, son clasificados como *E. coli* enterohemorrágicos (EHEC) debido a que causan diarrea sanguinolenta acompañada por severo dolor abdominal (Neill, 1989; Dorn, 1995). Luego de la colitis prodrómica, cerca del 8 % de los pacientes desarrollan SUH, una enfermedad extraintestinal severa caracterizada por la súbita aparición de anemia hemolítica, trombocitopenia y fallo renal aguda, pudiendo afectarse también el sistema nervioso central, páncreas, pulmones y corazón (Fitzpatrick, 1999). Aunque se han notificado casos de SUH a nivel mundial, existen ciertas localizaciones geográficas con una incidencia particularmente alta de este síndrome, tales como Sudáfrica, Holanda, el oeste de los Estados Unidos y

Argentina (Neill, 1989).

En Argentina, donde el SUH es endémico, son reportados anualmente casi 400 casos. La tasa anual estimada fue de 10.4 y 12.2 casos cada 100,000 niños menores de 5 años en 2001 and 2002, respectivamente (Rivas *et al.*, 2006).

La tasa es 10 veces mayor que en otros países industrializados. En algunos estudios realizados en la década de los 90', la evidencia de infección por STEC fue encontrada en el 59 % de los casos de SUH en Argentina, y STEC O157:H7 fue el serotipo predominante (Miliwebsky *et al.*, 1999).

En general, los casos de SUH son reportados como eventos esporádicos. Sin embargo; varios brotes han sido descritos en años recientes (Miliwebsky *et al.*, 2007).

Los bovinos y otros rumiantes son considerados el mayor reservorio de STEC, y el serotipo O157:H7 es comúnmente aislado de materia fecal de bovinos (Martin y col. 1986; Borczyk y col., 1987; Montenegro y col., 1990; Wells y col., 1991) y ovinos (Kudva y col, 1996; Heuvelink y col., 1998). Asimismo, se han reportado varios aislamientos de *E. coli* O157:H7 a partir de ganado bovino en nuestro país (Chinen y col., 2003; Meichtri y col., 2004; Padola y col., 2004). Tanto los animales bovinos adultos como los terneros muestran diseminación asintomática del microorganismo (Armstrong, 1996).

Se ha demostrado una elevada relación genética entre las cepas aisladas de los animales de consumo (bovinos) y aquellas aisladas de casos clínicos en nuestro país (Chinen y col., 2003). La contaminación de la carne durante la faena es la principal ruta por la cual STEC pasa a los alimentos. Los productos elaborados con carne picada han estado implicados en la mayoría de los brotes de infecciones por *E. coli* O157:H7 (Belongia y col., 1991; Bell y col., 1994; Brandt y col., 1994; Turney y col., 1994). En nuestro país

se aisló *E. coli* O157:H7 a partir de carne y productos cárnicos, y se demostró la estrecha relación clonal entre las cepas aisladas con otras cepas de *E. coli* O157:H7 aisladas a partir de casos clínicos y de otros alimentos (Chinen y col., 2001; Roldán y col., 2007).

Se ha reportado la presencia de *E. coli* O157:H7 o *E. coli* O157:NM en materia fecal (Pilipcinec y col., 1999; Schouten y col., 2005) y carne de pollos (Doyle y Schoeni, 1987; Abdul-Raouf y col., 1996; Radu y col., 2001; Reuben y col., 2003). La prevalencia de este agente patógeno en pollos es aparentemente baja (Irwin y col., 1989; Chapman y col., 1997; Heuvelink y col., 1999).

METODOLOGÍA

El muestreo fue realizado entre los meses de mayo de 2008 y abril de 2009, en un matadero de pollos de la localidad de Esperanza, Provincia de Santa Fe. Las muestras fueron tomadas a partir de pollos (*Gallus gallus*) criados para consumo humano y de superficies de mesadas de evisceración. Los pollos eran provenientes de sistemas de crianza intensiva en granjas. Se trabajó con 2 tipos de muestras. En primer lugar se tomaron segmentos de intestino y cloaca, que fueron extraídos por corte y se ligaron en sus extremos para ser transportados al laboratorio en refrigeración para su posterior procesado. La segunda parte del muestreo fue un hisopado de mesadas de evisceración, utilizando esponjas de poliuretano estériles, de un tamaño de 10 cm de largo, 7 cm de ancho y 4 cm de espesor. Con cada una de las esponjas se abarcó un área distinta de la mesada de evisceración, para aumentar la superficie de muestreo. Se completaron 100 pooles de muestras de 5 animales cada uno (total 500 animales). En los muestreos de superficie de

evisceración se tomaron 5 muestras en cada oportunidad, con un total de 30.

Para el aislamiento se utilizó el método de Separación Inmunomagnética (SIM) utilizado para aislamiento de *E. coli* O157:H7 a partir de carne y leche (Roldán y col., 2007) con algunas modificaciones. En el laboratorio se extrajo el contenido intestinal junto con el material obtenido por raspado de la mucosa correspondientes a 5 animales, hasta completar 25 gramos, se homogeneizaron en 225 ml de caldo EC modificado (Oxoid Ltd., Hampshire, England) suplementado con novobiocina (MP Biomedicals, Escwege, Germany) a una concentración de 20mg/ml (ECm+N). En el caso de las esponjas, éstas se sometieron a masaje intenso dentro de bolsas de polietileno estériles, con 225 ml del mismo caldo de enriquecimiento (ECm+N). Los caldos se incubaron 18 horas a 42° C. Luego de la incubación, cada muestra enriquecida fue sometida a separación inmunomagnética (IMS), con partículas sensibilizadas con anticuerpos anti-O157 (Neogen Corp., Lansing, MI, USA) utilizando 1 ml de caldo de enriquecimiento, según las instrucciones del fabricante.

La muestra inmunoconcentrada (100 µl) fue sembrada en 2 alícuotas de 50 µl cada una. Una de ellas en placas de agar MacConkey sorbitol (SMAC, Difco) y la otra en el mismo agar SMAC, pero suplementado con cefixima (50 ng/ml) y telurito de potasio (2,5 µg/ml) (CT-SMAC). Todas las placas fueron incubadas a 37° C por 24 h. De cada placa se seleccionaron hasta 10 colonias no fermentadoras de sorbitol, las cuales fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas convencionales (Mac Faddin, 2003): producción de indol, utilización de citrato, producción de sulfuro de hidrógeno, ureasa, fenilalanina desaminasa, ornitina decarboxilasa, motilidad, fermentación de lactosa, glucosa, D-sorbitol, dulcitol, rafinosa y L-ramnosa, y

actividad de β -glucuronidasa. A las cepas identificadas como *E. coli* se les realizó la prueba de fermentación de sorbitol en tubo. Debido a las posibles reacciones cruzadas se procedió a la diferenciación entre *E. coli* y *E. hermannii* se realizó mediante las pruebas de fermentación de celobiosa, lisina decarboxilasa y producción de pigmento amarillo. Aquellas cepas que fueron identificadas presuntivamente como *E. coli* sorbitol negativo fueron sometidas al test de aglutinación con antiseros específicos para O157 y H7, provistos por el Instituto Nacional de Producción de Biológicos-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Escherichia coli O157:H7 es uno de los patógenos humanos que más se ha investigado en el mundo en los últimos años. En nuestro país se han realizado relativamente pocos trabajos en animales y en alimentos, si consideramos la alta tasa de incidencia de SUH en Argentina. Dada la gravedad de las enfermedades que este agente patógeno produce en seres humanos y la falta de una terapia específica para su tratamiento, es fundamental orientar los esfuerzos hacia la prevención de la infección. Para ello, es importante realizar estudios de este agente patógeno en animales que son destinados al consumo humano, utilizando técnicas sensibles, a fin de evaluar su diseminación, identificar un posible reservorio y conocer las vías de transmisión.

En este trabajo, los 7 aislamientos presuntivos de *Escherichia coli* O157:H7 fueron serológicamente negativos. Con estos resultados podemos inferir que los pollos criados para consumo humano, en nuestras condiciones de producción, son probablemente

una fuente poco relevante de *Escherichia coli* O157:H7. Debe considerarse además, que en los sistemas de crianza intensiva es frecuente la utilización de antibióticos en tratamientos masivos, a través del agua o el alimento.

Nuestros resultados parecen confirmar la baja prevalencia de *E. coli* O157:H7 en pollos reportada en otros lugares del mundo (Irwin y col., 1989; Chapman y col., 1997; Heuvelink y col., 1999). Sin embargo, se ha demostrado la capacidad de *E. coli* O157:H7 de colonizar la mucosa intestinal de pollos, particularmente en ciego, y diseminarse al ambiente (Beery y col., 1985; Schoeni y Doyle, 1994; Zhao y col., 1996; Best y col., 2003; Best y col., 2005; La Ragione y col., 2005), lo cual significa que los pollos pueden actuar como hospedadores o reservorios de *E. coli* O157:H7, e indica una posible amenaza a la salud pública. Esta hipótesis parece verse reforzada por los aislamientos de *Escherichia coli* O157:H7 realizados en nuestro país a partir de hamburguesas y canales de pollo, y por el hallazgo de cepas idénticas en ambos orígenes (Chinen y col., 2009). Aún cuando los autores sostienen que es probable que el origen de la contaminación de las hamburguesas haya sido una contaminación cruzada, desde otros alimentos crudos o desde el ambiente. Con respecto a la contaminación de las canales, los autores no pudieron determinar que la contaminación hubiese provenido de los procesos de faena, enfriamiento o transporte.

Con lo cual, no ha sido demostrada una relación directa entre la probable contaminación en animales vivos y la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en alimentos de ese origen. Es por eso necesario continuar con este tipo de investigaciones, en un mayor número de establecimientos de faena y en etapas sucesivas de la cadena de comercialización.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a un subsidio de la Universidad Nacional del Litoral (CAI+D 2006). La autora Antonela Barberis participó gracias a una beca de la Universidad Nacional del Litoral (Beca de Iniciación a la Investigación para estudiantes de grado - Cientibeca).

BIBLIOGRAFÍA

- ABDUL-RAOUF, U. M.; AMMAR, M. S. & BEUCHAT, L. R.** 1996. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29:423-426.
- ARMSTRONG, G. L.; HOLLINGSWOTH, J. & GLENN MORRIS (Jr), J.** 1996. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol. Rev.* 18 (1): 29-51.
- BELL, B. P.; GOLDOFT, M.; GRIFFIN, P. M. y col.** 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. *JAMA* 272 (17):1349-1353
- BELONGIA, E. A.; MACDONALD, K.L.; PARHAM, G. L. y col.** 1991. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 colitis associated with consumption of precooked meat patties. *J. Infect. Dis.* 164:338-43.
- BEERY, J. T.; DOYLE, M. P. & SCHOENI, J. L.** 1985. Colonization of chicken cecae by *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl. Environm. Microbiol.*, 49(2):310-315.
- BEST, A.; LARAGIONE, R.M.; COOLEY, W.A.; O'CONNOR, C. D.; VELGE, P.; WOODWARD, M. J.** 2003. Interaction with avian cells and colonisation of specific pathogen free chicks by Shigatoxin negative *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900). *Vet. Microbiol.* 93:207-222.
- BEST, A.; LARAGIONE, R.M.; SAYERS, A.R. & WOODWARD, M. J.** 2005. Role for flagella but not intimin in the persistent infection of the gastrointestinal tissues of specific-pathogen-free chicks with Shiga toxin-negative *Escherichia coli* O157:H7. *Infect. Immun.*, 73(3):1836-1846.
- BORCZYK A.A., KARMALIM.A., LIOR H. et al.** 1987. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*; 1: 98.
- BRANDT, J.R.; FOUSER, L. S.; WATKINS, S.L. et al.** 1994. *Escherichia coli* O157:H7-associated hemolytic-uremic syndrome after ingestion of contaminated hamburgers. *J. Pediatr.* 125:519-26.
- CHAPMAN, P.A.; SIDDON, C.A.; CERDAN MALO, A. T. & HARKIN, M.A.** 1997. A 1-year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiol. Infect.*, 119:245-250.
- CHINEN, I.; TANARO, J. D.; MILIWEBSKY, E.; LOUND, L. H.; CHILLEMI, G.; LEDRI, S.; BASCHKIER, A.; SCAPIN, M.; MANFREDI, E. & RIVAS, M.** 2001. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J.Food Protect.* 64: 1346-1351.
- CHINEN, I.; OTERO, J.L.; MILIWEBSKY, E.S.; ROLDÁN, M. L.; BASCHKIER, A.; CHILLEMI, G.M.; NÓBOLI, C.; FRIZZO, L. & RIVAS, M.** 2003. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from calves in Argentina. *Res. Vet. Sci.*, 74:283-286.
- CHINEN, I.; EPSZTEYN, S.; MELAMED, C. L.; AGUERRE, L.; MARTÍNEZ ESPINOSA, E.; MOTTER, M. M.; BASCHKIER, A.; MANFREDI, E.; MILIWEBSKY, E. & RIVAS, M.** 2009. Shiga toxin-producing

- Escherichia coli* O157 in beef and chicken burgers, and chicken carcasses in Buenos Aires, Argentina. *Int. J. Food Microbiol.* 132: 167-171.
- DORN, R. C.** 1995. *Escherichia coli* O157:H7. *JAVMA* 206: 1583-1585.
- DOYLE, M. P. & SCHOENI, J. L.** 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Environm. Microbiol.*, 53(19):2394-2396.
- FENG, P.** 1995. *Escherichia coli* serotype O157:H7: novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants. *Emerging Infectious Diseases*, 1(2):47-52.
- FITZPATRICK, M.** 1999. Haemolytic uraemic syndrome and *E. coli* O157. *British Medical J.* 318: 684-685.
- GRIFFIN, P. M. & TAUXE, R. V.** 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev.* 13: 60-98.
- HEUVELINK, A. E.; VAN DEN BIGGELAAR, F. L., DE BOER, E. et al.** 1998. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J. Clin. Microbiol.* 36: 878-882.
- HEUVELINK, A. E.; ZWARTKRUIS, J. T. M.; van den BIGGELAAR, F.L.A.M.; van LEEUWEN, W. J.; de BOER, E. et al.** 1999. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int. J. Food Microbiol.* 52:67-75.
- IRWIN, R.J.; MCEWEN, S.A.; CLARKE, R.C. & MEK, A. H.** 1989. The prevalence of verototoxin-producing *Escherichia coli* and antimicrobial resistance patterns of nonverocytotoxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* in Ontario broiler chickens. *Can. J. Vet. Res.*, 53(4):411-418.
- KUDVA, I. T.; HATFIELD, P. G.; HOVDE, C. J.** 1996. *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep. *J. Clin. Microbiol.* 34 (2):431-433.
- LA RAGIONE, R. M.; BEST, A.; SPRIGINGS, K.; LIEBANA, E.; WOODWARD, G. R.; SAYERS, A. R. & WOODWARD, M. J.** 2005. Variable and strain dependent colonisation of chickens by *Escherichia coli* O157:H7. *Vet. Microbiol.* 107:103-113.
- Mac FADDIN, J. F.** 2003. Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Medica Panamericana. 860 p.
- MARTIN, M.L.; SHIPMAN; L.D.; WELLS J.G., et al.** 1986. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic uraemic syndrome. *The Lancet* 2: 1043.
- MEICHTRI, L.; MILIWEBSKY, E.; GIOFFRÉ, A.; CHINEN, I.; BASCHKIER, A.; CHILLEMI, G.; GUTH, B. C. E.; MASANA, M. O.; CATALDI, A.; RODRIGUEZ, R.H. & RIVAS, M.** 2004. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. *Int.J Food Microbiol.*, 96:189-198.
- MILIWEBSKY, E. S.; BALBI, L.; GÓMEZ, D.; WAINSTEIN, R.; RUA, M.C.; ROLDÁN, C.; CALLETI, M.; LEARDINI, N.A.; BASCHKIER, A.; CHILLEMI, G. M. & RIVAS, M.** 1999. Síndrome urémico hemolítico en niños de Argentina: asociación con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Bioquímica y Patología Clínica (Argentina)* 63, 113-121.
- MILIWEBSKY, E.; DEZA, N.; CHINEN, I.; MARTÍNEZ ESPINOSA, E.; GOMEZ, D.; PEDRONI, E.; CAPRILE, L.; BASCHKIER, A.; MANFREDI, E.; LEOTTA, G. & RIVAS, M.** 2007. Prolonged fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* among children attending day-care centers in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 39, 90-92.

- MONTENEGRO, M. A.; BÜLTE, M.; TRUMPF, T. et al.** 1990. Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle. J. Clin. Microbiol. 28: 1417-1421.
- NEILL, M. A.** 1989. E. coli O157:H7 - current concepts and future prospects. J. of Food Safety 10: 99-106.
- PADOLA, N. L.; SANZ, M. E.; BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; BLANCO, J.; ETCHEVERRIA, A.; ARROYO, G. H.; USERA, M. A. & PARMA, A. E.** 2004. Serotypes and virulence genes of bovine Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from a feedlot in Argentina. Vet. Microbiol., 100:3-9.
- PATON, J. C. & PATON, A. W.** 1998. Pathogenesis and diagnosis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 11: 450-479.
- PILIPCINEC, E.; TKÁCIKOVÁ, L.; NAAS, H. T.; CABADAJ, R. & MIKULA, I.** 1999. Isolation of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from poultry. Folia Microbiol., 44(4):455-456.
- RADU, S.; LING, O. W.; RUSUL, G.; ABDUL KARIM, M. I. & NISHIBUCHI, M.** 2001. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR and their characterization by plasmid profiling, antimicrobial resistance, RAPD and PFGE analyses. J. Microbiol Methods, 46:131-139.
- RIVAS, M.; MILIWEBSKY, E.; CHINEN, I.; ROLDÁN, C. D.; BALBI, L.; GARCÍA, B.; FIORILLI, G.; SOSA-ESTANI, S.; KINCAID, J.; RANGEL, J.; GRIFFIN, P. M. & the CASE-CONTROL STUDY GROUP.** 2006. Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in Argentina. Foodborne Pathogens and Disease 3, 88-96.
- REUBEN, A.; TREMINIO, H.; ARIAS, M. L. & CHAVES, C.** 2003. Presencia de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica. Arch. Latinoam. Nutr., 53(4):389-392.
- ROLDÁN, M. L.; CHINEN, I.; OTERO, J. L. y col.** 2007. Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Revista de la Asociación Argentina de Microbiología, 39(2): 113.
- SCHOENI, J. L. & DOYLE, M. P.** 1994. Variable colonization of chickens perorally inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 and subsequent contamination of eggs. Appl. Environm. Microbiol., 60(8):2958-2962.
- SCHOUTEN, J. M.; van de GIESSEN, A. W.; FRANKENA, K.; DE JONG, M. C. & GRAAT, E. A.** 2005. *Escherichia coli* O157 prevalence in Dutch poultry, pig finishing and veal herds and risk factors in Dutch veal herds. Prev. Vet. Med. 70(1-2):1-15.
- TURNNEY, C.; GREEN-SMITH, M.; SHIPPM. et al.** 1994. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to home-cooked hamburgers - California, July 1993. JAMA 271(15):1153-1154.
- WELLS, J. G.; SHIPMAN, K. D.; GREENE, E. G. et al.** 1991. Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other shiga-like-toxin-producing E. coli from dairy cattle. J. Clin. Microbiol. 29: 985-989.
- ZHAO, S.; MENG, J.; DOYLE, M. P.; MEINERSMAN, R. WANG, G. & ZHAO, P.** 1996. A low molecular weight outer-membrane protein of *Escherichia coli* O157:H7 associated with adherence to INT407 cells and chicken caeca. J. Med. Microbiol., 45:90-96.