



Artículo de investigación

Incidencia de *Escherichia coli* O157:H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico

José Alfredo Lara-Duran¹ Ing; Mónica Silva-Vega¹ M.Sc;
Rómulo Bañuelos-Valenzuela¹ Ph.D; Lucía Delgadillo-Ruiz^{2*} Ph.D;
Olivia Delgadillo-Ruiz³ Ph.D.

¹Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Km 31.5 de la carretera panamericana tramo Zacatecas-Fresnillo, Enrique Estrada, Zacatecas, México.

²Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Avenida preparatoria s/n colonia Hidráulica, Zacatecas, Zacatecas, México.

³CONACYT-Consortio CENTROMET, Camino a Los Olvera #44, Corregidora, Querétaro, México.

*Correspondencia: delgadillolucia@gmail.com

Recibido: Agosto 2018; Aceptado: Junio 2019; Publicado: Septiembre 2019.

RESUMEN

Objetivo. Identificar *Escherichia coli* O157:H7 presente en heces diarreicas de rumiantes lactantes con síndrome diarreico y seguridad de ingesta de calostro. **Materiales y métodos.** Se realizó un muestreo de 316 rumiantes durante el período de agosto 2015 a marzo 2016 en los municipios de Río Grande, General Enrique Estrada, Morelos y Calera de Víctor Rosales del estado de Zacatecas, 67 de bovinos, 183 de ovinos y 66 de caprinos. **Resultados.** Se identificaron en medio cromogénico CHROMagar™: 260 coliformes, 78 *Escherichia coli* O157:H7, 16 *Proteus spp.*, y 25 colonias de bacterias sin identificar con este medio, encontrándose una incidencia de *Escherichia coli* O157:H7 de 22.03% en los cuatro municipios. **Conclusiones.** *Escherichia coli* O157:H7 es la segunda bacteria encontrada en heces de rumiantes con un 22% de incidencia, la cual es un factor de riesgo de muerte en rumiantes lactantes (menos de 21 días de nacidos) causando pérdidas económicas y riesgo para la salud de la población del estado de Zacatecas.

Palabras clave: Bacterias, medio cromogénico, ovinos (*Fuente:* CAB).

ABSTRACT

Objective. To identify *Escherichia coli* O157:H7 present in diarrheal feces of lactating ruminants (less than 21 days old) with diarrheal syndrome and safety of colostrum intake. **Materials and methods.** A feces sampling of 316 ruminants was carried out during the period of August 2015 to March 2016 in the municipalities of Río Grande, General Enrique Estrada, Morelos and Calera de Victor Rosales of the state of Zacatecas, obtained from 67 cattle, 183 sheep and 66 goats. **Results.** The following were identified in CHROMagar™ chromogenic medium: 260 coliforms, 78 *Escherichia coli* O157:H7, 16 *Proteus spp.* and 25 colonies of unidentified bacteria, finding an incidence of *Escherichia coli* O157:H7 of 22.03 % in the four municipalities. **Conclusions.** *Escherichia coli* O157:H7 is the second bacteria found in ruminant feces with an incidence of 22 %, which is a mortality risk factor in lactating ruminants (less than 21 days old), causing economic loss and health risk for the population of the state of Zacatecas.

Keywords: Bacteria, chromogenic medium, sheep (*Source:* CAB).

Como citar (Vancouver).

Lara-Duran JA, Silva-Vega M, Bañuelos-Valenzuela R, Delgadillo-Ruiz L, Delgadillo-Ruiz O. Incidencia de *Escherichia coli* O157:H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico. Rev MVZ Córdoba. 2019; 24(3):7339-7345. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1232>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2019. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

INTRODUCCIÓN

La repercusión económica por problemas de enfermedades digestivas en los rumiantes en México es grave y frecuente. Los síntomas patológicos que presentan los rumiantes bajo ese estrés son: bajo consumo de alimento, presencia de diarreas (o disentería), acidosis ruminal, laminitis, cojera, retraso en el desarrollo corporal de corderos, cabritos y terneros (1). Esto se traduce en un costo extra que el productor no tiene contemplado, además, de los gastos en tratamientos veterinarios (2).

En los sistemas de producción intensivos, el índice de corderos muertos por enfermedades digestivas antes del destete llega a ser menor al 10%, mientras que en sistemas extensivos las pérdidas representan hasta un 53% de los corderos nacidos (3). No obstante, en diversos reportes se menciona que los procesos infecciosos y los trastornos de tipo nutricional y metabólicos representan la principal causa de mortalidad neonatal (4). De hecho, entre un 15 y 20% de las pérdidas neonatales pueden ser atribuidas a enfermedades digestivas, y en consecuencia, el resto (alrededor de 80%) se deben a factores ambientales o de manejo (3).

Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos de América mencionan que *Escherichia coli* es una bacteria que normalmente vive en los intestinos de personas y animales. En su mayoría son inofensivas y en realidad son parte del tracto intestinal sano. Sin embargo, algunos serotipos son patógenos, causando diarreas o enfermedades fuera del tracto intestinal (5).

Escherichia coli se clasifica en seis serotipos que se asocian con diarrea; entre estos se encuentra *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), la cual es causante de colitis hemorrágica (HC) y se identifica mediante la producción de toxinas Shiga (Stxs). *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC) es un grupo de patógenos zoonóticos y *Escherichia coli* O157:H7 es el serotipo asociado con colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (HUS), principalmente en los Estados Unidos de América (6).

Laven et al (7) demostraron que la presencia de *Escherichia coli* en rumiantes fue más alta en el colon que en el rumen, asociándose la presencia de *Escherichia coli* con la fase de ingesta y no con la pared intestinal del rumen. Estudios han demostrado que la parte terminal del colon es el principal sitio de desarrollo de la colonización de *Escherichia coli* O157:H7 y que el tejido linfoide localizado en la unión recto-anal es el

sitio de la colonización en el ganado (8), por lo que, esta colonización es considerada como un "super-propagador" que causa severas infecciones con cuadros epidémicos caracterizados por diarreas hemorrágicas, colitis y síndrome urémico hemolítico (9).

El aislamiento adecuado y los métodos de identificación son cruciales para diagnosticar *Escherichia coli* O157:H7. Antes de confirmar su presencia en una muestra es necesario aislarla e identificarla en medios de cultivos selectivos y diferenciales. Los medios usados convencionalmente para el aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 incluyen Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), CefiximeTellurite Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC), CHROMagar™ O157 (CHROMagar), Tellurite CHROMagar™ O157 (T-CHROMagar) y Vancomicina Cefixima Cefsolutina CHROMagar™ O157 (VCCCHROMagar) (6,10).

Los sustratos químicos cromogénicos patentados para la identificación de colonias microbianas desencadenaron el desarrollo de una amplia gama de medios para la detección de patógenos. El medio CHROMagar™ O157 promueve selectivamente el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 y la diferencia de *Escherichia coli* no O157, debido a un sustrato cromogénico de β -galactosidasa y un cambio en el pH (6), utilizándose este medio para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 tanto en muestras alimentarias como ambientales, pudiendo ser más selectivo con la adición de tellurita de potasio, o bien con vancomicina, cefixima y cefsolutina (11).

Bajo el contexto anterior, se planteó como objetivo identificar *Escherichia coli* O157:H7 en heces diarreicas de rebaños de rumiantes lactantes menores a 21 días de vida mediante el uso del agar CHROMagar™, lo que permitirá a los ganaderos tomar decisiones sobre los tratamientos a emplear para evitar la incidencia de este patógeno y disminuir la mortalidad neonatal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras. Se obtuvieron 316 hisopados rectales provenientes de 183 ovinos, 66 de caprinos y 67 de bovinos menores de 21 días de edad y con la seguridad de haber ingerido calostro, con presencia de síndrome diarreico. La colecta de las muestras se realizó vía rectal con un hisopo estéril, se etiquetaron y transportaron en medio Stuart® elaborado en México D.F. El muestreo se realizó durante el período de agosto 2015 a marzo de 2016 en cuatro municipios del estado de Zacatecas: en Calera de Víctor Rosales las localidades El Bordo, Noria de Agostadero, El Duraznillo, El Vergel y El Porvenir; en Morelos las

localidades de Hacienda Nueva, Noria de Gringos, Las Pilas y El Palmar: en General Enrique Estrada, las localidades de General Enrique Estrada, Los Ángeles, PuenteCillos y San Sebastián y: en Río Grande las localidades El Carrizal, Los Ramírez, San José de Ranchitos y Tierra Blanca (Figura 1). (Coordenadas: El Bordo 102°49'20"O 22°57'02"N, San José de Ranchitos 102°57'35"O 23°40'0"N, El Carrizal 103°01'08"O 23°38'25"N, El Duraznito 102°38'26"O 23°01'29"N, El Palmar 102°39'58"O 22°53'24"N, El Porvenir 102°40'00"O 22°56'42"N, El Vergel 102°41'01"O 22°59'58"N, General Enrique Estrada 102°44'29"O 22°59'40"N, Hacienda Nueva 102°36'21"O 22°49'30"N, Las Pilas 102°36'46"O 22°50'24"N, Los Ramírez 103°01'52"O 23°50'49"N, Los Ángeles 102°43'22"O 22°58'43"N, Noria De Agostadero 102°46'59"O 22°53'14"N, Noria de los Gringos 102°43'04"O 22°50'53"N, PuenteCillos 102°45'03"O 23°02'47"N, San Sebastián 102°47'54"O 23°03'37"N, Tierra Blanca 103°04'36"O 23°49'38"N)

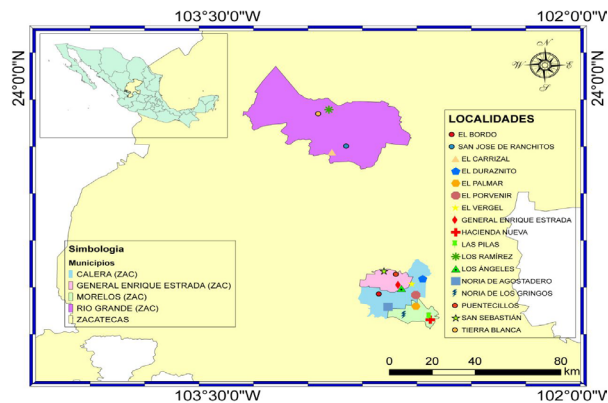


Figura 1. Ubicación geográfica de las localidades muestreadas en los cuatro municipios del estado de Zacatecas.

Cultivo de bacterias Gram negativas. Los cultivos se realizaron por duplicado. Cada muestra se sembró en caja petri con agar MacConkey (SMAC) las cuales fueron incubadas en una estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas (12). Las colonias rosas cremosas se tomaron como positivas y éstas se aislaron individualmente para su posterior resiembra.

Identificación de bacterias en medio cromogénico CHROMagar™. Después de que las bacterias fueron aisladas en agar MacConkey se tomó una colonia para la identificación del serotipo de *Escherichia coli* O157:H7 o su variante no-móvil O157:H (serotipo VTEC), que es más común en salud pública. Se realizó la resiembra por estría en placa en medio cromogénico CHROMagar™ y se incubó a 37°C durante 24 horas (13), (Tabla 1).

Las colonias de *Escherichia coli* O157:H7 crecen en CHROMagar™ O157 y producen un color

rosa malva debido a sustratos cromogénicos en el medio, permitiendo así, la identificación presuntiva de la placa de aislamiento primario y la diferenciación de otros organismos (13), (Tabla 1).

Tabla 1. Características de las colonias empleando el medio cromogénico CHROMagar™.

Microorganismo	Aspecto de la colonia	Observación en cultivo
<i>E. coli</i> O157:H7	rosa malva	
Coliformes	azul metálico	
<i>Proteus</i>	de incoloras a grises	

Análisis estadístico. Los datos experimentales se analizaron primero con estadística descriptiva y después se empleó una tabla de clasificación o tabla de contingencia. Se utilizó la prueba estadística Chi-cuadrada, esta es una estadística que permite determinar el grado de independencia entre las variables. El supuesto de esta prueba es: Ho: La prevalencia de las bacterias es independiente del tipo de rumiante que sea el portador; Ha: La prevalencia de las bacterias es dependiente del tipo de rumiante que sea el portador. El índice más importante de esta prueba es el valor p. En general, con valor p menor de 0.05 se rechaza Ho y se concluye que las bacterias no son independientes. Todo el proceso estadístico se ejecutó con SPSS 25.0 para Microsoft Windows.

RESULTADOS

La determinación de *Escherichia coli* O157:H7 se realizó con un medio cromogénico CHROMagar™ diferenciando las colonias bacterianas por color; *Escherichia coli* O157:H7 presentó coloración rosa malva, *Proteus* ssp., son de incoloras a grises y los coliformes muestran colonias azul metálico como se puede apreciar en la figura 2.

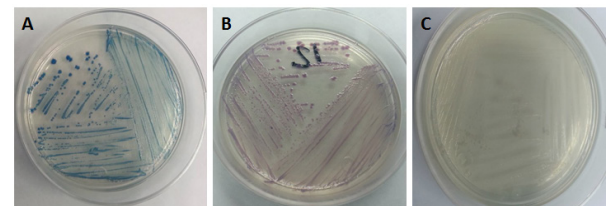


Figura 2. Desarrollo de las bacterias en CHROMagar™. A) Coliformes, B) *E. coli* O157:H7 y C) *Proteus* spp.

Algunas muestras presentaron desarrollo de dos o más colonias con distinta morfología y coloración, por lo que el número total de las colonias de

bacterias identificadas fue de 354 y en 25 casos no hubo desarrollo en 24 horas, a pesar de que se encontró desarrollo en agar MacConkey y colonias con morfología descriptiva para *Escherichia coli* no hubo desarrollo en CHROMagar™.

Se identificaron 260 coliformes, 78 *Escherichia coli* O157:H7 y 16 *Proteus* spp., en el total de los rumiantes muestreados, de los cuáles 183 fueron ovinos donde se encontró que en 46 de ellos había presencia de *Escherichia coli* O157:H7, en caprinos se encontraron 7 de 66 y en bovinos 25 de 67 como se muestra en la tabla 2. Además, usando la prueba Chi-cuadrado se comprobó que la prevalencia de las bacterias (coliformes, *Escherichia coli* O157:H7 y *Proteus* spp) depende del tipo de rumiante (ovino, bovino y caprino) que sea el portador de la bacteria (Tabla 3).

Tabla 2. Número de bacterias obtenidas de la siembra en CHROMagar™.

Fuente	# animales	Coliformes	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Proteus</i> spp.	N D	# bacterias
Ovinos	183	153	46	8	14	221
Caprinos	66	61	7	4	4	82
Bovinos	67	46	25	4	7	76
Total	316	260	78	16	25	379

N.D.: No Determinados.

Tabla 3. Tabla de contingencia: tipo de bacteria vs tipo de rumiante.

		Tipo de rumiante			Total
		Ovino	Bovino	Caprino	
Prevalencia de la bacteria	<i>E. coli</i> O157:H7	46	25	7	78
	Coliformes	153	46	61	260
	<i>Proteus</i>	8	4	4	16
	N.D.	14	7	4	25
	Total	221	82	76	379
		100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

H₀: La prevalencia de las bacterias es independiente del tipo de rumiante que sea el portador; H₁: La prevalencia de las bacterias es dependiente del tipo de rumiante que sea el portador. Valor de Chi-cuadrada de Pearson=13.243. *g*/6; *p*=0.039. Como el valor de *p*≤0.05 se rechaza H₀. N.D.: No Determinados.

La distribución de bacterias encontradas según su localización geográfica corresponden a: 18 *Escherichia coli* O157:H7, 60 Coliformes y 7 *Proteus* spp., en el municipio de Calera de Víctor Rosales; 40 *Escherichia coli* O157:H7, 11 Coliformes y 9 *Proteus* spp., en localidades de Morelos, 24 *Escherichia coli* O157:H7, 41 Coliformes y 1 *Proteus* spp., en localidades de General Enrique Estrada y 16 *Escherichia coli* O157:H7, 99 Coliformes y 4 *Proteus* spp., en localidades del municipio de Río Grande (Tabla 4).

Tabla 4. Bacterias determinadas por localidad y tipo de rumiante.

Municipios	Localidades	<i>E. coli</i> O157:H7			Coliformes			<i>Proteus</i>		
		Ovinos	Bovinos	Caprinos	Ovinos	Bovinos	Caprinos	Ovinos	Bovinos	Caprinos
Calera de Víctor Rosales	El bordo	1	0	0	9	1	2	1	0	0
	Noria de agostadero	1	0	0	12	2	2	0	0	1
	El duraznillo	5	4	1	5	1	1	1	0	0
	El porvenir	5	0	0	11	2	3	0	1	1
	El vergel	1	0	0	6	2	1	1	0	1
Morelos	Hacienda Nueva	2	0	0	3	3	3	0	1	0
	Noria de gringos	3	0	2	20	5	1	0	1	0
	Las pilas	2	1	0	4	1	4	1	0	0
	El palmar	2	8	0	13	2	1	1	0	0
General Enrique Estrada	General Enrique Estrada	3	0	0	3	2	3	0	0	0
	Los Ángeles	5	0	0	2	1	3	0	0	0
	Puentecillos	8	0	0	5	0	6	1	0	0
Río Grande	San Sebastián	4	3	1	8	5	3	0	0	0
	El carrizal	0	0	0	8	4	6	1	0	0
	Los Ramírez	4	0	3	9	3	7	1	0	0
	San José de Ranchitos	0	5	0	16	7	7	0	1	1
	Tierra blanca	0	4	0	19	5	8	0	0	0
Total:		46	25	7	153	46	61	8	4	4

La mayor incidencia de bacterias fueron las coliformes con el 73.45% en los cuatro municipios, seguida de *Escherichia coli* O157:H7 con el 22.03% y de *Proteus* el 4.52% (Tabla 5). Con estos resultados los ganaderos de la región están en condiciones de tomar la mejor decisión de prevención sobre el o los tratamientos que disminuyan la incidencia de este patógeno y con ello la mortalidad de rumiantes lactantes.

Tabla 5. Porcentaje de incidencia de bacterias por municipio y tipo de animal.

Municipios	<i>E. coli</i> O157:H7			Coliformes			<i>Proteus</i>		
	Ovinos	Bovinos	Caprinos	Ovinos	Bovinos	Caprinos	Ovinos	Bovinos	Caprinos
Calera de Víctor Rosales	3.67	1.13	0.28	12.15	2.26	2.54	0.85	0.28	0.85
Morelos	2.54	2.54	0.56	11.30	3.11	2.54	0.56	0.56	0.00
General Enrique Estrada	5.65	0.85	0.28	5.08	2.26	4.24	0.28	0.00	0.00
Río Grande	1.13	2.54	0.85	14.69	5.37	7.91	0.56	0.28	0.28
Incidencia %	22.03%			73.45%			4.52%		

DISCUSIÓN

La presencia de la *Escherichia coli* O157:H7 en bovinos debe tenerse en consideración como un posible problema de salud pública, ya que esta bacteria está presente en las heces y esto constituye una fuente de infección para el hombre. En el proceso de sacrificio del animal, el refrigerado de la canal y también en el ordeño, es posible la contaminación de la carne y la leche respectivamente (14).

Se ha reportado que la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en heces de bovino parece estar influenciada por la edad del animal (15). Por ejemplo, los terneros de menos de ocho semanas de edad (56 días) y novillas excretan más la cepa de *Escherichia coli* que el ganado adulto (16).

Escherichia coli O157:H7 se ha convertido en un problema importante para la salud humana principalmente en los Estados Unidos de América (6); Olvera et al (16) han referido que el ganado vacuno es el reservorio primario de la bacteria *Escherichia coli* O157:H7 causante de síndrome urémico hemolítico en humanos. En efecto, la canal proveniente del sistema de engorda de corral presenta la mayor incidencia de *Escherichia coli* verotoxigénica asociada al síndrome urémico hemolítico, en comparación con el sistema de pastoreo donde la vacunación redujo en un 54.1% la contaminación de esta bacteria en carne bovina.

Para diagnosticar este patógeno, el aislamiento adecuado y los métodos de identificación son cruciales. Existe poca información disponible sobre su prevalencia en el manejo vaca/becerro. Sin embargo, en Louisiana, Estados Unidos de América, se reporta 8% de prevalencia de este patógeno, sin diferencias significativas entre materia fecal, agua (de canal y estanques) y frotis de superficie (de la cubeta de agua y del comedero) como fuente de contaminación (6).

En la investigación realizada por Fox et al (18) encontraron una prevalencia general de 62%, más elevada que la obtenida en el presente

trabajo (22.03%). La prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 en el ganado es variable entre cada individuo y cada rebaño, en el ganado estabulado se puede encontrar en un rango del 10 al 28%, pero puede ser más elevada, hasta el 80% en los meses de verano (19), el ganado vacuno es el más afectado, seguido de los ovinos (20), lo que indica que no hay selección de hospedero para *Escherichia coli* O157:H7.

Con el uso del CHROMagar™ ha sido posible determinar la incidencia de forma rápida con una sensibilidad en su identificación del 98% y una especificidad del 100% (13), siendo superior al agar MacConkey sorbitol que, aun teniendo la misma sensibilidad, su especificidad disminuye al 85% y posee una precisión del 86%. Este medio inicialmente se utilizaba sólo en la industria alimentaria para la liberación rápida de alimentos libres de patógenos, pero se ha probado para análisis de muestras clínicas y ha sido empleado en diversos estudios (6,14,21,22). Sin embargo, para una exactitud del método se deberá continuar con la investigación, enfocándola hacia la caracterización basada en la secuencia de ácidos nucleicos mediante procedimientos de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que apunten a los genes de la toxina shiga (stx1 y stx2), ya que BBL CHROMagar O157 no hace diferencia entre las cepas de *Escherichia coli* O157:H7 productoras y no productoras de toxinas (13).

En conclusión, las bacterias coliformes fueron las de mayor presencia en las muestras analizadas, sin embargo, no son consideradas como el agente causal de diarrea. La presencia de *Escherichia coli* O157:H7 fue la segunda bacteria con mayor porcentaje en las muestras de heces analizadas (22.03% de incidencia), lo cual no depende de la especie del rumiante, pero representa un factor de riesgo de muerte en rumiantes lactantes (menos de 21 días de nacidos) causando pérdidas económicas y riesgo para la salud de la población del estado de Zacatecas.

Conflicto de intereses.

Los autores del presente estudio declaramos que no existe conflicto de intereses con la publicación de este manuscrito.

REFERENCIAS

1. WHO. Zoonotic Non-0157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* (STEC): report of a WHO scientific working group meeting, Berlin, Germany. (No. WHO/CSR/APH/98.8). Geneva: World Health Organization; 1998. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68880/WHO_CSR_APH_98.8.pdf;jsessionid=B1067243252676E852A98B9BF9EB08C3?sequence=1
2. Méndez A, Maldonado A, Ruiz-Villamor ER, Moreno IL, Bautista MJ, Lorenzo B, et al. Enfermedades neonatales. [On line] Organismo De La Unidad Nacional De Ovinocultores: México; 2016. <http://www.uno.org.mx/empezar/neonatales.html>

3. Macedo R, Arredondo V, Rodríguez J, Ramírez J, López, B. Efecto del sistema de producción, de la época de nacimiento y del sexo sobre la mortalidad neonatal de corderos Pelibuey. *Trop Subtrop Agroecosyst*. 2010; 12(1):77-84. <http://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/205>
4. Gebremedhin EZ, Agonafir A, Tessema TS, Tilahun G, Medhin G, Vitale M. et al. Some risk factors for reproductive failures and contribution of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats of Central Ethiopia: a cross-sectional study. *Res Vet Sci*. 2013; 95(3):894-900. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.08.007>
5. Gould LH, Bopp C, Strockbine N, Atkinson R, Baselski V, Body B. et al. Recommendations for diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *MMWR Recomm Rep*. 2009; 58(12) 1-14. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5812a1.htm>
6. Gutierrez ME, Janes ME, Torrico DD, Carabante KM, Prinyawiwatkul W. Assessment of the ability of five culture media for the detection of *Escherichia coli* O157. *Int J Food Sci Technol*. 2016; 51(8):1910-1915. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13164>
7. Laven RA, Ashmore A, Stewart CS. *Escherichia coli* in the rumen and colon of slaughter cattle, with particular reference to *E. coli* O157. *Vet J*. 2003; 165 78-83. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(02\)00162-4](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(02)00162-4)
8. Bertin Y, Girardeau JP, Chaucheyras-Durand F, Lyan B, Pujos-Guillot E, Harel J. et al. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* gains a competitive advantage by using ethanolamine as a nitrogen source in the bovine intestinal content. *Environ Microbiol*. 2011; 13(2):365-377. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02334.x>
9. Cobbold RN. Rectoanal junction colonization of feedlot cattle by *Escherichia coli* O157:H7 and its association with supershedders and excretion dynamics. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73(5):1563-1568. <https://doi.org/10.1128/AEM.01742-06>
10. Franz E, van Hoek AH, van der Wal FJ, de Boer A, Zwartkruis-Nahuis A, van der Zwaluw K. et al. Genetic features differentiating bovine, food and human isolates of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in The Netherlands. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(3):772-780. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.05964-11>
11. Fratamico PM, DebRoy C. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food using real-time multiplex PCR assays targeting the *stx1*, *stx2*, *wzyO157*, and the *fliCh7* or *eae* genes. *Food Anal Methods*. 2010; 3(4):330-337. <https://doi.org/10.1007/s12161-010-9140-x>
12. 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(3):217-222. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822005000300003>
13. Hirvonen JJ, Siitonen A, Kaukoranta SS. Usability and performance of CHROMagar STEC in detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol*. 2012; 50:3586-3590. <https://doi.org/10.1128/JCM.01754-12>
14. Etcheverria AI, Padola NL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: factors involved in virulence and cattle colonization. *Virulence*. 2013; 4(5):366-372. <https://doi.org/10.4161/viru.24642>
15. Caballero M, Rivera I, Jara LM, Ulloa-Stanojlovic FM, Shiva C. Isolation and molecular identification of potentially pathogenic *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in feral pigeons from an urban area in the city of Lima, Peru. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2015; 57(5):393-396. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652015000500004>
16. Heiman KE, Mody RK, Johnson SD, Griffin PM, Gould LH. *Escherichia coli* O157 outbreaks in the United States, 2003-2012. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21(8):1293-1301. <https://doi.org/10.3201/eid2108.141364>
17. Olvera A, Signorini M, Tarabla H. *Escherichia coli* verotoxigénica: modelo cuantitativo de exposición y escenarios de riesgos en canales bovinas en Argentina. *Rev Panam Salud Pública*. 2010; 27(6):403-413. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892010000600001>
18. Fox JT, Shi X, Nagaraja TG. *Escherichia coli* O157 in the rectoanal mucosal region of cattle. *Foodborne Pathog Dis*. 2008; 5(1):69-77. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0042>
19. Jacob ME, Callaway TR, Nagaraja TG. Dietary interactions and interventions affecting *Escherichia coli* O157 colonization and shedding in cattle. *Foodborne Pathog Dis*. 2009; 6(7):785-792. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0306>

20. Piedrahita D, Márquez T, Máttar S. Detección de *Escherichia coli* O157: H7 en poblaciones porcinas, canal bovina y productos cárnicos en el departamento de Córdoba. *Rev MVZ Córdoba*. 2001; 6(2):119-126: <https://doi.org/10.21897/rmvz.532>
21. Tang Y, Kim H, Singh AK, Aroonnu A, Bae E, Rajwa B. et al. Light scattering sensor for direct identification of colonies of *Escherichia coli* serogroups O26, O45, O103, O111, O121, O145 and O157. *PloS One*. 2014; 9(8):e105272. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0105272>
22. Parsons BD, Zelyas N, Berenger BM, Chui L. Detection, characterization, and typing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Front Microbiol*. 2016; 7:478. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00478>