



INFORME TÉCNICO

***Escherichia coli* productor de toxina Shiga**

O185:H7

25 de marzo, 2021

Red de Seguridad Alimentaria (RSA)
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y
Técnicas (CONICET)



STAFF

Red de Seguridad Alimentaria

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Dirección

Carlos van Gelderen

Coordinación General (CG)

Javier Pardo

Coordinador asistente

María Durrieu

Consejo Directivo (CD)

CIVETAN (Centro de Investigación Veterinaria de Tandil) - Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA. Titular: Paula Lucchesi

INPA (Inst. de Investigaciones en Producción Animal) - Facultad de Ciencias Veterinarias UBA. Titular: Alejandra Volpedo, Suplente: Esteban Avigliano

IPATEC (Inst. Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales) - Univ Nac del Comahue. Titular: Diego Libkind, Suplente: Martín Ducos

ICYTESAS (Inst. de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables) - INTA. Titular: Sergio Vaudagna, Suplente: Marina Mozgovoj

Instituciones pertenecientes al Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación:

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), Titular: Dante Bueno, Suplente: Leonor Pilatti

Investigadores de la Carrera de Investigadores Científicos y Tecnológicos (CICT) del CONICET que no tengan asignado como lugar de trabajo una Unidad Ejecutora del CONICET, Titular: Juan Martín Oteiza.

El presente informe fue realizado por solicitud del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) a la Red de Seguridad Alimentaria (RSA-CONICET), con el objetivo de realizar una actualización con base científica sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga serotipo O185:H7, debido a la notificación en el sistema de alertas de seguridad de alimentos y piensos de la Unión Europea (RASFF UE) del hallazgo de este serotipo de STEC en carne argentina refrigerada.

Grupo de trabajo (por orden alfabético):

Brusa Victoria (Investigadora Asistente CONICET). Instituto de Genética Veterinaria “Ing. Fernando N. Dulout” (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP.

Costa Magdalena (Becaria Posdoctoral CONICET). Instituto de Genética Veterinaria “Ing. Fernando N. Dulout” (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP.

Galli Lucía (Investigadora Adjunta CONICET). Instituto de Genética Veterinaria “Ing. Fernando N. Dulout” (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP.

Etcheverría Analía (Investigadora Adjunta). Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CCT CONICET-Tandil). Centro Científico Tecnológico CONICET-Tandil.

Leotta, Gerardo (Investigador Independiente CONICET). Instituto de Genética Veterinaria “Ing. Fernando N. Dulout” (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP.

Padola Nora Lía (Investigadora Principal CIC-PBA). Inmunoquímica y Biotecnología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

INDICE

RESUMEN EJECUTIVO	5
INFORMACIÓN DISPONIBLE EN EL PORTAL RASFF UE	6
<i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga (STEC)	7
RESERVORIOS DE STEC	10
STEC EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE BOVINOS Y EN FRIGORÍFICO	10
<i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga O185:H7	11
IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA	12
LEGISLACIÓN ALIMENTARIA SOBRE STEC	13
METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA DETECCIÓN, AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE STEC	14
RECOMENDACIONES	16
BIBLIOGRAFÍA	17

RESUMEN EJECUTIVO

- ✓ *E. coli* O185:H7 *stx*₂ fue aislado en EE.UU., Polonia y Argentina a partir de carne bovina, cerdos, aves silvestres y lechuga. No existen reportes de aislamientos a partir de muestras clínicas humanas.
- ✓ Actualmente no existe evidencia epidemiológica para asociar a *E. coli* O185:H7 *stx*₂ con enfermedad en el humano.
- ✓ La información disponible en el Portal RASFF es insuficiente para definir el riesgo de *E. coli* O185:H7, ya que solo se informa un solo factor de virulencia *stx*₂
- ✓ Escasos países presentan normativa específica sobre STEC en alimentos y ninguno incluye a *E. coli* O185:H7 *stx*₂.
- ✓ El concepto de tolerancia cero incluye más de 1400 serotipos de STEC. Su implementación y cumplimiento en carnes crudas es muy dificultosa. Para ello se sugiere reforzar los sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control con intervenciones físicas y/o químicas a los productos terminados.
- ✓ Se sugiere evitar la adopción de medidas de gestión de riesgo sin base epidemiológica ni científica que las avale. Hasta el momento, la información disponible en el Portal RASFF es insuficiente para poder determinar el riesgo de *E. coli* O185:H7 *stx*₂, debido a que sólo se informa la presencia de *stx*₂, sin la detección de factores de virulencia adicionales.
- ✓ Actualmente no existen kits comerciales de screening para la identificación de los más de 1400 serotipos de STEC (criterio de tolerancia cero). Es posible realizar la verificación de este criterio únicamente por detección de los genes *stx* (RT-PCR), y posterior aislamiento y caracterización. Se puede utilizar como referencia la Norma ISO 13136/2012.

INFORMACIÓN DISPONIBLE EN EL PORTAL RASFF UE



Portal RASFF

[RASFF](#) | [Portal de consumidores](#) | [Apoyo](#) | [Ayuda](#) | [Descargo de responsabilidad](#) | [Iniciar sesión](#)

Comisión Europea > Portal RASFF

[Lista de notificaciones](#) | [Nueva búsqueda](#) | [Exportar a XML](#) | [Versión impresa](#)

Detalles de la notificación - 2021.1321

Escherichia coli productora de shigatoxina (O185: H7, stx2 + / 25g) en tapones de rabadilla de res refrigerados de Argentina

Referencia:	2021.1321	Tipo de notificación:	alimentos - alerta - control oficial en el mercado
Fecha de notificación:	15/03/2021	Acción tomada:	detención oficial
Última actualización:	24/03/2021	Estado de distribución:	distribución a otros países miembros
Notificación de:	Alemania (DE)	Producto:	tapones de rabadilla de res refrigerados
Clasificación	alerta	Categoría de producto:	carne y productos cárnicos (distintos de las aves de corral)
Decisión de riesgo	grave	Publicado en el portal de consumidores de RASFF	nunca ha sido publicado

Hacer un seguimiento :

Referencia	Seguimiento de	Fecha	Tipo de seguimiento	Info
fup1	Alemania	18/03/2021	Documentos que acompañan	
fup2	Portugal	18/03/2021	resultado de las investigaciones y medidas tomadas	
fup3	Alemania	23/03/2021	medidas tomadas	
fup5	Alemania	24/03/2021	información sobre muestreo / análisis	

Peligros

Sustancia / Peligro	Categoría	Resultado analítico	Unidades	Fecha de muestreo
Escherichia coli productora de shigatoxina	contaminantes microbianos (otros)	O185: H7, stx2 +	/ 25g	03/03/2021

Países / organizaciones involucradas (D = distribución, O = origen)

***Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC)**

Escherichia coli pertenece al orden *Eubacteriales*, familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Eschericheae*, género *Escherichia* (Scheutz y Strockbine, 2005). STEC es un patogrupa dentro de la especie *E. coli*.

La toxina Shiga (o verotoxina) es el principal factor de virulencia de STEC y por el cual se define a este patogrupa. Sin embargo, no es posible definir la virulencia de una cepa STEC solo por portar los genes *stx* o expresar toxinas Shiga (EFSA 2013). Para que la toxina Shiga se internalice en las células del intestino es necesario que la bacteria se adhiera a los enterocitos. Sin esta adherencia es imposible que se produzca cualquier enfermedad. Diferentes factores de virulencia permiten que la bacteria colonice el intestino, se multiplique y cause enfermedad. Entre ellos, la Intimina permite una adherencia íntima de la bacteria al enterocito provocando una lesión característica (A/E, por sus siglas en inglés *attaching and effacing*) con la destrucción de las microvellosidades intestinales (Phillips *et al.* 2000).

Existen 2 tipos de toxinas Shiga: Stx1 y Stx2, de las cuales a su vez hay subtipos e incluso variantes de estos (Scheutz *et al.* 2012). Dentro de Stx1 ha sido descrito un número limitado de subtipos (Stx1a, Stx1c, Stx1d). Sin embargo, existe una mayor diversidad dentro de Stx2, que comprende los subtipos Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g, Stx2h, este último descrito recientemente por Bai *et al.* (2018). El subtipo Stx2a es el que se asocia con alta frecuencia a enfermedad grave, seguido por Stx2d y Stx1a (Feng y Scheutz, 2018).

Además de la toxina Shiga, STEC puede presentar otros factores de virulencia que se encuentran en diferentes combinaciones dando una gran variabilidad a las cepas. Se considera que la presencia del gen *stx_{2a}* y genes codificantes de factores de adherencia son los mejores predictores de enfermedad severa ante una infección por STEC (Feng y Scheutz, 2018). Entre estos últimos, los que están asociados a un mayor riesgo para la salud son el gen *eae* (codificante de la adhesina intimina) y los genes *aggR* y *aaiC* (*E. coli*

enteroagregativa). Sin embargo, existen evidencias que la patogenia de STEC involucra otros factores adicionales, incluyendo moléculas efectoras codificadas en diferentes islas de patogenicidad, pero no hay un patrón específico que identifique sin ambigüedad el riesgo de una cepa STEC (Franz *et al.* 2015).

El gen *ehxA*, codificante de enterohemolisina, es usado como marcador de la presencia de plásmidos de gran tamaño, que pueden codificar también otros factores de virulencia como toxinas y adhesinas, que se encuentran en diferentes combinaciones (Brunder *et al.* 1999; Sanso *et al.* 2015).

Las cepas STEC se caracterizan además por antígenos de su superficie como el antígeno somático O y el antígeno flagelar H. Se conocen más de 185 tipos de antígeno O (serogrupos) y alrededor de 80 antígenos H (Iguchi *et al.* 2015, 2016). El tipo de O y H que presenta una cepa definen su serotipo.

En 2013, un nuevo esquema de clasificación fue propuesto por EFSA en el que se categoriza a las STEC de acuerdo con el riesgo potencial que implican en la salud de los consumidores (EFSA 2013). Dentro de la categoría I (alto potencial del riesgo) se encuentran los serogrupos más frecuentemente asociados a enfermedad severa humana (O157, O26, O103, O145, O111), además de O104. En el grupo II y III (riesgo desconocido) se agrupan las cepas que poseen mecanismos de virulencia desconocidos y de las cuáles aún no existe evidencia de su asociación a SUH (grupo II) y a enfermedad (grupo III) (Tabla 1).

Si bien esta propuesta evita los problemas asociados con la serotipificación, requiere una revisión periódica de la nueva información epidemiológica para verificar su aplicabilidad. Además, una rutina de vigilancia que incluya análisis moleculares para conocer los genes de virulencia junto con un reporte de la presentación clínica ayudaría a clasificar más eficientemente a las STEC de acuerdo con el riesgo (EFSA 2013).

Tabla 1. Propuesta de EFSA para categorización de STEC

Grupo	Genes	Serotipos	Potencial de riesgo	
			D	SUH/CH
I	<i>eae</i> + o <i>aaiC/aggR</i> +	O157, O26, O103, O145, O111, O104	Alto	Alto
II	<i>eae</i> + o <i>aaiC/aggR</i> +	Cualquier otro	Alto	Desconocido
III	<i>eae</i> - o <i>aaiC/aggR</i> -	Cualquier otro	Desconocido	Desconocido

D: Diarrea, CH: colitis hemorrágica

Fuente: EFSA (2013)

Actualmente, se desconoce la combinación mínima de genes requerida para causar una enfermedad grave e incluso fue establecido que hay muchos factores que contribuyen, como los niveles de expresión génica, genes alternativos de virulencia, factores del huésped. Sin embargo, los estudios de investigación en combinación con datos epidemiológicos sugieren tendencias generales, especialmente en la relación entre adherencia, genes de la toxina Shiga y otros genes de virulencia (EFSA 2020). Con base en este desconocimiento se arriba a una conclusión que pretende ser sólida “todas las STEC pueden causar enfermedad en el ser humano (SUH, CH, y/o diarreas)”. Esta aseveración es incorrecta, ya que no existe evidencia científica respaldatoria. Sin embargo, se conocen los serotipos (y los principales factores de virulencia) de STEC que están asociados a enfermedad severa (RSA-CONICET 2020).

RESERVORIOS DE STEC

Reservorio se define como una o más poblaciones o ambientes epidemiológicamente conectados en los cuales el patógeno se mantiene en forma permanente pudiendo replicarse, y desde las cuales se transmite a la población susceptible (Pestana de Castro *et al.* 2010).

STEC se encuentra en el tracto gastrointestinal y es excretado en las heces de una variedad de especies animales como bovinos, ovejas, cabras, perros, gatos, aves, cerdos y especies de vida silvestre (Notario *et al.* 2000; Duarte *et al.* 2001; Leotta *et al.* 2006; Colello *et al.* 2016; Etcheverría *et al.* 2016). En contraste con lo que ocurre en el humano, los bovinos infectados con STEC se mantienen tolerantes a la enfermedad, posiblemente debido a la falta de receptores para toxinas en el intestino de los bovinos (Etcheverría y Padola 2013).

STEC EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE BOVINOS Y EN FRIGORÍFICO

Diferentes estudios han demostrado la presencia de STEC en materia fecal y cuero de los bovinos en Argentina (Parma *et al.* 2000; Tanaro *et al.* 2010, 2012; Etcheverría *et al.* 2016). La prevalencia media de *stx* en bovinos estimada por Brusa *et al.* (2020) fue de 25,1% (6,2-64,4%, IC del 95,0%), resultados similares fueron obtenidos en Brasil, EE.UU., Italia y España (21,3-36,2%) (Thiry *et al.* 2014; Bonardi *et al.* 2015; Mir *et al.* 2016; Ferreira *et al.* 2018; Oporto *et al.* 2019). Asimismo, la prevalencia de STEC notificada en estudios realizados en Argentina se encuentra dentro del mismo rango (11,8–38,9%) (Sanz *et al.* 1998; Meichtri *et al.* 2004; Fernández *et al.* 2010; Masana *et al.* 2011). Sin embargo, otros autores han informado una mayor prevalencia media de STEC en heces de ganado en Paraguay, Canadá, Alemania, Irlanda, Reino Unido, Francia y Australia (44,8-84,8%) (Geue *et al.* 2002; Lynch *et al.* 2012; Monaghan *et al.* 2012; Ahmed *et al.* 2015; Bibbal *et al.* 2015; Mellor *et al.* 2016; Wang *et al.* 2018; Rivelli *et al.* 2019).

En frigoríficos, la contaminación de las medias reses con STEC puede ocurrir durante la faena, llegando a cortes y recortes de carne (Etcheverría *et al.* 2010; Brusa *et al.* 2017; Signorini *et al.* 2018). En Argentina, la tasa de aislamiento de las cepas de STEC fue del 5,8 al 9,0% (Masana *et al.* 2011; Brusa *et al.* 2017; Cap *et al.* 2019). En EE.UU. se reportaron prevalencias superiores (23,0 y 60,6%), así como en Reino Unido (27,0%) (Cobbold *et al.* 2008; Monaghan *et al.* 2012; Stromberg *et al.* 2015). En Canadá, la proporción de STEC confirmada por aislamiento de canales fue del 5,4% (Bohaychuk *et al.* 2011). En EE.UU. la tasa de aislamiento de STEC en carcasas, cortes y recortes fue del 10,1% 9,1% y 5.7%, respectivamente (Barkocy-Gallagher *et al.* 2003; Bosilevac *et al.* 2007; Cobbold *et al.* 2008). También se aisló STEC no-O157 en carne bovina en China 9,9% Italia 8,4% Francia 3,9% y Uruguay 15,6% (Pradel *et al.* 2000; Bosilevac *et al.* 2007; Bai *et al.* 2015; Varcasia *et al.* 2018).

***Escherichia coli* productor de toxina Shiga O185:H7**

E. coli O185:H7 *stx*₂ fue previamente reportada en cerdos, bovinos, carne bovina, aves silvestres y lechuga (Wieczorek *et al.* 2011, Cooley *et al.* 2013; EFSA-ECDC 2015; Silva *et al.* 2018). El primer aislamiento en bovinos fue confirmado en 2004 (Blanco *et al.* 2004). en 2014 se notificó en el Portal RASFF, el aislamiento de *E. coli* O185:H7 *stx*₂ en carne bovina proveniente de Brasil (RASFF Portal). Sin embargo, no existen trabajos científicos, ni reportes públicos, que refieran al aislamiento de *E. coli* O185:H7 *stx*₂ en muestras clínicas humanas.

En Argentina existen antecedentes de su aislamiento en la cadena de producción de carne bovina. A continuación, se analizan los trabajos científicos publicados, la cantidad de muestras analizadas y el hallazgo de *E. coli* O185:H7 *stx*₂ en producción primaria y en frigoríficos:

- 1) Producción primaria.** En el período 1998-2020, en Argentina se publicaron 15 trabajos científicos que incluyeron 6319 muestras de materia fecal de bovinos en producción primaria (Brusa *et al.* 2020). La prevalencia media de *stx* estimada fue de 25,1% (6,2-64,4%, IC del 95,0%) (Brusa *et al.* 2020). *E. coli* O185:H7 *stx*₂ fue aislada en una (0,01%) muestra (Blanco *et al.* 2004).
- 2) Frigoríficos.** En el período 2005-2020, en Argentina se publicaron 14 trabajos científicos en los cuales se reportó el análisis de 21136 muestras de cuero, contenido intestinal, medias reses, cortes y recortes de carne bovina (Brusa *et al.* 2020). La prevalencia media de *stx* estimada en la etapa de faena y producción fue de 23,1% (Brusa *et al.* 2020). Sin embargo, la prevalencia de STEC no-O157 fue de 5,8 %, 5,8% y 7,0%, para media res, cortes y recortes, respectivamente. Los cinco serotipos más prevalentes agruparon el 42,5% de las cepas aisladas, siendo en orden decreciente de frecuencia: O174:H21, O185:H7, O8:H19, O178:H19 y O130:H11 (Brusa *et al.* 2017). *E. coli* O185:H7 *stx*₂ fue aislado en 19 (0,1%) muestras (Brusa *et al.* 2017).

IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA

Hasta el presente no existe evidencia epidemiológica ni científica que demuestre que *E. coli* O185:H7 *stx*₂ se asocie con enfermedad en el hombre, incluyendo diarreas y enfermedad severa (Vally *et al.* 2012; Torres 2016; Ministerio de Salud Argentina, 2016, 2018, 2020; JEMRA 2016; EFSA-ECDC 2015, 2018; Alberta Health 2018; FAO-OMS 2018; RSA-CONICET 2019; CDC 2020). En uno de los reportes más completos de Argentina que incluye el análisis de cepas STEC no-O157 (*eae* negativas) aisladas durante la vigilancia de enfermedades diarreicas y SUH durante el período 2001-2008, este serotipo no fue aislado (Galli *et al.* 2010).

En este contexto, la información disponible en el Portal RASFF es insuficiente para poder determinar el riesgo de *E. coli* O185:H7 *stx*₂, debido a

que sólo se informa la presencia de *stx*₂, sin la detección de factores de virulencia adicionales.

LEGISLACIÓN ALIMENTARIA SOBRE STEC

- **Canadá.** La legislación específica incluye únicamente a *E. coli* O157:H7.
- **China.** La legislación específica incluye únicamente a *E. coli* O157:H7.
- **Estados Unidos.** Se considera adulterante la presencia de los siguientes serogrupos de STEC, portadores de los genes *stx* + *eae*, en recortes de carne bovina: O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157:H7.
- **Israel.** Se considera adulterante la presencia de los siguientes serogrupos de STEC, portadores de los genes *stx* + *eae*, en carne bovina: O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157:H7.
- **Unión Europea.** Hasta el presente no existe legislación específica sobre STEC (O157:H7 y no-O157) en productos y subproductos cárnicos (Reglamento UE 2073/2005). Solo se especifica un criterio microbiológico para semillas germinadas, en el cual se considera tolerancia cero para STEC O157, O26, O111, O103, O145 y O104:H4 (Reglamento UE 209/2013).
- **República Argentina.** SENASA dispone de normativa específica para *E. coli* O157:H7 y STEC no-O157, incluyendo los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145 (Circulares 3834, 4032, 4210B, 4221, 4274). En 2015, la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) aprobó la inclusión de los serogrupos O145, O121, O26, O111 y O103, en los criterios microbiológicos en el Código Alimentario Argentino para carne picada fresca, comida preparada lista para consumo, salazones cocidas, chacinados frescos, y las frutas y hortalizas (Justicia, Ministerio, 2017).

METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA DETECCIÓN, AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE STEC

La mayoría de las cepas de STEC frecuentemente asociadas con enfermedades graves en humanos corresponden a ciertos antígenos somáticos específicos (O-Ag) antes mencionados y poseen los genes *stx* y *eae* (Torres, 2016). En base a estos datos, se han desarrollado dos métodos de referencia basados en la detección por PCR en tiempo real de los tipos de cepas STEC más importantes de los alimentos. Uno ha sido estandarizado a nivel europeo (Comisión para la Normalización Europea, CEN) e internacional (Organización Internacional de Normalización, ISO). El otro es un método oficial utilizado en los Estados Unidos para productos cárnicos (MLG 5C.00 FSIS 2019). Sin embargo, a pesar de la alta sensibilidad de la técnica de PCR para la detección de cepas patógenas, una de las debilidades que presenta es que la detección de genes específicos de virulencia no significa que la proteína se está expresando, ya que la secuencia nucleotídica puede estar trunca (Silva *et al.* 2018). Por este motivo el riesgo bacteriano se estaría sobreestimando.

Todas las metodologías oficiales para detectar *E. coli* O157:H7 y STEC no-O157 en productos alimenticios contienen los siguientes pasos generales: (I) enriquecimiento en caldo selectivo, (II) tamizaje, (III) separación inmunomagnética (IMS), (IV) aislamiento en agar selectivo y diferencial, (V) confirmación mediante pruebas bioquímicas y serológicas, y (VI) identificación de factores de virulencia.

Las pruebas microbiológicas de los productos alimenticios terminados por sí solos no son suficientes para garantizar su inocuidad debido a razones relacionadas con el muestreo, la metodología y la distribución aleatoria de microorganismos. La seguridad alimentaria se debe garantizar principalmente mediante un enfoque más preventivo, como el diseño de procesos y la aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH), las Buenas Prácticas de Manipulación (BPM) y los Principios de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP por sus siglas en inglés) (European Commission, 2011).

Sin embargo, el enfoque preventivo basado en procesos no garantiza la ausencia de todos los serotipos de STEC, para ello sería necesario verificar los procesos con metodologías analíticas que permitan identificar a todos los serotipos de STEC.

La definición de peligros en la elaboración de alimentos debe determinarse mediante análisis de riesgo y para ello es indispensable contar con información respaldatoria. Hasta el momento no existe evidencia que *E. coli* O185:H7 *stx*₂ sea un peligro biológico en la cadena de producción de carne bovina. En caso de aplicarse el criterio de tolerancia cero para todos los serotipos de STEC es necesario evaluar la aplicación de intervenciones físicas o químicas (Cap *et al.* 2019; 2020, 2021).

RECOMENDACIONES

- El concepto de tolerancia cero incluye más de 1400 serotipos de STEC. Su implementación y cumplimiento en carnes crudas es muy dificultosa. Para ello se sugiere reforzar los sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control con intervenciones físicas y/o químicas a los productos terminados.
- Se sugiere evitar la adopción de medidas de gestión de riesgo sin base epidemiológica ni científica que las avale. Hasta el momento, la información disponible en el Portal RASFF es insuficiente para poder determinar el riesgo de *E. coli* O185:H7 *stx*₂, debido a que sólo se informa la presencia de *stx*₂, sin la detección de factores de virulencia adicionales.
- ✓ Actualmente no existen kits comerciales de screening para la identificación de los más de 1400 serotipos de STEC (criterio de tolerancia cero). Es posible realizar la verificación de este criterio únicamente por detección de los genes *stx* (RT-PCR), y posterior aislamiento y caracterización. Se puede utilizar como referencia la Norma ISO 13136/2012.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed W, Gyawali P, Toze S. Quantitative PCR measurements of *Escherichia coli* including Shiga Toxin producing *E. coli* (STEC) in animal feces and environmental waters. *Environ Sci Technol.* 2015; 49(5):3084–90. <https://doi.org/10.1021/es505477n> PMID: 25648758
2. Alberta Health AG. Haemolytic Uremic Syndrome. 2018.
3. Bai X, Wang H, Xin Y, Wei R, Tang X, Zhao A, et al. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from retail raw meats in China. *Int J Food Microbiol.* 2015;200:8.
4. Bai X, Fu S, Zhang J, Fan R, Xu Y, Sun H, He X, Xu, J, Xiong Y. Identification and pathogenomic analysis of an *Escherichia coli* strain producing a novel Shiga toxin 2 subtype. *Sci Rep.* 2018; 8: 6756.
5. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, Nou XW, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *J Food Prot.* 2003; 66: 1978-1986.
6. Bibbal D, Loukiadis E, Kerouredan M, Ferre F, Dilasser F, Peytavin de Garam C, et al. Prevalence of carriage of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, and O145:H28 among slaughtered adult cattle in France. *Appl Environ Microbiol.* 2015; 81(4):9. <https://doi.org/10.1128/AEM.03315-14> PMID: 25527532; PubMed Central PMCID: PMC4309698.
7. Blanco M, Padola NL, Krüger A, Sanz M, Blanco J, CGonzález E, Dahbi G, Mora A, Bernárdez MI, Etcheverría A, Arroyo G, Lucchesi P, Parma A, Blanco J. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *Int. Microbiol* 2004, 7:269-276
8. Bohaychuk VM, Gensler GE, Romero Barrios P. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Can Vet J.* 2011; 52:6. PMID:22467964
9. Bonardi S, Alpigliani I, Tozzoli R, Vismarra A, Zecca V, Greppi C, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157, O26 and O111 in cattle faeces and hides in Italy. *Vet Rec Open.* 2015; 2(1):9. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2014-000061> PMID: 26392887; PubMed Central PMCID: PMC4567145.
10. Bosilevac JM, Guerini MN, Brichta-Harhay DM, Arthur TM, Koohmaraie M. Microbiological characterization of imported and domestic boneless beef trim used for ground beef. *J Food Prot.* 2007;70(2):10.
11. Bosilevac JM, Guerini MN, Brichta-Harhay DM, Arthur TM, Koohmaraie M. Microbiological characterization of imported and domestic boneless beef trim used for ground beef. *J Food Prot.* 2007;70(2):10.
12. Brunder W, Schmidt H, Frosch M, Karch H. The large plasmids of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are highly variable genetic elements. *Microbiol.* 1999; 45:1005–14.
13. Brusa V, Costa M, Padola NL, Etcheverría A, Sampedro F, Fernandez P, Leotta GA, Signorini M. 2020. Quantitative risk assessment of haemolytic uremic syndrome associated with beef consumption in Argentina. *PLoS ONE* 15(11): e0242317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242317>
14. Brusa V, Restovich V, Galli L, Teitelbaum D, Signorini M, Brascesco H, Londero A, García D, Padola NL, Superno V, Sanz M, Petroli S, Costa M, Bruzzzone M, Sucari A, Ferreghini M, Linares L, Suberbie G, Rodríguez R, Leotta GA. Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from beef

- carcasses, cuts and trimmings of abattoirs in Argentina. PLoS One. 2017; 22: 12(8).
15. Cap M, Carbonari CC, D'Astek BA, Zolezzi G, Deza N, Palladino MP, *et al.* Frequency, characterization and genotypic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef slaughterhouses of Argentina. Rev Argent Microbiol. 2019; 51(1):7. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.03.005> PMID:29937134.
 16. Cap M., Cingolani C., Lires C., Mozgovoij M., Soteras T., Sucari A., Gentiluomo J., Descalzo A., Grigioni G., Signorini M, Horak C., Vaudagna S., Leotta G.A. 2020. Combination of organic acids and low-dose gamma irradiation as antimicrobial treatment to inactivate Shiga toxin-producing *Escherichia coli* inoculated in beef trimmings: lack of benefits in relation to single treatments. PLoS ONE. DOI:10.1371/journal.pone.0230812
 17. Cap M., Lires C., Cingolani C., Mozgovoij M., Soteras T., Gentiluomo J., Principe F., Sucari A., Horak C., Signorini M., Vaudagna S.R., Leotta G.A. 2021. Identification of the irradiation dose applied to ground beef that reduces STEC but has no impact on consumer acceptance. Meat Science. MESC_108414
 18. Cap M., Vaudagna S., Mozgovoij M., Soteras T., Sucari A., Signorini M., Leotta G.A. 2019. Inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in fresh beef by electrolytically-generated hypochlorous acid, peroxyacetic acid, lactic acid and caprylic acid. Meat Science 157 107886.
 19. CDC. FoodNet Fast's Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) USA2020 [cited 2020 1st January]. Available from: <https://wwwn.cdc.gov/foodnetfast/HUS>.
 20. Cobbold RN, Davis MA, Rice DH, Szymanski M, Tarr PI, Hancock DD. Associations between bovine, human, and raw milk, and beef isolates of non-O157 Shiga toxigenic *Escherichia coli* within a restricted geographic area of the United States. J Food Prot. 2008; 71(5):5.
 21. Colello R, Cáceres ME, Ruiz MJ, Sanz M, Etcheverría AI, Padola NL. From farm to table: follow-up of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* throughout the pork production chain in Argentina. Front Microbiol. 2016; 7: 1-7.
 22. Cooley, M. B.; Jay-Russell, M.; Atwill, E. R.; Carychao, D.; Nguyen, K.; Quiñones, B.; Patel, R.; Walker, S.; Swimley, M.; Pierre-Jerome, E.; Gordus, A. G.; Mandrell, R. E. Development of a robust method for isolation of Shiga toxin-positive *Escherichia coli* (STEC) from fecal, plant, soil and water samples from a leafy greens production region in California. PLoS ONE 2013, 8.
 23. Duarte A, Fain Binda JC, Roig VG, Etcheverría AI, Arroyo GH, Padola NL, Sanz M, Parma, AE. *Escherichia coli* verocitotoxigénico en animales del Zoológico de Mendoza: un estudio preliminar. X Congreso ALPZA. Jardín Zoológico de la Ciudad. Buenos Aires. 2001. Libro de Actas del Congreso, p. 224.
 24. EFSA ECDC. Scientific Report. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA Journal 2015; 13(1):3991.
 25. EFSA ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA J. 2018; 16(12):262. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500> PMID: 32625785
 26. EFSA. (BIOHAZ) Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. EFSA Journal. 2013; 11(4):3138. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3138>
 27. EFSA (BIOHAZ) Scientific Opinion on pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. EFSA Journal. 2020. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>

28. Etcheverría A, Padola N. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Factors involved in virulence and cattle colonization. *Virulence*. 2013; 4: 1–7.
29. Etcheverría AI, Lucchesi PMA, Krüger A, Bentancor AB, Padola NL. *Escherichia coli* in animals. In Torres AG (ed). *Escherichia coli* in the Americas. USA. Springer, 2016, p. 149-172.
30. Etcheverría AI, Padola NL, Sanz ME, Polifroni R, Krüger A, Passucci J, Rodríguez EM, Taraborelli AL, Ballerio M, Parma AE. Occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci*. 2010; 86: 418-421.
31. European Commission—Food and Feed Safety. Microbiological criteria. 2011. http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/microbio_en.htm
32. FAO WHO. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. Microbiological risk assessment series. 2018; 31.
33. Feng P, Scheutz F. Characterizing the health risks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). 9th Internacional Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) - Producing *Escherichia coli* infections, 2018, p. 51, Florencia, Italia.
34. Fernández D, Irino K, Sanz M, Padola NL, Parma AE. Characterization of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* isolated from dairy cows in Argentina. *Lett Appl Microbiol*. 2010; 51:6. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02849.x> PMID: 20438618
35. Ferreira MRA, Stella AE, Freitas-Filho EG, Silva TS, Nascimento KA, Pinto JFN, *et al*. Distribution of the *stx*₁ and *stx*₂ genes in *Escherichia coli* isolated from milk cattle according to season, age, and production scale in southwestern region of Goiás, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zoo*. 2018; 70(9):7.
36. Franz E, van Hoek AH, Wuite M, van der Wal FJ, de Boer AG, Bouw EI, Aarts HJ. Molecular hazard identification of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). *PLoS One*. 2015; 10: 1-21.
37. Galli L., Miliwebsky E., Irino K., Leotta G.A., Rivas M. 2010. Virulence profile comparison between LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from cattle and humans. *Veterinary Microbiology* 143: 307-313.
38. Geue L, Segura-Alvarez M, Conraths FJ, Kuczius T, Bockemuhl J, Karch H, *et al*. A long-term study on the prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) on four German cattle farms. *Epidemiol Infect*. 2002; 129(1):13. <https://doi.org/10.1017/s0950268802007288> PMID: 12211585; PubMed Central PMCID: PMC2869863.
39. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M, Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* O-genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping. *J Clin Microbiol*. 2015; 53: 2427-32.
40. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Nishii H, Ohnishi M, Mekata H, Ogura Y and Hayashi T. Six Novel O Genotypes from Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Front. Microbiol*. 2016; 7: 765.
41. ISO/TS 13136. Microbiology of food and animal feed Real-time polymerase chain reaction (PCR)- based method for the detection of food-borne pathogens- Horizontal method for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O11, O26, O103 and O145 serogroups. 2012.
42. JEMRA. Joint FAO/WHO Core Expert Group Meeting on VTEC/STEC. 2016. EU RLEc. Report of the 15th inter-laboratory study on the detection of Verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) in sprouts (PT15) - 2015. 2015.

43. Leotta GA, Brusa V, Galli L, Adriani C, Linares L, Etcheverría A, Sanz M, Sucari A, Peral García P, Signorini M. Comprehensive Evaluation and Implementation of Improvement Actions in Butcher Shops. PLoS One. 2016; 12: 1-16.
44. Lynch MJ, Fox EM, O'Connor L, Jordan K, Murphy M. Surveillance of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in Irish bovine dairy herds. Zoonoses Public Health. 2012; 59(4):8. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2011.01443.x> PMID: 22128857.
45. 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; 74: 2008-2017.
46. Meichtri, L.H., Miliwebsky, E., Gioffré, A., Chinen, I., Baschkier, I. Chillemi, G., Guth, B.E.C., Masana, M.O., Cataldi, A., Rodríguez, H.R. and Rivas, M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. Int. J. Food Microbiol. 2004; 96:189–198.
47. Mellor GE, Fegan N, Duffy LL, Mc MK, Jordan D, Barlow RS. National survey of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157 in Australian beef cattle feces. J Food Prot. 2016; 79(11):7. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-507> PMID: 28221921.
48. Ministerio de Justicia. Resolución Conjunta 4 - E/2017. from <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/270000-274999/270518/norma.htm>. 2017.
49. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Area de Vigilancia de la Salud de la Direccion de Epidemiologia. Boletín Integrado de Vigilancia N° 329 –SE 39–2016. Ciudad Autonoma de Buenos Aires 2016.
50. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Area de Vigilancia de la Salud de la Direccion de Epidemiologia. Boletín Integrado de Vigilancia N° 439—SE 06–2018. Ciudad Autónoma de Buenos Aires 2018.
51. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Area de Vigilancia de la Salud de la Direccion de Epidemiologia. Boletín Integrado de Vigilancia N°481—SE 02–2020. Ciudad Autonoma de Buenos Aires 2020.
52. Mir RA, Weppelmann TA, Elzo M, Ahn S, Driver JD, Jeong KC. Colonization of Beef Cattle by Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* during the First Year of Life: A Cohort Study. PLoS One. 2016; 11 (2):16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148518> PMID: 26849041; PubMed Central PMCID:PMC4743843.
53. Monaghan A, Byrne B, Fanning S, Sweeney T, McDowell D, Bolton DJ. Serotypes and virulotypes of non-O157 shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) on bovine hides and carcasses. Food Microbiol. 2012; 32:7. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.06.002> PMID: 22986184
54. Notario R., Fain JC, Prado V, Ríos M, Borda N, Gambandé T. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in a cattle area of Argentina. Genotypic characterization of the strains of animal origin. Rev Med Chil. 2000; 128: 1335-41.
55. Oporto B, Ocejó M, Alkorta M, Marimon JM, Montes M, Hurtado A. Zoonotic approach to Shiga toxin producing *Escherichia coli*: integrated analysis of virulence and antimicrobial resistance in ruminants and humans. Epidemiol Infect. 2019; 147(e164):9. <https://doi.org/10.1017/S0950268819000566> PMID: 31063106; PubMed Central PMCID: PMC6518511.
56. 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. Eur J Epidemiol. 2000; 16: 757-762.
57. Pestana de Castro A, Bentancor A, Mercado E, Cataldi A, Parma A. *Escherichia coli* animal reservoirs, transmission route and animal disease. In Torres AG (ed) Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. Bentham Science, Bolingbrook, 2010, p. 223-248.
 58. Phillips AD, Navabpour S, Hicks S, Dougan G, Wallis T, Frankel G. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 target Peyer's patches in humans and cause attaching/effacing lesions in both human and bovine intestine. Gut. 2000; 47: 377-381.
 59. Pradel N, Livrelli V, De Champs C, Palcoux JB, Reynaud A, Scheutz F, et al. Prevalence and Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Cattle, Food, and Children during a One-Year Prospective Study in France. J Clin Microbiol. 2000;38.
 60. Red de Seguridad Alimentaria-CONICET Argentina. Disponible en: <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2016/07/Informe-FAO-OMS-Escherichia-coli-VTEC-STEC-Argentina.pdf>
 61. Red de Seguridad Alimentaria-CONICET Argentina. Consideraciones respecto de la Opinión Científica de EFSA "Evaluación de la patogenicidad de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y el riesgo que representa para la salud pública la contaminación de los alimentos con STEC". Disponible en: <https://rsa.conicet.gov.ar/adhoc/grupo-de-expertos-stec-ipcva/>
 62. Rivelli Zea SM, Padola NL, Etcheverria AI, Florentin M, Acuna P, Rodriguez F, et al. Molecular characterization of Shiga toxin producing *Escherichia coli* isolated from 2 livestock establishments of Paraguay. Rev Argent Microbiol. 2019; 5. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.07.001> PMID: 31635897.
 63. Sanso AM, Bustamante AV, Franci T, González J, Cadona JS, Lucchesi PMA. Serotype distribution of plasmid-encoded virulence profiles, and identification of espP and subAB alleles in verotoxigenic *Escherichia coli*. Br Microbiol Res J. 2015; 5: 396-404.
 64. Sanz ME, Viñas MR, Parma AE. Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. Eur J Epidemiol. 1998; 14:5. <https://doi.org/10.1023/a:1007427925583> PMID: 9690760
 65. Scheutz F, Strockbine NA. *Escherichia*. En: Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition. New York, Springer Inc.. 2005, p. 607-623.
 66. Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Piérard D, Buvens G, Karch H, Mellmann A, Caprioli A, Tozzoli R, Morabito S, Strockbine NA, Melton-Celsa AR, Sanchez M, Persson S, O'Brien AD. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. J Clin Microbiol. 2012; 50: 2951-2963.
 67. Signorini M, Costa M, Teitelbaum D, Restovich V, Brasesco H, Garcia D, et al. Evaluation of decontamination efficacy of commonly used antimicrobial interventions for beef carcasses against Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Meat Sci. 2018; 142:8. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.009> PMID: 29656275.
 68. Silva CJ, Lee BG, Yambao JC, Erickson-Beltran ML, Quinones B. Using Nanospray Liquid Chromatography and Mass Spectrometry to Quantitate Shiga Toxin Production in Environmental *Escherichia coli* Recovered from a Major Produce Production Region in California. J. Agric. Food Chem. 2018. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b05324

69. Stromberg ZR, Baumann NW, Lewis GL, Severt NJ, Cernicchiaro N, Renter DG, *et al.* Prevalence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157 on Hides and Preintervention Carcass Surfaces of Feedlot Cattle at Harvest. *Foodborne Pathog Dis.* 2015; 12(7):8. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1945> PMID: 26125496.
70. Tanaro JD, Galli L, Lound LH, Leotta GA, Piaggio MC, Carbonari CC, Irini K, Rivas M. Non-O157:H7 Shigatoxin-producing *Escherichia coli* in bovine rectums and surface water streams on a beef cattle farm in Argentina. *Foodborne Pathog Dis.* 2012; 9: 878-884.
71. 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 Pathog Dis.* 2010; 7: 475-457.
72. Thiry D, De Rauw K, Takaki S, Duprez JN, Iguchi A, Pierard D, *et al.* Low prevalence of the 'gang of seven' and absence of the O80:H2 serotypes among Shiga toxinogenic and enteropathogenic *Escherichia coli* (STEC and EPEC) in intestinal contents of healthy cattle at two slaughterhouses in Belgium in 2014. *J Appl Microbiol.* 2018; 124(3):7. <https://doi.org/10.1111/jam.13677> PMID: 29280544.
73. Torres AG. *Escherichia coli* in the América. Chapter 8. *Escherichia coli* in food products. 2016.
74. USDA MLG 5C.00. Detection, Isolation and Identification of Top Seven Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STECs) from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. 2019.
75. Vally H, Hall G, Dyda A, Raupach J, Knope K, Combs B, *et al.* Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000–2010. *BMC Public Health.* 2012; 12:12. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-12> PMID: 22221851
76. Varcasia BM, Tomassetti F, De Santis L, Di Giamberardino F, Lovari S, Bilei S, *et al.* Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in fresh beef marketed in 13 eegions of ITALY (2017). *Microorganisms.* 2018;6(126):12. PubMed PMID: 30563244; PubMed Central PMCID: PMC6313577
77. Wang LYR, Jokinen CC, Laing CR, Johnson RP, Ziebell K, Gannon VPJ. Multi-Year persistence of Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) in a closed Canadian beef herd: A cohort study. *Front Microbiol.* 2018; 9:24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00024> PMID: 29410658; PubMed Central PMCID: PMC6127291.
78. Wiczorek K, Beutin L, Osek J. Rare VTEC serotypes of potential zoonotic risk isolated from bovine hides and carcasses. *Vet Rec.* 2011; 168(3):80. <https://doi.org/10.1136/vr.c5263> PMID: 21257589.