

## Escherichia coli Serotipo O157:H7: Nuevos Vehículos de Infección y Emergencia de variantes fenotípicas

Peter Feng, Ph.D.

U.S. Food and Drug Administration, Washington, D.C., USA

*Escherichia coli serotipo O157:H7 fue reconocido como un patógeno humano hace poco más de una década y ha llegado a ser el principal patógeno de origen alimenticio. En los Estados Unidos, la severidad del serotipo O157:H7 en las infecciones en jóvenes y adultos han tenido un impacto tremendo sobre la salud humana, la industria alimentaria y las regulaciones federales que observan la seguridad alimentaria. Su relación con alimentos ácidos, como vehículos de infección, han disipado el concepto que el bajo pH de los alimentos los convierte en seguros. Además, la asociación de brotes de enfermedad por productos no bovinos sugiere que pueden existir otros vehículos de transmisión para este patógeno. En el diagnóstico de laboratorio, la mayoría de los ensayos microbiológicos se basan en relacionar a un sólo fenotipo patógeno. Sin embargo, la evidencia creciente que existen variaciones fenotípicas entre aislamientos en estos serogrupos indican que pueden ser eventualmente modificaciones necesarias en los procedimientos de ensayo para detectarlos.*

*Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) ha surgido en años recientes como la causa predominante de colitis hemorrágica en humanos. Esta enfermedad, con síntomas característicos de diarrea sanguinolenta y calambres abdominales, puede progresar hacia una severa complicación conocida como síndrome urémico hemolítico (HUS), con amenaza para la vida del paciente. La patogenidad de EHEC parece asociarse con factores de virulencia, incluyendo la producción de varias citotoxinas (1,2). Estas toxinas son referidas en forma conjunta como verotoxinas o toxinas Shiga-like (SLT) porque la SLT-I de *E. coli* se parece estrechamente a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1 (2). Aunque más de 60 serotipos de *E. coli* producen SLT (2) y otras más están siendo identificadas como capaces de producir SLT, el serotipo O157:H7 es el patógeno predominante en el grupo EHEC y el más frecuentemente asociado a las infecciones humanas en el mundo.

Los aislamientos del serotipo O157:H7 fueron implicados inicialmente en enfermedades de origen alimenticio en 1982; en los subsiguientes 10 años, se registraron aproximadamente 30 brotes en los Estados Unidos (1). A principios de 1993, sin embargo, el serotipo O157:H7 recibió considerable atención después de un importante brote de enfermedad de origen alimenticio, relacionado con el consumo de hamburguesas contaminadas que fueron servidas con una cocción incompleta en un restaurante de comidas rápidas regional (3). Más de 700 personas se infectaron en cuatro estados; con 51 casos de HUS y cuatro muertes. Desde ese brote, la información sobre la incidencia de infección por el serotipo O157:H7 ha aumentado parcialmente debido a que se han implementado mejores sistemas de vigilancia y ha aumentado la conciencia entre médicos, microbiólogos clínicos y consumidores. Quince brotes más se registraron en 1993 y 20 en la primera mitad de 1994.

Debido a que el serotipo O157:H7 ha sido sólo recientemente reconocido como un patógeno alimentario, nuestro conocimiento es limitado. Sin embargo, la notoriedad de los recientes brotes y la severidad de las infecciones del serotipo O157:H7 han estimulado la investigación sobre el microorganismo, su ecología, las propiedades de resistencia a los antibióticos y los factores de virulencia. Mucho se ha aprendido ya de las investigaciones epidemiológicas de brotes pasados. Por ejemplo, las infecciones alimentarias del serotipo O157:H7 se han asociado muy frecuentemente con el consumo de productos vacunos; sin embargo, varios brotes recientes han implicado otros vehículos menos probables de infección y mostraron que el microorganismo puede tener algunas características insospechadas. Aunque los estudios genotípicos muestran al serotipo O157:H7 como un clon único, sólo distantemente relacionado a otros serotipos de *E. coli* (4,5), la diversidad fenotípica dentro del serogrupo (6) puede complicar los procedimientos diagnóstico de laboratorio existentes. La introducción de varias técnicas de diagnóstico molecular pueden facilitar la detección de estos serotipos y sus variantes fenotípicas.

Esta revisión examina los inesperados y aparentemente inverosímiles vehículos implicados en recientes brotes del serotipo O157:H7, el impacto de las variantes fenotípicas emergentes y su efecto sobre ensayos diagnósticos usados para detectar estos patógenos en especímenes clínicos o en el abastecimiento alimentario.



## Nuevos Vehículos de Transmisión

Anteriormente, el serotipo O157:H7 ha causado un total de 60 brotes de enfermedad alimentaria en los Estados Unidos. El consumo de productos cárnicos contaminados mal cocidos, han rendido cuenta de la mayoría de los brotes; sin embargo, la leche cruda fue implicada también en varios brotes en los Estados Unidos y el Canadá. La higiene inadecuada, con diseminación secundaria de contacto persona a persona, es otra ruta bien documentada de infección (1,2). En los últimos años, sin embargo, varios brotes alimentarios del serotipo O157:H7 han implicado vehículos únicos y aparentemente improbables de infección: entre ellos están los alimentos ácidos, frutas, ensalada de vegetales, yogur y agua.



## Alimentos ácidos

En el Retail Food Store Sanitation Code del Food and Drug Administration de EE.UU., los alimentos con un valor de pH menor de 4,6 son generalmente vistos como de bajo riesgo desde el punto de vista de la seguridad alimentaria. Sin embargo, varios brotes recientes de enfermedad, atribuibles al serotipo O157:H7, han mostrado que estos patógenos puede persistir en alimentos con bajo pH.

En el otoño de 1991, un brote del serotipo O157:H7 que afectó a 23 personas, fue relacionado con el consumo de sidra de manzana fresca prensada<sup>1</sup> (7). La sidra implicada, elaborada con manzanas «caídas» sin lavar en una granja, tenía un pH de 3,7 a 3,9, no fue pasteurizada y no contenía conservadores. Aunque la sidra de manzana se había implicado en un brote previo de *Salmonella typhimurium*, no es un vehículo común de infección entérica a causa de su alta acidez. Varios estudios de laboratorio han demostrado que los aislamientos del serotipo O157:H7 pueden tolerar condiciones ácidas. Algunas cepas persisten en medios con valores de pH tan bajos como 2,0 (8) y en sidra de manzana fría (8°C) pueden hacerlo por 10 a 31 días (7,9). Aunque la fuente del serotipo O157:H7 en la sidra que ocasionó la enfermedad nunca fue totalmente establecida, se sospechó que las manzanas habían estado contaminadas con estiércol de vaca.

La capacidad del serotipo O157:H7 para tolerar la acidez se comprobó en 1993, cuando otro ali-

mento ácido fue implicado en una serie de brotes en restaurantes, que infectaron por lo menos a 48 personas. Aunque la fuente de los brotes no fue finalmente identificada, las investigaciones epidemiológicas y los otros datos implicaron a la mayonesa o aderezo basado en mayonesa y salsas. Los muestreos de mayonesa tenían un pH de 3,6 a 3,9 y las salsas preparadas a partir de ellas también eran ácidas, con niveles de pH de 3,6 a 4,4 (10). Después de este brote, varios estudios confirmaron que a pesar que los aislamientos del serotipo O157:H7 no se multiplican bajo estas condiciones, pueden persistir en la mayonesa comercial hasta 55 días a 5°C (10,11). No fue determinado cómo la mayonesa llegó a contaminarse con el serotipo O157:H7; sin embargo, se sospechó la manipulación inadecuada de la mayonesa o la contaminación cruzada con jugos de carne o productos cárnicos.



## Agua

Varios incidentes recientes muestran que el agua potable y recreativa pueden servir como vehículos para la transmisión de infecciones por el serotipo O157:H7.

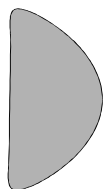
El primer y más grande brote hídrico asociado con este patógeno ocurrió en Missouri en 1989 (12). De más de 240 personas infectadas, 32 fueron hospitalizadas y cuatro murieron. La fuente del brote no fue identificada, pero un reflujo que tuvo lugar por la rotura de una cañería principal de agua, podría haber sido la fuente de contaminación del abastecimiento de agua potable (12). Como la mayoría de las *E. coli*, los serotipos O157:H7 aislados son susceptibles a los efectos del cloro. Entonces, ajustes en la clorinación del abastecimiento de agua potable durante las reparaciones realizados en la cañería principal de agua podrían haber prevenido el brote (12).

En un brote ocasionado por el serotipo O157:H7 y *S. sonnei* en 1991 pudo haber estado involucrada el agua recreacional del lago de la vecindad en Portland, Oregon. De las 59 personas afectadas, 21 (todos niños) fueron infectados por el serotipo O157:H7 (13). Una encuesta epidemiológica mostró que los que se enfermaron habían nadado en el lago durante el período previo de 3 semanas. La transmisión probablemente ocurrió cuando los nadadores tragaron agua del lago que estaba contaminada con materia fecal de otros bañistas. El largo período durante el cual la gente se infectó, sugiere que éstos patógenos pueden permanecer viables en el agua por mucho tiempo, o que el agua fue contaminada repetidamente. La contaminación fecal del agua recreativa por bañistas, especialmente por niños pequeños, no es infrecuente; sin embargo, los contaminantes se diluyen rápidamente por el gran volumen de agua de los lagos recreativos,

<sup>1</sup>(N.del T.: Jugo de manzana)

bahías, o ríos. Ya que tragando una pequeña cantidad de agua del lago contaminado puede ocasionar la enfermedad, sugiere que el patógeno tiene una dosis infecciosa baja (13). Este hecho ya está bien establecido para *Shigella* y parece ser consistente con recientes datos epidemiológicos de brotes alimentarios asociado con el serotipo O157:H7.

Un incidente similar, que implicó agua de piscina donde unos niños estaban jugando, fue informado en Escocia en 1992 (14). Aunque la evidencia epidemiológica no fue concluyente, los datos disponibles sugirieron que un niño con diarrea había jugado en la piscina y contaminado con materia fecal el agua con serotipo O157. Debido a que el agua de la piscina no fue cambiada o desinfectada, llegó a ser el vehículo de infección para otros dos niños del vecindario, los cuales a la vez infectaron a otros por contacto persona a persona.



#### Otros vehículos de transmisión

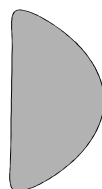
Recientemente, otros vehículos han sido implicados en brotes alimentarios asociados con el serotipo O157:H7. Un brote en 1993, en un restaurante de Oregon fue ocasionado aparentemente por el consumo de melón u otros alimentos provenientes de la barra de ensaladas, donde la mayoría fueron probablemente contaminados en forma cruzada con productos cárnicos durante la preparación. Un estudio mostró que el serotipo O157:H7 puede sobrevivir y crecer sobre vegetales de ensalada almacenados a 12°C y 21°C por un período de hasta 14 días (15). Un brote en el Reino Unido en 1991 fue relacionado con el consumo de yogur que infectó a 16 personas, 11 de ellos eran niños (16). Aunque el consumo de leche cruda ha ocasionado brotes pasados, el serotipo O157:H7 es susceptible al tratamiento térmico y por lo tanto no sobrevive comúnmente al proceso de pasteurización. Si bien el yogur implicado se preparó con leche pasteurizada, la leche pudo contaminarse con el serotipo O157:H7 después de la pasteurización.

Un incidente confuso se informó en el norte de Italia, donde 15 casos de HUS, ocasionados por el serotipo O157 y otros serotipos de EHEC, se registraron por un período de 5 meses en 1993 (17). Estos casos ocurrieron en pueblos pequeños distribuidos en un área grande con poca conexión evidente el uno con el otro; por lo tanto, la exposición y vehículos alimentarios comunes al ganado fueron eliminados como posible fuente de infección. Sin embargo, los datos de las investigaciones epidemiológicas sugirieron que el contacto con aves de corral vivas o con jaulas de pollos pudieron haber sido la fuente de infección, a pesar que se aislaron cepas de EHEC no productoras de toxinas de los excrementos de las aves

de corral. Un estudio reciente mostró que la inoculación de pollitos de 1 día de edad con cepas del serotipo O157:H7 resultó en la rápida colonización del tejido cecal de los mismos. Los pollitos llegaron a eliminar por mucho tiempo (hasta 11 meses) el serotipo O157:H7 y estos microorganismos se recuperaron de las cáscaras de sus huevos (18). Es imaginable, por lo tanto, que las aves de corral vivas fueron la fuente de infección en los brotes informados en el norte de Italia.

En Diciembre de 1994, el salame curado seco fue implicado como la fuente del serotipo O157:H7 en un brote en el estado de Washington (19). Un estudio anterior mostró que aunque los aislamientos del serotipo O157:H7 no crecen en embutidos, pueden tolerar la acidez producida durante la fermentación del embutido y sobrevivir al secado y al almacenaje en frío, asociado con la preparación de embutidos secos (20). Los embutidos fermentados pueden lograr un pH tan bajo como 4,8 (20). La capacidad de los aislamientos del serotipo O157:H7 para persistir bajo estas condiciones es consistente con las propiedades ácido tolerantes que este microorganismo exhibió en los estudios discutidos anteriormente con la sidra de manzana (7) y la mayonesa (10).

Aunque el consumo de productos vacunos todavía rinde cuentas de la mayoría de las infecciones por el serotipo O157:H7, las incidencias arriba descritas mostraron que otros tipos de alimentos pueden servir también como vehículos en la transmisión de infecciones con este serotipo.



#### Emergencia de Variantes Fenotípicas

La electroforesis enzimática multifocal de cepas de *E. coli* asociadas con enfermedad entérica, mostró que el serotipo O157:H7 está en un grupo bien definido y sólo distantemente relacionado a otro serotipo productor de SLT (4,5). Recientemente, sin embargo, diversas variantes fenotípicas de este serotipo se aislaron en Europa. Así, además de ocasionar infecciones a través de vehículos alimentarios, los problemas asociados con el serotipo O157:H7 están compuestos por la aparición de variantes fenotípicas, que pueden tener un impacto en las pruebas diagnósticas usadas para detectar este patógeno.

La naturaleza clonal del serotipo O157:H7 ha facilitado su identificación fenotípica. A diferencia de otras *E. coli*, los aislamientos del serotipo O157:H7 no fermentan el sorbitol en 24 horas (21) y son negativos a la prueba del metil glucuronido (22), que mide la actividad de la glucuronidasa (23). De estas características fenotípicas, la ausencia de fermentación del sorbitol, es ampliamente usada para distinguir los ais-

lamientos del serotipo O157:H7 de bacterias relacionadas. El aislamiento del serotipo O157:H7 de alimentos, en medios selectivos, tal como el «hemorrhagic colitis agar» (24) y el «cefixime-tellurite sorbitol-MacConkey agar» (25) están basados en el fenotipo del sorbitol. En forma similar, el agar «sorbitol-MacConkey» (26) es usado en el laboratorio clínico como el medio «screening» primario para analizar especímenes de pacientes en búsqueda del serotipo O157:H7. El cultivo rápido de heces con sangre en este agar ha sido muy efectivo en el aislamiento del serotipo O157:H7 de especímenes de materia fecal (1).

Aunque sumamente útil, el aislamiento e identificación del patógeno exclusivamente sobre la ausencia de la fermentación del sorbitol tiene algunas limitaciones. Otras bacterias entéricas, tal como *E. hermannii* y *Hafnia* spp., comparten fenotipos similares y se parecen al serotipo O157:H7 en el medio que contiene sorbitol. Asimismo, las cepas de O157, del serotipo no-H7 que no son patógenos y no fermentan sorbitol han sido ocasionalmente aislados de alimentos (27). A causa de la presencia de especies fenotípicamente similares, sorbitol negativas, los aislamientos deben ser serológicamente confirmados con antisuero O157 y H7 (28).

Aunque destinado únicamente para seleccionar el serotipo O157:H7, el medio conteniendo sorbitol puede excluir también el aislamiento de otros serotipos patógenos de *E. coli*, muchos de los cuales fermentan el sorbitol. Parece que el serotipo O157:H7 es el serotipo patógeno predominante en el mundo; sin embargo, un gran número de otros serotipos también producen SLT (1,2). Aunque muchos de éstos no se han implicado en la enfermedad o se conoce que ocasionan sólo diarrea sin sangre, algunos informes indican que serotipos seleccionados productores de SLT, no-O157:H7 pueden haber ocasionado casos de colitis hemorrágica y HUS en Europa (29,30). En los Estados Unidos, la enfermedad ocasionada por el serotipo no-O157:H7 es rara; sin embargo, un brote reciente de diarrea sanguinolenta en Montana hizo sospechar la presencia de un serotipo de *E. coli* O104:H21 productora de SLT-II (31).

Un hallazgo más relevante, y uno que tiene implicancias más fuertes que muestran la confianza sobre el fenotipo de sorbitol para identificar patógenos, proviene de un estudio reciente que mostró que los aislamientos del serotipo O157:H7 en alimentos que contienen sorbitol, pueden mutar desde un fenotipo no fermentador a uno fermentador del sorbitol (32). Además, la frecuencia de aislamiento de cepas O157 fermentadoras del sorbitol en Europa parece aumentar. En Alemania, por ejemplo, cepas del serotipo O157:H que producen SLT-II han sido aisladas de pacientes con HUS (33). A diferencia del serotipo O157:H7, estas cepas fermentaron el sorbitol y fueron positivas a la prueba del metil glucuronido. Inicialmente, estas cepas fueron consideradas atípicas. Sin embargo, otros estudios confirmaron que cepas patógenas, fermentadoras de sorbitol, serotipo O157:H fueron bastante frecuentes en pacientes con

HUS en Europa central (34). En otro informe, la caracterización serológica y bioquímica de 41 cepas O157 productoras de SLT, (incluyendo serotipos H7 y H-) determinaron que el 25% de los aislamientos fueron sorbitol positivos. Además, existía considerable variación entre aislamientos serotipo O157 patógenos no solamente con respecto a la fermentación de sorbitol, sino también con respecto a otras características fenotípicas (6). Estas variantes no son detectadas por los medios conteniendo sorbitol y no pueden ser identificadas por las pruebas bioquímicas de rutina usadas para caracterizar al serotipo O157:H7.

La notoriedad de los brotes recientes ha estimulado el desarrollo de muchos ensayos nuevos para detectar al serotipo O157:H7; algunos de ellos pueden también ser útiles para detectar variantes fenotípicas. Muchos de estos ensayos usan técnicas moleculares, algunas están disponibles comercialmente. Varios métodos nuevos de subtipificación molecular también han sido introducidos. Aunque los métodos de tipificación no se discutirán aquí, técnicas tales como ribotipia, gel electroforesis de campo pulsado (35), polimorfismo de longitud del fragmento restricción lambda («lambda restriction fragment length polymorphism») (36), y otros han sido sumamente útiles para estudiar la epidemiología del serotipo O157:H7 en brotes alimenticios.

Las variantes fenotípicas del serotipo O157:H7 retienen el antígeno O157; de aquí que los anticuerpos contra el antígeno O157 pueden usarse para identificar tanto el serotipo O157:H7 como sus variantes. En el laboratorio clínico, el suero anti-O157 se usa efectivamente en las pruebas de aglutinación directa o látex para «screening» rápido o para confirmar serológicamente los aislamientos. Algunos anticuerpos anti-O157 también han sido acoplados a esferas magnéticas y usadas para aislar selectivamente estos patógenos de los alimentos (37) o han sido incorporados en ensayo inmuno directo para detectar al serotipo O157:H7 en alimentos y especímenes clínicos. La aplicación posterior del suero anti-O157, sin embargo, tiene algunas desventajas. Muchas preparaciones de sueros anti-O157 reaccionan en forma cruzada con otras bacterias, incluyendo *Citrobacter freundii* (38), *E. hermannii* y *Yersinia enterocolitica* O:9 (39). Además, el antígeno O157 está presente en otros serotipos de *E. coli* no H7 (6,40), muchos de los cuales no son patógenos. Por ejemplo, cuando el suero anti-O157 fue usado en un análisis de diversos productos alimenticios, los aislamientos de O157 no fueron patógenos, no producían SLT ni eran del serotipo H7 (27). Por lo tanto, los resultados positivos en muestras de alimentos probados con ensayos que usan el suero anti-O157 deberían ser confirmados por otros métodos. La pre-absorción de los antisueros diagnósticos, para quitar la reacción cruzada de anticuerpos, o el uso de anticuerpos específicos para el otro antígeno de superficie no-O157 del serotipo O157:H7, puede reducir la frecuencia de reacciones serológicas cruzadas (41).

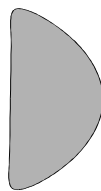
Las variantes fenotípicas también parecen retener la patogenicidad del serotipo O157:H7 (6,33); por lo tanto, los ensayos específicos para los factores de virulencia no son afectados por las variaciones fenotípicas descritas arriba.

Por ejemplo, los anticuerpos anti-SLT pueden usarse para realizar el «screening» de toxinas en muestras fecales y las sondas SLT gen específicas de DNA y reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) pueden usarse para identificar todos los patógenos que producen SLT sin considerar el fenotipo.

Sin embargo, los ensayos específicos para SLT o genes de SLT no brindan datos suficientes para investigaciones epidemiológicas y estudios retrospectivos. Se han encontrado más de 60 serotipos de *E. coli* que producen SLT (1,2), y aún cepas de géneros más distantemente relacionados, tal como *C. freundii*, según se informa producen citotoxinas SLT-II-Like (42). Muchos de estos serotipos de *E. coli* productores de SLT no se han implicado en la enfermedad; por lo tanto, la mera detección de potenciales cepas productoras de SLT en alimentos o en especímenes de pacientes por estos ensayos no es evidencia concluyente para señalar que las bacterias ocasionaron la enfermedad.

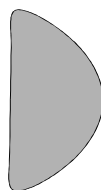
Algunos ensayos nuevos no tienen estas limitaciones. Una prueba de PCR, diseñada como un ensayo de amplificación de mutación desigual, amplifica preferentemente un alelo en el gen *uid A* que es característico sólo del serotipo O157:H7, incluyendo sus variantes fenotípicas del serotipo O157:H que son sorbitol y metil glucurónido positivos (43). Acoplado con los «primers» específicos para genes de SLT, este ensayo de PCR múltiple puede identificar simultáneamente aislamientos del serotipo O157:H7 y el tipo de SLT que ellos codifican (44). El análisis de cultivos puros aislados mostraron que este ensayo detectó todos los serotipos productores de SLT y fue capaz de distinguir aislamientos del serotipo O157:H7, incluyendo las variantes fenotípicas.

Las ventajas de estos métodos moleculares nuevos incluyen especificidad, sensibilidad y la capacidad para detectar variantes fenotípicas del serotipo O157:H7. Sin embargo, estos ensayos son mucho más complejos y costosos para el uso en el análisis de rutina de especímenes clínicos o alimentarios. Además, aunque la emergencia de variantes fenotípicas es de interés, sólo se han observado esporádicamente y no son frecuentes globalmente. Sin embargo, la frecuencia de aislamiento o la incidencia de infección ocasionada por estas variantes podrían aumentar o llegar los serotipos de *E. coli* productores de SLT a estar más firmemente establecidos como agentes causantes de enfermedad; otros medios o pruebas pueden necesitar ser incorporados en diagnósticos existentes. En el ínterin, el uso continuado de un medio conteniendo sorbitol, tal como el agar sorbitol-MacConkey, para hacer el «screening» de especímenes de heces con sangre es un procedimiento de laboratorio económico y útil para el diagnóstico temprano de infecciones del serotipo O157:H7.



## Conclusiones

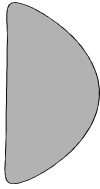
Los productos vacunos han sido frecuentemente implicados en infecciones alimenticias con *E. coli* serotipo O157:H7. Sin embargo, los brotes recientes indican que otros tipos de alimentos pueden servir también como vehículos de transmisión para este patógeno. Notablemente, la mayoría de los alimentos ácidos, que una vez se pensó como de bajo riesgo, no pueden ser hoy considerados seguros a causa de las propiedades ácido tolerantes de esta bacteria. Nuevos medios microbiológicos y ensayos diagnósticos han sido diseñados específicamente para detectar el serotipo O157:H7. Sin embargo, hay diversidad fenotípica dentro del serogrupo. Estas variantes pueden llegar a ser más prevalentes en infecciones; el uso del medio sorbitol sólo, puede llegar a ser inadecuado para detectar la diversidad de cepas en este serotipo patogénico.



## Agradecimientos

El autor agradece a G.J. Jackson, FDA, por la revisión crítica de este manuscrito y a L. Tomlinson, FDA, por la asistencia editorial.

*El Dr. Feng es un investigador microbiólogo del Food and Drug Administration en Washington, D.C. Fue fellow postdoctoral en biología molecular en la Purdue University y científico principal en IGEN Inc. Sus investigaciones actuales se centran en el desarrollo de métodos diagnósticos rápidos para detectar patógenos alimenticios bacterianos. Es miembro del Microbiology Committee, la Association of Official Analytical Chemists International, y actúa como consejero de ciencia en organizaciones internacionales de salud y gobiernos extranjeros.*



## Referencias

1. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 1991;13:60-98.
2. Karmali MA. Infection by Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:15-38.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Update: multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers—western United States, 1992-1993. *MMWR* 1993;42:258-63.
4. Whittam TS, Wachsmuth IK, Wilson RA. Genetic evidence of clonal descent of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis* 1988;157:1124-33.
5. Whittam TS, Wolfe ML, Wachsmuth IK, Orskov F, Orskov I, Wilson RA. Clonal relationship among *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea. *Infect Immun* 1993;61:1619-29.
6. Aleksic S, Karch H, Bockemuhl J. A biotyping scheme for Shiga-like (Vero) toxin-producing *Escherichia coli* O157 and a list of serological cross-reactions between O157 and other gram-negative bacteria. *Zentralblatt für Bakteriologie* 1992;276:221-30.
7. Besser RE, Lett SM, Weber JT, et al. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 1993;269:2217-20.
8. Miller LG, Kaspar CW. *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J Food Prot* 1994;57:460-4.
9. Zhao T, Doyle MP, Besser RE. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:2526-30.
10. Weagant SD, Bryant JL, Bark DH. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in mayonnaise and mayonnaise-based sauces at room and refrigerated temperatures. *J Food Prot* 1994;57:629-31.
11. Zhao T, Doyle MP. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in commercial mayonnaise. *J Food Prot* 1994;57:780-3.
12. Swerdlow DL, Woodruff BA, Brady RC, et al. A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. *Ann Intern Med* 1992;117:812-9.
13. Keene WE, McAnulty JM, Hoesly FC, et al. A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella sonnei*. *N Engl J Med* 1994;331:579-84.
14. Brewster DH, Browne MI, Robertson D, Houghton GL, Bimson J, Sharp JCM. An outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with a children's paddling pool. *Epidemiol Infect* 1994;112:441-7.
15. Abdul-Raouf UM, Beuchat LR, Ammar MS. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:1999-2006.
16. Morgan D, Newman CP, Hutchinson DN, Walker AM, Rowe B, Majid F. Verotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiol Infect* 1993;111:181-7.
17. Tozzi AE, Niccolini A, Caprioli A, et al. A community outbreak of haemolytic-uraemic syndrome in children occurring in a large area of Northern Italy over a period of several months. *Epidemiol Infect* 1994;113:209-19.
18. Schoeni JL, Doyle MP. Variable colonization of chickens perorally inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 and subsequent contamination of eggs. *Appl Environ Microbiol* 1994;60:2958-62.
19. Food Chemical News. Unusual *E. coli* strain causes foodborne illness in Montana. 1994;36:37.
20. Glass KA, Loeffelholz JM, Ford JP, Doyle MP. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Appl Environ Microbiol* 1992;58:2513.
21. Farmer JJ, Davis BR. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single-tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1985;22:620-5.
22. Doyle MP, Schoeni JL. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:855-6.
23. Feng P, Hartman PA. Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 1982;43:1320-9.
24. Szabo RA, Todd ECD, Jean A. Method to isolate *Escherichia coli* O157:H7 from food. *J Food Prot* 1986;49:768-72.
25. Chapman PA, Siddon CA, Zadik PM, Jewes L. An improved selective medium for the isolation of *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 1991;35:107-10.
26. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1986;23:869-72.
27. Willshaw GA, Smith HR, Roberts D, Thirlwell J, Cheasty T, Rowe B. Examination of raw beef products for the presence of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli*, particularly those of serogroup O157. *J Appl Bacteriol* 1993;75:420-6.
28. Padhye NV, Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *J Food Prot* 1992;55:555-65.
29. Mariani-Kurkdjian P, Denamur E, Milon A, Picard B, Cave H, Lambert-Zechovsky N, et al. Identification of *Escherichia coli* O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France. *J Clin Microbiol* 1993;31:296-301.
30. Bockemuhl J, Aleksic S, Karch H. Serological and biochemical properties of Shiga-like toxin (Verocytotoxin)-producing strains of *Escherichia coli*, other than O-group 157, from patients in Germany. *Zentralbl Bakteriol* 1992;276:189-195.
31. Food Chemical News. *E. coli* in salami possibly linked to illness outbreaks. 1994;36:19.
32. Fratamico PM, Buchanan RL, Cooke PH. Virulence of an *Escherichia coli* O157:H7 sorbitol-positive mutant. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:4245-52.
33. Gunzer F, Bohm H, Russman H, Bitzan M, Aleksic S, Karch H. Molecular detection of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157 in patients with hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* 1992;30:1807-10.
34. Bitzan M, Ludwig K, Klemt M, König H, Buren J, Müller-Wiefel DE. The role of *Escherichia coli* O157 infections in the classical (enteropathic) haemolytic uraemic syndrome: results of a Central European, multicenter study. *Epidemiol Infect* 1993;110:183-96.
35. Barrett TJ, Lior H, Green JH, et al. Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *J Clin Microbiol* 1994;32:3013-17.
36. Samadpour M, Grimm LM, Desai B, Alfi D, Ongerth JE, Tarr PI. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 strains by bacteriophage lambda restriction fragment length polymorphism analysis: application to a multistate foodborne outbreak and a day-care center cluster. *J Clin Microbiol* 1993;31:3179-83.
37. Wright DJ, Chapman PA, Siddon CA. Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating *Escherichia coli* O157 from food samples. *Epidemiol Infect* 1994;113:31-9.
38. Bettelheim KA, Evangelidis H, Pearce JL, Soves E, Strockbine NA. Isolation of *Citrobacter freundii* strain which carries the *Escherichia coli* O157 antigen. *J Clin Microbiol* 1993;31:760-1.
39. Chart H, Cheasty T, Cope D, Gross RJ, Rowe B. The serological relationship between *Yersinia enterocolitica* O9 and *Escherichia coli* O157 using sera from patients with yersiniosis and haemolytic uraemic syndrome. *Epidemiol Infect* 1991;107:349-56.
40. Rice EW, Sowers EG, Johnson CH, Dunnigan ME, Strockbine NA, Edberg SC. Serological cross-reaction between *Escherichia coli* O157 and other species of the genus *Escherichia*. *J Clin Microbiol* 1992;30:1315-6.
41. Padhye NV, Doyle MP. Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in foods. *Appl Environ Microbiol* 1991;57:2693-8.
42. Schmidt H, Montag M, Bockemuhl J, Heesemann J, Karch H. Shiga-like toxin II-related cytotoxins in *Citrobacter freundii* strains from humans and beef samples. *Infect Immun* 1993;61:534-43.
43. Feng P. Identification of *Escherichia coli* O157:H7 by DNA probe specific for an allele of uidA gene. *Mol Cell Probes* 1993;7:151-4.

44. Cebula TA, Payne WL, Feng P. Simultaneous identification of *Escherichia coli* of the O157:H7 serotipo and their Shiga-like toxin type by MAMA/multiplex PCR. J Clin Microbiol 1995;33:248-50.