

# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por cepas de *Escherichia coli* verotoxigénicos/productores de toxinas Shiga/enterohemorrágicos (VTEC/STEC/EHEC)

## Miembros del Comité Científico

Rosaura Farré Rovira, Francisco Martín Bermudo, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Mariano Domingo Álvarez, Antonio Herrera Marteache, Félix Lorente Toledano, María Rosario Martín de Santos, Emilio Martínez de Victoria Muñoz, M<sup>a</sup> Rosa Martínez Larrañaga, Antonio Martínez López, Cristina Nerín de la Puerta, Teresa Ortega Hernández-Agero, Perfecto Paseiro Losada, Catalina Picó Segura, Rosa María Pintó Solé, Antonio Pla Martínez, Daniel Ramón Vidal, Jordi Salas Salvadó, M<sup>a</sup> Carmen Vidal Carou

## Secretario

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2012-007

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 19 de septiembre de 2012

## Grupo de Trabajo

Antonio Martínez López (Coordinador)  
Alberto Cepeda Sáez  
Antonio Herrera Marteache  
M<sup>a</sup> Rosario Martín de Santos

## Expertos del LREC-USC

Azucena Mora, Alexandra Herrera, Cecilia López Ghizlane Dahbi, Miguel Blanco, Jorge Blanco

## Resumen

*Escherichia coli* es la especie predominante de la microbiota normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo en muchas especies de animales y se elimina por las heces al exterior. Se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento en los mismos es un indicador de contaminación fecal. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales e incluso beneficiosas, algunas son patógenas y pueden producir importantes infecciones entéricas (diarrea, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico) o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis, e infecciones respiratorias y de heridas) en seres humanos y animales.

El grupo de los *E. coli* verotoxigénicos (VTEC), también denominados productores de toxinas Shiga (STEC) y enterohemorrágicos (EHEC), muy especialmente las cepas altamente virulentas del serotipo O157:H7, son patógenos importantes que causan patologías muy graves en seres humanos: colitis hemorrágica (CH) y el síndrome urémico hemolítico (SUH). Los rumiantes, especialmente el ganado vacuno, constituyen el principal reservorio de este tipo de microorganismos, siendo la carne picada, las hamburguesas y los vegetales que se consumen crudos o ligeramente cocinados los principales vehículos de transmisión.

En consecuencia, deben ponerse en marcha las medidas preventivas necesarias que cubran toda la cadena alimentaria: buenas prácticas agrícolas, programas de bioseguridad en explotaciones animales, buenas prácticas de higiene y de inspección en mataderos, buenas prácticas en el procesamiento de vegetales para consumo en fresco, incorporación por parte de los operadores de las industrias alimentarias de procedimientos permanentes basados en los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC), formación y educación de los consumidores en buenas prácticas de conservación y cocinado de los alimentos. Todas estas medidas deberían contribuir a minimizar la incidencia

de esta toxiinfección alimentaria en la población humana. Además, todo ello debería ir acompañado de protocolos de análisis específicos que permitan la detección rápida e inequívoca de las cepas implicadas, y muy especialmente de las altamente virulentas pertenecientes a los serotipos: O104:H4, O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, O121:H19 y O145:H-.

### Palabras clave

*E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroagregativa, toxina Shiga, O104:H4, O157:H7.

### Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on preventative measures and applicable recommendations for avoiding possible food-borne infections caused by strains of verotoxigenic/Shiga toxin-producing/enterohemorrhagic *Escherichia coli* (VTEC/STEC/EHEC).

### Abstract

*Escherichia coli* is the predominant species of normal aerobic and facultative anaerobic microbiota found in the digestive tract of many species of animals, and it is expelled from the body through faeces. It can be found outside the body as it can survive for a certain period in water and in food. Its isolate in these elements is indicative of faecal contamination. Although most strains of *E. coli* are commensals and even beneficial, some are pathogens and can cause serious enteric infections (diarrhoea, hemorrhagic colitis, haemolytic uraemic syndrome) or extraintestinal infections (urinary tract infections, bacteraemia or septicemia, meningitis, peritonitis, mastitis, and respiratory and wound infections) in humans and animals.

The verotoxigenic *E. coli* (VTEC) group, also known as Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), especially the highly virulent strains of the serotype O157:H7, is a dangerous group of pathogens which causes very serious diseases in human beings: hemorrhagic colitis (HC) and the haemolytic uraemic syndrome (HUS). Ruminants, especially cattle, are the main reservoir of this type of micro-organism, while the primary means of transmission are minced meat, hamburgers and vegetables which are consumed raw or lightly cooked.

The necessary preventative measures, covering the whole food chain, should consequently be put in place. These include: good farming practices, biosafety programmes in farms with livestock, good hygiene and abattoir inspection practices, and good practices in vegetable processing for fresh consumption. Also, workers in the food industry must adopt procedures based on the principles of Hazard Analysis & Critical Control Points (HACCP), and consumers must be taught the good practices of preserving and cooking food. All of these measures should help minimise the incidence of this food poisoning in human populations. These measures should, furthermore, be combined with specific analysis protocols which enable quick and accurate detection of the strains involved, and more specifically, the highly virulent strains belonging to the serotypes: O104:H4, O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, O121:H19 and O145:H-

### Key words

*E. coli* enterohemorrhagic, *E. coli* enteroagregativa, Shiga toxin, O104:H4, O157:H7.

### 1. Fundamentos de la petición

*Escherichia coli* es una enterobacteria ubicua que forma parte, como especie predominante, de la microbiota normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo en la mayor parte de los mamíferos y las aves. *E. coli* se excreta con las heces de manera abundante, en un alto porcentaje sobrevive en el exterior, incluso durante largos períodos de tiempo. Por ese motivo, es posible su presencia en el medio ambiente, siendo por ello su aislamiento un indicador de contaminación fecal. Si bien la mayoría de las cepas de *E. coli* son miembros no patógenos de la microbiota intestinal, donde juega un papel inocuo o incluso beneficioso para el hospedador, algunas cepas son patógenas debido a la adquisición de factores de virulencia específicos que les confieren la capacidad de producir una amplia variedad de infecciones en seres humanos y animales, tanto de tipo entérico (diarreas, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y enfermedad de los edemas) como extraintestinales (infecciones del tracto urinario, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis, e infecciones respiratorias y de heridas).

En base a los mecanismos de patogénesis y los factores de virulencia que poseen los *E. coli* diarragénicos se han englobado en seis grupos o categorías:

1. *Escherichia coli* enteropatogénicos (EPEC).
2. *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ETEC).
3. *Escherichia coli* enteroinvasivos (EIEC).
4. *Escherichia coli* enterohemorrágicos, verotoxigénicos o productores de toxinas Shiga (EHEC/VTEC/STEC).
5. *Escherichia coli* enteroagregativos (EAEC).
6. *Escherichia coli* con adherencia difusa (DAEC).

El grupo de los EHEC/VTEC/STEC, es un grupo de cepas de *E. coli* capaces de producir toxinas, muy similares a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* tipo 1. En este grupo se han descrito dos tipos de toxinas: la toxina Shiga 1 (Stx1) o verotoxina 1 (VT1), que difiere de la verdadera toxina Shiga en uno a siete aminoácidos y la toxina Shiga 2 (Stx2) o verotoxina 2 (VT2), que comparte un 60% de homología con Stx1. A pesar de estas diferencias con la verdadera toxina Shiga (Stx) se consideran que todas las toxinas Stx1 y Stx2 pertenecen a la familia de las toxinas Shiga, de ahí la denominación de *E. coli* productoras de toxinas Shiga (STEC). Las toxinas Stx activas pueden detectarse utilizando el test de toxicidad en células Vero, por lo que también se denomina a este grupo como *E. coli* verotoxigénicos o productores de verotoxinas (VTEC). Las toxinas Shiga (verotoxinas) de *E. coli* pueden producir diferentes cuadros sintomáticos en los seres humanos que varían desde diarrea leve a colitis hemorrágica (CH), puede progresar a síndrome urémico hemolítico (SUH) acompañado de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y fallo renal agudo grave. Este cuadro clínico es el que ha hecho que este grupo de *E. coli* se denominen a menudo *E. coli* enterohemorrágico (EHEC).

Los rumiantes han sido identificados como el principal reservorio de cepas de *E. coli* verotoxigénicas o productoras de toxinas Shiga (de aquí en adelante STEC). No obstante, aunque el ganado vacuno es, con toda probabilidad, la fuente más importante de infecciones humanas (carne y productos lácteos

de vacuno, vegetales y agua contaminados con heces de vacuno), los STEC se han aislado también del ganado ovino y caprino y también de rumiantes silvestres (corzos, ciervos, gamos). La materia fecal de los rumiantes está reconocida como la fuente última de un gran porcentaje de infecciones humanas por STEC. Ésta puede contaminar la carne durante el sacrificio en matadero, puede ser arrastrada a ríos, lagos o fuentes de agua de bebida, o puede depositarse en frutas y verduras por el uso de abonos orgánicos o por uso de agua de riego contaminada con aguas residuales. Algunos animales como insectos, aves, roedores y otros silvestres, pueden transportar esas bacterias desde las heces al agua de bebida y los alimentos. Además, las cepas STEC pueden ser ingeridas inconscientemente por las personas que interactúan o trabajan con animales.

Los seres humanos, por tanto, pueden infectarse a través del contacto directo con una persona infectada o un animal portador, o indirectamente a través del medio ambiente, alimento, agua de bebida o agua superficial que contenga material fecal contaminada con STEC de origen humano o animal. Por tanto, las medidas preventivas para evitar las infecciones por STEC deben ponerse en marcha a lo largo de toda la cadena alimentaria, mediante la adopción de buenas prácticas agrícolas, programas de bioseguridad en explotaciones animales, higiene en mataderos, formación y educación de manipuladores y consumidores, utilizando medidas de autocontrol y gestión de la seguridad alimentaria encaminadas al control de este agente de peligro. Además, todo ello debería ir acompañado de técnicas de análisis específicas que permitan la detección rápida e inequívoca de las cepas implicadas.

Aunque la red de Vigilancia Epidemiológica y de Control de Enfermedades Transmisibles en la Comunidad fue creada por la Decisión 2119/98/CE (UE, 1998), no es hasta la Decisión 2009/312/CE (UE, 2009), relativa a las redes especializadas de vigilancia de enfermedades transmisibles, cuando aparecen las infecciones por *E. coli* enterohemorrágico como enfermedad de transmisión alimentaria. A consecuencia de esta disposición, los datos de casos de infección por STEC en humanos deben notificarse trimestralmente al sistema de vigilancia europeo (TESSy), aunque es necesario tener en cuenta que la mayoría de los países se basan únicamente en la vigilancia del serogrupo O157. De acuerdo con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), la vigilancia debería extenderse a otros serogrupos, principalmente O26, O103, O104, O111 y O145, que se han identificado como los más frecuentes en los análisis periódicos realizados en Europa.

El Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005) y su modificación (Reglamento (CE) N° 1441/2007) (UE, 2007), relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, ha establecido hasta el momento un criterio de seguridad alimentaria para *E. coli* en moluscos bivalvos vivos y equinodermos, tunicados y gasterópodos vivos, en su periodo de vida útil, *E. coli* es un microorganismo que también se emplea como criterio de higiene, como indicador de contaminación fecal y/o del nivel de higiene de los establecimientos de elaboración de diferentes categorías de productos alimenticios (frutas y hortalizas troceadas listas para el consumo, queso elaborado a base de leche o suero sometido a tratamiento térmico, mantequilla y nata elaboradas a partir de leche cruda o leche sometida a tratamiento térmico inferior a la pasteurización, carne picada, carne separada mecánicamente, preparados de carne, etc.); para ello se lleva a cabo un recuento en placa mediante método microbiológico validado (el Reglamento establece el método ISO de referencia para llevar a cabo los ensayos). Por otro lado, el punto 14 del Reglamento (CE) N° 2073/2005 indica que es poco probable que la aplicación de

normas microbiológicas para STEC O157 en el producto final produzca reducciones significativas del riesgo asociado para los consumidores. No obstante, el establecimiento de directrices microbiológicas destinadas a reducir la contaminación fecal a lo largo de la cadena alimentaria puede contribuir a reducir los riesgos para la salud pública, incluidos los producidos por la presencia de STEC.

## 2. Términos de referencia

Se requiere que el Comité Científico realice una valoración al respecto de las posibles medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por *E. coli* y más concretamente por STEC.

### Evaluación

#### 1. Identificación del peligro

*E. coli* son bacilos cortos Gram negativos con forma de bastón, anaerobios facultativos, móviles por poseer flagelos peritricos y no forman esporas. Se desarrolla bien en medios ordinarios a temperaturas de 20 a 40 °C y pH de 6 a 8. Es el habitante natural del intestino de mamíferos y aves, y se excreta diariamente con las heces de manera abundante y un alto porcentaje de los microorganismos sobreviven en el exterior, al menos inicialmente. Por ese motivo, es posible su presencia en el medio ambiente, ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y en los alimentos, siendo por ello su aislamiento un indicador de contaminación fecal reciente.

Utilizando el sistema de clasificación antigénica propuesto por Kauffman, en la actualidad se reconocen en *E. coli* del orden de 180 antígenos somáticos (O1 a O185) y 56 antígenos flagelares (H1 a H56) (EFSA, 2011) y, aunque las posibles combinaciones O:H son numerosas, tan sólo algunas son frecuentes entre las cepas patógenas (<http://www.usc.es/ecoli/E.coli2.html>). La determinación de estos antígenos se realiza por técnicas de aglutinación usando antisueros absorbidos para evitar las reacciones cruzadas (Guinée et al., 1981) (Orskov y Orskov, 1984) (Ewing, 1986).

Las cepas patógenas de *E. coli* poseen diferentes tipos de factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potenciar su patogenicidad; esto motiva que la virulencia de *E. coli* sea considerada como un fenómeno multifactorial. Entre dichos factores de virulencia cabe destacar la capacidad de producir toxinas, la expresión de adhesinas que facilitan la adherencia a las superficies corporales, la facultad de invadir diferentes tejidos, o la resistencia al suero y a la fagocitosis.

Aunque las cepas de *E. coli* que causan infecciones en seres humanos y animales pueden compartir determinados factores de virulencia, en general, presentan diferentes serotipos y poseen adhesinas específicas que son responsables de su especificidad de huésped. Por lo tanto, las cepas de *E. coli* patógenas para seres humanos no suelen producir infecciones en animales y viceversa. No obstante, se ha comprobado que los animales pueden ser un reservorio de *E. coli* patógenos para las personas. Así, los *E. coli* verotoxigénicos (STEC) que causan colitis hemorrágica (CH) y el síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos, forman parte de la microbiota normal de los rumiantes donde se comportan, en la mayor parte de los casos, como comensales.

En base a los mecanismos de patogénesis y sus factores de virulencia, las cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican en seis patotipos:

1. *Escherichia coli* enteropatógenos (EPEC).
2. *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ETEC).
3. *Escherichia coli* enteroinvasivos (EIEC).
4. *Escherichia coli* enterohemorrágicos, verotoxigénicos o productores de toxinas Shiga (EHEC/VTEC/STEC).
5. *Escherichia coli* enteroagregativos (EAEC).
6. *Escherichia coli* con adherencia difusa (DAEC).

De todas ellas, la EHEC/VTEC/STEC ha sido la que más se ha relacionado con enfermedades transmitidas por alimentos (Nataro y Kaper 1998) (Lee, 2004) (FSAI, 2005) (EFSA, 2007a, 2007b).

Las cepas STEC que causan infecciones en los seres humanos pertenecen a un amplio número de serotipos O:H (se han descrito más de 400 serotipos) (<http://www.usc.es/ecoli/SEROTIPOSUM.htm>). La mayoría de los brotes y casos de SUH han sido atribuidos al serotipo O157:H7, por lo que dada la importancia clínica de este serotipo, es común hablar de dos categorías dentro de los STEC: STEC O157 y STEC no-O157.

En conjunto, los Estados miembros de la Unión Europea (UE) notificaron 16.263 casos de infección humana por STEC durante el periodo 2005-2009. En 2009 se declararon 3.573 casos, lo que supuso un incremento del 13% con respecto al 2008. El ratio de notificación para la UE en 2009 fue de 0,75 por cada 100.000 habitantes. En 2010, se declararon un total de 4.000 casos confirmados de VTEC en humanos por 25 Estados miembros, lo que representa un aumento del 12,0% en comparación con 2009 (3.573). La tasa de notificación de la UE fue de 0,83 por 100.000 habitantes, lo cual es también ligeramente superior a 2009 (0,75 por 100.000 habitantes) (EFSA/ECDC, 2012).

El serogrupo O157 ha sido el más frecuentemente declarado en los años 2008 y 2009, representando el 52% de los casos confirmados con serotipos establecidos. Al analizar este dato hay que tener en cuenta el hecho de que muchos laboratorios centran sus técnicas de diagnóstico en la detección de STEC O157 únicamente (ECDC/EFSA, 2011). En 2010, como en años anteriores, el serogrupo VTEC más comúnmente identificado fue O157 (N= 1.501), con una disminución del 18,8% en comparación con 2009 (N= 1.848).

La materia fecal de rumiantes está reconocida como la fuente original de un gran porcentaje de infecciones humanas por STEC. La materia fecal puede contaminar la carne durante el sacrificio en matadero, puede ser arrastrada por corrientes de agua a lagos o fuentes de agua de bebida, o puede depositarse en frutas y verduras por el uso de abonos orgánicos o por uso de agua de riego contaminada con aguas residuales. Algunos animales como insectos, aves, roedores y otros silvestres, pueden transportar esas bacterias desde las heces al agua de bebida y los alimentos. Los seres humanos, por tanto, pueden infectarse a través del contacto directo con una persona infectada o un animal portador, o indirectamente a través del medio ambiente, alimento, agua de bebida o agua superficial que contenga material fecal contaminada con STEC de origen humano o animal (Mora et al., 2011).

Los alimentos que se asocian más frecuentemente con brotes o casos de enfermedades en el hombre por *E. coli* O157:H7 incluyen: frutas y hortalizas consumidas en fresco (lechuga, rábanos, alfalfa, etc.); zumos de naranja y manzana no pasteurizados en los cuales, a pesar de poseer un pH de 3,4 el



microorganismo puede sobrevivir durante varios días; carne parcialmente cocinada como hamburguesas poco hechas; agua contaminada; leche recién ordeñada y productos derivados como mayonesa, yogur y quesos (Riley et al., 1983) (Lee, 2004) (OMS 2005) (EFSA, 2007b) (OMS, 2008).

## 2. Caracterización del peligro

Las características de virulencia del grupo STEC varía de unas cepas a otras, pero todas por definición producen uno o los dos tipos de verotoxinas VT1/Stx1 y/o VT2/Stx2 que están codificadas en el genoma de profagos. Además, se describen varias variantes en cada una de las ramas Stx en base a sus diferencias fenotípicas, actividad biológica y propiedades de hibridación. Existen diferentes sistemas de nomenclatura para las variantes Stx y sus genes codificadores, pero en el *7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-producing Escherichia coli infection*, que tuvo lugar en 2009 en Buenos Aires, se acordó un consenso de nomenclatura en el que se establecen dos tipos de Stx (Stx1, Stx2), tres subtipos Stx1 (Stx1a, Stx1c, Stx1d) y siete subtipos Stx2 (Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g). La capacidad de los STEC para causar enfermedad en los seres humanos está claramente relacionada con el tipo y subtipo de toxinas. Stx2 es la toxina más potente, siendo los subtipos Stx2a y, en menor medida, Stx2d y Stx2c los comúnmente asociados a SUH (Friedrich et al., 2002) (Feng et al., 2011).

Las cepas STEC pueden presentar factores de virulencia adicionales. El más importante es la intimina, proteína de la membrana externa responsable de la adhesión íntima de las bacterias al epitelio intestinal. La intimina se encuentra codificada en el gen *eae* que forma parte de la isla de patogenicidad cromosómica denominada *Locus for Enterocyte Effacement* (LEE). El gen *eae* está presente en las cepas de algunos de los serotipos más virulentos: O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 y O145:H-. Otro factor de virulencia importante es la enterohemolisina (*ehxA*) codificada en el plásmido EHEC. La presencia del LEE y el plásmido EHEC son marcadores de las cepas clásicas enterohemorrágicas de los principales serotipos implicados en el 80% de los casos de CH y SUH en Europa y Estados Unidos (Garmendia et al., 2005) (Garrido et al., 2006) (EFSA, 2007b) (Mora et al., 2009). De hecho, análisis estadísticos indican que la presencia concomitante de alguna de las toxinas Stx2a, Stx2c, Stx2d, junto con la isla LEE (*eae*) y el plásmido EHEC (*ehxA*) son predictores de signos clínicos graves en pacientes. Además del LEE, se han descrito genes efectores (*nle*) no codificados en el LEE y localizados en islas cromosómicas (OI) asociados significativamente con SUH y CH. Diferentes estudios indican que un sistema de colonización intestinal eficiente es un pre-requisito necesario para causar enfermedad grave en humanos (Beutin y Martin, 2012).

Karmali et al. (2003) propusieron clasificar las cepas STEC en cinco seropatotipos (seropatotipos A a E), atendiendo a su incidencia y asociación con casos de SUH y brotes. El seropatotipo A incluye cepas altamente virulentas de los serotipos O157:H7 (no fermentadoras del sorbitol) y O157:H- (H- no móviles; fermentadoras del sorbitol) causantes de numerosos brotes y frecuentemente asociadas con SUH; Para las cepas de este serotipo las dosis infectivas se sitúan entre 10 y 100 células. El seropatotipo B incluye cepas de serotipos que han causado brotes ocasionales y son relativamente comunes en casos de SUH y CH (O26:H11, O103:H2, O111:H8,H-, O121:H19, O145:H-). El seropatotipo C reúne cepas de serotipos no implicados en brotes pero que se han aislado de pacientes con SUH y CH (O5:H-, O91:H21, O104:H21, O113:H21, O121:H-, O165:H25 y otros). El seropatotipo D incluye cepas de serotipos que

nunca se han asociado con SUH, pero que sí se han aislado de pacientes con diarrea y CH (O7:H4, O69:H11, O103:H25, O113:H4, O117:H7, O119:H25, O132:H-, O146:H21, O171:H2, O172:H-, O174:H8 y otros). Por último, el serotipo E incluye muchos serotipos aislados de animales, alimentos y medio ambiente no implicados en casos clínicos en el hombre. Estas razones hacen que sea importante determinar el serotipo de la cepa STEC para poder saber el riesgo patogénico potencial de la misma (Blanco, 2012).

El serotipo de STEC O157:H7 fue identificado por primera vez en 1975, en un paciente de California con diarrea sanguinolenta, y fue asociado a un brote de infección alimentaria (carne picada) en Estados Unidos, en 1982 (Kaspar et al., 2009). Posteriormente, se detectaron casos en Japón (OMS, 2005) (CDC, 2006), Inglaterra (CE, 2002a) y América del Norte por el consumo de zumos (USFDA, 2001) y de espinacas contaminadas (Grant et al., 2008). De acuerdo con los datos publicados, las cepas de STEC no-O157 se describen por primera vez como posible causa de casos esporádicos de SUH en 1975 en Francia, en los que los históricos hospitalarios refieren que cepas STEC del serotipo O103 estaban presentes en algunos pacientes y el primer brote detectado por no-O157, causado por el serotipo O145:HNM, ocurrió en 1984, en el que no se pudo determinar el vehículo de la infección.

En 2009 (EFSA, 2011) el número total de casos de STEC confirmados en la UE y reportados por el TESSy fue de 3.573; aunque esta cifra supuso un incremento del 13,1% sobre los casos confirmados en 2008, el informe de EFSA indica que no se detectó un incremento significativo del número de casos en la UE desde 2005 a 2009. De los casos confirmados en la UE en 2009, el 51,7% de los aislamientos se correspondieron con O157 mientras que en 2010 fue del 41,1%; el segundo serogrupo más frecuentemente detectado fue el O26 (7% de los aislados); y en total se identificaron hasta 18 serogrupos distintos, con un 33,7% de cepas aisladas no tipables. En los datos recogidos en la UE por el ECDC/EFSA (2011) se ha comprobado un notable incremento del número de casos que cursaron con SUH; en el año 2009 el número de casos fue de 242 (un 66% superior a los 146 casos de 2008). En 2010, se declararon un total de 4.000 casos confirmados de VTEC en humanos por 25 Estados miembros, lo que representa un aumento del 12,0% en comparación con 2009 (3.573), (EFSA/ECDC, 2012). En los datos recogidos en la UE por EFSA/ECDC (2012) se ha comprobado que el número de casos que cursaron con SUH en el año 2010 fue de 222, ligeramente inferior al de 2009 (242) pero notablemente superior a los 146 casos de 2008.

El número de casos esporádicos de STEC no-O157 sobrepasa con creces los de brotes, al igual que en el caso de *E. coli* O157:H7. Y comparando los datos de brotes producidos por O157:H7 y no-O157, los STEC no-O157 aparecen mucho menos frecuentemente asociados con carne, agua y vegetales como vehículos de transmisión, y más frecuentemente asociados con contacto persona-persona o con vehículos desconocidos. Estas diferencias son probablemente en parte debidas a que una mejor disponibilidad de métodos analíticos para O157:H7. Además, *E. coli* O157:H7 tiene un comportamiento más patógeno que algunas de las cepas no-O157, con lo que los brotes son reconocidos e investigados en profundidad mucho más rápidamente (Kaspar et al., 2009).

Los grupos vulnerables a STEC O157:H7 lo conforman niños menores de 15 años y personas con más de 70 años (EFSA, 2007a, 2007b). El periodo promedio de incubación del patógeno está comprendido entre uno y ocho días (Lee, 2004) (EFSA, 2007b). Se considera que la dosis mínima infecciosa para STEC O157:H7 es menor de 100 células (Lee, 2004).



En mayo de 2011 tuvo lugar en Alemania un gran brote con 3.842 casos de infección en seres humanos, de los que 855 desarrollaron SUH y 53 fallecieron. Casi simultáneamente se produjo otro brote mucho más pequeño en Francia, cerca de Burdeos (15 casos de diarrea sanguinolenta, de los cuales nueve progresaron a SUH) (Frank et al., 2011). Las características de la cepa implicada en ambos brotes (STEC y EAEC O104:H4), una *E. coli* productora de la toxina Shiga, perteneciente al serotipo O104:H4, y con factores de virulencia comunes con los *E. coli* enteroagregativos, ha cambiado la percepción que se tenía de los STEC como patógenos humanos (Beutin y Martin, 2012). Las cepas EAEC del serotipo O104:H4, productoras o no de toxinas Stx, se han aislado sólo ocasionalmente y, por tanto, hasta este momento, éste no era considerado un serotipo importante (ECDC/EFSA, 2011) (Beutin y Martin, 2012). Uno de los datos más sorprendentes del brote por STEC O104:H4 en Alemania y Francia fue la edad de los afectados, en su mayoría adultos, mientras que el grupo de edad de 0 a 9 años se vio menos afectado, en contraste con lo observado en brotes y casos esporádicos por los STEC clásicos. Tampoco se ha podido explicar todavía la elevada prevalencia de mujeres que desarrollaron SUH (68%) tras la infección (Frank et al., 2011).

El hecho de que el número de mujeres afectadas sea mucho mayor de lo normal con respecto a otros brotes por STEC, donde los niños eran los principalmente afectados, se puede relacionar fundamentalmente con los hábitos culinarios, ya que las mujeres consumen mucho más ensaladas con brotes que los niños. Todos estos datos confirman que la cepa hipervirulenta, causante de los brotes de Alemania y Francia, es una cepa atípica en muchos aspectos (Blanco, 2012) tales como:

- a) Se trata de una cepa híbrida de dos patotipos ya que es a la vez enteroagregativa y productora de la toxina Shiga del subtipo Stx2a. La combinación de genes de virulencia de estos patotipos no es frecuente y previamente se había observado únicamente en una cepa de otro serotipo (O111:H2) responsable de un pequeño brote en niños con SUH ocurrido en Francia.
- b) Pertenece a un serotipo (O104:H4) y una secuencia tipo (ST678) muy raramente observados hasta la fecha en pacientes humanos y nunca observado en cepas aisladas de animales ni de alimentos. Tenemos referencias de este serotipo en cepas STEC aisladas en Alemania (2001), Francia (2004), Corea (2005), República de Georgia (2009), Italia (2009) y Finlandia (2010). Las cepas de Alemania, República de Georgia, Italia y Finlandia sabemos que también eran enteroagregativas y productoras de Stx2a. La cepa de Corea no es enteroagregativa y produce Stx1 y Stx2. Por el momento se desconoce si la cepa de Francia es enteroagregativa. También se han aislado cepas enteroagregativas del serotipo O104:H4, pero no productoras de toxinas Shiga, en la República Centroafricana (1995/1996), Dinamarca (2000) y recientemente en la República de Malí (2009) y España (1996) (datos no publicados).
- c) Carece de la isla de patogenicidad cromosómica conocida *Locus Enteroocyte Effacement* (LEE) que lleva el gen *eae* (*attaching and effacing*) que está presente en las cepas STEC más virulentas de los seropatotipos A y B.
- d) También se diferencia de la mayoría de las cepas de STEC, en que es multirresistente, siendo productora de la beta-lactamasa de espectro extendido CTX-M-15 también presente en el clon intercontinental de *E. coli* O25b:H4-ST131.
- e) Además de genes de virulencia de STEC y EAEC, la cepa posee algunos factores de virulencia de *E. coli* patógenos extraintestinales (ExPEC).

Es evidente que no sorprende el grado de virulencia del STEC O104:H4 si tenemos en cuenta el gran arsenal de genes de virulencia que tiene la cepa responsable de los brotes de Alemania y Francia. Pero se desconoce el porqué la cepa O104:H4 es tan virulenta. Se ha especulado con que su capacidad enteroagregativa le permita colonizar mejor el epitelio intestinal y con que tenga mecanismos que le permitan producir ó liberar más cantidad de toxina Stx2a. Tiene por lo menos tres adhesinas (AAF/I, LPF-lpfAO26 e Iha), dos sideróforos (aerobactina y yersiniabactina) y tres tipos de proteasas SPATE (Pic, Sig A y SepA). La combinación de estos tres tipos de proteasas se da en un muy pocas cepas (Blanco, 2012).

Se cree que es una cepa nueva probablemente de origen humano que ha emergido recientemente a partir de una cepa enteroagregativa (EAEC) del serotipo O104:H4 que ha adquirido un fago portador del gen *stx2a* a partir de una cepa STEC. A partir de otra cepa adquiriría el plásmido que codifica para el enzima CTX-M-15. Esto se ha deducido después de comparar el genoma completo de varios aislados de la cepa del brote alemán con el genoma de cepas enteroagregativas del serotipo O104:H4 y de otros serotipos, y con el genoma de cepas de otros patotipos de *E. coli* diarreagénicos (ETEC, EPEC, EIEC) (Blanco, 2012).

Las cepas de EAEC causan diarreas de larga duración principalmente en niños y viajeros de países del tercer mundo, pero también son una causa significativa de diarrea en Europa, incluida España (Blanco et al., 2006). Su reservorio son únicamente los seres humanos. Presentan un plásmido (pAA) que codifica para una adhesina fimbrial que es responsable del patrón de adherencia enteroagregativa a células HEp-II y al epitelio intestinal. La cepa responsable de los brotes de Alemania y Francia posee la fimbria AAF/I, mientras que la cepa enteroagregativa y productora de Stx2a aislada en Alemania en el año 2001 poseía la fimbria AAF/III y era sensible a los antibióticos (Bielaszewska et al., 2011).

En este contexto es importante considerar cual es la situación en España respecto a estos microorganismos, a través de estudios llevados a cabo en algunas regiones donde el ganado vacuno es una actividad económica importante. En España, entre 1992 y 2011, se procesaron un total de 14.653 coprocultivos para la presencia de STEC O157:H7 y no-O157. Las cepas STEC se detectaron en 415 (2,8%) de los coprocultivos examinados. En total se detectaron 65 (0,4%) casos de infección por el STEC O157:H7 y 271 (1,8%) casos de infección por no-O157 (Tabla 1). El serotipo O26:H11 fue el más frecuente observado dentro de los no-O157 (Tabla 2). Ninguna de las cepas verotoxigénicas aislada en Galicia de pacientes humanos entre los años 1992 y 2011 perteneció al serotipo O104:H4 implicado en los brotes de Alemania y Francia. Los STEC son el tercer enteropatógeno más frecuentemente identificado en los coprocultivos realizados en el hospital de Lugo después de *Salmonella* y *Campylobacter*, provocando un nivel significativo de infecciones en este área sanitaria. A partir de los datos de Lugo, se puede extrapolar que los STEC O157:H7 producen más de 500 casos de infecciones en seres humanos y que los no-O157 más de 2.000 cada año en España (Blanco et al., 2004a) (Mora et al., 2011).

**Tabla 1.** Prevalencia de ECVT en coprocultivos de pacientes del Hospital Lucus Augusti

Nº de coprocultivos de niños y adultos con diarrea							
Año	Total coprocultivos analizados	STEC				Total detectados	
		O157:H7 aislados		No-O157 aislados			
1992-1999	5.054	24	0,5%	87	1,7%	126	2,5%
2003-2005	3.970	12	0,3%	75	1,9%	144	3,6%
2006-2010	4.692	27	0,6%	85	1,8%	119	2,5%
2011	937	2	0,2%	24	2,6%	26	2,8%
Total	14.653	65	0,4%	271	1,8%	415	2,8%

**Fuente:** (Mora et al., 2011) y datos actualizados no publicados.

**Tabla 2.** Serotipos más frecuentes en cepas STEC humanas en España

Serotipo	Grupo filogenético	Secuencia tipo	Seropatotipo	Intimina
O5:H-	A	ST342	C	β1
O26:H11	B1	ST21	B	β1
O103:H2	B1	ST17	B	ε1
O111:H8	B1	ST16	B	θ
O113:H21	B1	ST56	C	-
O118:H16	B1	ST21	-	β1
O145:H-	D	ST32	B	γ1
O146:H21	B1	ST442	D	-
O157:H7	D	ST11	A	γ1

**Fuente:** (Mora et al., 2011).

### 3. Evaluación de la exposición

#### Rutas de contaminación de los alimentos

Las cepas STEC toleran temperaturas mínimas de 7 a 10 °C y máxima, de 50 °C, siendo 37 °C la temperatura óptima de crecimiento. Además, son el grupo más ácido-resistente a diferencia de las otras cepas de *E. coli*, ya que sobreviven a un pH menor a 4,4, y son capaces de crecer en alimentos con actividad de agua de 0,95 (Lee, 2004) (EFSA, 2007b) (OMS, 2008). En lo que respecta a las condiciones de crecimiento determinadas para *E. coli* O157:H7, éstas abarcan temperaturas mínimas de 2,5 a 6,5 °C y máximas de 44-45 °C, pH de 4 a 9; y, tolera concentraciones de sal hasta un 8% (FSAI, 2005) (OMS, 2008).

El ganado bovino es la fuente más importante de infecciones humanas (carne de vacuno, productos lácteos, contaminación fecal bovina, etc.). Los datos sobre la prevalencia de STEC O157 y STEC no-O157 son muy variables entre países, tanto en el ganado lechero (0,4-74%) como en el ganado destinado a consumo de carne (2,1 a 70,1%). La Tabla 3 muestra la prevalencia de STEC en ganado de abasto (EFSA/ECDC, 2011, 2012). El ganado suele ser portador de varios serotipos, algunos de los cuales no parecen ser de alto riesgo para el hombre porque no expresen alguno de los factores de

virulencia más importantes. Los STEC no se consideran patógenos para los rumiantes, salvo cuando las infecciones se producen en los animales jóvenes antes del destete (relacionado con diarrea neonatal) (Gyles, 2007) (ECDC/EFSA, 2011) (Mora et al., 2011). Un estudio realizado en Alemania encontró una asociación positiva entre las infecciones causadas por diferentes serotipos de STEC y la densidad de ganado en un área. A partir de datos de más de 3.000 casos de STEC, los análisis indicaron que el riesgo de infección aumentó en un 68% por cada 100 cabezas adicionales por km<sup>2</sup> (Friesema et al., 2010).

**Tabla 3.** Datos de prevalencia de STEC en carnes y ganado bovino y vacuno en la UE (2007-2010)

Animal/ categoría de alimen. miembros*	Nº de Estados	2007		2008		2009		2010	
		N	STEC O157	N	STEC O157	N	STEC O157	N	STEC O157
Carne de vaca	12-14	14.115	0,3% 0,1%	14.598	0,3% 0,1%	9.285	2,3% 0,7%	8.566	0,5% 0,1%
Carne de oveja	3-5	285	1,8% 0%	1.263	0,7% 0%	248	3,2% 0%	394	7,4% 0%
Vacuno (animales)	9-12	5.154	3,6% 2,9%	5.368	2,2% 0,5%	5.555	6,8% 2,7%	6.800	13,5% 0,2%
Ovejas (animales)	4-8	533	0,9% 0,4%	671	3,1% 1,6%	324	20% 0,3%	773	30% 0%

\*Los valores totales corresponden a los datos suministrados por el número correspondiente de Estados miembros de la Unión Europea. **Fuente:** (EFSA/ECDC, 2011, 2012).

Un estudio llevado a cabo en la ciudad de Lugo se ha observado en los últimos años un descenso importante en la prevalencia de STEC en carne picada de vacuno puesta a la venta. Entre las 1.539 muestras analizadas entre los años 1995-2012, se detectó STEC O157:H7 en nueve casos (0,6%) y no-O157 en 150 (9,7%). Especialmente importante desde el punto de vista de salud pública es el hecho de no haber detectado ninguna muestra positiva para el serotipo O157:H7 altamente virulentos en el período 2005-2009. Ninguna de las cepas verotoxigénicas aisladas en Lugo perteneció al serotipo O104:H4 implicado en los brotes de Alemania y Francia (Tabla 4).

**Tabla 4.** Prevalencia de cepas STEC O157:H7 y de otros serotipos en carne picada de vacuno en Lugo

Año	Muestras	STEC O157:H7		STEC no-O157		Total	
1995	58	3	5,0%	8	14%	10	17%
1996	91	0	0,0%	8	9%	8	9%
1997	173	1	0,6%	20	12%	21	12%
1998	133	1	0,8%	18	14%	18	14%
2001	80	1	1,3%	6	8%	7	9%
2002	20	0	0,0%	1	5%	1	5%
2003	230	2	0,9%	29	13%	30	13%
2005	250	0	0,0%	29	12%	29	12%
2006-2007	160	0	0,0%	14	9%	14	9%
2008	170	0	0,0%	11	6%	11	6%
2009	100	0	0,0%	4	4%	4	4%
2011	40	1	2,5%	0	0%	1	3%
2012	34	0	0,0%	2	6%	2	6%
<b>Total</b>	<b>1.539</b>	<b>9</b>	<b>0,6%</b>	<b>150</b>	<b>9,7%</b>	<b>156</b>	<b>10,1%</b>

**Fuente:** (Mora et al., 2007) (Mora et al., 2011).

La Tabla 5 muestra datos de prevalencia de STEC en carne envasada en atmósfera modificada en un nuevo estudio realizado entre 2009 y 2011. En una de las muestras se detectó una cepa del serotipo O104:H7 con el gen *stx2*. Este tipo de cepa habría dado positiva en los ensayos comerciales de PCR en tiempo real diseñados para detectar la cepa STEC O104:H4 causante de los brotes de Alemania y Francia, ya que se basan en la detección de los genes que codifican para el antígeno O104 y la toxina *Stx2*, y habría saltado la alarma, a pesar que la cepa presente en la carne era del seropatotipo D y por lo tanto de baja virulencia. Lo que confirma la importancia del serotipado y caracterización con respecto a sus genes de virulencia, perfil de PFGE permitiendo una comparación con las causantes de infecciones en seres humanos para establecer su grado de virulencia.

**Tabla 5.** Detección de STEC en carne de vacuno, porcino y pollo en Lugo

<b>*Vacuno (n=140/octubre 2011-abril 2012)</b>					<b>*Porcino (n=170/enero 2011-mayo 2012)</b>				
<b>Vacuno-carne picada fresca</b>					<b>Porcino-carne picada fresca</b>				
<b>STEC</b>					<b>STEC</b>				
<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157:H7</b>	<b>no-O157</b>	<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157</b>	<b>no-O157</b>
<10	59	79,7%	1	0	<10	92	68,7%	0	3
10-99	10	13,5%	0	1	10-99	24	17,9%	0	2
100-999	3	4,1%	0	0	100-999	14	10,4%	0	3
>999	2	2,7%	0	1	>999	4	3,0%	1	3
<b>Total</b>	<b>74</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>11</b>
			<b>(1,4%)</b>	<b>(2,7%)</b>				<b>(0,7%)</b>	<b>(8,2%)</b>
<b>Vacuno-carne envasada atm. protectora</b>					<b>Porcino-carne envasada atm. protectora</b>				
<b>STEC</b>					<b>STEC</b>				
<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157:H7</b>	<b>no-O157</b>	<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157</b>	<b>no-O157</b>
<10	45	68,2%	0	4	<10	33	91,7%	0	1
10-99	16	24,2%	1	3	10-99	3	8,3%	0	1
100-999	4	6,1%	1	4	100-999	0	0,0%	0	0
>999	1	1,5%	0	1	>999	0	0,0%	0	0
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
			<b>(3,0%)</b>	<b>(18,2%)</b>				<b>(0,0%)</b>	<b>(5,6%)</b>

<b>*Pollo (n=200/septiembre 2009-diciembre 2010)</b>				
<b>Pollo-carne fresca</b>				
<b>STEC</b>				
<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157</b>	<b>no-O157</b>
<10	84	49,4%	0	1
10-99	66	38,8%	0	1
100-999	20	11,8%	0	0
>999	0	0,0%	0	0
<b>Total</b>	<b>170</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
			<b>(0,0%)</b>	<b>(1,2%)</b>
<b>Pollo-carne envasada atm. protectora</b>				
<b>STEC</b>				
<b>NMP</b>	<b>Totales</b>	<b>%</b>	<b>O157</b>	<b>no-O157</b>
<10	5	16,7%	0	0
10-99	18	60,0%	0	0
100-999	6	20,0%	0	0
>999	1	3,3%	0	1
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
			<b>(0,0%)</b>	<b>(0,0%)</b>

\*Fuente: Laboratorio de Referencia de E. coli en Lugo.



Son varios los estudios realizados en España acerca del papel del ganado vacuno como reservorio de STEC. Así cuando en Galicia (1993-1995) se pudo comprobar que una tercera parte de los terneros y vacas eran portadores, estando presentes las cepas STEC altamente virulentas del serotipo O157:H7 en el 12% de los terneros y en el 22% de las granjas muestreadas. En 1998, un estudio realizado en Navarra detectó la presencia de STEC O157:H7 en varios mataderos y cebaderos de vacuno en proporciones que oscilaron entre el 10 y el 19% para los mataderos y el 0 y 23% para cebaderos. Los datos obtenidos en España están de acuerdo con los encontrados en otros países, y confirman que en torno al 10% de las cabezas de ganado bovino están colonizadas por cepas STEC O157:H7 (Blanco et al., 2004b).

Tras determinarse los serotipos y los genes de virulencia de 514 cepas de STEC bovinas aisladas en España, se comprobó que pertenecían a 66 serogrupos y 113 serotipos; sin embargo el 52% de las cepas pertenecían a únicamente 10 serotipos (O4:H4, O20:H19, O22:H8, O26:H11, O77:H41, O105:H18, O113:H21, O157:H7, O171:H2 y ONT:H19). Muchas de las cepas bovinas pertenecían a seropatotipos previamente encontrados entre los STEC causantes de infecciones en seres humanos. Ninguna de las cepas bovinas aisladas en España de STEC perteneció al serotipo O104:H4. No obstante, se detectaron dos cepas O104:H21 vt1 vt2 de la secuencia tipo ST672 (Blanco et al., 2004b) (Mora et al., 2011).

Blanco et al. (2003) llevaron a cabo un estudio en colaboración con la Facultad de Veterinaria de Cáceres en el año 1997. Tras estudiar 1.300 muestras procedentes de 93 explotaciones de Extremadura, se encontró que el 0,4% de los corderos estaban colonizados por ECVT O157:H7 y el 36% por STEC no-O157. Tras serotipar 384 cepas ovinas, se observaron 35 serogrupos y 64 serotipos, sin embargo, el 72% de las cepas pertenecía a alguno de los siguientes 12 serotipos: O5:HNM, O6:H10, O91:HNM, O117:HNM, O128:HNM, O136:H20, O146:H8, O146:H21, O156:HNM, O166:H28 y ONT:H21. Los seropatotipos de los STEC ovinos resultaron ser diferentes a los STEC de origen bovino, sin embargo muchos de ellos también se han encontrado en cepas verotoxigénicas de origen humano. Ninguna de las cepas ovinas de ECVT perteneció al serotipo O104:H4. No obstante, detectamos 10 cepas O104:H7 vt1 (la mayoría de la secuencia tipo ST1817).

En un estudio llevado a cabo en colaboración con las Facultades de Veterinaria de Madrid y Murcia en el año 2003 (Cortés et al., 2005) (Orden et al., 2008). Se procesaron 222 muestras fecales de cabritos y cabras de 12 granjas de Murcia, encontramos que el 0% de los animales estaban colonizados por cepas STEC O157:H7 y el 48% por no-O157. Tras serotipar 106 cepas caprinas, se observaron 25 serotipos, siendo los más frecuentes los serotipos: O5:HNM, O76:H19, O126:H8, O146:H21, ONT:HNM y ONT:H21. Ninguna de las cepas caprinas de ECVT perteneció al serotipo O104:H4. Tampoco ninguna de las 106 cepas presentó el gen *eae*. No obstante, el 16% de las cepas de ECVT caprinas pertenecieron a serotipos implicados en el SUH.

Es importante destacar que el gen *eae* no se detectó en ninguna de las cepas STEC caprinas y únicamente estaba presente en el 6% de las cepas ovinas, frente al 29% de las bovinas y el 56% de las causantes de infecciones en seres humanos. Teniendo en cuenta que el gen *eae* se asocia normalmente con las cepas de mayor potencial de virulencia está claro que los grandes rumiantes representan un reservorio más problemático por lo que merece una especial atención en lo que respecta a medidas de prevención.

Aunque los rumiantes de abasto, especialmente el ganado vacuno, son el principal reservorio de cepas STEC, la fauna silvestre, incluidos los animales de caza, juegan también un importante papel

como reservorio de estos patógenos. En un estudio reciente del LREC-USC, Mora et al. (2012) aislaron cepas STEC no-O157 del 53% de los corzos muestreados y STEC O157 del 0,56%, en concordancia con lo descrito por otros autores, en éste, y otros rumiantes silvestres (Sánchez et al., 2009) (Sánchez et al., 2010). En el estudio de Mora et al. (2012) se aislaron además cepas STEC de jabalíes (8,4%) y zorros (1,9%); y se demostró que cepas STEC aisladas de esos animales silvestres (corzo, jabalí, zorro) de los serotipos O5:H-, O26:H11, O76:H19, O145:H28, O146:H21 y O157:H7 presentaban una similitud superior al 85% cuando se compararon sus perfiles de macrorrestricción con los de cepas STEC de las mismas características aisladas de pacientes humanos. En este estudio se demostró, por tanto, que determinados animales silvestres juegan un papel epidemiológico importante en el mantenimiento y transmisión de cepas STEC potencialmente patógenas para el ser humano. No obstante, únicamente 14 (10%) de las 135 cepas STEC presentaron el gen *eae*: 7 de corzos, 4 de jabalíes y 3 de zorros. Se han realizado también estudios que señalan la carne de caza como fuente potencial de transmisión de STEC al ser humano (Miko et al., 2009) (Martin y Beutin, 2011).

Una fuente importante de infección para el ganado son los piensos y agua contaminados con heces de animales infectados. Los estudios realizados indican que STEC O26 pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo en el estiércol: hasta tres meses en las fosas de estiércol y el estiércol líquido, y un año en los campos fertilizados con estiércol, dependiendo de la temperatura y el tipo de suelo. La persistencia de estos patógenos en ambientes contaminados con estiércol presenta implicaciones importantes para la salud debido a su transmisión, no solo en la producción agrícola, sino también en otros ámbitos, como las ferias de ganado y granjas escuela, en las que los niños están expuestos a la presencia de estos microorganismos (Gyles, 2007) (Kaspar et al., 2009) (ECDC/EFSA, 2011) (Mora et al., 2011).

El material fecal puede contaminar la carne durante el faenado en el matadero, en el desollado de los animales, o por una deficiente evisceración; se puede dispersar en corrientes de agua, ríos o fuentes de agua potable; o se puede depositar en frutas y verduras cuando el estiércol se utiliza para fertilización, o a través de aguas residuales contaminadas utilizadas para el riego. Las personas, pueden infectarse tanto directamente, a través del contacto con una persona infectada o un portador animal, como indirectamente a través del medio ambiente, alimentos, agua potable contaminada o agua de consumo no potable, o la superficie de agua contaminada con materia fecal que contenga STEC de origen humano o animal (Kaspar et al., 2009) (Mora et al., 2011).

En 2010, EFSA señala que en un total de 8.566 muestras de carne de vacuno analizada en un total de 12 Estados miembros, se aisló STEC en un 0,5% de las muestras, siendo el serotipo O157:H7 aislado en el 0,1% de las muestras analizadas. Los porcentajes de aislamiento oscilaron entre el 0 y 1,6% en muestras de mataderos, entre el 0 y el 3,9% en plantas de procesado y entre el 0 y el 5,1% (España) en muestras en establecimientos de venta (EFSA/ECDC, 2012).

Las frutas y hortalizas crudas son un componente importante de la dieta humana y el consumidor está muy concienciado del beneficio que supone para la salud su consumo. Sin embargo, en la literatura científica se pueden encontrar cada vez más trabajos que describen brotes de infección de STEC asociados con las frutas y hortalizas particularmente con los brotes de semillas (Michino et al., 1999) (Breuer et al., 2001) (Mohle-Boetani et al., 2001) (Ferguson et al., 2005) y ensaladas de vegetales

crudos (Ackers et al., 1998) (Hilborn et al., 1999) (Söderström et al., 2005) (CDC, 2006) (Friesema et al., 2008) (Wendel et al., 2009). En la Tabla 6 se puede apreciar la prevalencia de STEC/VTEC en muestras de vegetales (Mora et al., 2011). El *Standing Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health* (SCVPH) emitió un informe sobre *E. coli* verotoxigenica e identificó, entre otros, a los vegetales frescos, en particular los brotes de semillas, zumos de fruta y bebidas de hortalizas sin pasteurizar como una fuente de preocupación en salud pública (SCVPH, 2003). Estas categorías de alimentos también se han considerado como una ruta importante de transmisión procedente de los alimentos en un informe de EFSA sobre STEC (EFSA, 2007b).

El vehículo más frecuente en los brotes causados por STEC es la carne de vacuno poco cocinada, pero en los últimos años cada vez son más los brotes causados por productos vegetales, especialmente de ensaladas y brotes de diferentes semillas. Curiosamente el brote más grande en número de casos de diarrea y CH fue producido por un STEC O157:H7 en el año 1996 en la ciudad de Sakai (Osaka, Japón) y se asoció con el consumo de brotes de rábano. Las cepas EAEC también han causado varios brotes asociados con el consume de brotes, incluyendo un brote por el serotipo ONT:H10 sucedido en el Japón en 1993 que afectó a más de 2.000 personas. Las investigaciones epidemiológicas apoyan la hipótesis de que los brotes de Alemania y Francia están relacionados, ya que han sido causados por la misma cepa enteroagregativa STEC O104:H4 y por el mismo alimento: brotes obtenidos a partir de semillas de fenogreco importadas de Egipto. En estudios futuros se deberá examinar si las cepas enteroagregativas tienen mecanismos especiales que le permitan adherirse a la superficie de los vegetales. Lo que es evidente que las condiciones de producción de los brotes (humedad y temperatura), favorecen el crecimiento de los microorganismos contaminantes. Se desconoce cómo han podido contaminarse las semillas, pero se supone que puede haberse debido al empleo de agua de riego contaminada con aguas residuales de origen humano (Mora et al., 2011) (Blanco et al., 2012).

**Tabla 6.** Prevalencia de cepas STEC/VTEC en vegetales frescos y en cuarta gama

Producto	Nº	<10	%	10-99	%	>99	%	ECVT	%	O157:H7	O104:H4
Pepinos	32	32	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Tomates	36	36	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Lechugas	54	50	93%	4	7%	0	0%	1	1,9%	0	0
Brotes de soja	6	6	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Endivias	2	2	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Brecol	7	7	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Puerro	2	2	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Pimientos	6	6	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Zanahoria	1	1	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Cebolleta	1	1	100%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0
Bolsa-ensaladas	53	52	98%	1	2%	0	0%	0	0%	0	0
<b>Total muestras</b>	<b>200</b>	<b>195</b>	<b>98%</b>	<b>5</b>	<b>2,5%</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>1</b>	<b>0,5%</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Fuente:** (Mora et al., 2011).

La contaminación de verduras y hortalizas puede ocurrir a nivel superficial o en los tejidos internos. Aunque la contaminación de STEC intratisular se ha visto fundamentalmente en las hojas de las verduras también se han descrito casos de internalización de *E. coli* O157 en tomates (Ibarra-Sánchez et al., 2004). La presencia de *E. coli* O157:H7 enterohemorrágica viable se ha encontrado en tejidos internos de brotes de rábano y estomas procedentes de semillas experimentalmente contaminadas con la bacteria (Itoh et al., 1998).

La contaminación de frutas y hortalizas puede acontecer en los diferentes eslabones de la cadena alimentaria (Beuchat y Ryu, 1997) (FAO/OMS, 2008):

1. Durante la producción primaria incluida la recolección.
2. Durante la post-recolección incluido el manejo, transporte y procesado.
3. En la comercialización en tiendas y supermercados.
4. En los establecimientos de elaboración de comidas preparadas y después de la venta durante el transporte y en el ambiente doméstico por una mala manipulación por parte del consumidor.

Las posibles rutas de la contaminación son: el agua de irrigación contaminada con residuos procedentes de granjas de animales así como de aguas del alcantarillado, la aplicación de fertilizantes orgánicos de origen animal o humano y el contacto directo de animales (salvajes o domésticos) con el producto vegetal fresco cuando esta creciendo en el campo. La irrigación por inundación también puede ser una ruta de contaminación potencial si las granjas ganaderas están cerca de los campos de producción de hortalizas. En el proceso de comercialización y preparación culinaria, las rutas de contaminación se relacionan con el uso de agua de lavado contaminada, útiles no desinfectados y deficientes prácticas de manejo higiénico de frutas y hortalizas (Söderström et al., 2005) (Tyrrel et al., 2006) (Gelting et al., 2011).

### **Estrategias de control**

Las investigaciones sobre la prevención de la contaminación de los alimentos y el agua por STEC y las estrategias para eliminar o limitar radicalmente el crecimiento de cualquier STEC que pueda estar presentes en los alimentos se han concentrado principalmente en *E. coli* O157:H7. No obstante también se han llevado a cabo estudios para las cepas STEC que no son O157-. La susceptibilidad de los STEC OH157:H7 y no-O157 a diversas técnicas de intervención es probablemente similar a la de otras *E. coli*, aunque hay diferencias entre las cepas en cuanto a su tolerancia al ácido y sensibilidad a otros agentes como la temperatura (Kaspar et al., 2009).

Actualmente se encuentran en desarrollo varios tipos de intervenciones para aplicarlas antes del sacrificio de los animales, mientras que ya se han validado e incorporado numerosas intervenciones post-sacrificio dirigidas a *E. coli* O157:H7 con objeto de descontaminar la canal después de la carnización de los animales.

La granja y el tipo de alimentación de los animales parecen estar en el origen de la contaminación de las carnes en los mataderos. Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y de Producción (BPM) son las primeras medidas a tener en cuenta en el control de STEC y otros microorganismos patógenos tanto en alimentos de origen animal como vegetal. La aplicación del APPCC es una herramienta útil para prevenir la contaminación por dichos microorganismos lo que puede contribuir a su disminución a nivel

de granja o campo de cultivo. No obstante, en la aplicación del APPCC para la producción primaria es bastante difícil objetivar algunos puntos de control crítico. Por otro lado, se ha estudiado el efecto del tipo de alimentación en la excreción de *E. coli* por parte del ganado, en un intento de disminuir la presencia de este microorganismo antes de que los animales vayan al matadero. Algunos estudios indican que el ganado alimentado con dietas basadas en cebada (Berg et al., 2004) o con los granos mojados de los destiladores (Wells et al., 2009) aumentan la excreción fecal de *E. coli* O157:H7 en comparación con la alimentación normal basada en dietas con maíz.

Se está desarrollando también una investigación importante sobre la alimentación del ganado con probióticos para excluir los patógenos por el mecanismo de exclusión competitiva. Con algunos organismos se han obtenido resultados prometedores a la hora de reducir la incidencia de *E. coli* O157:H7 en los terneros (Zhao et al., 1998).

Los bebederos de agua también parecen ser otra fuente de contaminación. Se ha comprobado que la cloración del agua parece ser el tratamiento más adecuado para controlar los patógenos que puedan estar presentes en el agua de los bebederos. No obstante, la presencia de abundante materia orgánica en el agua puede dar lugar a que disminuya la cantidad de cloro residual lo que limita la eficacia de la cloración. La higienización del agua de beber usando ácido láctico y sulfato de calcio en combinación con benzoato, ácido caprílico, ácido butírico o dióxido de cloro han demostrado conseguir más de tres reducciones logarítmicas en *E. coli* O157:H7, O26:H11 y O111:NM (Zhao et al., 2006).

Se están evaluando las intervenciones que implican el uso de agentes como las vacunas y bacteriófagos durante las etapas previas al sacrificio en el matadero aunque aún es pronto para tener resultados que certifiquen su utilidad en el control de STEC (Loneragan y Brashears, 2005) (LeJeune y Wetzel, 2007) (Johnson et al., 2008).

Las canales de los animales sacrificados son difíciles de descontaminar debido a su forma y estructura. Muchos tratamientos requieren un contacto físico con la superficie de la misma. Aunque la descontaminación de las canales no está permitida mediante el uso de antimicrobianos y otros tratamientos y ni tan siquiera el uso de ácido láctico en canales de vacuno está autorizado a nivel comunitario, se ha comprobado que el uso de vapor a presión o el lavado con agua caliente o con ácido láctico de las superficies de las canales, reduce de forma efectiva la contaminación con *E. coli* O157:H7 (Koochmaraie et al., 2005) (Bosilevac et al., 2006). Estas técnicas de intervención para eliminar *E. coli* O157:H7 a partir de la superficie de las canales también han demostrado su eficacia contra O26:H11 y O111:H8 (Cutter y Rivera-Betancourt, 2000). No obstante es preciso indicar que hasta la fecha existe un reglamento, el Reglamento (CE) N.º 853/2004 (UE, 2004), que establece normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal dirigidas a los operadores de empresas alimentarias. Dispone que estos no podrán emplear ninguna sustancia distinta del agua para eliminar la contaminación de superficie de los productos de origen animal, a menos que el uso de dicha sustancia haya sido autorizado con arreglo a dicho Reglamento. EFSA (2011c) adoptó un dictamen científico sobre la evaluación de la seguridad y la eficacia del ácido láctico para la eliminación de la contaminación microbiana de la superficie de las canales de vacuno y piezas de carne. En su dictamen, EFSA concluye que los tratamientos con ácido láctico para la descontaminación de la superficie de canales de la especie bovina y piezas de carne no debe preocupar bajo el punto de vista de la seguridad alimentaria, a condición de que la

sustancia utilizada cumple con las especificaciones de la Unión para los aditivos alimentarios. Además, EFSA concluye que los tratamientos con ácido láctico proporcionan una reducción significativa de la contaminación microbiológica en comparación con la ausencia de tratamiento o al tratamiento con agua potable y que es poco probable que tales tratamientos puedan contribuir al desarrollo de resistencias microbianas.

Recientemente, Aymerich et al. (2008) han revisado los efectos de las tecnologías de procesado sobre la supervivencia de *E. coli* y otras bacterias presentes en carne o productos cárnicos. Entre los procedimientos discutidos se encontraba la irradiación, altas presiones hidrostáticas, antimicrobianos naturales, envases activos y tratamientos térmicos. En estos estudios no se han llevado a cabo comparaciones entre *E. coli* O157:H7 y STEC no-O157, pero sí se describen cuales son las condiciones de eficacia general frente a *E. coli*. Hay que decir que la decisión del Consejo Europeo de 18 de diciembre de 2008 indica lo siguiente respecto al uso de antimicrobianos: se rechaza la propuesta de la Comisión de un Reglamento del Consejo que desarrolla el Reglamento (CE) Nº 853/2004 en lo relativo a la utilización de sustancias antimicrobianas para eliminar la contaminación microbiana de las canales de aves de corral. También se ha investigado la combinación de varias tecnologías de conservación no térmica y térmica bajo el concepto de tecnologías de barrera con el fin de aumentar su eficiencia. Las tecnologías térmicas de calentamiento rápido, tales como microondas y radiofrecuencia o túneles de pasteurización por vapor ofrecen nuevas posibilidades para la pasteurización de los productos cárnicos, especialmente en los alimentos listos para su consumo que contienen carne. La aplicación de algunas de estas tecnologías después del envasado final puede evitar la contaminación cruzada durante la manipulación de post-procesamiento (Aymerich et al., 2008).

Las altas presiones hidrostáticas y la luz ultravioleta parecen ser las tecnologías más prometedoras porque tienen pocos inconvenientes para su aprobación por la autoridades sanitarias, no necesitan un etiquetado especial ya que no llevan aditivos químicos y si se usan adecuadamente no se producen cambios en las textura o sabor y aroma del producto (Hayakawa et al., 1994) (Alpas et al., 1999) (Chun et al., 2010). En algunos estudios recientes se ha examinado la inactivación de STEC mediante irradiación ionizante (Beuchat et al., 1998) (EFSA 2011b). Los autores concluyeron que una dosis de 1,8 kGy proporcionaría cinco reducciones logarítmicas.

La OMS (2008) ha revisado minuciosamente, en un informe, los riesgos microbiológicos que tienen lugar en frutas, hortalizas, especias y hierbas medicinales, incluyendo en dicho informe guías sobre las opciones de mitigación. También la Comisión del *Codex Alimentarius* publicó un Código de Prácticas de Higiene para las frutas y hortalizas frescas (CAC, 2003).

El uso de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manipulación (BPM) y Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC) en el cultivo e industrialización de fruta fresca y hortalizas constituyen el marco básico en la producción de alimentos inocuos para el consumidor (EFSA/ECDC, 2011). Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) describen las medidas preventivas aplicadas en las operaciones agrícolas para reducir la contaminación del producto y proporcionar orientación acerca de las operaciones para incrementar la inocuidad alimentaria comenzando en el campo. La incorporación de las Buenas Prácticas Agrícolas proporciona un nivel importante de seguridad al vendedor al por menor de que el producto es tan inocuo como sea razonablemente posible.



En general se recomienda la aplicación de estrategias de mitigación descritas en las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en línea con las recomendaciones de las organizaciones internacionales (CAC, 2003) (OMS, 2008). En consecuencia, en la etapa de cultivo puede ser de particular Interés aplicar las siguientes medidas:

- Evitar el acceso de animales de granja (rumiantes en particular) en el entorno inmediato de los campos de cultivo.
- El uso de agua para riego y para la agricultura en general de una calidad microbiológica adecuada.
- El control de la contratación, manejo y tratamiento de estiércol y purines que se van a utilizar para fertilizar los campos destinados al cultivo de frutas y hortalizas para el consumo humano.

Tras algunas investigaciones de los brotes de origen alimentario asociados con las verduras de hoja y especias y hierbas medicinales se ha llegado a la conclusión de que las malas prácticas de higiene durante la manipulación son una fuente de contaminación importante (OMS, 2008). Es esencial la formación y sensibilización sobre las prácticas de higiene en toda la cadena alimentaria. Además, y puesto que hay pruebas de portadores asintomáticos de STEC en humanos, la detección de las personas portadoras involucradas en el manejo de los alimentos es de la mayor importancia (Stephan et al., 2000) (Silvestro et al., 2004). En consecuencia, el seguimiento y la exclusión de los portadores de STEC involucrados en la manipulación de alimentos se deben considerar como una opción de mitigación o de control.

Según la OMS (2008), las tecnologías actuales o prácticas aplicadas durante el procesado post-cosecha no eliminan eficazmente los microorganismos que contaminan a las frutas y hortalizas. Por tanto, los esfuerzos se deben dirigir fundamentalmente a la prevención de la contaminación tanto en pre-cosecha como en post-cosecha.

A pesar de que se pueden utilizar varios desinfectantes para reducir la carga microbiana en frutas y hortalizas, su eficacia es variable y no son capaces de garantizar la eliminación total de los patógenos (OMS, 1998). En general, los tejidos internos de las frutas y hortalizas se consideran estériles. Sin embargo, las bacterias pueden estar presentes en pequeñas cantidades como resultado de la absorción de agua de riego o como consecuencia de ciertos procedimientos de lavado y si estas aguas están contaminadas con patógenos como STEC también pueden internalizarse (CE, 2002b). La adhesión de los patógenos a las superficies y al interior de los tejidos, limita la utilidad de los procesos convencionales y métodos químicos desinfectantes para prevenir la transmisión de contaminación en frutas y hortalizas frescas. La conclusión es que el único método eficaz de eliminación de STEC de los alimentos es la introducción de tratamientos bactericidas, tales como el tratamiento térmico (por ejemplo, cocción o pasteurización) o irradiación (EFSA 2011b). Por otro lado, conviene considerar que el lavado puede ayudar a la propagación de la contaminación y la internalización de las bacterias (OMS, 1998), por tanto es necesario buscar posibles alternativas a la desinfección química.

Las operaciones de corte o picado eliminan las barreras protectoras naturales de la planta intacta y por lo tanto puede aumentar el riesgo de presencia de STEC debido a creación de condiciones más favorables para su supervivencia y crecimiento. Por lo tanto, la aplicación de los programas APPCC en la elaboración y envasado es un requisito imprescindible para disminuir el riesgo de STEC en frutas y

hortalizas (James, 2006). Sin embargo, tiene que tenerse en cuenta que el APPCC puede ser una herramienta de gestión de riesgos difícil de aplicar ya que para los productos frescos es muy difícil identificar verdaderos Puntos de Control Crítico, a menos que se utilicen métodos que permite una reducción importante de patógenos, por ejemplo la irradiación (EFSA, 2011b).

De nuevo se recomienda la aplicación de estrategias de mitigación o de control reflejadas en las BPF y BPH en línea con las recomendaciones disponibles en organizaciones internacionales (CAC, 2003) (FAO/OMS, 2008). Para controlar la presencia de STEC en la etapa de manipulación y procesado es de gran importancia tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Usar agua de calidad microbiológica adecuada para el lavado.
- Garantizar una formación básica para los manipuladores de alimentos sobre las prácticas de higiene.
- Asegurar el diseño adecuado y gestión de la higiene de los locales destinados al almacenamiento y procesado de alimentos, incluyendo los planes de control de plagas.

Durante la venta de las frutas y hortalizas en supermercados y pequeños comercios es conveniente seguir las directrices de la FAO/OMS y la Comisión del *Codex Alimentarius* (CAC, 2003) (FAO/OMS, 2008). Es de vital importancia gestionar adecuadamente la cadena de frío, más allá de las buenas prácticas de fabricación en general y buenas prácticas higiénicas, incluidas las prácticas de higiene del personal en el manejo de los productos alimenticios. Esto es de particular interés para los productos transformados listos para el consumo (por ejemplo, verduras cortadas listas para su consumo, zumos procedentes de vegetales o frutas que no estén pasteurizados).

La utilización de las buenas prácticas higiénicas y de manipulación de frutas y hortalizas frescas, incluyendo la educación y la capacitación de los manipuladores de alimentos son importantes en las actividades de los centros de *catering* para el control de cepas STEC. A los consumidores se les recomienda seguir las Buenas Prácticas de Higiene en la preparación de alimentos, por ejemplo lavarse las manos antes y después de preparar alimentos, lavar todas las frutas y verduras con agua potable, evitar la contaminación cruzada, mantener la temperatura de refrigeración durante el almacenamiento. Pelar o cocinar las frutas y verduras también puede eliminar el riesgo de presencia de STEC. Algunos alimentos más resistentes, tales como vegetales de raíz se deberían lavar con un cepillo para la eliminación física de la tierra y los microorganismos. Esto se puede hacer en combinación con un detergente seguido de un enjuague con agua potable. No obstante, conviene decir que aunque estas medidas han demostrado su utilidad no es posible eliminar completamente el riesgo de presencia de STEC en frutas y hortalizas frescas.

## Conclusiones del Comité Científico

### Vías de contaminación de alimentos por STEC

1. Se han identificado muchos tipos diferentes de alimentos como una fuente potencial de STEC. Estos suelen ser alimentos crudos o mal cocinados y contaminados con heces de rumiantes, ya sea durante la producción primaria (por ejemplo, el ordeño, frutas, verduras y hortalizas frescas fertilizadas) o su posterior procesado y manipulación (por ejemplo, el sacrificio). Los brotes de infección

por STEC se asocian cada vez más a las frutas y hortalizas, sobre todo a las semillas germinadas y las verduras de hoja para ensaladas.

2. Puede existir más de una vía de exposición en los brotes. Por ejemplo, la infección humana primaria pueden tener su origen por el consumo de alimentos contaminados o contacto directo con un animal portador de STEC, mientras que una infección secundaria puede ocurrir por la vía fecal-oral, después de la contaminación de los alimentos debido a su manipulación por una persona infectada que excreta la bacteria con las heces. Como resultado es probable que existan múltiples vías de exposición, sobre todo durante las últimas etapas de un brote, incluyendo los portadores asintomáticos.
3. La contaminación de las carnes con STEC puede ocurrir en diferentes etapas de la cadena alimentaria: en la granja, en los mataderos, durante la manipulación y procesado, en la comercialización y venta al por menor, durante la preparación culinaria para suministro a terceros, así como después de la venta durante el transporte y en el ámbito doméstico por una mala manipulación por parte de los consumidores.
4. La contaminación de las frutas y hortalizas con STEC puede ocurrir en diferentes etapas de la cadena alimentaria: durante la producción primaria, durante la cosecha y post-cosecha, incluyendo el manejo y procesamiento, en la comercialización y venta al por menor y *catering* así como después de la venta durante el transporte y en el ámbito doméstico por una mala manipulación por parte de los consumidores. Puesto que las tecnologías actuales o prácticas aplicadas durante el procesamiento post-cosecha no eliminan eficazmente los microorganismos que contaminan a las frutas y hortalizas, los esfuerzos se deben dirigir fundamentalmente a la prevención de la contaminación tanto en pre-cosecha como en post-cosecha.

### **Medidas de control para evitar la contaminación y brotes por STEC**

1. Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y de Fabricación (BPF) son las primeras medidas a tener en cuenta en el control de STEC y otros microorganismos patógenos tanto en alimentos de origen animal como vegetal. Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) describen las medidas preventivas que se deben aplicar en las operaciones agrícolas con objeto de reducir la contaminación del producto y proporcionar orientación sobre las prácticas agrícolas necesarias encaminadas a conseguir aumentar la inocuidad alimentaria desde el propio campo. La aplicación del sistema APPCC es una herramienta útil para prevenir la contaminación por STEC lo que puede contribuir a su disminución a nivel de granja o campo de cultivo. No obstante en producción primaria donde las circunstancias son tan imprevistas, estas pueden hacerlo en muchos casos poco apropiado. La incorporación de programas APPCC en las plantas de procesado y embalaje es un requisito indispensable para conseguir la máxima inocuidad alimentaria.
2. Puesto que hay evidencias de portadores asintomáticos de STEC, es importante la detección de las personas portadoras de STEC involucradas en el manejo de los alimentos. El seguimiento y/o la exclusión de los portadores de STEC relacionados con la manipulación de los alimentos se debe considerar como una opción de control.
3. El tipo de alimentación de los animales de granja parece estar en el origen de la contaminación de

- los animales destinados al matadero, por lo que es esencial considerar el desarrollo de alimentos que disminuyan la excreción de *E. coli* por parte de dichos animales.
4. Es imprescindible usar agua de buena calidad microbiológica para la bebida de los animales y tomar las medidas necesarias para su higienización, como la cloración y evitar la presencia de materia orgánica. Asimismo, se debe usar agua para riego y para la agricultura en general de una calidad microbiológica adecuada. A nivel de planta de procesado y envasado posterior de vegetales frescos, se debe usar agua de calidad microbiológica adecuada para su lavado.
  5. Es necesario evitar el acceso de animales de granja (rumiantes en particular) en el entorno inmediato de los campos de cultivo. Asimismo, se debe controlar la contratación, manejo y tratamiento de estiércol y purines que se van a utilizar para fertilizar los campos destinados al cultivo de frutas y hortalizas para al consumo humano.
  6. El único método eficaz de eliminación de STEC de los alimentos es la introducción de un tratamiento bactericida, como el calentamiento (por ejemplo: cocción o pasteurización) o irradiación. No obstante, la combinación de varias tecnologías de conservación no térmica y térmica bajo el concepto de tecnologías de barrera, así como las tecnologías térmicas de calentamiento rápido, tales como microondas y radiofrecuencia o túneles de pasteurización por vapor ofrecen nuevas posibilidades para la pasteurización de los productos cárnicos, especialmente en los alimentos listos para su consumo.
  7. El uso de agua caliente y lavado con ácido láctico y de vapor a presión para descontaminar las canales reduce de forma eficaz la contaminación con *E. coli* O157:H7. Estas técnicas de intervención para eliminar *E. coli* O157:H7 a partir de la superficie de la carne también han demostrado su eficacia contra O26:H11 y O111:H8. No obstante, y a pesar de los beneficios que su pone la utilización de ácido láctico para reducir la contaminación de la superficie microbiológica de las canales de vacuno o las medias canales o cuartos su uso no está permitido por los reglamentos en vigor, por consiguiente, la industria debe cumplir con los requisitos de la legislación de la Unión en materia de higiene alimentaria, según lo establecido en los Reglamentos (CE) N° 852/2004, N° 853/2004 y N° 2073/2005. En cualquier caso, su uso siempre debería integrarse con las Buenas Prácticas de Higiene y sistemas basados en el APPCC y de ninguna manera debe considerarse como una sustitución de higiene para las prácticas de matanza y procedimientos de operación o como una alternativa para cumplir con los requisitos de dicho Reglamento.
  8. Se debe garantizar una formación básica para los manipuladores de alimentos sobre las prácticas de higiene y de forma especial para matarifes y otros manipuladores en matadero y salas de despiece. Entre otros aspectos debe asegurarse y controlarse con especial incidencia el uso de cuchillos en el proceso de evisceración y su desinfección en agua caliente a las combinaciones de temperatura y tiempo que aseguren la misma. Del mismo modo en el proceso de evisceración deben controlarse de forma eficaz todas las maniobras que aseguren la no contaminación con material fecal de canales y vísceras. Los manipuladores de alimentos deben lavarse bien las manos después de cualquier contacto con las carnes crudas. Asimismo, hay que garantizar el diseño adecuado y gestión de la higiene de los locales destinados al almacenamiento y procesado de alimentos, incluyendo los planes de control de plagas. La gestión correcta de la cadena de frío

- es de particular importancia para los productos frescos y elaborados listos para su consumo (por ejemplo, hortalizas cortadas, los zumos sin pasteurizar, frutas, verduras, derivados cárnicos).
9. Es necesario informar a la población de los riesgos asociados con el manejo inadecuado de los alimentos y la preparación. La carne y especialmente la carne picada, se deben cocinar durante un tiempo suficiente para inactivar a STEC. Es importante evitar la contaminación cruzada de los alimentos que se comen crudos (frutas y verduras) con carne cruda previamente a su cocinado. Se debe llevar a cabo una distribución adecuada de los alimentos en el refrigerador doméstico a fin de evitar que los líquidos de los alimentos (carne y pescado) destinados a consumirse cocinados goteen sobre alimentos que se consumen crudos o sin calentar (frutas y hortalizas). Se deben lavar cuidadosamente, en el entorno doméstico, las verduras que se comen crudas en ensaladas.
  10. Debido a la posible presencia de STEC en leche cruda, sólo la leche sometida a un tratamiento térmico de pasteurización se puede considerar apta para el consumo en cuanto a la posibilidad de contener STEC.
  11. Es de interés contar con datos sobre el nmp de *E. coli* por gramo para evaluar el nivel de contaminación fecal en los alimentos. No obstante, hay que indicar que los recuentos bajos del nmp de *E. coli* no garantizan la no presencia de STEC, en este sentido la PCR en tiempo real ó convencional y la tipificación por PFGE comparándolas con otras cepas y muy especialmente con las causantes de infecciones en seres humanos pueden ser de gran utilidad.

## Referencias

- Ackers, M.L., Mahon, B.E., Leahy, E., Goode, B., Damrow, T., Hayes, P.S., Bibb, W.F., Rice, D.H., Barrett, T.J., Hutwagner, L., Griffin, P.M. y Slutsker, L. (1998). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *Journal Infectious and Disease*, 177, pp: 1588-1593.
- Alpas, H., Kalchayanand, N., Bozoglu, F., Sikes, A., Dunne, C.P. y Ray, B. (1999). Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp: 4248-4251.
- Aymerich, T., Picouet, P.A., y Monfort, J.M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78, pp: 114-129.
- Berg, J.T., McAllister, S., Bach, R., Stiborn, D., Hancock, y LeJeune, J. (2004). *Escherichia coli* O157:H7 excretion by commercial feedlot cattle fed either barley-or corn-based finishing diets. *Journal of Food Protection*, 67, pp: 666-671.
- Beuchat, L.R. y Ryu, J.H. (1997). Produce handling and processing practices. *Emerging Infectious Disease*, 3, pp: 459-465.
- Beuchat, L.R., Nail, B.V., Adler, B.B. y Clavero, M.R. (1998). Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. *Journal of Food Protection*, 61, pp: 1305-1311.
- Beutin, L. y Martin, A. (2012). Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104:H4 infection in Germany causes a paradigm shift with regard to human pathogenicity of STEC strains. *Journal of Food Protection*, 75, pp: 408-418. Review.
- Bielaszewska, M., Mellmann, A., Zhang, W., Köck, R., Fruth, A. y Bauwens, A. (2011). Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infectious Disease*, 11, pp: 671-676.
- Blanco, J. (2012). *Escherichia coli* enteroagregativa O104:H4-ST678 productora de Stx2a. ¿Diagnóstico microbiológico ya, de este y otros serotipos de STEC/VTEC! *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30 (2), pp: 84-89.

- Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., González, E.A., Bernárdez, M.I., Alonso, M.P., Coira, A., Rodríguez, A., Rey, J., Alonso, J.M. y Usera, M.A. (2003). Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain: prevalence, serotypes, and virulence genes of O157:H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products, and humans. *Experimental Biology and Medicine*, 228, pp: 345-351.
- Blanco, J.E., Blanco, M., Alonso, M.P., Mora, A., Dahbi, G., Coira, M.A. y Blanco, J. (2004a). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, pp: 311-319.
- Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Dahbi, G., Alonso, M.P., González, E.A., Bernárdez, M.I. y Blanco, J. (2004b). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-xi). *Journal of Clinical Microbiology*, 42, pp: 645-651.
- Blanco, M., Blanco J.E., Dhahi, G., Alonso, M.P., Mora, A., Coira, M.A., Madrid, C., Juárez, A., Bernárdez, M.I., González, E.A. y Blanco, J. (2006). Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *International Microbiology*, 9, pp: 103-110.
- Bosilevac, J.M., Nou, X., Barkocy-Gallagher, G.A., Arthur, T.M. y Koohmaraie, M. (2006). Treatments using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and Enterobacteriaceae and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on previsceration beef carcasses. *Journal of Food Protection*, 69, pp: 1808-1813.
- Breuer, T., Benkel, D.H., Shapiro, R.L., Hall, W.N., Winnett, M.M., Linn, M.J., Neimann, J., Barrett, T.J., Dietrich, S., Downes, F.P., Toney, D.M., Pearson, J.L., Rolka, H., Slutsker, L. y Griffin, P.M. (2001). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerging Infectious Diseases*, 7, pp: 977-982.
- CAC (2003). Comisión del *Codex Alimentarius*. Code of hygienic practice for fresh fruits and vegetables. Revision 2010 (new Annex III for Fresh Leafy Vegetables). CAC/RCP 53-2003. Disponible en: [www.codexalimentarius.net/download/standards/10200/CXP\\_053e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10200/CXP_053e.pdf). [acceso: 8-10-12].
- CDC (2006). Center for Disease Control and Prevention. Ongoing multistate outbreak of *Escherichia coli* serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach—United States, September 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, September 29, 55 (38), pp: 1045-1046.
- CE (2002a). Comisión Europea. Report of the Scientific Committee on Food on risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. Disponible en: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out125\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out125_en.pdf). [acceso: 8-10-12].
- CE (2002b). Comisión Europea. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2000. Publicación DG SANCO/927/2002. Disponible en: [http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/mr/mr08\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/mr/mr08_en.pdf) [acceso: 8-10-12].
- Chun, H.H., Kim, J.Y., Lee, B.D., Yu, D.J. y Song, K.B. (2010). Effect of UV-C irradiation on the inactivation of inoculated pathogens and quality of chicken breasts during storage. *Food Control*, 21, pp: 276-280.
- Cortés, C., De la Fuente, R., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Dhahi, G., Mora, A., Justel, P., Contreras, A., Sánchez, A., Corrales, J.C. y Orden, J.A. (2005). Serotypes, virulence genes and intimin types of verotoxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli* isolated from healthy dairy goats in Spain. *Veterinary Microbiology*, 110 (1-2), pp: 67-76.
- Cutter, C.N. y Rivera-Betancourt, M. (2000). Interventions for the reduction of *Salmonella* Typhimurium DT 104 and Non-O157:H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* on beef surfaces. *Journal of Food Protection*, 63, pp: 1326-1332.
- ECDC/EFSA (2011). European Centre for Disease Prevention and Control/European Food Safety Authority. Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/166e.pdf>. [acceso: 5-10-12].



- EFSA (2007a). European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on the Biological Hazard on microbiological criteria and target based on risk analysis. *The EFSA Journal*, 462, pp: 1-29.
- EFSA (2007b). European Food Safety Authority. Scientific opinion of the panel on Biological Hazards on a request from EFSA on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *The EFSA Journal*, 579, pp: 1-61.
- EFSA (2011a). European Food Safety Authority. Urgent advice on the public health risk of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in fresh vegetables. *The EFSA Journal*, 9 (6), pp: 2274.
- EFSA (2011b). European Food Safety Authority. Statement summarising the Conclusions and Recommendations from the Opinions on the safety of Irradiation of Food adopted by the BIOHAZ and CEF Panels. *The EFSA Journal*, 9 (4), pp: 2107.
- EFSA (2011c). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. *The EFSA Journal*, 9 (7), pp: 2317.
- EFSA/ECDC (2011). European Food Safety Authority/European Centre for Disease Prevention and Control. The European Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-Borne Outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*, 9 (3), pp: 2090.
- EFSA/ECDC (2012). European Food Safety Authority/European Centre for Disease Prevention and Control. The European Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-Borne Outbreaks in 2010. *The EFSA Journal*, 10 (3), pp: 2597.
- Ewing, W.H. (1986). En libro: *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4ª edición. Nueva York. Elsevier Science Publishing Co., Inc.
- FAO/OMS (2008). Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation. Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report. *Microbiological Risk Assessment Series*, 14.
- Feng, P.C., Jinneman, K., Scheutz, F. y Monday, S.R. (2011). Specificity of PCR and serological assays in the detection of *Escherichia coli* Shiga toxin subtypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, pp: 6699-6702.
- Ferguson, D.D., Scheftel, J., Cronquist, A., Smith, K., Woo-Ming, A., Anderson, E., Knutsen, J., De, A.K. y Gershman, K. (2005). Temporally distinct *Escherichia coli* O157 outbreaks associated with alfalfa sprouts linked to a common seed source - Colorado and Minnesota, 2003. *Epidemiology and Infection*, 133, pp: 439-447.
- Frank, C., Werber, D., Cramer, J.P., Askar, M., Faber, M., Heiden, M.A., Bernard, H., Fruth, A., Prager, R., Spode, A., Wadl, M., Zoufaly, A., Jordan, S., Kemper, M.J., Follin, F., Müller, L., King, L.A., Rosner, B., Buchholz, U., Stark, K., Krause, G. y el equipo de investigación del SUH (2011). Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *The New England Journal of Medicine*, 365, pp: 1771-1780.
- Friedrich, A.W., Bielaszewska, M., Zhang, W.L., Pulz, M., Kuczius, T., Ammon, A. y Karch, H. (2002). *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *The Journal of Infectious Diseases*, 185, pp: 74-84.
- Friesema, I., Sigmundsdottir, G., van der Zwaluw, K., Heuvelink, A., Schimmer, B., de Jager, C., Rump, B., Briem, H., Hardardottir, H., Atladottir, A., Gudmundsdottir, E. y van Pelt, W. (2008). An international outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infection due to lettuce, September-October 2007. *EuroSurveillance*, 13 (50), pp: 19065.
- Friesema, I.H., Van de Kasstele, J., De Jager, C.M., Heuvelink, A.E. y Van Pelt, W. (2010). Geographical association between livestock density and human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infections. *Epidemiology and Infection*, 8, pp: 1-7.
- FSAI (2005). Food Safety Authority of Ireland. Determination of product shelf life. *Guidance note*, 18, pp: 1-56.
- Garmendia, J., Frankel, G. y Crepin, V.F. (2005). Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections: translocation, translocation, translocation. *Infection and Immunity*, 73, pp: 2573-2585. Review.
- Garrido, P., Blanco, M., Moreno-Paz, M., Briones, C., Dahbi, G., Blanco, J., Blanco, J. y Parro, V. (2006). STEC-EPEC

- oligonucleotide microarray: a new tool for typing genetic variants of the LEE pathogenicity island of human and animal Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains. *Clinical Chemistry*, 52, pp: 192-201.
- Gelting, R.J., Baloch, M.A., Zarate-Bermudez, M.A. y Selman, C. (2011). Irrigation water issues potentially related to the 2006 multistate *E. coli* O157:H7 outbreak associated with spinach. *Agriculture Water Management*. doi:10.1016/j.agwat.2011.04.004.
- Grant J., Wendelber, A.M., Wendel, A., Jepson, B., Torres, P., Smelser, C. y Rolfs, R.Y. (2008). Spinach associated *Escherichia coli* O157:H7 outbreak, Utha and New Mexico, 2006. *Emerging Infectious Diseases*, 10, pp: 1633-1636.
- Guinée, P.A.M., Jansen, W.H., Wadström, T. y Sellwood, R. (1981). *Escherichia coli* associated with neonatal diarrhoea in piglets and calves. En libro: *Laboratory Diagnosis in Neonatal Calf and Pig diarrhoea, Current Topics in Veterinary and Animal Science*. La Haya. Leeww, P.W. y Guinée, P.A.M. Martinus-Nijhoff Pub., pp: 126-162.
- Gyles, C.L. (2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*, 85 (13 Suppl), pp: E45-62.
- Hayakawa, I., Kanno, T., Yoshiyama, K. y Fujio, Y. (1994). Oscillatory compared with continuous high pressure sterilization on *Bacillus steatothermophilus* spores. *Journal of Food Science*, 59, pp: 164-167.
- Hilborn, E.D., Mermin, J.H., Mshar, P.A., Hadler, J.L., Voetsch, A., Wojtkunski, C., Swartz, M., Mshar, R., Lambert-Fair, M.A., Farrar, J.A., Glynn, M.K. y Slutsker, L. (1999). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives International Medicine*, 159, pp: 1758-1764.
- Ibarra-Sanchez, L.S., Alvarado-Casillas, S., Rodriguez-Garcia, M.O., Martinez-Gonzales, N.E. y Castillo, A. (2004). Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals. *Journal of Food Protection*, 67, pp: 1353-1358.
- Itoh, Y., Sugita-Konishi, Y., Kasuga, F., Iwaki, M., Hara-Kudo, Y., Saito, N., Noguchi, Y., Konuma, H. y Kumagai, S. (1998). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 present in radish sprouts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, pp: 1532-1535.
- Johnson, R.P., Gyles, C.L., Huff, W.E., Ojha, S., Huff, G.R., Rath, N.C. y Donoghue, A.M. (2008). Bacteriophages for prophylaxis and therapy in cattle, poultry, and pigs. *Animal Health Research Reviews*, 9, pp: 201-215.
- Karmali, M.A., Mascarenhas, M., Shen, S., Ziebell, K., Johnson, S., Reid-Smith, R., Isaac-Renton, J., Clark, C., Rahn, K. y Kaper, J.B. (2003). Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *Journal Clinical Microbiology*, 41, pp: 4930-4940.
- Kaspar, C., Doyle, M.E. y Archer, J. (2009). Food Safety Review: non-O157:H7 Shiga toxin-producing *E. coli* from meat and non-meat sources. Food Research Institute, UW-Madison. Disponible en: [http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI\\_Brief\\_NonO157STEC\\_4\\_10.pdf](http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI_Brief_NonO157STEC_4_10.pdf) [acceso: 17-10-12].
- Koohmaraie, M., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Guerini, M., Shackelford, S.D. y Wheeler, T.L. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science*, 71, pp: 79-91.
- Lee, S. (2004). Microbial safety of pickled fruit and vegetables and hurdle technology. *Internet Journal of Food Safety*, 4, pp: 21-32.
- LeJeune, J.T. y Wetzel, A.N. (2007). Preharvest control of *Escherichia coli* O157 in cattle. *Journal Animal Science*, 85, pp: E73-E80.
- Loneragan, G.H. y Brashears, M.M. (2005). Pre-harvest interventions to reduce carriage of *E. coli* O157 by harvest-ready feedlot cattle. *Meat Science*, 71, pp: 72-78.
- Martin, A. y Beutin, L. (2011). Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with food producing animals as main contamination sources. *International Journal of Food Microbiology*, 146, pp: 99-104.
- Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., Miyazaki, M., Ono, A. y Yanagawa, H. (1999). Massive out-

- break of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *American Journal of Epidemiology*, 150, pp: 787-796.
- Miko, A., Pries, K., Haby, S., Steege, K., Albrecht, N., Krause, G. y Beutin, L. (2009). Assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from wildlife meat as potential pathogens for humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, pp: 6462-6470.
- Mohle-Boetani, J.C., Farrar, J.A., Werner, S.B., Minassian, D., Bryant, R., Abbott, S., Slutsker, L. y Vugia, D.J. (2001). *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* infections associated with sprouts in California, 1996-1998. *Annals of Internal Medicine*, 135, pp: 239-247.
- Mora, A., Blanco, M., Blanco, J.E., Dahbi, G., López, C., Justel, P., Alonso, M.P., Echeita, A., Bernárdez, M.I., González, E.A. y Blanco, J. (2007). Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003. *BMC Microbiology*, 7, pp: 13.
- Mora, A., Blanco, M., Yamamoto, D., Dahbi, G., Blanco, J.E., López, C., Alonso, M.P., Vieira, M.A., Hernandez, R.T., Abe, C.M., Piazza, R.M., Lacher, D.W., Elias, W.P., Gomes, T.A. y Blanco, J. (2009). HeLa-cell adherence patterns and actin aggregation of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and Shiga-toxin-producing *E. coli* (STEC) strains carrying different *eae* and *tir* alleles. *International Microbiology*, 12, pp: 243-251.
- Mora, A., Herrera, A., López, C., Dahbi, G., Mamani, R., Pita, J.M., Alonso, M.P., Llovo, J., Bernárdez, M.I., Blanco, J.E., Blanco, M. y Blanco, J. (2011). Characteristics of the Shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *International Microbiology*, 14, pp: 121-141. Review.
- Mora, A., López, C., Dhabi, G., López-Beceiro, A.M., Fidalgo, L.E., Díaz, E.A., Martínez-Carrasco, C., Mamani, R., Herrera, A., Blanco, J.E., Blanco, M. y Blanco, J. (2012). Seropathotypes, phylogroups, Stx subtypes, and intimin types of wildlife-carried, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains with the same characteristics as human-pathogenic isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, pp: 2578-2585.
- Nataro, J.P. y Kaper, J.B. (1998). Diarrheagic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology Reviews*, 11 (1), pp: 142-201.
- OMS (1998). Organización Mundial de la Salud. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/surface\\_decon.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/surface_decon.pdf). [acceso: 17-10-12].
- OMS (2005). Organización Mundial de la Salud. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Disponible en: <http://www.who.int/factseets/fs125/en> [acceso: 17-10-12].
- OMS (2008). Organización Mundial de la Salud. Foodborne Disease Outbreak. Guidelines for investigation and control. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241547222\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241547222_eng.pdf) [acceso: 17-10-12].
- Orden, J.A., Cortés, C., Horcajo, P., De la Fuente, R., Blanco, J.E., Mora, A., López, C., Blanco, J., Contreras, A., Sánchez, A., Corrales, J.C. y Domínguez-Bernal, G. (2008). A longitudinal study of verotoxin-producing *Escherichia coli* in two dairy goat herds. *Veterinary Microbiology*, 132 (3-4), pp: 428-434.
- Orskov, F. y Orskov, I. (1984). Serotyping of *Escherichia coli*. En libro: *Methods in Microbiology* volumen 14. Bergan, T. Nueva York. Academic Press, pp: 43-112.
- Riley, L.W., Remois, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Herbert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A. y Cohen, M.A. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *The New England Journal of Medicine*, 308 (12), pp: 681-685.
- Sánchez, S., García-Sánchez, A., Martínez, R., Blanco, J., Blanco, J.E., Blanco, M., Dahbi, G., Mora, A., Hermoso de Mendoza, J., Alonso, J.M. y Rey, J. (2009). Detection and characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* other than *Escherichia coli* O157:H7 in wild ruminants. *The Veterinary Journal*, 180, pp: 384-388.
- Sánchez, S., Martínez, R., García, A., Vidal, D., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Herrera-León, S., Echeita, A., Alonso, J.M. y Rey, J. (2010). Detection and characterisation of O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wild boars. *Veterinary Microbiology*, 143, pp: 420-423.
- SCVPH (2003). Scientific Committee on veterinary measures relating to public health. Opinion of the Scientific

- Committee on veterinary measures relating to public health on verotoxigenic *E. Coli* (VTEC) in foodstuffs. 21-22 January.
- Silvestro, L., Caputo, M., Blancato, S., Decastelli, L., Fioravanti, A., Tozzoli, R., Morabito, S. y Caprioli, A. (2004). Asymptomatic carriage of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in farm workers in Northern Italy. *Epidemiology Infection*, 132, pp: 915-919.
- Söderström, A., Lindberg, A. y Andersson, Y. (2005). EHEC O157 outbreak in Sweden from locally produced lettuce, August-September 2005. *EuroSurveillance*, 10 (38), pii=2794.
- Stephan, R., Ragettli, S. y Untermann, F. (2000). Prevalence and characteristics of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in stool samples from asymptomatic human carriers working in the meat processing industry in Switzerland. *Journal Applied Microbiology*, 88, pp: 335-341.
- Tyrrel, S.F., Knox, J.W. y Weatherhead, E.K. (2006). Microbiological water quality requirements for salad irrigation in the United Kingdom. *Journal of Food Protection*, 69, pp: 2029-2035.
- UE (1998). Unión Europea. Decisión nº 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 24 de septiembre de 1998, por la que se crea una red de vigilancia epidemiológica y de control de las enfermedades transmisibles en la Comunidad. DO L 68 de 3 de octubre de 1998, pp: 1-7.
- UE (2005). Unión Europea. Reglamento (CE) Nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.
- UE (2007). Unión Europea. Reglamento (CE) Nº 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 322 de 7 de diciembre de 2007, pp: 12-29.
- UE (2009). Unión Europea. Decisión de la Comisión de 2 de abril de 2009 que modifica la Decisión 2000/96/CE en lo relativo a las redes especializadas de vigilancia de las enfermedades transmisibles. DO L 97 de 3 de abril de 2009, pp: 27-30.
- USFDA (2001) U.S. Food and Drug Administration. Hazard Analysis and Critical Control Point (HAACP); Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Juice. *Federal Register*, 66 (13), pp: 6137-6202.
- Wells, J.E., Shackelford, S.D., Berry, E.D., Kalchayanand, N., Guerini, M.N., Varel, V.H., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Freetly, H.C., Wheeler, T.L., Ferrell, C.L. y Koohmaraie, M. (2009). Prevalence and level of *Escherichia coli* O157:H7 in feces and on hides of feedlot steers fed diets with or without wet distillers grains with soluble. *Journal of Food Protection*, 72, pp: 1624-1633.
- Wendel, A.M., Johnson, D.H., Sharapov, U., Grant, J., Archer, J.R., Monson, T., Koschmann, C. y Davis, J.P. (2009). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of packaged spinach, August-September 2006: the Wisconsin investigation. *Clinical Infectious Disease*, 48, pp: 1079-1086.
- Zhao, T., Doyle, M.P., Harmon, B.G., Brown, C.A., Mueller, P.O.E. y Parks, A.H. (1998). Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. *Journal Clinical Microbiology*, 36, pp: 641-647.
- Zhao, T., Zhao, P., West, J.W., Bernard, J.K., Cross, H.G. y Doyle, M.P. (2006). Inactivation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in rumen content or feces-contaminated drinking water for cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, pp: 3268-3273.