

Contaminación por *Escherichia coli* Shigatoxigénica en Puestos de Expendio de Carne de Pollo en un Distrito de Lima

SHIGATOXIGENIC *Escherichia coli* CONTAMINATION IN CHICKEN MEAT STALLS IN A DISTRICT OF LIMA, PERU

Juan Raúl Lucas L.¹, Siever Morales Cauti^{2,5}, Erika Paloma Salazar Jiménez⁴, Carlos Eslava Campos⁴, Débora E. Alvarado³

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar si los puestos de venta de carne de pollo son una fuente de contaminación con *Escherichia coli* shigatoxigénica (STEC) en mercados de abastos. Se tomaron hisopados de la superficie de manos, tablas de picar y mesas de 50 puestos de expendio de carne de pollo en el distrito de San Juan de Miraflores, Lima, Perú (n=150 muestras). Se realizó aislamiento microbiológico estándar e identificación molecular de los genes *stx1*, *stx2* y *eaeA* mediante PCR. El 42% (63/150) y 25.3% (38/150) de las muestras fueron positivas a *E. coli* y STEC, respectivamente. El 84% (42/50) y 66% (33/50) de los puestos de venta poseían al menos una de las superficies contaminadas con *E. coli* y STEC, respectivamente. El 68.3% (43/63) de las cepas de *E. coli* aisladas fueron patógenas por presentar al menos un gen evaluado. De estas, 38 cepas fueron STEC y presentaron los genes *stx1* (19.0%, 12/63), *stx2* (14.3%, 9/63) y las asociaciones: *stx1* y *stx2* (12.7%, 8/63), *stx1*, *stx2* y *eaeA* (6.3%, 4/63), *stx2* y *eaeA* (4.8%, 3/63), y *stx1* y *eaeA* (3.2%, 2/63). Se observaron prácticas de higiene deficientes en el puesto de venta y durante el expendio. Se confirma que los puestos de venta de carne de pollo del mercado limeño son fuente potencial de contaminación de STEC.

Palabras clave: *Escherichia coli*, mesa de expendio, tablas de picar, patógeno, prácticas de higiene, STEC

¹ Centro de Investigaciones IVITA, Estación El Mantaro, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Huancayo, Perú

² Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ Laboratorio Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁴ Laboratorio de Bacteriología Intestinal, Hospital Infantil Federico Gómez, D.F. México, México

⁵ E-mail: sieverm@hotmail.com

Recibido: 14 de enero de 2016

Aceptado para publicación: 22 de abril de 2016

ABSTRACT

The aim of this study was to determine if chicken meat stalls are sources of contamination with shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) in Lima, Peru. Swabs from the surfaces of hands, cutting boards and sale tables of 50 chicken meat stalls in a large market in the district of San Juan de Miraflores, Lima, Peru were taken (n=150 samples). Standard microbiological isolation and molecular identification of *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes by PCR was performed. Results showed that 42% (63/150) and 25.3% (38/150) of samples were positive for *E. coli* and STEC respectively. Besides, 84% (42/50) and 66% (33/50) of chicken meat stalls had at least one contaminated surface with *E. coli* and STEC respectively. Also, 68.3% (43/63) of strains of *E. coli* isolated were pathogenic for presenting at least one of the evaluated genes. There were 38 STEC strains and presented *stx1* (19.0%, 12/63), *stx2* (14.3%, 9/63) and the associations *stx1* and *stx2* (12.7%, 8/63), *stx1*, *stx2* and *eaeA* (6.3%, 4/63), *stx2* and *eaeA* (4.8%, 3/63), and *stx1* y *eaeA* (3.2%, 2/63). Poor hygiene practices were observed in the chicken meat retail stores. It is confirmed that chicken meat stalls in the Lima market were potential sources of contamination of STEC.

Key words: *Escherichia coli*, sale table, cutting board, pathogen, hygiene practices, STEC

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es una bacteria que forma parte de la microflora intestinal de los humanos y animales. Sin embargo, algunas cepas de *E. coli* han adquirido factores de virulencia que las hacen patógenas, denominándose cepas diarrogénicas o patógenas, las cuales se clasifican en seis patotipos o subgrupos (Nataro y Kaper, 1998). *E. coli* shigatoxigénica (STEC) es el patotipo más común causante de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) que ha emergido en los últimos años (Gyles, 2007).

Las STEC poseen las shigatoxinas (Stxs), *Stx1* y *Stx2*, que son factores de virulencia de naturaleza proteica, codificados en los genes *stx1* y *stx2*. Stxs producen colitis hemorrágica, pero también conllevan una acción sistémica que puede causar síndrome urémico hemolítico (SUH), una severa secuela que se caracteriza por falla renal, anemia hemolítica y trombocitopenia. La intimina (del gen *eaeA*) es otro factor de virulencia

importante que puede estar presente en STEC y mediante el cual se adhiere al enterocito (Gyles, 2007).

Los niños menores de 5 años y los ancianos constituyen el grupo más vulnerable, con una mayor incidencia de infecciones sintomáticas por STEC y alto riesgo de evolución a SUH (Thorpe, 2004). En el Perú, STEC se ha asociado al 9.2% de los cuadros de diarrea sanguinolenta en niños de menos de 5 años (Llanos *et al.*, 2012).

El principal reservorio de STEC son los rumiantes domésticos. Aparentemente el pollo y su carne no son reservorios importantes de STEC, encontrándose prevalencias de menos de 1% (Read *et al.*, 1990; Piérard *et al.*, 1997; Xia *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha reportado que el manejo en el puesto de venta incrementa la frecuencia de STEC en la carne debido a la contaminación cruzada durante su manipulación (Samadpour *et al.*, 1994; Chinen *et al.*, 2009; Etcheverria *et al.*, 2010; Alonso *et al.*, 2012).

Por lo expuesto, es importante confirmar si las actividades de expendio son una fuente de contaminación con STEC en uno de los más grandes mercados de abastos de Lima, Perú, especialmente si se considera que la carne de pollo es la de mayor consumo en el Perú y es también vehículo de ETA (Lucas *et al.*, 2013; Zambrano *et al.*, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Muestreo

Se evaluaron los puestos de venta de carne de pollo del Mercado Cooperativo de Ciudad de Dios, del distrito de San Juan de Miraflores, Lima, Perú. Se muestreó la totalidad de puestos de venta de carne de pollo ($n=50$) en marzo del 2013. El estudio se hizo en coordinación con la Gerencia de Salud Pública de la Municipalidad Distrital y los dirigentes del mercado de abasto.

Se tomaron tres muestras por puesto de venta con el uso de hisopos estériles. Estas fueron muestras de manos (hisopado de ambas manos), tablas de picar (hisopado de la superficie que tiene contacto con la carne) y mesa de expendio (hisopado de la mesa alrededor de la tabla), resultando en 150 muestras en total. Los hisopos se llevaron en medio de transporte Stuart y en caja térmica a 4 °C hasta el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Científica del Sur para la identificación microbiológica de *E. coli* y detección de los factores de virulencia determinantes de STEC.

Durante la toma de muestras se observaron las posibles faltas en las medidas de higiene presentes en cada uno de los puestos.

Identificación de *Escherichia coli*

La identificación de *E. coli* se realizó de forma convencional (MINSAs, 2005), la misma que incluyó un enriquecimiento en caldo tripticasa de soya (24 h, 37 °C) y aisla-

miento en agar McConkey (24 h, 37 °C) de colonias lactosa positivas. Estas cepas fueron evaluadas mediante pruebas bioquímicas de rojo de metilo, urea, Vorges Proskauer, fenilalanina, movilidad, citrato de Simmons, descarboxilación de la arginina, lisina y ornitina y oxidación del ácido glucónico, para confirmar la presencia de *E. coli*.

Identificación de Factores de Virulencia de STEC

Las cepas compatibles con *E. coli* fueron sometidas a dos protocolos de PCR para detectar los factores de virulencia propios de STEC; uno de PCR múltiple para detectar *stx1* y *stx2*, y uno de PCR simple para detectar *eaeA*.

Para ello se usaron cebadores descritos por Wu *et al.* (2010), que se muestran en el Cuadro 1. Se utilizó la técnica de extracción del DNA por shock térmico, descrita por Reischl *et al.* (2002). El volumen final de cada ensayo fue de 25 μ l, conteniendo 0.75 μ l de $MgCl_2$, 2.5 μ l de buffer de PCR 10X, 1.25 μ l de cada cebador evaluado, 0.5 μ l dNTP 200 μ M, 0.1 μ l Taq ADN polimerasa y 2 μ l de la muestra de ADN, ajustando el volumen final con agua bidestilada estéril. Las condiciones de los PCR fueron las descritas por Wu *et al.* (2010).

Para visualización de los productos amplificados se usó agarosa 1.5%, colocando 5 μ l del producto del PCR más 3 μ l del buffer de carga en cada pozo y se usó un voltaje de electroforesis de 90 V por 30 min. Los geles se tiñeron en bromuro de etidio (10 μ g. ml^{-1}) y se visualizaron en un transluminador (Uvitec, Alemania).

Análisis de Resultados

Se determinó la presencia de STEC si las cepas de *E. coli* poseían al menos una de las Stxs. Se evidenció la diferencia estadística entre el tipo de superficie evaluada y la frecuencia de *E. coli* y STEC mediante la prueba de Chi cuadrado, usando el paquete estadístico SPSS 23.

Cuadro 1. Cebadores usados para la detección de *E. coli* shigatoxigénica (STEC) en muestras de puestos de venta de carne de pollo

Gen	Secuencia 5' - 3'	Amplicón (bp)
<i>eaeA</i>	AAACAGGTGAAACTGTTGCC	454
	CTCTGCAGATTAACCTCTGC	
<i>stx1</i>	CAACACTGGATGATCTCAG	349
	CCCCCTCAACTGCTAATA	
<i>stx2</i>	ATCAGTCGTCACACTGGT	110
	CTGCTGTACAGTGACAAA	

Cuadro 2. Frecuencia de presentación de los genes *stx1*, *stx2* y *eaeA* en 63 cepas aisladas de *E. coli* de superficies de puestos de venta de carne de pollo (manos del trabajador, tabla de picar y mesa de expendio) en un mercado de abastos de San Juan de Miraflores, Lima

Cepas	Manos de trabajador	Tabla de picar	Mesa de expendio	Total (%)
<i>stx1</i>	5	3	4	19.0
<i>stx2</i>	5	1	3	14.3
<i>stx1 + stx2</i>	1	2	5	12.7
<i>eaeA</i>	1	4	0	7.9
<i>stx1 + stx2 + eaeA</i>	1	2	1	6.3
<i>stx2 + eaeA</i>	1	2	0	4.8
<i>stx1 + eaeA</i>	2	0	0	3.2
Total	16	14	13	68.3

RESULTADOS

El 42% (63/150) y 25.3% (38/150) de las muestras fueron positivas a *E. coli* y STEC, respectivamente. El 84% (42/50) y 66% (33/50) de los puestos de venta poseían al menos una de las superficies contaminadas con *E. coli* y STEC, respectivamente; sin encontrarse diferencia estadística entre la presentación de *E. coli* o STEC y el tipo de superficie muestreada (Figura 1).

Se identificaron 63 cepas de *E. coli*, donde 21 fueron aisladas de manos de los trabajadores, 20 de tablas de picar y 22 de mesas de expendio. El 60.3% (38/63) de las cepas presentaron al menos un gen que codifica alguna de las dos Stxs. El 68.3% (43/63) de las cepas de *E. coli* presentaron al menos un gen de virulencia evaluado (cepas patógenas) y el 6.3% (4/63) de las cepas poseían los tres factores de virulencia. La frecuencia de cepas con factores de virulencia de interés en la salud pública se muestra en el Cuadro 2.

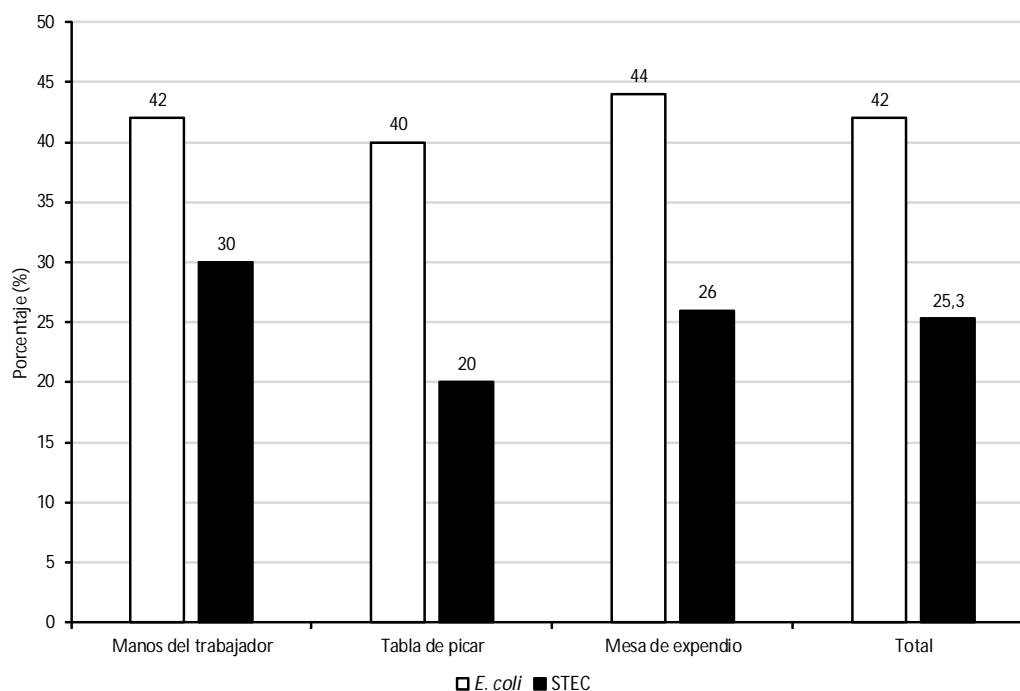


Figura 1. Frecuencia de *E. coli* y STEC en superficies de puestos de venta de carne de pollo (manos del trabajador, tabla de picar y mesa de expendio) en un mercado de abastos en San Juan de Miraflores, Lima (50 muestras por superficie)

Se observaron diversas deficiencias de buenas prácticas de manufactura durante el expendio en el puesto de venta. La mayoría de los vendedores no contaban con guantes, cobertores de cabello ni tapabocas. Tampoco disponían de un lavatorio apropiado donde lavarse las manos ni otro donde lavar y desinfectar los cuchillos y tablas con las debidas frecuencias.

En todos los puestos se observó canales de pollo sin eviscerar, la carne se vendía sin conservación en refrigeración y los manipuladores de la carne también realizaban el cobro. Además, los puestos de venta limitaban con otros puestos de venta de alimentos, como verduras, carne de pescado, especias y abarrotes.

DISCUSIÓN

La presencia de STEC en al menos una de las superficies contaminadas del 66% de

los puestos de venta confirma al puesto de expendio de carne de pollo como fuente de contaminación con este agente.

Stxs son considerados factores de virulencia críticos en las enfermedades producidas por STEC. Stxs se unen a las células que poseen receptores afines bloqueando la síntesis proteica por su daño irreversible al ARN ribosomal (Endo *et al.*, 1988). En el presente trabajo se determinó que 12.7% (8/63) de las cepas presentaron el gen *stx1* y *stx2*, el 19.0% (12/63) presentaron el gen *stx1* y el 14.3% (9/63) el gen *stx2*.

Diversos reportes señalan que el *stx2* es el gen predominante de los STEC presente en varios niveles de la cadena de comercialización de la carne (Blanco *et al.*, 2004). *Stx2* es más tóxico para las células endoteliales microvasculares renales de los humanos que la *Stx1* (Louise y Obrig, 1995) y con mayor riesgo de desarrollar SUH (Paton y Paton, 2002; Ethelberg *et al.*, 2004).

Por otro lado, se ha descrito que la presencia en asociación de los genes *eaeA* y *stx2* resulta en una mayor severidad de la enfermedad (Ethelberg *et al.*, 2004; Persson *et al.*, 2007). El presente trabajo identificó el 4.8% (3/63) de cepas con esta combinación y 6.3% (4/63) que poseían los tres factores de virulencia evaluados. Además, el 3.2% (2/63) de las cepas presentaron *eaeA* y *stx1*, lo cual también representa un problema de salud pública (Ethelberg *et al.*, 2004; Gyles, 2007).

El 7.9% (5/63) de cepas de *E. coli* eran portadoras del gen *eaeA* y negativos a Stxs, cepas también patógenas para el hombre pues pueden ser del patotipo *E. coli* enteropatógena, lo cual podría confirmarse identificando otros factores de virulencia no evaluados en este análisis (Nataro y Kaper, 1998), o incluso podría tratarse de cepas de STEC, que durante el cultivo y subcultivo perdieron las Stxs (Tomas *et al.*, 2012).

La presencia de estos patógenos en el puesto de venta podría explicarse en gran medida por las prácticas de los manipuladores observadas durante el muestreo. En los mercados peruanos es común observar la venta de carne sin conservación en refrigeración y, más grave aún, la presencia de canales de pollo sin eviscerar, costumbre que el consumidor asocia a un estado de frescura de la carne. Es probable que esta mala práctica favorezca una contaminación desde la canal hacia el puesto de venta, con el riesgo inminente de una magnificación posterior de esta contaminación, como se ha observado en otros estudios (Samadpour *et al.*, 1994; Chinen *et al.*, 2009; Etcheverría *et al.*, 2010; Alonso *et al.*, 2012).

Algunos puestos poseían tablas de picar de madera, las cuales son inadecuadas por favorecer la formación de biopelículas y con ello la perpetuación del agente en el puesto. Algunas cepas de *E. coli* pueden desarrollar biopelículas como resultado de una mayor producción de exopolisacáridos (Ryu

et al., 2004), la que las hacen resistentes incluso a soluciones de hipoclorito (Ryu y Beuchat, 2005; Wilks *et al.*, 2005).

También debería considerarse la transmisión de *E. coli* y STEC hacia las carnes a través de moscas y desde fuentes externas como aire, suelo y agua (Keen *et al.*, 2006). Asimismo, la recepción del dinero realizado por los manipuladores podría ser otra fuente de contaminación a tenerse en consideración (Ukwuru y Gabriel, 2012). Tampoco debería descartarse que los mismos vendedores pudieran fungir de reservorios de *E. coli* y STEC, y contaminar el puesto a través de sus manos y malas prácticas de higiene.

Es probable que, aunque el pollo usualmente no es un reservorio importante de STEC, el manejo en expendio y el puesto de venta favorezcan la contaminación de la carne con este agente, por lo que debería hacerse énfasis en la preparación cuidadosa de esta carne a nivel doméstico. Con estos resultados, debería fortalecerse el control de las buenas prácticas en el expendio, responsabilidad directa de los gobiernos locales y distritales, pues está demostrándose que la actual actividad es un riesgo de salud pública.

CONCLUSIONES

Los puestos de venta de carne de pollo en el Mercado Cooperativo de Ciudad de Dios, del distrito de San Juan de Miraflores, Lima, es fuente potencial de contaminación con *Escherichia coli* y STEC.

LITERATURA CITADA

1. **Alonso MZ, Lucchesi PMA, Rodríguez EM, Parma AE, Padola NL. 2012.** Enteropathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) in broiler chickens and derived products at different retail stores. Food Control 23: 351-355. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.07.030

2. **Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, Blanco J. 2004.** 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. *J Clin Microbiol* 42: 311-319.
3. **Chinen I, Epsztejn S, Melamed CL, Aguerre L, Martínez-Espinosa E, Motter MM, et al. 2009.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef and chicken burgers, and chicken carcasses in Buenos Aires, Argentina. *Int J Food Microbiol* 132: 167-171. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.021
4. **Endo Y, Tsurugi K, Yutsudo T, Takeda Y, Ogasawara T, Igarashi K. 1988.** Site of action of a Vero toxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur J Biochem* 171: 45-50. doi: 10.1111/j.1432-1033.1988.tb13756.x
5. **Etcheverría AI, Padola NL, Sanz ME, Polifroni R, Krüger A, Passucci J, Rodríguez EM, et al. 2010.** Occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci* 86: 418-421. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.05.027
6. **Ethelberg S, Olsen KE, Scheutz F, Jensen C, Schiellerup P, Enberg J, Petersen AM, et al. 2004.** Virulence factors for hemolytic uremic syndrome, Denmark. *Emerg Infect Dis* 10: 842-847. doi: 10.3201/eid1005.030576
7. **Gyles CL. 2007.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci* 85: 45-62. doi: 10.2527/jas.2006-508
8. **Keen JE, Wittum T, Dunn JR, Bono J, Durso LM. 2006.** Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 in agricultural fair livestock, United States. *Emerg Infect Dis* 12: 780-786.
9. **Llanos A, Lee J, López F, Contreras C, Barletta F, Chea-Woo E, Ugarte C, Cleary TG, Ochoa TJ. 2012.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Peruvian children with bloody diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 31: 314-316. doi: 10.1097/INF.0b013e318244000c
10. **Louise CB, Obrig TG. 1992.** Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: combined cytotoxic effects of shiga toxin and lipopolysaccharide (endotoxin) on human vascular endothelial cells *in vitro*. *Infect Immun* 60: 1536-1543.
11. **Lucas J, Vilca M, Ramos D. 2013.** Presencia de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 24: 346-352. doi: 10.15381/rivep.v24i3.2583
12. **Nataro JP, Kaper JB. 1998.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11: 142-201.
13. **[MINSA] Ministerio de Salud del Perú. 2005.** Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. Lima: CEPREDIM. Serie de normas técnicas N.º 28. 106 p.
14. **Paton AW, Paton JC. 2002.** Direct detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for stx1, stx2, eae, ehxA and saa. *J Clin Microbiol* 40: 271-274. doi: 10.1128/JCM.40.1.271-274.2002
15. **Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, Scheutz F. 2007.** Subtyping methods for *Escherichia coli* Shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlation to clinical manifestations. *J Clin Microbiol* 45: 2020-2024. doi: 10.1128/JCM.02591-06
16. **Piérard D, Van Damme L, Moriau L, Stevens D, Lauwers S. 1997.** Virulence factors of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from raw meats. *Appl Environ Microbiol* 63: 4585-4587.
17. **Read SC, Gyles CL, Clarke RC, Lior H, McEwen S. 1990.** Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef, pork, and chicken in southwestern Ontario. *Epidemiol Infect* 105: 11-20. doi: 10.1017/S0950268800047592

18. **Reischl U, Youssef MT, Kilwinski J, Lehn N, Zhang WI, Karch H, Strockbine N. 2002.** Real-time fluorescence PCR assays for detection and characterization of Shiga toxin, intimin, and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 40: 2555-2565. doi: 10.1128/JCM.40.7.2555-2565.2002
19. **Ryu JH, Beuchat LR. 2005.** Biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel: effect of exopolysaccharide and curli production on its resistance to chlorine. *Appl Environ Microbiol* 71: 247-254. doi: 10.1128/AEM.71.1.247-254.2005
20. **Ryu JH, Kim H, Beuchat LR. 2004.** Attachment and biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel as influenced by exopolysaccharide production, nutrient availability, and temperature. *J Food Prot* 67: 2123-2131.
21. **Samadpour M, Ongerth JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, Wilson RA, Tarr PI. 1994.** Occurrence of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Appl Environ Microbiol* 60: 1038-1040.
22. **Thomas KM, McCann MS, Collery MM, Logan A, Whyte P, McDowell DA, Duffy G. 2012.** Tracking verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, O26, O111, O103 and O145 in Irish cattle. *Int J Food Microbiol* 153: 288-296. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.012
23. **Thorpe CM. 2004.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin Infect Dis* 38: 1298-1303. doi: 10.1086/383473
24. **Ukwuru MU, Gabriel A. 2012.** Cross contamination between food and money due to simultaneous handling. *J Appl Sci Environ* 3: 42-48.
25. **Wilks SA, Michels H, Keevil CW. 2005.** The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *Int J Food Microbiol* 105: 445-454.
26. **Wu Y, Hinenoya A, Taguchi T, Nagita A, Shima K, Tsukamoto T, Sugimoto N, et al. 2010.** Distribution of virulence genes related to adhesins and toxins in shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle and diarrheal patients in Japan. *J Vet Med Sci* 72: 589-597. doi: 10.1292/jvms.09-0557
27. **Xia X, Meng J, McDermott PF, Ayers S, Blickenstaff K, Tran TT, Abbott J, et al. 2010.** Presence and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* and other potentially diarrheagenic *E. coli* strains in retail meats. *Appl Environ Microbiol* 76: 1709-1717. doi: 10.1128/AEM.01968-09
28. **Zambrano H, Lucas JR, Vilca M, Ramos D. 2013.** Determinación de *Salmonella* spp en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 24: 337-345. doi: 10.15381/rivep.v24i3.2582