



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CAMPUS II



**IDENTIFICACIÓN DE PATOTIPOS DE *Escherichia coli* AISLADOS EN
HECES DE BECERROS EN LA FRAILESCA, CHIAPAS**

TESIS

que para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

Presenta

RUBEN HERNANDEZ PEREZ PS1525

Director

GERARDO URIEL BAUTISTA TRUJILLO

**Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Marzo, 2021**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS, CAMPUS V.
DIRECCIÓN



Villaflores, Chiapas
04 de marzo de 2021
Oficio N° D/0077/2021

C. RUBÉN HERNÁNDEZ PÉREZ
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V.
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado, designado para su evaluación de posgrado, de la tesis titulada: **“Identificación de patotipos de *Escherichia coli* aislados en heces de becerros en la Frailesca, Chiapas”**, por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR”

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS



M. C. CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ SANABRIA
ENCARGADO DE LA DIRECCIÓN

C. c. p. Archivo

CAVS*MARH.



Código: FO-113-09-05

Revisión: 0

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

El (la) suscrito (a) **Rubén Hernández Pérez**, Autor (a) de la tesis bajo el título de “**Identificación de patotipos de *Escherichia coli* aislados en heces de becerros en la Frailesca, Chiapas,**” presentada y aprobada en el año 2021 como requisito para obtener el título o grado de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**, autorizo a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), a que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para que contribuya a la divulgación del conocimiento científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI- UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los **04** días del mes de **Marzo** del año **2021**.



Rubén Hernández Pérez

Nombre y firma del Tesista

AGRADECIMIENTO

En primer lugar quiero agradecer a **dios** el que en todo momento está conmigo, por permitirme tener y disfrutar a mi familia, por permitirme vivir y lograr las metas cada día.

Quiero agradecer al doctor **Gerardo Uriel Bautista Trujillo**, quien con sus conocimientos y apoyo me guió a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.

Mis agradecimientos a los doctores **Francisco Antonio Cigarroa Vázquez, Benigno Ruiz Sesma, Carlos Tejeda Cruz** y a los maestro en ciencias **Herbey Ruiz Sesma** y **Mayra Isabel Hernández Hernández**, por sus consejos y ayuda en los trabajos realizados, permitiéndome llegar a los resultados de la tesis y lograr las metas propuestas.

También quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología **CONACYT** por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación. No hubiese podido arribar a estos resultados de no haber sido por su incondicional ayuda.

Por último, quiero agradecer a todos mis **compañeros** y a mi **familia**, por apoyarme aun cuando mis ánimos decaían. En especial, quiero hacer mención de mis padres, esposa e hijo que siempre estuvieron ahí para darme palabras de apoyo y un abrazo reconfortante para renovar energías.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Importancia del sector ganadero de doble propósito en México	3
2.2 síndrome de diarrea neonatal en los bovinos	4
2.3 La importancia de <i>E. coli</i> en la salud humana y animal.....	6
2.4 Principales patotipos de <i>E. coli</i> causantes de diarrea	6
2.4.1 <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	7
2.4.2 <i>E. Coli</i> enteropatógena (EPEC).....	8
2.4.4 <i>E. coli</i> shigatoxigenica (STEC).....	8
2.4.5 <i>E. coli</i> septicémica	9
2.4.6 <i>E. coli</i> enteroagregativa (EA _g gEC)	9
2.5 Mecanismos de patogenicidad de <i>E. coli</i>	9
2.6 Resistencia de <i>E. coli</i> a los antimicrobianos	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1 Localización del área de estudio	12
3.2 Estimación del tamaño de muestra	13
3.3 Trabajo de campo	13
3.4 Trabajo de laboratorio	13
3.4.1 Cultivo bacteriológico.....	13
3.4.2 aislamiento bacteriano	13

3.4.3 Reacción en cadena de la polimerasa	14
3.4.4 Análisis de sensibilización a los antimicrobianos	15
4. RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	16
5. CONCLUSIONES	19
6. LITERATURA CITADA	20

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Principales agentes etiológicos del síndrome de diarrea neonatal bovino. Adaptado por Olguín y Bernal, 2007.	5
Ilustración 2. Localización del área de estudio, región VI frailesca, Chiapas.	12
Ilustración 3. Susceptibilidad antibiótica de 186 cepas de <i>Escherichia coli</i> . AM; Ampicilina, CB; Carbenicilina, AK; Amikacina, GE; Gentamicina, NET; Netilmicina, CF; Cefalotina, CFX; Cefotaxima, CPF; Ciprofloxacina, NOF; Norfloxacina, CL; Cloranfenicol, SXT; Trimetoprima-Sulfametoxazol, NF; Nitrofurantoina.	18

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales características de los patotipos de <i>Escherichia coli</i> causantes de diarrea en becerros. Adaptado por Coura <i>et al</i> , 2014.	7
Tabla 2. Resultados de genes de virulencia identificados en cepas de muestras de heces de becerros bovinos de la región Frailesca, Chiapas.	17

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina a nivel mundial tiene un papel indispensable en la producción de alimentos de origen animal; existe un consumo per cápita de carne de bovino en América Latina y el Caribe de 18 a 19 kg/persona/año y en México se consume 8.8 kg (OECD-FAO, 2019).

A nivel nacional en México existen sistemas de producción de bovinos en función de la localización geográfica, siendo el sistema doble propósito el más popular y empleado en la parte sureste del país. Chiapas y sus distintas regiones socioeconómicas con potencial ganadero como la región norte, istmo-costera, frailesca y región centro, explotan los sistemas de producción en los que se realiza las actividades bajo un manejo extensivo o bien semi estabulado, obteniendo producción de leche y producción de becerros, que aporta un ingreso importante en la economía de las familias (Orantes *et al.*, 2014).

En lo que respecta a la producción de becerros estos pueden ser afectados en los primeros días de vida debido a la inmadurez del sistema inmune, aunado a un deficiente manejo postparto y la presencia de agentes etiológicos que causan el síndrome de diarrea neonatal bovina entre los que destacan rotavirus y coronavirus, protozoarios como coccidias spp y bacterianos como *salmonella spp*, *clostridium perfringens tipo C* y *E. coli*. Cualquiera que sea la etiología de la diarrea existe un desarrollo de coliformes como *E. coli* en el intestino delgado de los terneros afectados, (Spetter *et al.*, 2015). Olguín y Bernal (2007) mencionan que *E. coli* enterotoxigénico puede llegar alcanzar un 22 % de incidencia en los casos de diarreas en becerros jóvenes.

La importancia de la caracterización patógena de *E. coli* radica en la diferenciación de la microbiota tanto en animales como en humanos; existen cepas de importancia en salud animal conocidas como *E. coli* diarreogénicas que sintetizan distintos factores de virulencia (Rodríguez-Ángeles, 2002).

Pourtaghi *et al.* (2015) mencionan a la *E. coli* enterotoxigénica y el factor de adhesión, así como la producción de enterotoxinas *lt* y *st*, como la principal fuente de enfermedad en el becerro. Otra problemática de suma importancia es el patotipo de *E. coli* secretora de toxina shiga, que puede causar colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (SUH) en infantes y púrpura trombocitopénica (Strockbine *et al.*; 1986). Este tipo de bacterias, poseen genes de toxinas Shiga (*stx1*, *stx2* y variantes) y constituyen los principales factores de virulencia responsables de la patogenicidad de la cepa, junto con otros 2 factores de virulencia que aumentan su patogenicidad,

el gen cromosomal (*eaeA*), responsable de la adherencia íntima y por el gen *ehxA* (Méndez *et al.*, 2013).

Por ser la región muestreada una zona de importancia para el sector ganadero y enfocado a la producción de forma semi estabulada, en la que se presenta el hacinamiento y estrés del becerro, considerados como consecuencias en la presentación de una mayor probabilidad de la expresión de los factores de virulencia de *E. coli* de importancia en salud animal y salud pública.

1.1 Objetivos

Objetivo general

Identificar grupos patogénicos de *E. coli* aislados en heces de becerros bajo sistemas de manejo doble propósito en la región Frailesca, Chiapas.

Objetivos específicos

- a) Aislar e identificar patotipos de *E. coli* en heces de becerros de la región Frailesca, Chiapas.

- b) Determinar la susceptibilidad antimicrobiana en las cepas de *E. coli* halladas.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia del sector ganadero de doble propósito en México

El sistema de producción bovina de Doble Propósito (DP) se considera como una de las principales actividades productivas del sector agropecuario en México para la producción de leche y carne desarrollándose principalmente bajo el sistema de manejo de pastoreo extensivo, con una ordeña manual y para el estímulo del descenso de la leche se usa al becerro. La reproducción es a través de cruza entre las razas *Bos indicus* x *Bos taurus* (F1) (Cebú x suizo; Cebú x Holandés y Cebú x Simmental, entre otras más). Considerado un sistema rentable y tradicional que aporta al mercado 25 % de la leche y la producción de carne se basa en la venta del becerro al destete (Orantes *et al.*, 2010)

Una ventaja del sistema doble propósito es la adaptabilidad que se aprecia en las regiones tropicales, entre ellas encontramos la resistencia a enfermedades bacterianas, víricas y parasitarias, en la producción de leche y carne que se logra del cruzamiento de bovinos con el objetivo de mejores índices de desarrollo reflejados en las crías, mejor eficiencia productiva y reproductiva, así como mayor adaptabilidad al entorno (Martínez *et al.*, 2012, Román-Ponce *et al.*, 2013).

En Chiapas, la ganadería bovina doble propósito se considera la base del sector primario y es una actividad importante en la economía del estado. Esta actividad concentra 90 % del valor total de la producción pecuaria, siendo el sistema de DP el más representativo al ocupar 2.9 millones de hectáreas equivalente al 33 % del territorio estatal (Orantes *et al.*, 2010).

La importancia del presente estudio se asocia a que Chiapas cuenta con el cuarto mayor inventario bovino en México con más de 2, 544,219 semovientes y aporta 5.4% (197,669 t) de la producción nacional de carne de bovino, por lo que es considerada una actividad esencial en la economía y la producción de alimentos de origen animal para nuestro país (SIAP, 2018).

A nivel regional Chiapas es uno de los estados de la república Mexicana en donde la ganadería bovina se considera la base del sector primario considerado como una actividad importante en la economía del estado; esta actividad concentra 90 % del valor total de la producción pecuaria, siendo el sistema de doble propósito (DP) el más representativo al ocupar 2.9 millones de hectáreas equivalente al 33 % del territorio estatal, distribuida en sus distintas regiones socioeconómicas (Orantes *et al.*, 2014).

Una de las zonas de mayor importancia por la aportación a la producción pecuaria del estado es la zona Frailesca del estado de Chiapas, ocupando la segunda región de mayor extensión territorial en el estado. La zona frailesca aporta el 13.1% de los becerros del inventario estatal y que posteriormente son exportados principalmente para las industrias de engorda del norte y centro del país (PGN, 2018).

2.2 síndrome de diarrea neonatal en los bovinos

La Diarrea en el becerro recién nacido es una enfermedad de suma importancia en el sector pecuario que afecta a la producción de carne de bovino y es considerada como uno de los grandes retos de las empresas ganaderas y lecheras a nivel mundial presentando una incidencia alta de morbilidad y mortalidad principalmente en los lugares donde se aplican sistemas de confinamiento y stress (Lorenz *et al.*, 2011).

Spetter *et al.* (2015), nos describe datos de este síndrome en donde menciona que puede afectar a becerros recién nacidos y hasta los 45 días de vida considerándose una patología multifactorial en donde intervienen distintos agentes tales como virus entre los que destacan rotavirus y coronavirus, protozoarios como coccidias spp y bacterianos como *salmonella* spp, *clostridium perfringens* tipo C y *E. coli*, Cualquiera que sea la causa de la diarrea, está demostrado que existe un crecimiento acelerado de coliformes, y fundamentalmente de *E. coli*, en el intestino delgado de los becerros afectados.

E. coli es considerada por muchos autores como la principal causante de la enfermedad conocida como colibacilosis que representa fallas en la transferencia pasiva de anticuerpos calostrales en las primeras dos semanas de vida aunado a las condiciones ambientales y nutricionales lo que conlleva a una inmunidad deficiente (Smith, 2012).

De acuerdo con Kaper *et al.* (2004) y Nguyen *et al.* (2010), *Escherichia coli* es uno de los agentes infecciosos asociados a la diarrea neonatal y la identificación de los distintos genes de patogenicidad ha permitido detectar la presencia de distintos patotipos de *E. coli* en los hatos ganaderos.

Umpierrez (2016), menciona la importancia de trabajos previos realizados en Uruguay, lo que han permitido detectar la presencia de *E. coli* en casos de problemas diarreicos en becerros neonatos y han sido útil para tomar medidas eficientes identificando cuales patotipos se encuentran circulando dentro de la ganadería de un país, y además, caracterizarlos de tal forma de conocer cuáles son sus propiedades moleculares, diversidad y citotoxicidad.

De acuerdo con Olgúin y Bernal (2007), los mecanismos de defensa en el bovino recién nacido no están completamente desarrollados, aunado a la condición de inmunosupresión promovida por niveles elevados de esteroides involucrados en el proceso del parto, el recién nacido es altamente susceptible a un amplio número de patógenos, provocando morbilidad y mortalidad elevadas debido a la diarrea aguda causada por los enteropatógenos, independientemente de la causa de la diarrea. El problema consiste en que el becerro no es capaz de absorber fluidos del intestino o reabsorber las secreciones del mismo, resultando en voluminosas cantidades de heces acuosas, lo que puede conducir a la muerte del animal por la pérdida de líquidos y desbalance electrolítico (Caffarena *et al.*, 2016).

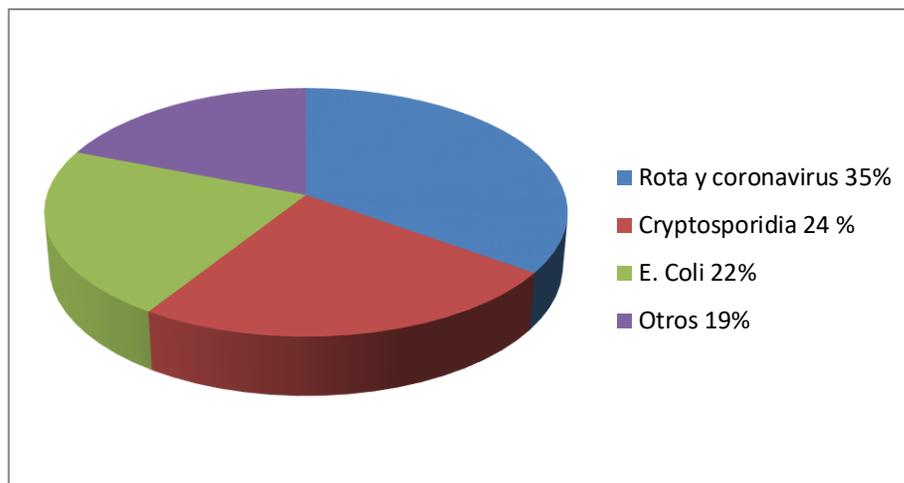


Ilustración 1. Principales agentes etiológicos del síndrome de diarrea neonatal bovino. Adaptado por Olgúin y Bernal, 2007.

Coura *et al.* (2014) define a la diarrea en el becerro y la describe como una de las enfermedades más comunes de terneros de hasta 30 días de edad y es un importante causa de pérdidas económicas; Su etiología es compleja e implica la interacción de diversas enfermedades infecciosas, nutricionales, inmunológicas y ambientales. Los principales signos clínicos son diarrea, deshidratación progresiva, acidosis metabólica, desequilibrio y equilibrio de electrolitos nivel de energía negativo con o sin hipoglucemia, que tratados, conducen a la muerte del animal, destacando a *E. coli* como un importante enteropatógeno involucrado en el síndrome diarreico (Caffarena *et al.*, 2017).

2.3 La importancia de *E. coli* en la salud humana y animal

E. coli es una de las bacterias que más ha sido estudiada a nivel mundial, el bacteriólogo alemán Theodore von Escherich, la describe por primera vez y trata de asociarla con enfermedades diarreicas en infantes; sin embargo al encontrarla presente en individuos sanos no le fue posible confirmar su hipótesis; años más tarde con la participación de científicos e investigaciones respecto al tema de diarrea infecciosa y sistémica, así como con la ayuda de las técnicas de tipificación moderna y confiables se confirmó que ciertas serovariedades de *E. coli* presentaban asociación con diarrea en niños (Margall, 1997).

La *E. coli* es un bacilo gramnegativo anaerobio facultativo y pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Este microorganismo es considerado como parte de la flora normal tanto de animales como de humanos; sin embargo, existen cepas patógenas de importancia en salud animal y salud pública (Morales *et al.*, 2017).

E. coli produce infecciones de importancia para la salud humana y animal en todo el mundo, siendo una de las causas más frecuentes de enfermedad en los terneros, la colonización e infección por esta bacteria ocasiona alteraciones en las funciones del intestino y además, aumenta el riesgo de bacteriemia y septicemia, esta bacteria presenta la mayor diversidad de mecanismos de resistencia antimicrobiana dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, también por su capacidad para transferir genes de resistencia hacia otras cepas o especies bacterianas (Spetter *et al.*, 2015).

2.4 Principales patotipos de *E. coli* causantes de diarrea

La importancia de la caracterización patógena de *E. coli* radica en la existencia de cepas patógenas de importancia en salud animal conocidas como *E. coli* causantes de diarrea o diarreogénicas con sus respectivos factores de virulencia (Rodríguez, 2002).

Coura *et al.* (2014) mencionaron que se han identificado cinco patotipos de *E. coli* relacionados a diarrea en terneros en las que se encuentran a *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* necrotoxicogénica (NTEC), los patotipos diarréogénicos para humanos, como *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* enteroagregativa (EAEC) aún no ha sido confirmado como causante de diarrea en terneros, sin embargo pueden ser reservorios asintomáticos y causante de zoonosis a través del consumo de carne de bovino o a través de heces contaminadas, lo que justifica la importancia del estudio de todos los patotipos de *E. coli*.

Tabla 1. Principales características de los patotipos de *Escherichia coli* causantes de diarrea en becerros. Adaptado por Coura *et al*, 2014.

Patotipo	Factores de virulencia		Serogrupos
	Adhesina	Toxina	
ETEC ^a	F5, F41, F17 e CS31A	<i>lt- sta</i>	O8, O9, O20, O101
EPEC ^b	<i>Intimina, Lpf, Iha, Efa1, ToxB</i>	-	O26, O111, O119, O114
STEC ^c	<i>Saa, ToxB, Lpf, Iha</i>	<i>Stx1, Stx2</i>	O8, O20
EHEC ^d	<i>Intimina, Efa 1, ToxB, Lpf, F9, Iha</i>	<i>Stx1, Stx2, EhxA</i>	O5, O26, O111, O118, O145
NTEC ^e	<i>P, S, F17, Afa</i>	<i>CNF1, CNF2</i>	O1, O3, O15, O88, O123

Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC), ^b *E. coli* enteropatógena (EPEC), ^c *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), ^d *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ^e *E. coli* necrotoxigénica (NTEC).

2.4.1 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

Este patotipo se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade pero elabora toxinas (*LT* y *ST*) que producen un problema diarreico. No hay cambios histológicos en las células de la mucosa y muy poca inflamación. La prevalencia de ETEC en terneros con diarreas varía mucho geográficamente, entre los hatos y en función de la edad de los animales. La prevalencia puede ser tan alta como 50-60% en los terneros diarreicos de 3 días de edad y sólo el 5-10% en terneros diarreicos de 8 días de edad (Gaggianesi *et al.*, 2016).

La prevalencia de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) varía en muchos países de un 5 a 8% en terneros diarreicos de 3 días de edad, por lo tanto la colibacilosis es una causa importante de diarrea en terneros de menos de 3 días de edad y no está asociado con brotes de diarrea en terneros de más de 3 días, la infección por ETEC en terneros mayores de 2-3 días en la mayoría de los casos se asocia con una infección con virus (Radostits *et al.*, 2006).

Pourtaghi *et al.* (2015), Mencionan que las cepas de ETEC que afectan a los becerros tienen el antígeno fimbrial F5 (K99), que les permite colonizar y proliferar en las partes distales del intestino delgado, comenzando con la colonización en el íleon, una vez establecidas en la mucosa intestinal comienzan a secretar la toxina termoestable ST que es la causante de la secreción de líquido desde la circulación sistémica al lumen intestinal resultando en grados variables de diarrea, shock y muerte.

2.4.2 *E. Coli* enteropatogénica (EPEC)

Esta cepa causa diarrea en humanos, conejos, perros y caballos, al igual que la enterotoxigénica, pero la etiología y los mecanismos moleculares de colonización son diferentes. Carece de fimbrias y no produce las toxinas ST y LT, pero utilizan la proteína, una adhesina, para adherirse a las células intestinales. (Gaggianesi *et al.*, 2016).

2.4.3 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

Este patotipo es inmóvil, no fermenta la lactosa. Invade el epitelio intestinal causando daño a través de diarrea sanguinolenta en niños y adultos. Libera el calcio en grandes proporciones afectando la solidificación ósea, produciendo artritis y en algunos casos arterioesclerosis (Gaggianesi *et al.*, 2016).

2.4.4 *E. coli* shigatoxigenica (STEC)

Otra problemática de suma importancia de acuerdo a Méndez *et al.* 2013, es el patotipo de *E. coli* productora de toxina shiga, en el humano pueden causar colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (SUH) en infantes y púrpura trombocitopénica, codificadas por genes de toxinas Shiga (*stx1*, *stx2* y variantes), constituyen los principales factores de virulencia responsables de la patogenicidad de la cepa junto con otros 2 factores que aumentan su potencialidad, el gen cromosomal (*eae*), responsable de la adherencia íntima y por el gen *ehxA*.

Estas toxinas fueron denominadas como Verotoxinas (VT) por su efecto citotóxico sobre células Vero (Knowalchuk *et al.*, 1977). Años después, se observó que también tenían efecto sobre células Hela, el que podía ser neutralizado por anticuerpos contra la toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1 y se las denominó toxinas Shiga (Stx) (O'Brien *et al.*, 1982)

2.4.4.1 *E. coli* enterohemorrágico (EHEC)

Existe un subgrupo denominado *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) que incluye a todas las cepas que causan enfermedad en el hombre, de las cuales el serotipo O157:H7 fue identificado como uno de los causantes del síndrome hemolítico urémico (SUH) en niños. Debido a su importancia, es común clasificarlos en dos categorías: O157 y no-O157 (Gyles, 2010).

Este grupo es de suma importancia para la Salud Pública a nivel mundial, son considerados patógenos emergentes que se transmiten por alimentos y se asocian a brotes y casos de diarrea, el principal agente etiológico del SUH es el serotipo O157:H7 sin embargo, existen otros serotipos de STEC, tales como O26, O103, O111, O145, O45, y O121, entre otros, asociados también a enfermedad severa. (Del Castillo, 2015).

2.4.5 *E. coli* septicémica

Cepas del serogrupo 078 son invasivas y la causa de septicemia en los terneros, lechones y corderos. Sus potentes endotoxinas causan shock endotóxico con una alta tasa de letalidad (Gaggianesi *et al.*, 2016).

2.4.6 *E. coli* enteroagregativa (EA_gEC)

Son llamadas enteroagregativas y halladas solo en humanos, porque tienen fimbrias con las que aglutinan células en los cultivos de tejidos. Se unen a la mucosa intestinal causando diarrea acuosa sin fiebre. No son invasivas, producen hemolisina y una enterotoxina ST similar a la de las enterotoxigénicas (Gaggianesi *et al.*, 2016).

2.5 Mecanismos de patogenicidad de *E. coli*

Nataro y Kaper (1998) señalan que la patogenicidad de *E. coli* se presenta de acuerdo con el grupo patógeno al que pertenecen según la serotificación inicialmente establecida por Kauffman el cual desarrolló un esquema para la determinación de serogrupos y serotipos de *E. coli* a partir de la identificación de antígenos somáticos (O), capsulares (K) y flagelar (H) que son de suma importancia para caracterizar y aislar casos de estudio con cuadros diarreicos de importancia epidemiológico.

Rodríguez (2002) mencionó que existen 153 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 91 capsulares (K). El antígeno “O” es el responsable del serogrupo; la

determinación del antígeno somático y flagelar (O: H) indica el serotipo, el cual en ocasiones se relaciona con un cuadro clínico en particular.

Coura *et al.* (2014) Indicaron que se produce la colonización de las células intestinales a través de adhesinas, que pueden ser fimbriales o no; la producción de diversas toxinas, que interactúan con los enterocitos de diferentes maneras, también es una característica común de las cepas de diarrea por *E. coli*; algunas cepas de *E. coli* interactúan con el citoesqueleto de las células del intestino, modificando la estructura de las microvellosidades de las células de vellosidades intestinales. Estos factores de virulencia están codificados por genes presentes en islas de plásmidos de patogenicidad o virulencia, y pueden también ser transferidos entre cepas de *E. coli* por bacteriófagos.

La pared celular se encuentra dividida en una capa de mureína y una membrana exterior que se basa en fosfolípidos, proteínas, lipoproteínas y lipopolisacáridos, las cepas que presentan movilidad lo efectúan a través de flagelos y tienen fimbrias que se utilizan tanto para unirse a las células del hospedador como para realizar intercambio de material genético entre las células bacterianas (Morales *et al.*, 2017).

2.6 Resistencia de *E. coli* a los antimicrobianos

Otra problemática que se presenta en la ganadería por parte de *E. coli* y que puede ser considerado como un peligro al sector de salud público a través de los factores de virulencia o genes asociados que se generan, es la resistencia a los antibióticos principalmente a los antimicrobianos betalactámicos; este es un problema debido a las mutaciones y la capacidad de las bacterias de transferir de forma horizontal su material genético, estableciendo una conexión entre el uso inadecuado de los antibióticos y la resistencia de la bacteria (Mosquito, 2011).

Labro y Bryskier (2014) definen a la resistencia antimicrobiana como la capacidad que posee un organismo de resistir la actividad bactericida o bacteriostática de un agente antimicrobiano esto establece que el agente etiológico no suspenderá su actividad de multiplicarse y diseminarse en un organismo por el efecto de dicho tratamiento.

La resistencia bacteriana puede ser innata o adquirida. En la primera, el antimicrobiano no tendrá ningún efecto sobre ésta, ya que la bacteria no posee el receptor o no es adecuado para que haga su efecto (Errecalde, 2004).

La resistencia adquirida, en la cual al inicio existe una población bacteriana susceptible que se vuelve resistente bajo condiciones específicas y se puede

producir por diferentes mecanismos (Labro y Bryskier, 2014), ya sea a través de la incorporación de genes que codifican enzimas específicas (Tenover, 2006), bombas de eflujo (Becerra *et al.*, 2009) o las mutaciones que modifiquen el sitio de unión del antimicrobiano impidiendo su ingreso a la célula (Giedraitiene *et al.*, 2011).

La transmisión de esta resistencia adquirida a otras bacterias se produce principalmente a través de mecanismos de conjugación mediante plásmidos, transposones o integrones, los cuales pueden portar incluso más de un gen de resistencia (Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001).

En los últimos años, la resistencia a los antibióticos ha sido definida como aquella resistencia hacia más de una familia o grupo de antibióticos de uso común, que además debe tener relevancia clínica y epidemiológica en animales, es un problema potencial para la salud humana, fundamentalmente durante la interacción de animales de producción que generan bacterias zoonóticas y resistentes, las cuales facilitan la transferencia de genes de resistencia entre las bacterias del ambiente animal y las patógenas para humanos (Spetter, 2015).

De acuerdo con los resultados de Mosquito *et al.* (2011). Los mecanismos de resistencia antibiótica en *E. coli* hacia ampicilina, trimetropim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloramfenicol y ácido nalidíxico son gravemente serios y son continuamente descritos en otras investigaciones similares.

Los principales mecanismos de resistencia a los antibióticos se encuentran la producción de enzimas conocidas como betalactamasas de espectro extendido (BLES), especialmente en bacterias Gram negativas. Las principales familias de BLES son las de tipo CTX-M, TEM, CMY, SHV y OXA. Estas enzimas de espectro extendido (BLES) que tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia a penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico (Navarro *et al.*, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la región socioeconómica VI Frailesca; en donde predomina un clima cálido sub-húmedo con lluvias en verano que alcanzan una precipitación anual entre los 700 a 1200 mm, se encuentra a una altitud de 700 a 1500 m.s.n.m; posee una temperatura que oscila entre 18 a 21 °C (García, 1974). La región se distribuye en 5 municipios Villacorzo, Villaflores, La concordia, Ángel Albino corzo y Montecristo (Programa regional de desarrollo región Frailesca, 2018). De acuerdo al padrón ganadero nacional (PGN, 2018) existe un total de unidades de producción pecuaria de 8282 en donde 183,840 son vientres y 67, 273 son becerros.

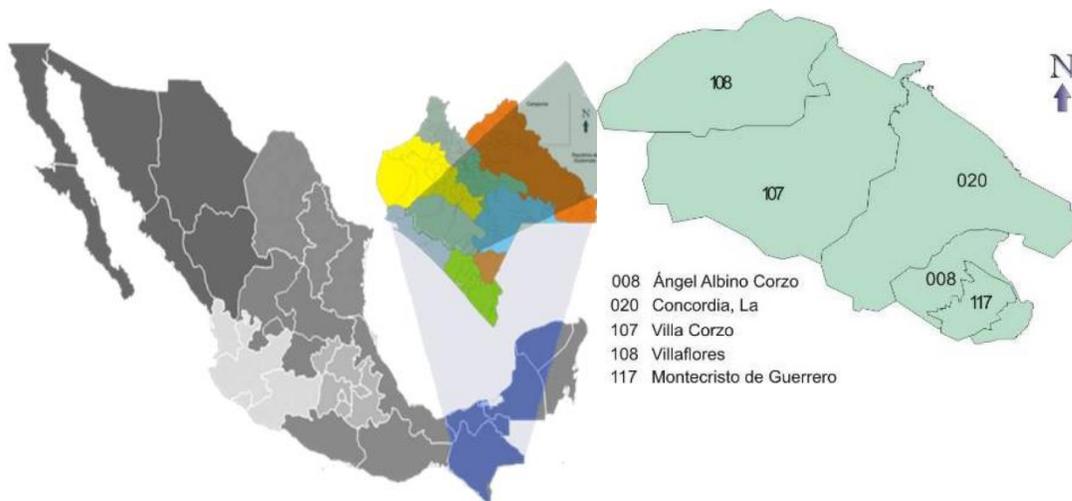


Ilustración 2. Localización del área de estudio, región VI frailesca, Chiapas.

Se realizó un estudio transversal con un solo muestreo en el que se seleccionaron a 382 becerros de la cruce bos indicus/bos taurus de acuerdo con la fórmula de Aguilar-Barojas (2005), tomando el inventario ganadero de las unidades de producción pecuarias en cuanto a becerros establecido por el PGN para el 2018.

Se establecieron criterios de inclusión como son: becerros de 12 horas a 60 días de edad, becerros de cruces bos-taurus con bos-indicus, becerros que pertenezcan a la zona frailesca, Chiapas. Se incluyeron criterios de exclusión como grandes productores con sistemas intensivos, becerros con edad mayor a 60 días y becerros que pertenezcan a otra región socioeconómica de Chiapas.

3.2 Estimación del tamaño de muestra

ECUACION:

$$n = \frac{Z^2 p q N}{NE^2 + Z^2 p q}$$

Dónde:

- ❖ n es el tamaño de la muestra:
- ❖ Z es el nivel de confianza: 1.96
- ❖ P es la probabilidad de éxito: 0.5
- ❖ Q es la probabilidad de fracaso: 0.5
- ❖ N es el tamaño de la población: 67,273
- ❖ E es el error: 0.05

3.3 Trabajo de campo

Las muestras se recolectaron directamente del recto de los becerros, con ayuda de hisopos estériles y fueron colocadas en medios de transporte Stuart, las muestras se conservaron en refrigeración, se muestrearon 76 unidades de producción pecuario, contemplando 5 muestras por unidad en promedio, con la finalidad de obtener una mayor cobertura territorial y minimizar en lo posible el sesgo al momento del muestreo en campo.

3.4 Trabajo de laboratorio

3.4.1 Cultivo bacteriológico

Para el cultivo bacteriológico se inoculo una alícuota de la muestra (100 µl) en agar de Eosina y Azul de Metileno-EMB (BD-BBL), La siembra se realizó en forma de estría cruzada, se realizó haciendo zig-zag obteniendo concentraciones bacterianas diluidas,, para favorecer la separación durante el crecimiento de las colonias.

3.4.2 aislamiento bacteriano

Los medios de cultivo fueron incubados aeróbicamente a 37 °C, durante 18 h a 24 h. Los criterios de identificación en los medios de cultivo selectivos y diferenciales será

de acuerdo a la morfología colonial siguiente: para EMB, las colonias de *E. coli* presentan a la luz transmitida un centro azul-negro, rodeado de un borde angosto y claro; y brillo metálico azul verdoso, a la luz reflejada. Los aislamientos se sometieron a la identificación por secuenciación del gen *rrs* 16S rRNA para confirmar su identidad.

3.4.3 Reacción en cadena de la polimerasa

Las investigaciones de los patotipos de *E. coli* se realizaron con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como se describe a continuación.

Se determinó el patotipo de *E. coli* enteroagregativa (EAEC) a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se empleó la técnica descrita por Cerna *et al.* (2003) que amplifica los genes *aap*, *aggR* y *AA probe*.

Para la búsqueda de genes de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) (*lt* y *st*), *E. coli* enteropatógena (EPEC) (*bfpA* y *eaeA*), *E. coli* secretora de toxina Shiga (STEC) (*stx1* y *stx2*) y *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) (*ial*) se empleó la técnica descrita por López-Saucedo *et al.* (2003).

El ADN total bacteriano se obtuvo mediante lisados bacterianos resuspendiendo 3 colonias aisladas en 1 ml. de agua desionizada (USB), hirviéndolas durante 1 min y congelándolas hasta su uso. Se utilizó a *E. coli* (ATCC® 25922™) como control negativo y como controles positivos se usaron las cepas prototipo EAEC 042 (O44:H18), ETEC H10407 (O78:H11), EPEC E2348-69 (O127:H6), STEC EDL933 (O157:H7) y EIEC E11 (O124NM) del cepario UNICACH (Gutiérrez-Jiménez *et al.*, 2015). Las mezclas de reacción se prepararon con 2.5 µL de Buffer 10x, 1.0µL de MgCl₂ (50 mM), 2.0 µL de dNTP's (2.5 mM), 0.3 µL Taq polimerasa (5 U/µL), 3.5 µL de la mezcla de iniciadores, 13.9 µL de agua libre de nucleasas y 2 µL de lisado bacteriano.

Las reacciones se sometieron a las siguientes condiciones de reacción; para los genes de EAEC: desnaturalización inicial a 50°C (2 min, 1 ciclo); 95°C (5 min, 1 ciclo); desnaturalización, alineación y extensión a 95,55°C y 72°C respectivamente (45 s cada temperatura, 40 ciclos) y un paso de extensión final de 10 min a 72°C (Cerna *et al.*, 2003). Para los genes de EPEC, ETEC, EIEC y STEC las condiciones serán: 50°C (2 min, 1 ciclo); 95°C (5 min, 1 ciclo); 95°C, 50°C y 72°C (45 s cada temperatura, 40 ciclos); extensión final durante 10 min a 72°C (López-Saucedo *et al.*, 2003). Para ambos procedimientos se empleó un termociclador mastercycler gradient (Eppendorf ®).

Los productos de PCR se resolvieron en un gel de agarosa al 2.3% a 100 V por 40-60 minutos; como marcador de peso molecular (MPM) se usó la escalera de 100 pares de bases (pb) (Invitrogen). Luego del corrimiento, el gel se tiñó con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y se analizó en el sistema de foto documentación Enduro™ GDS (Labnet international).

3.4.4 Análisis de sensibilización a los antimicrobianos

Para el análisis de susceptibilidad antimicrobiana se empleó el método de difusión en disco utilizando las recomendaciones de Clinical and Laboratory Standards Institute 2010. Con asa microbiológica, se tomó de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y se depositaron en 5 ml de medio líquido (infusión cerebro corazón). Se incubó a una temperatura de 35 °C durante 2 a 6 horas hasta conseguir una turbidez del 0.5 de la escala de MacFarland, cuando la turbidez fue superior, se realizó el ajuste necesario con solución salina estéril. La solución de MacFarland, se preparó mezclando 0.5 ml de Cloruro de bario 0.048 M (1.175% peso/volumen de cloruro de bario deshidratado con 99.5 ml de H₂SO₄ al 1% v/v (0.36 N).

Se depositó aproximadamente 100 µl de la suspensión bacteriana en placas de agar de 90 mm de Müller hinton estéril. Para ello, se introdujo un hisopo de algodón estéril dentro de la suspensión y al retirarlo se presionó contra la pared del tubo para eliminar el exceso de inóculo. Se inocularon las placas de agar Müller Hinton completamente sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo por la superficie del agar varias veces, rotando el hisopo por la placa para conseguir una siembra uniforme. Se dejó reposar las placas de 3 a 5 minutos antes de colocar los sensidiscos.

Se colocaron los discos manualmente con pinzas estériles, se aseguró su contacto perfectamente con la superficie del agar, por lo que se presionaron ligeramente sobre la superficie del agar, cuidando no situarlos a menos de 15 mm del borde de la placa, y distribuidos de forma que no se produzcan superposiciones de los halos de inhibición. Se incubaron las placas invertidas a 35 °C en atmósfera aeróbica de 16 a 18 horas, después de este tiempo, se midió el diámetro de las zonas completas de inhibición con un vernier. Se determinaron tres categorías: sensible(S), intermedia (I) y resistentes(R).

4. RESULTADOS y DISCUSIÓN

De las 382 muestras fecales tomadas en campo (los animales no presentaron diarreas al momento del muestreo), se aislaron 186 cepas equivalentes a 48.69% de las muestras totales y fueron sometidas a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); 80 cepas (43 %) presentaron por lo menos un factor de virulencia del grupo diarreogénico y 106 muestras (57 %) fueron cepas de *E. coli* no diarreogénicas, es decir no se amplificó ningún gen de patogenicidad.

Entre las cepas diarreogénicas ($N = 80$) el gen amplificado con mayor frecuencia fue la isoforma *stx1* (26.3 %), seguido del gen *eaeA* de *E. coli* enteropatógeno que codifica para la intimina con el factor *eaeA* con una frecuencia de 10 % (Tabla 2). Estos resultados difieren con lo reportado por Umpiérrez (2016), en el que caracterizó a *E. coli* asociada a la diarrea neonatal de terneros en Uruguay y obtuvo 298 aislados de heces de becerros sanos y enfermos, además, reportó las toxinas *stx1* con menor frecuencia (1%) que lo reportado en esta tesis, *stx2* no se amplificó en ninguna cepa.

Los resultados obtenidos en esta investigación son de suma de importancia para salud pública, Méndez (2013) menciona que la presencia de shiga toxina (*stx1*, *stx2*) e intimina (*eae A*) y la enterohemolisina codificada por el gen *ehxA* son factores que potencializan la patogenicidad del serotipo O157:H7.

Respecto a *E. coli* enterotoxigénica, quien es el principal patotipo que interviene en el síndrome de diarrea neonatal bovina, se reportó en 9 % de frecuencia y la toxina *st* se amplificó en mayor proporción con 6 %, seguido de la toxina *lt* con 2.7 %. Esta baja frecuencia de toxinas sugiere la ausencia de cepas predominantes asociadas a la diarrea neonatal.

Tabla 2. Resultados de genes de virulencia identificados en cepas de muestras de heces de becerros bovinos de la región Frailesca, Chiapas.

PATOTIPOS	FACTORES DE VIRULENCIA	%	NO. CEPAS
ECTS		31.8	35
	<i>Stx1</i>	26.3	29
	<i>Stx2</i>	2.7	3
	<i>Stx1/stx2</i>	2.7	3
ECEA		9.0	10
	<i>aap</i>	5.45	6
	<i>Aa probe</i>	3.63	4
ECET		9.0	10
	<i>lt</i>	2.7	3
	<i>st</i>	6.3	7
ECEP		18.1	20
	<i>bfpA</i>	8.1	9
	<i>eaeA</i>	10	11
ECEI		4.5	5
	<i>ial</i>	4.5	5
Total		72.7	80

Los resultados sobre susceptibilidad a los antibióticos antimicrobianos de las *E. coli* de un total de 186 cepas sometidas al antibiograma por difusión en disco o técnica de *Kirby-Bauer* arrojaron que la mayoría fueron resistentes a uno o más antibióticos a excepción de cefotaxima y norfloxacin (Ilustración 3).

Los antimicrobianos a los cuales mostraron mayores índices de resistencia fueron hacia a ampicilina (63.4 %) y sulfametropin (31.7 %), estos resultados coinciden por los reportados por Jiménez *et al.* 2017, Spetter *et al.* 2015.

El porcentaje de resistencia menor a 12.2 % fue para los 6 antibióticos restantes. Además, se observó resistencia intermedia principalmente para Netilmicina (24.4 %). Por otro lado, se observaron altos índices de susceptibilidad para Cefotaxima (100 %), Clorafenicol (97.6 %), nitrofurantoina (95.1 %), norfloxacin (87.8 %), ciprofloxacina (85.4 %). Los antibióticos restantes oscilaron de (73.2 %) a (31.7%) de susceptibilidad.

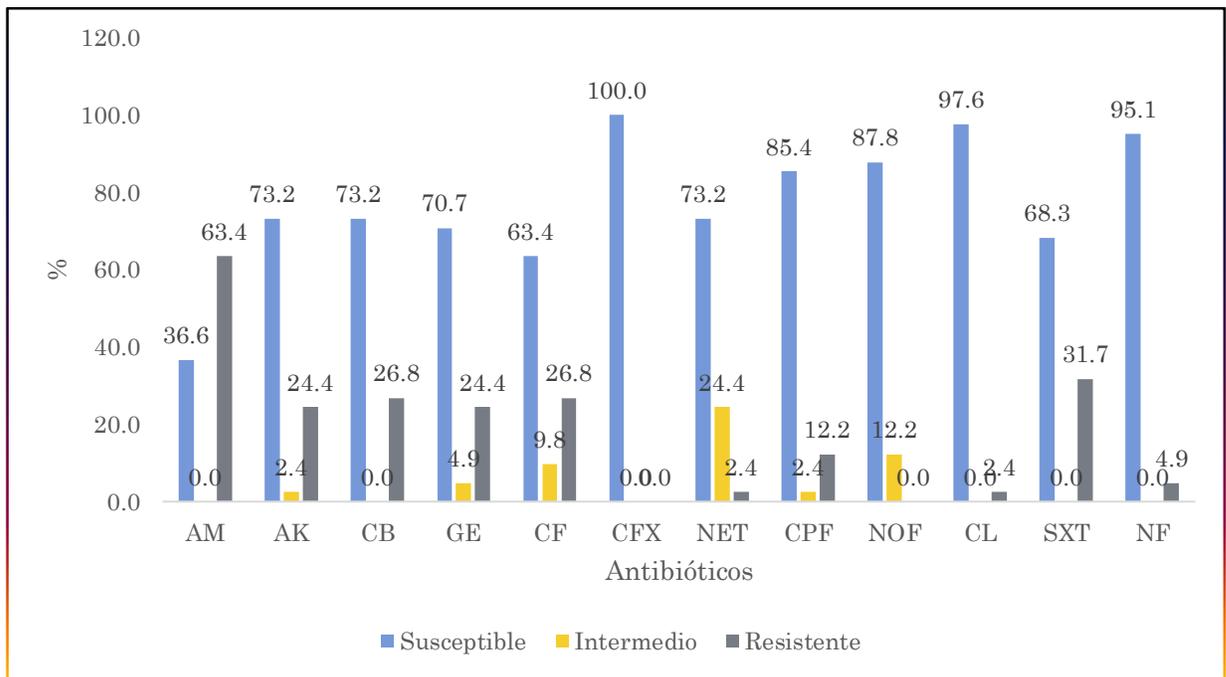


Ilustración 3. Susceptibilidad antibiótica de 186 cepas de Escherichia coli. AM; Ampicilina, CB; Carbenicilina, AK; Amikacina, GE; Gentamicina, NET; Netilmicina, CF; Cefalotina, CFX; Cefotaxima, CPF; Ciprofloxacina, NOF; Norfloxacina, CL; Cloranfenicol, SXT; Trimetoprima-Sulfametoxazol, NF; Nitrofurantoina.

5. CONCLUSIONES

Las cepas de *E. coli* secretora de toxina shiga con los genes *stx1* fueron las que se amplificaron con mayor frecuencia en las heces de becerros, seguidas del gen *eaeA* del grupo de *E. coli* enteropatógeno. Estos resultados comprueban la presencia de factores de virulencia de suma importancia en salud pública, porque implica un riesgo de infecciones gastrointestinales severas en humanos.

El grupo patógeno de *E. coli* enterotoxigénica con los genes *lt* y *st* es el principal causante del síndrome de diarrea neonatal bovina. A pesar de que se observó una baja frecuencia de este tipo de genes, se sugiere considerar un monitoreo constante con el fin de estudiar el comportamiento en un lapso mayor de tiempo, para evitar posibles brotes de enfermedad causada por ECET en los becerros de la región muestreada.

El análisis de susceptibilidad antibiótica demostró que existe una resistencia a los antimicrobianos comúnmente empleados en la clínica veterinaria como la ampicilina, lo que sugiere establecer estrategias de rotación de los antibióticos adecuadas para combatir las infecciones si estas llegan a presentarse.

6. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Barojas, Saraí** (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(1-2), 333-338. ISSN: 1405-2091. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=487/48711206>
- Becerra G**, Plascencia A, Luévanos A, Domínguez M y Hernández I. (2009). Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Infec Microbiol*; 29(2):70-76.
- Castro, C. J. M.**, Rivera, J. C., & Zavaleta, J. A. (2012). Características de la producción y comercialización de leche bovina en sistemas de doble propósito en Dobladero, Veracruz. *Revista Mexicana de Agro negocios*, 30, 816-824.
- Caffarena, R. D.**, Fraga, M., Castells Bauer, M., Schild, C. O., Colina Muñoz, H. R., Riet Correa, F., & Giannitti, F. (2016). Detección de agentes causales de diarrea neonatal bovina en 2 tambos de Colonia, Uruguay. *XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría*.
- Caffarena, R. D.** (2017). Aspectos clínicos y epidemiológicos de la diarrea neonatal en terneros de tambos de Uruguay y su asociación con infección por *Cryptosporidium spp.* y *Escherichia coli F5 (K99)+*.
- Cerna, J. F.**, Nataro, J. P., & Estrada-Garcia, T. (2003). Multiplex PCR for detection of three plasmid-borne genes of enteroaggregative *Escherichia coli* strains. *Journal of clinical microbiology*, 41(5), 2138–2140. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.5.2138-2140.2003>
- Coura, F. M.**, Lage, A. P., & Heinemann, M. B. (2014). Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarrea em bezerros: uma atualização. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(9), 811-818.
- Clinical and Laboratory Standard Institute.** (2010) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement; M100-S20. Wayne, PA, EE.UU.
- Del Castillo, L. L.** (2015). Detección y caracterización de *Escherichia coli* O157 de ganado bovino faenado en frigoríficos de la Argentina (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Donnenberg, M. S.**, Tzipori, S., McKee, M. L., O'Brien, A. D., Alroy, J., y Kaper, J. B. (1993). The role of the eae gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate

attachment in vitro and in a porcine model. The Journal of clinical investigation, 92(3), 1418–1424. <https://doi.org/10.1172/JCI116718>

Errecalde JO. 2004. Estudio: uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencias en la salud pública. Roma, Italia: FAO. 61 p.

García, Enriqueta. (1974). Distribución de la precipitación en la República Mexicana. Investigaciones geográficas, (5), 7-20. Recuperado en 24 de octubre de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-46111974000100001&lng=es&tlng=es.

Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R., & Pavilionis, A. (2011). Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. Medicina, 47(3), 19. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/medicina47030019>

Gyles JM, Fairbrother CL (2010) *Escherichia coli*. En: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO (eds) Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. pp 276-308.

Gutiérrez-Jiménez, Javier, Luna-Cazáres, Lorena Mercedes, Mendoza-Orozco, Mónica Ivonne, Díaz-Marina, Gabriela de Jesús, Burguete-Gutiérrez, Julio César, & Feliciano-Guzmán, José Manuel. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(2), 95-102.

Jiménez Mejía, Rafael, Gudiño Sosa, Luis Fernando, Aguilar López, José Antonio, y Loeza Lara, Pedro Damián. (2017). Caracterización molecular de *Escherichia coli* resistente a antibióticos aislada de mastitis bovina en Michoacán, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(4), 387-396. <https://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i4.4251>

Karch, H., Heesemann, J., Laufs, R., O'Brien, A. D., Tacket, C. O., y Levine, M. M. (1987). A plasmid of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for expression of a new fimbrial antigen and for adhesion to epithelial cells. *Infection and immunity*, 55(2), 455–461. <https://doi.org/10.1128/IAI.55.2.455-461.1987>

Konowalchuk, J., J. I. Speirs, S. Stavric. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 18: 775 779.

- Lara-Duran, J. A., Vega, M. S., Valenzuela, R. B., Ruiz, L. D., & Ruiz, O. D. (2019).** Incidencia de *Escherichia coli* O157: H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico. *Revista MVZ Córdoba*, 7339-7345.
- Labro, M. T., & Bryskier, J. M. (2014).** Antibacterial resistance: an emerging zoonosis. *Expert review of anti-infective therapy*, 12(12), 1441–1461. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.976611>
- Lindsay Pérez, E. (2019).** Diarreas neonatales en pequeños rumiantes: prevalencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* y *Cryptosporidium parvum* en la Comunidad Valenciana (Bachelor's thesis).
- López-Saucedo, C., Cerna, J. F., Villegas-Sepulveda, N., Thompson, R., Velazquez, F. R., Torres, J., Tarr, P. I., y Estrada-Garcia, T. (2003).** Single multiplex polymerase chain reaction to detect diverse loci associated with diarrheagenic *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases*, 127-131. <https://doi.org/10.3201/eid0901.010507>
- Lorenz, I; Mee, J F; Bernadette, E; More, S J. (2011).** Calf Health form Birth to weaning I. General aspect of disease prevention. *Irish Vet J.* 64 10: 1-8
- Margall, Núria, Domínguez, Àngela, Prats, Guillem, & Salleras, Lluís. (1997).** *Escherichia coli* enterohemorrágica. *Revista Española de Salud Pública*, 71(5), 437-443.<http://scielo.isciii.es/scielo>.
- Martínez, D. A. (2019).** Revisión bibliográfica de las pruebas diagnósticas en las diarreas neonatales bovinas.
- Méndez, Carmen R, Vergaray, Germán, Morante, Hilda Y, Flores, Paulo R, y Gamboa, Roger A. (2013).** Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú. *Revista Peruana de Biología*, 20(2), 159-164.
- Mosquito, Susan y Ruiz, Joaquim y Bauer, José y Ochoa, Theresa. (2011).** Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública.* 28. 648-656. 10.17843/rpmesp.2011.284.430. <https://www.researchgate.net/publication/261367093> Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea

- Navarro, F.**, Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F., & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 29(7), 524-534.
- O'Brien**, A. D., La Veck, G. D., Thompson, M. R., y Formal, S. B. (1982). Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*, 146(6), 763–769. <https://doi.org/10.1093/infdis/146.6.763>
- OECD/FAO** (2019), OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Olguín y Bernal**. (2007). Síndrome diarreico neonatal, clínica de los bovinos I. universidad autónoma de México, facultad de medicina veterinaria y zootecnia [https://www.ammveb.net/clinica/sindrome diarreico neonatal.pdf](https://www.ammveb.net/clinica/sindrome%20diarreico%20neonatal.pdf)
- Orantes–Zebadúa**, Miguel Ángel, Vilaboa AJ, Ortega JE, Córdova AV (2010) Comportamiento de los comercializadores de ganado bovino en la región centro del estado de Chiapas. *Revista Quehacer Científico* 1(9): 51-56.
- Orantes-Zebadúa**, Miguel Ángel, Platas-Rosado, Diego, Córdova-Avalos, Víctor, De los Santos-Lara, María del Carmen, y Córdova-Avalos, Antonio. (2014). Caracterización de la ganadería de doble propósito en una región de Chiapas, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(1), 49-58. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000100006&lng=es&tlng=es.
- Padrón Ganadero Nacional (PGN)**, (2018). Estadística Pecuaria PGN Bovinos. http://www.pgn.org.mx/_programs/busca-action.php
- Pourtaghi**, Hadi y Ghaznavi, Sina y Sodagari, Hamid y Ghadimianazar, Amir. (2015). Detection of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated from Calves' Diarrhoea Samples by Molecular and Serological Methods. *Advanced Studies in Biology*. 7. 293-300. 10.12988/asb.2015.5316.
- Programa** regional de desarrollo 2013-2018. Region VI Frailesca. http://www.ped.chiapas.gob.mx/ped/wp-content/uploads/ProgReg/20132018/2013_PRD_6_Frailesca.pdf
- Radostits**, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W.; Constable, P.D. (2006). *Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10th edition O. pp. 847-856.

- Rodríguez-Ángeles**, Guadalupe. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, 44(5), 464-475.
- Román-Ponce**, S. I., Ruiz-López, F. D. J., Montaldo, H. H., Rizzi, R., & Román-Ponce, H. (2013). Efectos de cruzamiento para producción de leche y características de crecimiento en bovinos de doble propósito en el trópico húmedo. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 4(4), 405-416.
- Spetter**, Maximiliano J.; Louge Uriarte, Enrique; González Pasayo, Ramón; Malena, Rosana; Moreira, Ana Rita. (2015). Estudio retrospectivo de multirresistencia antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* de terneros con diarrea neonatal. *Revista De Medicina Veterinaria* vol. 96 p. 4 – 4. ISSN 1852-771X. Sociedad de Medicina Veterinaria. Buenos Aires.
- Schmidt H.**, L. Beutin y H. Karch. (1995). Molecular analysis of the plasmid encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain 933. *Infect. Immun.* 63: 1055-1063.
- Stefan Schwarz**, Elisabeth Chaslus-Dancla. (2001) Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research*, BioMed Central, 32 (3-4), pp.201-225. 10.1051/ve-tres:2001120. Hal-00902704
- Strockbine**, N. A., Marques, L. R., Newland, J. W., Smith, H. W., Holmes, R. K., & O'Brien, A. D. (1986). Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. *Infection and immunity*, 53(1), 135–140. <https://doi.org/10.1128/IAI.53.1.135-140.1986>
- Tenover FC. (2006).** Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med.*; 119:S3-10; discusión S62-70.
- Umpiérrez**, A. (2016.). Identificación y caracterización de *Escherichia coli* asociada a la diarrea neonatal de terneros en Uruguay. Tesis de doctorado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias.
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/17187/1/uy24-18213.pdf>
- Yábar**, M. N., Curi-Pesantes, B., Torres, C. A., Calderón-Anyosa, R., Riveros, M., y Ochoa, T. J. (2017). Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 34, 660-66