



La resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aislada de canales y heces bovinas de rastros en el centro de México



Vicente Vega Sánchez ^a

Martín Talavera Rojas ^b

Jeannette Barba León ^c

Andrea Paloma Zepeda Velázquez ^a

Nydia Edith Reyes Rodríguez ^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tulancingo, Hidalgo, México.

^b Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Toluca, México.

^c Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Departamento de Salud Pública, Jalisco, Mexico.

*Autor de correspondencia: nydia_reyes@uaeh.edu.mx

Resumen:

Escherichia coli es importante en la microbiota intestinal de los animales y los humanos. Su presencia en los alimentos es un indicador de una posible contaminación fecal. Algunas cepas pueden causar enfermedades, lo cual se deben principalmente al consumo de agua y/o alimento contaminado. Como aportación al panorama epidemiológico en México, el objetivo de este estudio fue determinar la resistencia a compuestos antimicrobianos y el carácter genético de cepas de *E. coli* presente en las canales y heces de bovinos sacrificados en rastros. Este trabajo se llevó a cabo con 32 cepas aisladas de muestras colectadas de bovinos en tres rastros municipales del centro de México. Se analizó el perfil de resistencia y la relación genética entre los diferentes aislados mediante genotipificación con la enzima *XbaI* y la técnica PFGE. Se construyó un dendrograma utilizando el coeficiente de similitud de Dice con una tolerancia del 1.5 %. El 75 %

(24/32) de los aislados presentaron resistencia a algún antibiótico. El 84.3 % (27/32) de ellos tenían un perfil intermedio y el 12.5 % (4/32) eran sensibles a todos los antibióticos. El 28.1 % (9/32) fueron resistentes a múltiples fármacos (MDR). Se identificaron 27 pulsotipos en el PFGE. En el dendrograma se formaron siete racimos con dos o más aislados (A-F e I) y dos integrados de una cepa (G y H). Los resultados demuestran la diversidad de resistencia antimicrobiana entre las cepas de *E. coli* presentes en las canales y heces bovinas en México. Estas cepas son un claro factor de riesgo y un problema de salud pública.

Palabras clave: *Escherichia coli*, Contaminación de heces, Canal, Contaminación de alimentos.

Recibido: 01/10/2018

Aceptado: 12/11/2019

Introducción

Escherichia coli (*E. coli*) puede colonizar al tracto gastrointestinal tanto de los humanos como los animales sin causar daño. Existen varias cepas patógenas de *E. coli* las cuales constituyen un grupo heterogéneo de organismos con diferentes propiedades de virulencia, serotipos O:H y epidemiología. Con base en los factores de virulencia específicos y las características fenotípicas de cada cepa, las cepas se han subdividido en seis grupos patogénicos: *E. coli* enteropatógena (EPEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC); *E. coli* enterotoxigénica (ETEC); *E. coli* de difusadherente (DAEC); *E. coli* enteroinvasora (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)⁽¹⁾. Uno de los más importantes factores de virulencia en las *E. coli* son las toxinas Shiga (Stx) y los productos de la isla de patogenicidad como el locus del borrado del enterocito (LEE por sus siglas en inglés). Las cepas que producen la Stx se denominan *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), y uno de los serotipos más comunes es el *E. coli* O157:H7. Sin embargo, hay otros serotipos no-O157:H7⁽²⁾, y estos se han detectado en diferentes productos, como carnes, lácteos, pescados, mariscos, bebidas, hielo y legumbres⁽³⁾. Principalmente han sido implicados en brotes asociados al consumo de carne bovina, su principal reservorio⁽⁴⁾. En bovinos sanos las cepas STEC se encuentran con prevalencias de 7 a 30 %, y parece que no son patógenas para los animales. Empero, se han detectado con mayor frecuencia en animales que tienen diarrea⁽⁵⁾, sugiriendo que la carne puede contaminarse por medio de materia fecal que contiene *E. coli* durante un procesamiento inadecuado del canal en el rastro.

La *E. coli* puede intercambiar material genético a través de elementos genéticos móviles (MGE por sus siglas en inglés) como plásmidos, transposones e integrones. Este intercambio facilita su adaptación a entornos nuevos y adversos, desde luego

contribuyendo a las enfermedades intestinales o extraintestinales. Aunque las cepas de *E. coli* se diferencian por su virulencia, resistencia, incidencia y gravedad, también se distinguen por el resultado de su interacción con los factores del huésped y el medio ambiente⁽⁴⁾.

En animales se utilizan a los compuestos antimicrobianos con tres propósitos principales: promoción del crecimiento, medidas profilácticas y como terapia cuando ocurre una enfermedad^(6,7). Su uso constante ha promovido la supervivencia de cepas resistentes que constantemente están desarrollando nuevos mecanismos de resistencia. Estas se están extendiendo por todo el mundo y como consecuencia poniendo en peligro la capacidad para tratar enfermedades infecciosas comunes, además de prolongar la enfermedad e incrementar la discapacidad y la mortalidad⁽⁸⁾. Algunas cepas resistentes de *E. coli* están presentes en las personas, los animales y el medio ambiente (agua, suelo y aire). Se pueden transmitir de las personas a los animales y viceversa, incluso a través del consumo de productos de origen animal. Desde luego un manejo inadecuado del control de las infecciones, las condiciones de procesamiento, la higiene y la manipulación de los alimentos puede promover la propagación de la resistencia a los antimicrobianos⁽⁸⁾.

El impacto de la enfermedad causada por las STEC hace hincapié a la necesidad de incrementar las medidas preventivas de manipulación de alimentos y la vigilancia de brotes⁽⁹⁾. Además de las investigaciones epidemiológicas tradicionales, el principal método molecular de vigilancia es la electroforesis de gel de campo pulsado (PFGE por sus siglas en inglés). Este método es lo recomendado por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés)⁽¹⁰⁾, dado que es crucial en detectar las infecciones por STEC⁽¹¹⁾. En México existen serotipos de STEC en bovinos que pueden estar involucrados en las enfermedades transmitidas por alimentos^(12,13). El objetivo del presente estudio fue caracterizar y relacionar STEC de diferentes orígenes para contribuir a la descripción de su diversidad genética en México.

Material y métodos

Aislados

Se usaron un total de 32 aislados de *E. coli* en el análisis. Se obtuvieron de canales y heces de ganado que se muestrearon en tres rastros municipales (A, B y C) en el centro de México. Los aislados pertenecían a 16 serotipos según una serie de ensayos de aglutinación de serotipificación utilizando placas de microtitulación de 96 pocillos y sueros de conejo (SERUNAM, Ciudad de México, México) en las que probaron 187 antígenos somáticos y 53 antígenos flagelares para *E. coli* y 45 antígenos somáticos para especies de *Shigella*. Todos los aislados se recuperaron de cultivos madre congelados. Se cultivaron en agar MacConkey a 37 °C durante 24 h. Se seleccionaron las colonias con la morfología típica, las cuales se cosecharon y sembraron en caldo de tripticasa de soja para su posterior caracterización adicional.

Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos

La evaluación de la resistencia bacteriana a los compuestos antimicrobianos se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer estandarizada por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). La cepa control fue *E. coli* ATCC 25922. En las pruebas se usaron doce compuestos antimicrobianos: amikacina (AK 30 µg), ampicilina (AM 10 µg), carbencilina (CB 100 µg), cefalotina (CF 30 µg), cefotaxima (CTX 30 µg), ceftriaxona (CRO 30 µg), cloranfenicol (CL 30 µg), gentamicina (GE 10 µg), netilmicina (NET 30 µg), nitrofurantoína (NF 300 µg), pefloxacina (PEF 5 µg) y trimetoprima-sulfametoxazol (STX 25 µg) (Sensidisks, Gram Negative BIO-RAD Cat# 71080280). Se ajustó el inóculo bacteriano a una turbidez equivalente a 0.5 de la escala de McFarland y se sembró en Agar Mueller Hinton con un hisopo estéril. Se colocaron los Sensidisks sobre el inóculo y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Todos los aislados se clasificaron como resistentes, intermedios o susceptibles. Los aislados que presentaban resistencia a tres o más tipos de agentes antimicrobianos se clasificaron como resistentes a fármacos múltiples (MDR por sus siglas en inglés)⁽¹⁴⁾.

Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE)

El análisis de relación clonal de los aislados de *E. coli* se realizó mediante la técnica PFGE según el protocolo estandarizado por el CDC para la PulseNet. Como marcador se utilizó la cepa de *Salmonella* Serovar Braenderup H9812⁽¹⁵⁾. Las condiciones de electroforesis fueron las establecidas según el protocolo de PulseNet sugerido para el modelo Cheef Dr-II (Bio-Rad, Múnich, Alemania): tiempo inicial: 2.2 seg, tiempo final: 63.8 seg, voltaje: 6v/cm², y tiempo de ejecución: 21 h⁽¹⁰⁾. Se tiñó el gel con 200 mL de bromuro de etidio durante 40 min a 100 rpm y posteriormente se lavó con 200 mL de agua destilada durante 1 h a 100 rpm.

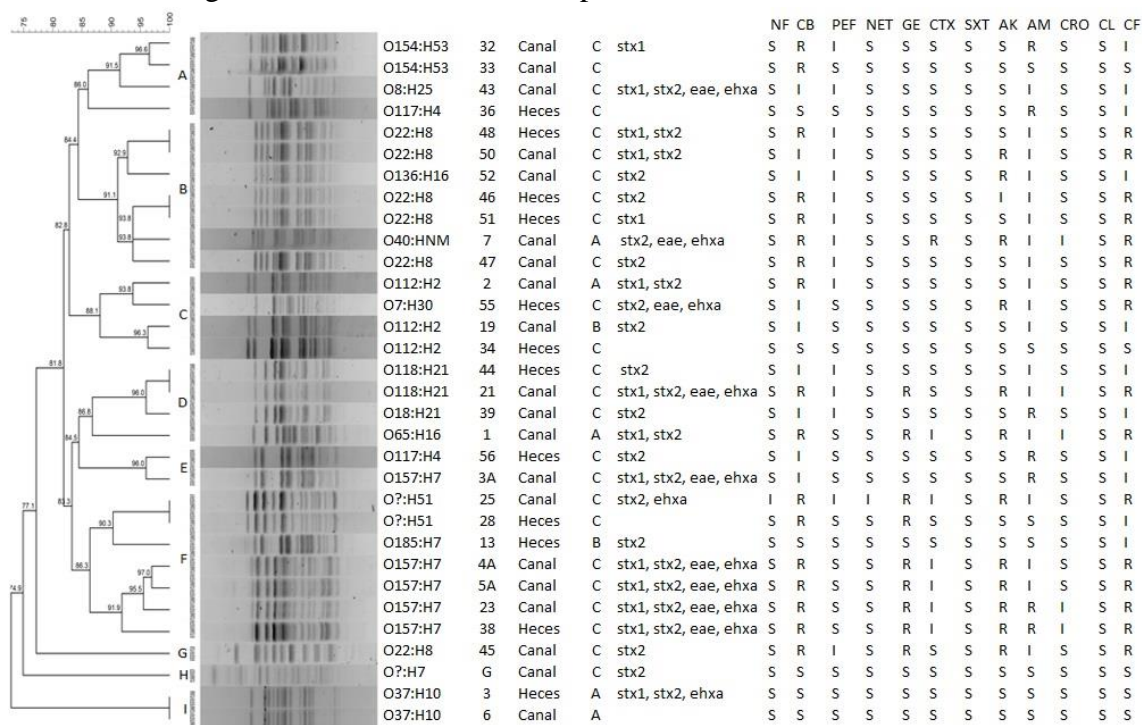
El patrón de bandas se visualizó bajo la luz ultravioleta (UV) y se tomó una imagen digital de los patrones por medio de un SmartGel II (Sagecreation). Las bandas obtenidas se analizaron con el software BioNumerics versión 7.5 (Applied Maths, Austin, TX). Este programa permite comparar los patrones de bandas obtenidos en diferentes geles e identificar los diferentes perfiles de restricción. El establecimiento de la relación genética entre las cepas se realizó aplicando el coeficiente de similitud de Dice entre los diferentes patrones de bandas obtenidos. Con los resultados se construyó un dendrograma mediante el método de agrupación de pares no ponderado con medias aritméticas (UPGMA por sus siglas en inglés) con un valor de tolerancia del 1.5 %.

Resultados

Del total de los 32 aislados probados la mayoría (75 %; 24 de 32) mostraron resistencia a alguno de los antibióticos utilizados. Nueve de los aislados (28.1 %) se clasificaron como

MDR, 27 (84.3 %) presentaron un perfil intermedio en al menos un antibiótico y cuatro (12.5 %) fueron sensibles a todos los antimicrobianos. La frecuencia de resistencia varió ampliamente entre los antimicrobianos: 46.9 % (15/32) con CB, 50 % (16/32) con CF, 37.5 % (12/32) con AK, 28.1 % (9/32) con GE, 21.9 % (7/32) con AM y 3.1 % (1/32) con CTX. Varios aislados mostraron un perfil de resistencia intermedio: 56.3 % (18/32) con AM y 46.9 % (15/32) con PEF. Solo el SXT generó sensibilidad en todos los aislados (Figuras 1 y 2).

Figura 1: Perfil de PFGE (*Xba*I) generado con aislados de STEC de canales y heces de ganado de tres rastros municipales en el centro de México

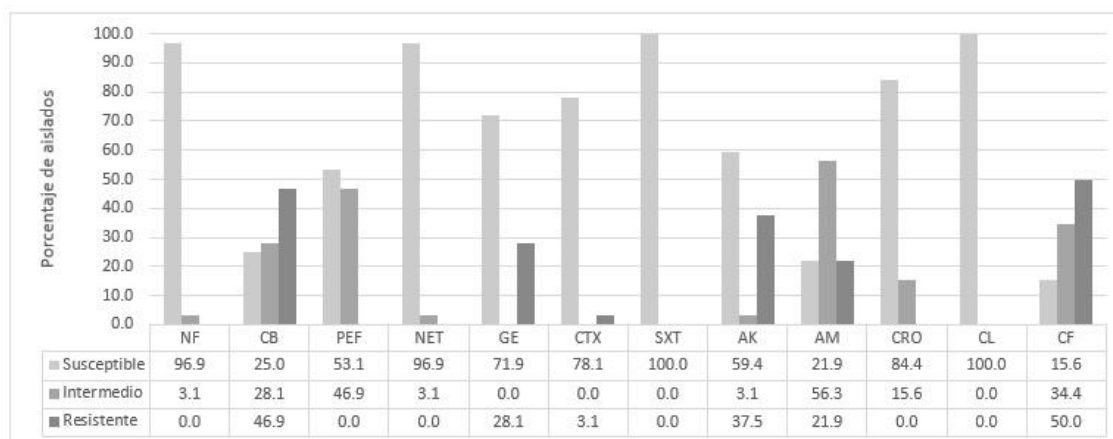


Columnas (izq. a der.): serotipos (O:H), identificación, origen (Heces, Canal), rastro (A, B, C), perfil de virulencia (stx, etcétera) y perfil de resistencia (NF-Nitrofurantoína, CB-Carbencilina, PEF- Pefloxacina, NET-Netilmicina, GE-Gentamicina, CTX-Cefotaxina, SXT-Trimetoprima-sulfametoxazol, AK-Amikacina, AM-Ampicilina, CRO-Ceftriaxona, CL-Cloranfenicol y CF-Cefalatoxina; S = susceptible, R = resistente, I = intermedio).

Se analizó la relación genética entre los diferentes aislados de *E. coli* mediante la genotipificación con la enzima *Xba*I-PFGE. De los 32 aislados estudiados se observaron 27 pulsotipos de PFGE. Se formaron siete agregaciones con dos o más aislados (A-F e I) y dos constituidas por una sola cepa (G y H); todos estos tenían porcentajes de similitud superiores al 85% (Figura 2). Las agregaciones D, E, F y G agruparon los aislados clasificados como MDR. Se identificaron cinco pulsotipos clonales. Los pulsotipos clonales 1 y 2 son del serotipo O22:H8 (agregación B). El primero proviene de diferentes fuentes como canales (aislado 48) y heces (aislado 50) mientras el segundo es de heces (aislados 46 y 51); sin embargo, sus perfiles de resistencia son diferentes. El tercer pulsotipo clonal (agregación D) es del serotipo O118:H21 y su origen es heces y canales

(aislados 44 y 21), pero el perfil de resistencia es diferente. El cuarto pulstotipo (agregación F) es del serotipo O?:H51 y proviene de canales y heces (aislados 25 y 28); uno de los aislados es MDR. El quinto pulstotipo (agregación I) es del serotipo O37:H7, es de heces y canales (aislados 3 y 6) y ambos están sensibles a todos los antimicrobianos. Es de notar que los aislados MDR se encuentran en diferentes pulstotipos, lo que muestra su diversidad (Figura 2).

Figura 2: Resistencia antimicrobiana de los aislados STEC de canales y heces bovinas de tres rastros municipales en el centro de México



Discusión

Cada año las STEC contribuyen a 265,000 casos de enfermedades transmitidas por alimentos en los Estados Unidos; hay informes de la resistencia a los fármacos antimicrobianos entre las STEC pero es probable que la subestiman⁽¹⁶⁾. Responsable por más de 700,000 muertes al año, la resistencia a los compuestos antimicrobianos entre los microbios es uno de los problemas más graves en el ámbito médico actual⁽¹⁷⁾. En las bacterias la resistencia se debe a una aceleración de los genes de resistencia a los antimicrobianos (ARG por sus siglas en inglés) a través de una mutación de novo. La transferencia horizontal de MGE, como los plásmidos, los transposones y los integrones⁽¹⁸⁾, se puede volver un asunto grave de salud pública particularmente en las bacterias transmitidas por la carne ya que es un importante portador de las cepas de *E. coli* resistentes a los antimicrobianos⁽¹⁷⁾. En el presente estudio se identifica las cepas de STEC en canales y heces bovinos y el 28.1 % de ellas son MDR, representando un riesgo especial. Todos los aislados STEC se mostraron sensibles al STX, pero su uso como tratamiento en infecciones de STEC en los humanos puede inducir la producción de la toxina Shiga lo cual puede llevar a una enfermedad más grave⁽¹⁹⁾.

La mejor estrategia para evitar las infecciones con STEC es tener un control del procesamiento de la canal. Varios estudios indican que los alimentos de origen animal suelen estar contaminados con bacterias y que es necesario mejorar el procesamiento del canal ya que la contaminación de las canales se produce por un mal manejo del contenido intestinal de los animales portadores⁽²⁾. Por ejemplo, en un estudio realizado en México

usando muestras aisladas de carne de res se encontró que el 92.4 % de las cepas eran MDR⁽²⁰⁾. En contraste al presente estudio, estas cepas mostraron patrones de resistencia contra siete a nueve antibióticos a la vez (44 %, n= 77), lo que podría deberse a que las muestras se obtuvieron en supermercados. La contaminación cruzada es de suma importancia ya que la exposición en la etapa de venta representa una exposición acumulativa a toda la cadena de producción (desde la granja hasta la mesa) lo que incrementa el riesgo potencial para la salud pública⁽¹⁷⁾. En otro estudio se analizaron aislados de STEC asociados con brotes, recolectados durante 2010-2014 y guardados en el Laboratorio de Referencia del Departamento de Salud y Servicios Humanos de Michigan (Lansing, MI, EE.UU.)⁽¹⁶⁾. Estos aislados presentaron resistencia a la ampicilina, la trimetoprima/sulfametoxazol y la ciprofloxacina, y su frecuencia de resistencia varió según su ubicación y origen, aunque no hubo diferencias en frecuencia entre localidades, lo cual coincide con observaciones en México.

Una vigilancia permanente de los antibióticos utilizados en el ganado es de gran importancia para determinar la presencia y prevalencia de las cepas resistentes en las canales⁽⁸⁾. Cuando no se manipula y cocina adecuadamente la carne de res contaminada con bacterias resistentes a los antimicrobianos estas pueden transferir sus genes de resistencia a otros patógenos, además de dejar sus toxinas, lo que podría conducir a enfermedades más difíciles de tratar⁽²¹⁾. Cocinar la carne contaminada resulta en una reducción mayor del riesgo de enfermedad⁽¹⁷⁾. Sin embargo, hay estudios que muestran que la *E. coli* puede sobrevivir al calentamiento hasta los 70 °C, conservando sus características y los genes que codifican la resistencia, y manteniendo la capacidad de transferir por electroporación, resaltando el riesgo de una transformación natural⁽²²⁾. Por lo tanto, la estrategia más indicada para reducir el riesgo de infecciones por STEC consiste en reducir su prevalencia en el ganado aplicando prácticas de producción adecuadas y mejoras en el manejo de canales en los rastros.

En los presentes resultados se identifican varios elementos importantes de las STEC. El serotipo O157:H7, lo cual puede presentarse de forma asintomática o puede causar el desarrollo de diarrea, colitis hemorrágica y/o síndrome urémico hemolítico⁽²⁾, mostró resistencia a cinco antibióticos: AK, AM, CB, CF y GE. El serotipo O117:H4, un serotipo emergente con una presencia epidemiológicamente fuerte que causa sepsis en humanos y se ha encontrado en bovinos con diarrea⁽²³⁾, presentó resistencia solo al AM. El serotipo O22:H8 presentó resistencia al AK, CB, CF y GE. Se ha asociado a la enfermedad en humanos y se ha identificado en Brasil⁽²⁴⁾, Francia⁽²⁵⁾ y Argentina⁽²⁶⁾. Estos resultados coinciden con la variabilidad en resistencia reportada en otras partes de México y el mundo. En un estudio en el Valle de Culiacán, en el noroeste de México, varias cepas de O157 y no-O157 STEC se encontraron resistentes a los antimicrobianos pertenecientes a clases como los aminoglucósidos, betalactámicos y cefalosporinas⁽¹⁹⁾. En el estado de Tamaulipas, México, un análisis de muestras de carne a la venta a menudo encontró que el 92.4 % de las cepas aisladas fueron resistentes a la cefalotina, la ampicilina, la cefotaxima y la nitrofurantoína⁽²⁰⁾. En un estudio realizado en Etiopía, las resistencias más frecuentes entre los aislados fueron contra la cefoxitina, la ampicilina y la

amoxicilina⁽²⁷⁾. Aislados de *E. coli* de muestras de dos granjas avícolas intensivas en China coleccionadas entre el 2000 y el 2012 mostraron ser fuertemente resistentes al SXT, la AM y la GM⁽²⁸⁾. En el mismo estudio se encontró cepas con resistencia a las sulfonamidas, pero esto se debe a que las unidades de producción avícola sufren de cuadros diarreicos de origen bacteriano y parasitario. Asimismo, las STEC no-O157 aisladas de los seres humanos y de animales han mostrado resistencia a múltiples antimicrobianos, incluida la resistencia a la trimetoprima-sulfametoxazol⁽²⁸⁾. Un análisis de aislados de animales y humanos (niños con diarrea) en Egipto encontró que presentaron resistencia a uno o más agentes antibióticos, y que fueron resistentes a la cefalotina, de manera independiente de su origen (alimenticio o humano). Estos mismos aislados han estado estrechamente relacionados (97 %) con las heces del ganado Suizo y las enfermedades en humanas en Alemania⁽²⁹⁾. En conjunto con los resultados de los estudios citados, los presentes resultados resaltan que el uso de antibióticos en entornos ganaderos puede llevar a la existencia de bacterias multirresistentes.

El serotipo O157:H7 se encontró únicamente en el rastro C, en cuatro muestras de canales y una de heces, todas tomadas en diferentes momentos. Este resultado enfatiza la importancia del manejo de canales en los rastros y demuestra la ocurrencia de la contaminación cruzada. Los hechos de que tomaron las muestras en diferentes momentos y que ninguno de estos aislados era clones (tienen un 83.3 % de similitud) confirma la contaminación cruzada. En un estudio sobre los productos cárnicos llevado a cabo desde el 2004 hasta el 2013, también se encontró una similitud del 67% y la ausencia de una relación clonal entre los aislados⁽³⁰⁾. Este confirma una vez más que los productos cárnicos son una fuente importante de la contaminación debido a un manejo inadecuado durante el procesamiento de canales y la obtención de productos y subproductos de origen bovino⁽³¹⁾. Un ejemplo adicional es un estudio en Argentina, donde el 12% de las infecciones con cepas de *E. coli* son de origen bovino⁽³²⁾. Se identificaron aislados del mismo origen en humanos con síndrome urémico hemolítico, en salsas y en carne de res cocida y cruda.

En el presente estudio los seis aislados del serotipo O22:H8 presentaron diversidad y se agruparon en cuatro pulsotipos: los primeros dos en canales y heces, con perfiles de resistencia diferentes; y los otros dos solo en heces. Este sugiere que estos aislamientos probablemente pertenecen a animales que se encontraron en la misma unidad de producción (91.1 % de similitud). Este serotipo se identificó solo en el rastro C, pero representa un riesgo serio ya que se ha asociado con una enfermedad grave en los humanos. Del serotipo O112:H2 se identificaron tres aislados diferentes: dos de canal y uno de heces. Cada aislado viene de un rastro diferente (A, B y C) y tiene un 88.1 % de similitud, sugiriendo que este serotipo se encuentra a través del área central de México. También se ha encontrado el O112:H2 en carne de vacuno⁽³³⁾ y en hamburguesas⁽³⁴⁾, indicando que la fuente más probable será la canal. Los clones del serotipo O118:H21 vienen de canal y de heces muestreados del mismo rastro (C), aunque en diferentes momentos. Desde luego existe la posibilidad de que los animales sean de la misma unidad de producción o que este serotipo no sea tan diverso. La variación en serotipos encontrado

en el presente estudio es menos que la reportada en otros estudios en México. Por ejemplo, en un análisis de aislados de *E. coli* de cuatro fincas rurales en Culiacán, México, se encontró que el serotipo O157:H7 presenta seis pulsotipos en uno de los clones identificados que viene de bovinos, ovinos y aves⁽¹²⁾. En otro estudio realizado en un rastro tipo inspección federal (TIF) en México en 2009-2010, se encontraron 49 pulsotipos en 97 aislados de O157:H7 agrupados en tres agregaciones y con un 80% de similitud⁽¹³⁾. Las diferencias entre los estudios en cuanto al número de aislados y serotipos probablemente es un resultado de los distintos manejos de los animales y/o las canales en cada lugar de muestreo. En las fincas de Culiacán el control del manejo sería menos minucioso que en el rastro TIF donde siguen protocolos estrictos en el manejo de los canales. En el presente estudio los aislados originaron de muestras de rastros municipales, donde el manejo es mucho menos riguroso y los animales vienen de varias unidades de producción. La presencia de STEC en los animales que procesan estos rastros, que abastecen una de las principales áreas metropolitanas de México, es causa de preocupación ya que incrementa de manera considerable la posibilidad de la contaminación de los productos cárnicos durante el procesamiento.

Los resultados del presente estudio hacen hincapié a la necesidad de un monitoreo mucho más extenso y profundo en la industria agropecuaria de México. También sugieren que hay un proceso de contaminación cruzada muy amplia que involucra una variedad de serotipos de *E. coli*. Este problema no es exclusivo a México. Por ejemplo, en una investigación epidemiológica realizada en el noreste de Inglaterra, indagaron sobre las infecciones producidas por STEC y asociadas con el consumo de productos cárnicos y unidades de producción ganadera. Al secuenciar los aislados se encontró nexos epidemiológicos entre los casos clínicos, los carniceros y la finca proveedora del producto, mostrando de esta manera la contaminación cruzada por medio de la carne molida, entre otros productos⁽³⁵⁾.

Conclusiones e implicaciones

El ganado es el principal reservorio de las cepas de *E. coli* y desde luego el manejo que se da en las unidades de producción pecuaria y los rastros es de suma importancia. Se recomienda un uso prudente de los antibióticos en el ganado con tal de evitar el desarrollo de la resistencia a ellos y de mantener su eficacia. Su uso inadecuado fomenta la evolución de cepas de bacterias resistentes que pueden colonizar el tracto gastrointestinal humano a través de la cadena alimentaria, como los serotipos que se identificaron en este estudio. Con frecuencia estos serotipos conllevan la presencia de toxinas, que puedan causar efectos adversos y tener implicaciones clínicas. La presencia en México de varios serotipos de *E. coli* con resistencia comprobada a los antibióticos es, sin duda, un grave problema de salud pública.

Literatura citada:

1. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol;2004;2(2):123-40.
2. Krüger A, Lucchesi PM. Shiga toxins and stx phages: highly diverse entities. Microbiol 2015;161(3):451-462.
3. Al-Nabulsi AA, Holley RA. Effects on *Escherichia coli* O157:H7 and meat starter cultures of bovine lactoferrin in broth and microencapsulated lactoferrin in dry sausage batters. Int J Food Microbiol 2007;113(1):84-91.
4. Krüger A, Burgán J, Friedrich AW, Rossen JWA, Lucchesi PMA. ArgO145, a Stx2a prophage of a bovine O145:H- STEC strain, is closely related to phages of virulent human strains. Infect Genet Evol 2018;(60):126-132.
5. Melton-Celsa AR, O'Brien AD. *E. coli* Methods in Molecular Medicine. First ed. 1. Totowa, New Jersey: Humana Press 2003:55-75.
6. Galland JC, Hyatt DR, Crupper SS, Acheson DW. Prevalence, antibiotic susceptibility, and diversity of *E coli* O157:H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. Applied Environ Microbiol 2001;67(4):1619-1627.
7. Schroeder MC, Zhao C, DebRoy C, Torcolini J, Zhao S, White DG, *et al*. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O157 Isolated from Humans, Cattle, Swine, and Food. Applied Environ Microbiol 2002;68(2):576-581.
8. World Health Organization. Antimicrobial. Resistance. Global report on Surveillance. WHO, Geneva, Switzerland (2014). http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1. Accessed Feb 12, 2018.
9. Bustamante AV, Sanso AM, Parma AE, Lucchesi PM. Subtyping of STEC by MLVA in Argentina. Front Cell Infect Microbiol 2012;(22):111.
10. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, Swaminathan B, Barrett TJ. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. Foodborne Pathog Dis 2006;3(1):59-67.
11. Bustamante AV, Sanso AM, Lucchesi PM, Parma AE. Genetic diversity of O157:H7 and non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* from Argentina inferred from multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). Int J Med Microbiol 2010;300(4):212-217.

12. Amézquita-López BA, Quiñones B, Cooley MB, León-Félix J, Castro-del Campo N, Mandrell RE, Jiménez M, Chaidez C. Genotypic analyses of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 recovered from feces of domestic animals on rural farms in Mexico. PLoS One 2012;7(12):515-565.
13. Narváez-Bravo C, Echeverry A, Miller MF, Rodas-González A, Brashears MT, Aslam M, *et al.* Virulence characterization and molecular subtyping of typical and atypical *Escherichia coli* O157:H7 and O157:H(-) isolated from fecal samples and beef carcasses in Mexico. J Food Prot 2015;78(2):264-72.
14. CLSI (2015) Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25, Wayne, PA.
15. Jaros P, Cookson AL, Campbell DM, Besser TE, Shringi S, Mackereth GF, *et al.* A prospective case-control and molecular epidemiological study of human cases of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in New Zealand. BMC Infect Dis 2013;(30):450.
16. Mukherjee S, Mosci RE, Anderson CM, Snyder BA, Collins J, Rudrik JT, *et al.* Antimicrobial Drug-Resistant Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections, Michigan, USA. Emerg Infect Dis 2017;23(9):1609-1611.
17. Nekouei O, Checkley S, Waldner C, Smith BA, Invik J, Carson C, *et al.* Exposure to antimicrobial-resistant *Escherichia coli* through the consumption of ground beef in Western Canada. Int J Food Microbiol 2018;(272):41-48.
18. Zhang Y, Gu AZ, Cen T, Li X, Li D, Chen J. Petrol and diesel exhaust particles accelerate the horizontal transfer of plasmid-mediated antimicrobial resistance genes. Environ Int 2018;(114):280-287.
19. Amézquita-López BA, Quiñones B, Soto-Beltrán M, Lee BG, Yambao JC, Lugo-Melchor OY, *et al.* Antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 recovered from domestic farm animals in rural communities in Northwestern Mexico. Antimicrob Resist Infect Control 2016;(5):1.
20. Martínez-Vázquez AV, Rivera-Sánchez G, Lira-Méndez K, Reyes-López MA, Bocanegra-García V. Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes in *Escherichia coli* isolated from retail meats in Tamaulipas, México. J Glob Antimicrob Resist 2018;(14):266-272.
21. Donkersgoed JV, Graham T, Gannon V. The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* O157, and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. Can Vet J 1999;40(5):332-338.

22. Le Devendec L, Jouy E, Kempf I. Evaluation of resistance gene transfer from heat-treated *Escherichia coli*. Int J Food Microbiol 2018;(270):39-43.
23. Mandal PK. Synthesis of the pentasaccharide repeating unit of the O-antigen of *E. coli* O117:K98:H4. Beilstein J Org Chem 2014;(10):2724-2728.
24. Timm CD, Irino K, Gomes TA, Vieira MM, Guth BE, Vaz TM, *et al.* Virulence markers and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, isolated from cattle in Rio Grande do Sul, Brazil. Lett Appl Microbiol 2007;44(4):419-425.
25. Pradel N, Livrelli V, De Champs C, Palcoux JB, Reynaud A, Scheutz F, *et al.* Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. J Clin Microbiol 2000;38(3):1023-1031.
26. Bentancor A, Rumi MV, Carbonari C, Gerhardt E, Larzábal M, Vilte DA, *et al.* Profile of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat and humans. Vet Microbiol 2012;156(3-4):336-342.
27. Shecho M, Thomas N, Kemal J, Muktar Y. Cloacael Carriage and Multidrug Resistance *Escherichia coli* O157:H7 from Poultry Farms, Eastern Ethiopia. J Vet Med 2017;(2017):8264583.
28. Gai W, Wang J, Wang J, Cui Z, Qu Z, Cui J, *et al.* Molecular classification and drug resistance analysis of *Escherichia coli* isolated from poultry in China. Int J Clin Exp Med 2015;8(1):836-844.
29. Hamed OM, Sabry MA, Hassanain NA, Hamza E, Hegazi AG, Salman MB. Occurrence of virulent and antibiotic-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in some food products and human stool in Egypt. Vet World 2017;10(10):1233-1240.
30. Jure MA, Condorí MS, Pérez Terrazzino G, Catalán MG, López Campo A, Zolezzi G, *et al.* Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157 in bovine meat products and cattle in the province of Tucuman. Rev Argent Microbiol 2015;47(2):125-131.
31. Bibbal D, Loukiadis E, Kérourédan M, Ferré F, Dilasser F, Peytavin de Garam C, *et al.* Prevalence of carriage of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, and O145:H28 among slaughtered adult cattle in France. Appl Environ Microbiol 2015;81(4):1397-1405.
32. D'Astek BA, del Castillo LL, Miliwebsky E, Carbonari C, Palladino PM, Deza N, *et al.* Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from human infections and healthy cattle in Argentina. Foodborne Pathog Dis 2012;9(5):457-464.

33. Hussein HS. Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. *J Anim Sci* 2007;85(13):63-72.
34. Franci T, Sanso AM, Bustamante AV, Lucchesi PM, Parma AE. Genetic characterization of non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from raw beef products using multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *Foodborne Pathog Dis* 2011;8(9):1019-1023.
35. Wilson D, Dolan G, Aird H, Sorrell S, Dallman TJ, Jenkins C, *et al.* Farm-to-fork investigation of an outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. *Microb Genom* 2018;4(3):1-7.