

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA**



**DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE VIRULENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD  
ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Escherichia coli* DE CARNE EN EL NORESTE  
DE TAMAULIPAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA**

PRESENTA

**Q.F.B. EDUARDO CRUZ GONZÁLEZ**

REYNOSA, TAMAULIPAS

AGOSTO, 2018

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA**



**DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE VIRULENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD  
ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Escherichia coli* DE CARNE EN EL NORESTE  
DE TAMAULIPAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA**

PRESENTA

**Q.F.B. EDUARDO CRUZ GONZÁLEZ**

REYNOSA, TAMAULIPAS

AGOSTO, 2018



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de Reynosa, Tamps. el día 2 del mes de Julio del año 2018, el que suscribe Eduardo Cruz González alumno del Programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica, con número de registro B160451, adscrito al Centro de Biotecnología Genómica, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Ana Verónica Martínez Vázquez, Dra. Iliana Guardiola Avila y cede los derechos del trabajo titulado "DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE VIRULENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Escherichia coli* aisladas de CARNE EN EL NORESTE DE TAMAULIPAS", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones Bld. del Maestro esq. con Elías Piña S/N Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710 Cd. Reynosa, Tamaulipas, México Tels. 01-899 9243627, 9251656. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Eduardo Cruz González



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Reynosa, Tamps. siendo las 12:00 horas del día 02 del mes de Julio del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CBG para examinar la tesis titulada:  
"DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE VIRULENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE Escherichia coli aisladas de CARNE EN EL NORESTE DE TAMAULIPAS".

Presentada por el alumno:

Cruz  
Apellido paterno

González  
Apellido materno

Eduardo  
Nombre(s)

Con registro:

B	1	6	0	4	5	1
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

  
Dra. Ana Verónica Martínez Vázquez

  
Dra. Itina Berenice Guardiola Avila

  
Dr. Virgilio Bocanegra García

  
Dr. Gildardo Rivera Sánchez

  
Dr. Erick de Jesús de Luna Santillana

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
Dr. Mario Alberto Rodríguez Pérez

  
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA

# INDICE

<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	vii
<b>LISTA DE SÍMBOLOS Y/O ABREVIATURAS</b> .....	viii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	xi
<b>DEDICATORIA</b> .....	xii
<b>RESUMEN</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	3
2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos .....	3
2.2 Características de <i>Escherichia coli</i> .....	3
2.3 Virulencia de EPEC y STEC.....	4
2.4 Epidemiología .....	5
2.5 Transmisión .....	5
2.6 Resistencia a antimicrobianos .....	6
2.7 Incidencia de <i>E.coli</i> en Alimentos .....	6
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	8
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	9
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	10
5.1 Objetivo General .....	10
5.2 Objetivos Específicos.....	10
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	11
6.1. Sitios de muestreo.....	11
6.3 Aislamiento e identificación de <i>E. coli</i> .....	11
6.3.- Detección de factores de virulencia .....	12
6.4 Susceptibilidad a antimicrobianos .....	13
<b>7. RESULTADOS</b> .....	15
7.1. Toma de muestra.....	15

<b>7.2.-Aislamiento e identificación de <i>E. coli</i></b> .....	15
<b>7.3.- Detección de factores de virulencia</b> .....	16
<b>7.4.- Susceptibilidad a antimicrobianos</b> .....	17
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	21
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	25
<b>REFERENCIAS</b> .....	27

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Pagina</b>
1	Lista de iniciadores utilizados para la identificación de los diferentes factores de virulencia relacionados con los patotipos STEC y EPEC	12
2	Condiciones de amplificación	13
3	Lista de antibióticos utilizados en la prueba de susceptibilidad a antimicrobianos.	14
4	Prevalencia de <i>E. coli</i> en muestras de carne en el Noreste de Tamaulipas	15
5	Prevalencia de muestras/cepas de <i>E. coli</i> por tipo de carne	16
6	Prevalencia de factores de virulencia por tipo de carne y localidad	16
7	Susceptibilidad a antimicrobianos en las muestras de carne en conjunto	17
8	Resistencia antimicrobiana por aislado	18
9	Multiresistencia de los aislados de <i>E. coli</i> por tipo de carne	19
10	Índice de multiresistencia y caracterización molecular de <i>E. coli</i>	20

## LISTA DE SÍMBOLOS Y/O ABREVIATURAS

<b>%</b>	Por ciento
<b>°C</b>	Centígrados
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AK</b>	Amikacina
<b>AM</b>	Ampicilina
<b>AMC</b>	Amoxicilina y ácido clavulánico
<b>CBG</b>	Centro de Biotecnología Genómica
<b>CF</b>	Cefalotina
<b>CIP</b>	Ciprofloxacino
<b>CL</b>	Cloranfenicol
<b>CRO</b>	Ceftriaxona
<b>CTX</b>	Cefotaxima
<b>DEC</b>	<i>E. coli</i> diarreogénica
<b>EMB</b>	Eosina azul de metileno
<b>EPEC</b>	<i>E. coli</i> enteropatógena
<b>ETA</b>	Enfermedades transmitidas por alimentos



<b>FEP</b>	Cefepime
<b>g</b>	Gramos
<b>GE</b>	Gentamicina
<b>H</b>	Antígeno flagelar
<b>I</b>	Intermedio
<b>IDMR</b>	Índice de multiresistencia
<b>LEV</b>	Levofloxacino
<b>LIA</b>	Lisina hierro agar
<b>LMC</b>	Laboratorio de medicina de conservación
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mM</b>	Milimolar
<b>MR-VP</b>	Rojo de metilo-Voges-Proscauer
<b>NET</b>	Netilmicina
<b>NF</b>	Nitrofurantoina
<b>O</b>	Antígeno somático
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>pb</b>	Pares de bases

<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>S</b>	Susceptible
<b>SIM</b>	Medio sulfuro indol para movilidad
<b>STEC</b>	<i>E. coli</i> Shigatoxigenica
<b>STR</b>	Estreptomicina
<b>SXT</b>	Trimetoprim/sulfametoxazol
<b>TE</b>	Tetraciclina
<b>TSA</b>	Agar soya tripticaseina
<b>TSI</b>	Triple azúcar hierro
<b>UFC</b>	Unidades formadoras de colonias
<b>μL</b>	Microlitros

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de postgrado.

A la doctora Ana Verónica Martínez Vázquez y a la doctora Iliana Berenice Guardiola Ávila, por su asesoría en la realización de este trabajo de tesis.

A los miembros de mi comité revisor, Dr. Virgilio Bocanegra García, Dr. Gildardo Sánchez Rivera, Dr. Erick de Luna Santillana y Dr. Miguel Ángel Reyes López, por sus contribuciones a este trabajo de investigación.

A mis compañeros de laboratorio por el apoyo prestado para la realización de este trabajo.

A mis compañeros y amigos de maestría.

# **DEDICATORIA**

A mis padres.

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Destacando *Escherichia coli* como uno de los principales patógenos asociados con ETA, ocasionando desde infecciones leves y padecimientos diarreicos, hasta incluso la muerte. Los brotes de *E. coli* se han relacionado principalmente al consumo de alimentos de origen animal, siendo la carne uno de los vehículos más comunes. Aunado a este problema, en los últimos años se ha incrementado la presencia de cepas con resistencia a antimicrobianos, convirtiéndose en uno de los grandes problemas para la salud pública. De tal manera, resulta necesario evaluar el riesgo que la carne representa para el consumidor, identificando la presencia de bacterias patógenas y el desarrollo de resistencia a antimicrobianos. Por esa razón, el objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia de *Escherichia coli* en carne comercializada en el Noreste de Tamaulipas, sus factores de virulencia y los patrones de resistencia a antimicrobianos que presentan. Para esto, se obtuvieron muestras de carne de res, cerdo y pollo en 69 comercios de los municipios de Reynosa, Rio Bravo y Matamoros. El aislamiento e identificación de *E. coli* se realizó tomando como base la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. La identificación de los genes relacionados con la virulencia, se llevó a cabo mediante PCR, incluyendo los genes *eae*, *bfp*, *hlyA*, *stx1* y *stx2*. Mientras que la determinación de los perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos se hizo por el método de Kirby Bauer, utilizando 16 antibióticos. Como resultado, se analizaron 207 muestras de carne (69 de cada tipo), y se identificaron 296 cepas de *E. coli*. De las cuales, un 6.4% (19/296) presentaron alguno de los factores de virulencia incluidos en este estudio. Los genes *eae* y *bfp* no se identificaron en ninguna de las cepas. El gen *hlyA* fue el más comúnmente detectado (17/19), y los genes *stx1/stx2* se presentaron en baja prevalencia (2/19). Al evaluar los perfiles de resistencia antimicrobiana, todas las cepas fueron resistentes al menos a uno de los 16 antibióticos probados. Destacando la resistencia a la cefalotina (88.8%), ampicilina (79.6%) y tetraciclina (59.2%). Por otro lado, las cepas mostraron la mayor susceptibilidad ante antibióticos como netilmicina (92.5%), levofloxacina (81.4%) y gentamicina (76.8%). Analizando solamente las cepas que presentaron algún factor de virulencia, se observa que el 63.1% (12/19) exhibieron multirresistencia a  $\geq 4$  antibióticos.

## ABSTRACT

Foodborne illnesses are one of the main causes of morbidity and mortality worldwide, *Escherichia coli* is an important foodborne pathogen, causing diarrheal diseases and even death; this ability is given by the presence of different virulence factors. Outbreaks of *E. coli* have been associated mainly with the consumption of meat products, being this the main source related to *E. coli*. In addition to this, the treatment for *E. coli* infections had complicated due to the emergence of resistant strains; also, antimicrobial resistance has become one of the biggest problems in public health for the increased findings of resistant microorganisms and the spread of resistance genes. Thus, the aim of this study was to determine the presence and prevalence of *E. coli*, their virulence factors and antimicrobial resistance patterns, in isolates from ground beef, ground pork and raw chicken sold in the Northeast of Tamaulipas. The samples were collected from 69 stores in the municipalities of Reynosa, Rio Bravo and Matamoros. Only the stores that commercializing ground beef, ground pork and whole chicken pieces were included due to the inclusion criteria. The isolation and identification of *E. coli* was carried out based on the Official Mexican Standard NOM-210-SSA1-2014. The identification of genes related to virulence was carried out by PCR, identifying the genes *eae*, *bfp*, *hlyA*, *stx1* and *stx2*. Determination of resistance to antibiotics was performed according to the CLSI methodology for 16 antibiotics used mainly in the treatment of *E. coli* related pathologies in animals and humans. Results from 296 isolates, showed the presence of *E. coli* in 50.7%, 47.8% and 50.7% in beef, pork and chicken respectively, as in terms of virulence factors detection, out of 296 isolates, only 6.4% (19/296) had at least one virulence factor, *hlyA* gene being the most common, with a low prevalence of the *stx* genes observed, one of the isolates had the *stx1/stx2* combination and one possessed only the *stx2* gene. In this study, all strains were resistant to at least one antibiotic, highlighting resistance to cefalotin (88.8%), ampicillin (79.6%), and tetracycline (59.2%).

# 1. INTRODUCCIÓN

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, representando un problema de salud creciente. Existen más de 250 ETA y suelen ser ocasionadas por una gran variedad de microorganismos, sus toxinas o sustancias químicas que se encuentran en los alimentos (Kirk *et al.*, 2015). Dentro de las principales ETA registradas, destacan como agentes causales bacterias tales como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (CDC, 2017). Especialmente, *E. coli* es una de las bacterias relacionadas con ETA, si bien se reconoce como una bacteria comensal que habita en el intestino del humano y de otros mamíferos la cual, normalmente no ocasiona daño, algunas han desarrollado la capacidad de ser patógenas. Esta capacidad está dada por diferentes combinaciones de factores de virulencia, los cuales le permiten adaptarse a nuevos nichos ecológicos y como consecuencia originar infecciones (López-Banda *et al.*, 2014). Dentro de los principales padecimientos relacionados con *E. coli* destacan aquellos de tipo diarreico, con cuadros clínicos que van de leves a graves, colitis hemorrágica (CH), síndrome urémico hemolítico (SUH), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), falla renal e incluso la muerte (Majowicz *et al.*, 2014; Preußel *et al.*, 2013).

A nivel mundial, se estiman cada año alrededor de 1.7 billones de casos de diarrea y más de 700, 000 muertes, principalmente en niños pequeños, adultos mayores y pacientes inmunocomprometidos (Canizalez *et al.*, 2016). Específicamente en México, se reportaron 5.5 millones de casos al año, siendo la segunda causa de morbilidad y quinta causa de mortalidad en niños menores de 5 años (Patzí-Vargas *et al.*, 2015). Las infecciones severas, se relacionan en su mayoría a cepas de *E. coli* enteropatógena (EPEC) y *E. coli* shigatoxigénica (STEC). Existen diferentes rutas para la transmisión de *E. coli*, como lo es la transmisión de persona a persona; por consumo de alimentos contaminados; o incluso por agua contaminada (Borch and Arinder, 2002; García *et al.*, 2009). Sin embargo, los brotes de *E. coli* se han asociados principalmente al consumo de alimentos de origen animal, siendo la carne uno de los vehículos más comunes (Ferens *et al.*, 2011;

1 Croxen *et al.*, 2013). En Estados Unidos (E.U.), el 68 % de los casos de infecciones por  
2 *E. coli* O157:H7 están relacionados con la carne molida de res, como uno de los  
3 principales vehículos (Ahlstrom *et al.*, 2017).

4 Aunado a este problema, la presencia de cepas con resistencia a antimicrobianos  
5 se ha convertido en uno de los grandes problemas para la salud pública, debido al  
6 incremento de los microorganismos resistentes y a la diseminación de los genes de  
7 resistencia (Ye *et al.*, 2017). Dicha resistencia, provoca la ineficiencia de los tratamientos  
8 usados, incrementando la duración de la enfermedad, aumentando el tiempo de  
9 hospitalización e incrementando la mortalidad (Frye and Jackson., 2013).  
10 Desafortunadamente, el uso inadecuado de antibióticos en humanos y animales ha  
11 contribuido al aumento de la resistencia a los antimicrobianos (Beyi *et al.*, 2017);  
12 particularmente en animales destinados para consumo humano, como cerdos, pollos y  
13 bovinos (McNulty *et al.*, 2016). En los Estados Unidos, 2 millones de personas contraen  
14 alguna infección ocasionada por una bacteria resistente a antibióticos y cerca de 23 mil  
15 mueren como consecuencia cada año (Zang *et al.*, 2015). De tal modo, que la  
16 Organización mundial de la Salud (OMS) menciona el problema de la resistencia  
17 antimicrobiana como uno de los grandes problemas actuales para la salud pública (Konaté  
18 *et al.*, 2017). Incluso, algunos especialistas estiman que para el año 2050 las infecciones  
19 resistentes a los antibióticos podrían ocasionar más de 10 millones de muertes, con un  
20 costo económico mundial de hasta \$100 billones, si no se toman medidas al respecto  
21 (O'Neil, 2016).

22 Por tal motivo, se han establecido en varios países sistemas de monitoreo, para  
23 identificar la presencia de estos patógenos en alimentos, principalmente en carne, a fin de"  
24 asegurar la inocuidad del alimento y con ello la salud del consumidor (Gómez-Aldapa *et*  
25 *al.*, 2016). Para esto, se ha recurrido a la combinación de diferentes técnicas moleculares,  
26 que permitan en conjunto identificar tanto los factores de virulencia, como la  
27 susceptibilidad a antimicrobianos. De tal manera, que sea posible determinar las  
28 tendencias, análisis de riesgos y posibles estrategias para su control. Considerando lo  
29 anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de *E. coli* en carne de  
30 res, cerdo y pollo de venta al público, identificando factores de virulencia y perfil de  
31 susceptibilidad a antimicrobianos.

32



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos

Las ETA son aquellas enfermedades ocasionadas por el consumo de alimentos, los cuales pueden encontrarse contaminados por una amplia variedad de microorganismos, toxinas u otras sustancias químicas (Kirk et al., 2015). Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) estiman que alrededor de 600 millones de personas contraen alguna ETA cada año, y como consecuencia alrededor de 400 mil mueren (Adane *et al.*, 2018). Entre los principales patógenos involucrados en ETA, se encuentran *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocitogenes*, y *Escherichia coli*. Produciendo en su mayoría padecimientos de tipo diarreico, que van desde leves a severos (Havelaar *et al.*, 2015). Entre estos, destaca particularmente *Escherichia coli* como causal de diarrea, afectando principalmente a niños menores de 5 años. Tan solo en 2011, se registraron 711,800 muertes y 1,731 millones de casos (Patzl et al., 2015). En México, las enfermedades diarreicas son la segunda causa de morbilidad y la quinta causa de mortalidad entre niños menores de cinco años (Patzl et al., 2015).

### 2.2 Características de *Escherichia coli*

*Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, oxidasa negativa, capaz de convertir indol a partir de triptófano. Normalmente es fermentadora de lactosa y glucosa, siendo una bacteria mesófila con un rango de crecimiento entre 35-42°C (Croxen *et al.*, 2013). La clasificación de *E. coli* se basa en el esquema de Kauffman que consiste en la inmunoaglutinación para la detección de los antígenos O (somático) y el antígeno H (flagelar) (Croxen, 2013). Existen cerca de 174 antígenos O y 53 antígenos H (Holt *et al.*, 1994). Diversos serotipos se encuentran relacionados con enfermedades en humanos y animales (Delannoy *et al.*, 2017). El hábitat normal de *E. coli* es el intestino de humanos y mamíferos, por lo que la colonización por *E. coli* es normalmente asintomática e incluso benéfica. No obstante, algunas cepas poseen la capacidad de ocasionar diferentes enfermedades, un claro ejemplo son los patotipos diarrogénicos de *E.*

1 *coli* (DEC). Los cuales son un grupo heterogéneo de microorganismos con diferentes  
2 factores de virulencia, epidemiología y enfermedades asociadas.

3 Los patotipos DEC están formados por 6 grupos (Canizalez *et al.*, 2013):

- 4 – *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)
- 5 – *E. coli* enteroagregativa (EAEC)
- 6 – *E. coli* de adherencia difusa (DAEC)
- 7 – *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)
- 8 – *E. coli* enteropatogena (EPEC)
- 9 – *E. coli* shigatoxigenica (STEC)

10 Dentro de estos, destacan EPEC y STEC como uno de los principales agentes causales de  
11 diarrea relacionados con el consumo de alimentos como la carne.

12

### 13 **2.3 Virulencia de EPEC y STEC**

14

15 Los patotipos EPEC y STEC se encuentran fuertemente relacionados e identificados como  
16 una de las principales causas de diarrea en el mundo (Patz-Vargas *et al.*, 2015). Las cepas  
17 EPEC típicas poseen el gen de virulencia *bfp* en el plásmido pEAF, relacionado con la  
18 producción de fimbria. Además, posee el locus de esfacelamiento del enterocito (LEE),  
19 en el cual se encuentra el gen *eae* que codifica para la intimina, una proteína de 94 kDa  
20 relacionada con la unión y el esfacelamiento del eritrocito (Kaper *et al.*, 2004). Las cepas  
21 EPEC pueden ser clasificadas como típicas o atípicas dependiendo de la presencia del  
22 plásmido pEAF (Kaper *et al.*, 2004; Croxen *et al.*, 2013) Por otra parte, el patotipo STEC  
23 posee la capacidad de producir shigatoxinas, codificadas por los genes *stx1* y *stx2* (Croxen  
24 *et al.*, 2013), inhibiendo la síntesis de proteínas (Toro *et al.*, 2017). Otro factor de  
25 virulencia de STEC es la hemolisina (*hlyA*), este gen se encuentra codificado por un  
26 plásmido en *E. coli* O157 y en otros serotipos. La hemolisina es una toxina formadora de  
27 poros, responsable de la lisis de eritrocitos lo que promueve la adquisición de hierro  
28 (Croxen *et al.*, 2013; Toro *et al.*, 2017; Ferdous *et al.*, 2015). Sumado a todo esto, STEC  
29 posee la capacidad de producir la intimina, por esta razón los patotipos STEC y EPEC se  
30 encuentran fuertemente relacionados, ya que una STEC *stx* negativa es un EPEC atípica  
31 (Ferdous *et al.*, 2015).

## 1 **2.4 Epidemiología**

2

3 La prevalencia de EPEC varía dependiendo de las diferentes regiones, por periodo de  
4 tiempo e incluso por estrato socioeconómico (Gómez-Aldapa *et al.*, 2016). EPEC es uno  
5 de los agentes causales de diarrea más comunes en países en vías de desarrollo, causando  
6 morbilidad y mortalidad principalmente en niños (Croxen *et al.*, 2013; Gaytán *et al.*, 2016;  
7 Gomes *et al.*, 2016,). Se estima que EPEC es responsable de 1.7 millones de casos  
8 diagnosticados de diarrea en el mundo anualmente (Watson *et al.*, 2017). En los últimos  
9 años, ha ido en aumentó el número de casos de diarrea relacionados con cepas atípicas de  
10 EPEC (Gaytán *et al.*, 2016). Mientras que STEC, causa 2. 801 000 casos de enfermedades  
11 agudas anualmente, con 3890 casos de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) y alrededor  
12 de 270 casos de falla renal (Majowicz *et al.*, 2014).

13

## 14 **2.5 Transmisión**

15

16 La transmisión de EPEC es normalmente por contaminación oral-fecal, a través de  
17 superficies contaminadas, agua, y alimento. La dosis efectiva para EPEC está entre  $1 \times 10^8$ -  
18  $10^{10}$  UFC, por lo que es relativamente alta (Croxen *et al.*, 2013). Por otro lado, STEC es  
19 un habitante normal del intestino de rumiantes como el ganado (Browne *et al.*, 2018), por  
20 lo que, de igual manera, la transmisión está ligada a productos de origen animal como  
21 lácteos y carne contaminados con esta bacteria (Ahmed *et al.*, 2015). Además, puede estar  
22 presente en suelo, agua y se puede transmitir por el contacto directo con animales  
23 portadores (Gómez-Aldapa *et al.*, 2016). Destacando la carne como uno de los principales  
24 vehículos para su transmisión. La contaminación suele ocurrir durante las diferentes  
25 etapas del procesamiento de la carne, sin embargo, uno de los puntos críticos es el de  
26 eviscerado, donde la materia fecal puede contaminar la carne, además de que se puede dar  
27 contaminación a través de diferentes objetos como el cuchillo, las mesas de corte y  
28 máquinas de molienda (Álvarez *et al.*, 2013). Otra ruta importante es la contaminación  
29 cruzada en la cocina y el consumo de alimentos mal cocinados o crudos (Niyozima *et al.*,  
30 2015; Wang *et al.*, 2017).

31

## 1 **2.6 Resistencia a antimicrobianos**

2

3 Durante la producción de alimentos de origen animal se utilizan diferentes  
4 compuestos antimicrobianos, como promotores de crecimiento o para tratamiento y  
5 prevención de enfermedades infecciosas (Frye and Jackson 2013; Skockova et al., 2015;  
6 Akthar *et al.*, 2016). El uso inadecuado de estos antimicrobianos (dosis y tiempos  
7 incorrectos), aumenta la posibilidad de que se produzca una presión selectiva y las  
8 bacterias desarrollen resistencia a uno o más antimicrobianos (Rasmussen *et al.*, 2015).  
9 Estas bacterias con resistencia a antimicrobianos, pueden transmitirse al humano a través  
10 de alimentos como carne o leche, provocando infecciones de difícil tratamiento, lo cual  
11 aumenta la morbilidad y mortalidad; derivando en la elevación de los costos del sector  
12 salud (Zhang *et al.*, 2015). Entre los principales elementos genéticos asociados a la  
13 diseminación de las resistencias a antimicrobianos en *Enterobacteriaceae* se encuentran  
14 los plásmidos, los transposones y los cassettes génicos en integrones, que hacen posible  
15 la transmisión de la resistencia entre bacterias y que incluso pueden pertenecer a géneros  
16 o especies diferentes (Carattoli *et al.*, 2001; Sunde & Sorum, 2001; Frye and Jackson,  
17 2013; Ahmed *et al.*, 2015; Colavecchio *et al.*, 2017). Además, en un mismo elemento  
18 genético pueden encontrarse varios genes implicados en la resistencia a diferentes familias  
19 de antimicrobianos, provocando que las bacterias que los poseen presenten multi  
20 resistencia. Existen tres diferentes mecanismos que pueden conferir la resistencia  
21 antimicrobiana, como lo son las mutaciones puntuales que ocasionan modificaciones en  
22 el blanco del antibiótico, la expulsión del antibiótico por medio de bombas de eflujo o  
23 incluso a inactivación del antibiótico (Frye and Jackson, 2013).

24

## 25 **2.7 Incidencia de *E.coli* en Alimentos**

26

27 La incidencia de *E. coli* en alimentos ha sido utilizada por años como un indicador  
28 de la calidad higiénica de los alimentos, por otro lado, los brotes de ETA relacionados con  
29 la contaminación de *E. coli* son un tema de interés a nivel mundial, por lo que diferentes  
30 gobiernos han enfocado sus esfuerzos en determinar la fuente de la contaminación para  
31 prevenir futuros brotes. Cabe destacar, que a pesar de que la presencia de *E. coli* es un

1 indicador de calidad higiénica, no todas las *E. coli* pertenecen a alguno de los patotipos  
2 DEC, por lo que es necesario la identificación de los genes relacionados con la virulencia.  
3 Trabajos para determinar la presencia de dichos patógenos en alimentos se ha realizado  
4 por diferentes grupos de investigadores, Canizalez y colaboradores (2013) detectaron la  
5 presencia de patotipos DEC en diferentes muestras de alimentos en el estado de Sinaloa,  
6 utilizando una serie de reacciones secuenciales de PCR para la detección de los factores  
7 de virulencia, además de que detectaron un alto número de cepas resistentes a ampicilina  
8 y tetraciclina. Por su parte, Park y colaboradores (2015) determinaron una baja prevalencia  
9 de STEC, mientras que observaron un alto número de cepas resistentes a la tetraciclina y  
10 ampicilina en muestras de carne de res, cerdo y pollo en rastros y supermercados, Bai y  
11 colaboradores identifico la presencia de los genes *stx* en diferentes muestras cárnicas en  
12 china, por su parte Rasmussen y colaboradores observado un alto número de cepas  
13 resistentes a antibióticos en muestras de carne pollo. una gran cantidad de investigadores  
14 dedican sus esfuerzos a determinar la presencia de dichos patógenos en el alimento, sin  
15 embargo, en la región del noreste de Tamaulipas se dispone de poca información respecto  
16 a la presencia de *E. coli*, en productos cárnicos.  
17

### 3. JUSTIFICACIÓN

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son un problema de salud creciente, destacando los padecimientos diarreicos como una de las principales consecuencias de las ETA. Se estima que cada año a nivel mundial se presentan alrededor de 1.7 billones de casos de diarrea, que derivan en más de 700 000 muertes. Sin embargo, algunos autores piensan que la cifra de casos es superior a la reportada, considerando que en países industrializados se informa sólo del 10% de los casos y en países en vías de desarrollo se informa solo del 1%. *Escherichia coli* destaca como uno de los principales patógenos relacionado, siendo los alimentos de origen animal, y específicamente la carne, una de las principales vías de transmisión. Estos brotes de ETA, ocasionan padecimientos que van desde una diarrea leve a moderada hasta a condiciones severas, que derivan incluso en la muerte. La capacidad de *E. coli* para ocasionar enfermedades se encuentra codificada por diferentes factores de virulencia que nos permiten diferenciarla en sus diferentes patotipos. Sumado a esto, *E. coli* tiene una gran capacidad para adquirir y transferir resistencia a antimicrobianos, propiciando un aumento en la morbilidad y mortalidad provocada por las ETA. Desafortunadamente, en nuestro país se dispone de poca información referente al impacto de las ETA y pocas veces se identifica el agente causante. Lo que complica poder establecer estrategias eficaces para prevenir las ETA. En este contexto, el monitoreo de la presencia de *E. coli* en carne, así como la evaluación de sus perfiles de virulencia y resistencia a antimicrobianos es indispensable, para observar las tendencias en cuanto a la resistencia, realizar el análisis de riesgos y establecer las posibles estrategias para controlar la propagación de bacterias patógenas y/o resistentes.

#### 4. HIPÓTESIS

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

La carne comercializada en el Noreste de Tamaulipas, presenta los patotipos *E. coli* enteropatogenica (EPEC) y *E. coli* shigatoxigenica (STEC) en una prevalencia superior al 5%. Así también, las cepas de *E. coli* muestran resistencia a Tetraciclinas y  $\beta$ -Lactámicos superiores al 70%.

## 5. OBJETIVOS

1

2

### 3 **5.1 Objetivo General**

4

5 Evaluar la patogenicidad y patrones de susceptibilidad a antimicrobianos, de *Escherichia*  
6 *coli* aislada de carne comercializada en el Noreste de Tamaulipas.

7

### 8 **5.2 Objetivos Específicos**

9

10 • Determinar la prevalencia de *E. coli* en muestras de carne de res, cerdo y pollo  
11 adquiridas en comercios del noreste de Tamaulipas.

12

13 • Identificar factores de virulencia en cepas de *E. coli* aisladas de carne de res, cerdo y  
14 pollo de venta en el noreste de Tamaulipas.

15

16 • Determinar fenotípicamente los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de las  
17 cepas de *E. coli* aisladas de carne de res, cerdo y pollo de venta en el noreste de  
18 Tamaulipas.

19



## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Sitios de muestreo

La toma de las muestras de carne se realizó en tres diferentes municipios del noreste de Tamaulipas comprendiendo a las ciudades de Reynosa, Río Bravo y Matamoros. Como criterio de inclusión, se consideraron para este estudio solo aquellos comercios en los que se vendían los tres tipos de carne, esperando que las muestras recibieran un manejo similar dentro de cada negocio. Se obtuvieron muestras en un total de 69 comercios diferentes, comprendiendo tiendas departamentales y carnicerías locales. De las cuales, 35 pertenecen a Reynosa, 11 a la ciudad de Río Bravo y 23 a Matamoros (Figura 1). En cada tienda, se adquirió una muestra de aproximadamente 500 g por cada tipo de carne; res y cerdo se obtuvo en presentación molida, y la muestra de carne de pollo consistió de pierna y muslo. Cada muestra fue rotulada, colocada de manera individual en una bolsa estéril, almacenada en hielo y transportada al laboratorio de medicina de conservación (LMC) del Centro de Biotecnología Genómica (CBG) para su análisis inmediato.

### 6.3 Aislamiento e identificación de *E. coli*

Las muestras fueron procesadas con base a la metodología descrita en la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. Se pesaron 25 g de cada muestra en condiciones asépticas y se homogenizaron en 225 mL de caldo lactosado. Después fueron incubados a 37°C por un período de 18 a 24 h. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, cada muestra se sembró por estría cruzada en tres placas de medio Eosina Azul de Metileno (EMB). Posteriormente, las placas se incubaron a 37°C, durante 18 a 24 horas. Después de esto, se seleccionaron dos colonias por placa las cuales mostraron la morfología colonial típica para *E. coli*: colonias con centro negro, planas con o sin brillo metálico. Cada colonia fue sembrada de manera independiente para obtener un cultivo puro en una placa de agar soya tripticasa (TSA) e incubadas a 37°C por 24 h. A partir de este cultivo, se realizaron las pruebas bioquímicas: fermentación de lactosa y/o glucosa con agar hierro triple azul (TSI), sulfhídrico-indol-movilidad con medio SIM, rojo de metilo y Voges

1 Proskauger con caldo MR/VP y citrato de Simmons, incubándose a 37°C por 24 h. La  
2 identificación de *E. coli* se realizó con base a la interpretación de las pruebas bioquímicas,  
3 siguiendo las indicaciones descritas en el manual de Bergey (Holt *et al*, 1994).

4

### 5 **6.3.- Detección de factores de virulencia**

6

7 A partir del cultivo puro (placas de TSA) de las cepas identificadas como *E. coli*, se  
8 suspendieron las colonias en 500 µL de agua MilliQ estéril y se homogenizaron.  
9 Inmediatamente se sometieron a choque térmico a 95°C por 15 minutos. Seguido de una  
10 centrifugación a 13,000 rpm por 5 minutos. A partir de este lisado, se realizó la reacción  
11 en cadena de la polimerasa (PCR), para la identificación de los factores de virulencia. Los  
12 genes a analizar fueron: *stx1*, *stx2*, *hlyA*, *eae* y *bfp*, utilizando los iniciadores descritos por  
13 Canizalez y colaboradores (2013) (Cuadro 1).

14

15 **Cuadro 1.- Lista de iniciadores para la identificación de los factores de virulencia.**

Secuencia del iniciador (5'-3')	Gen	Producto esperado
TATTTTAAATTGGGTTCGGAT AATTTAATGCCTTGTCATCGG TTACTACCAGTCTGCGTCT	<i>eae</i>	365 pb
ATGCCGCTTTATCCAACCTG CAAAGACGTATGTAGATTCGC TTCGTTCAACAATAAGCCGTA	<i>bfp</i>	282 pb
TATTATTTAAATGGGTACTGTGC CATAACTTTGTTGGGTCGAAA AGCTGCAAGTGCGGGTCTG	<i>stx1</i>	196 pb
TACGGGTTATGCCTGCAAGTTCAC	<i>stx2</i>	92 pb
	<i>hlyA</i>	569 pb

16

17 La mezcla de reacción de PCR consistió de: 3.0 µL de buffer 5X, 2.5 µL de MgCl<sub>2</sub> (25  
18 mM), 0.3 µL de dNTPs (10 mM), 0.1 µL de iniciador sentido (10 mM), 0.1 µL de iniciador  
19 antisentido (10 mM), 0.07 µL de Taq ADN polimerasa (5 U) y agua MiliQ; en un volumen  
20 final de 15 µL.

21

1 El programa de amplificación se corrió bajo las siguientes condiciones (Cuadro 2):

2

3

**Cuadro 2.-Programa de amplificación.**

4

5

Numero de ciclos	Temperatura	Tiempo
1	94 ° C	60 segundos
30	94 ° C	45 segundos
	54 ° C	30 segundos
	72 ° C	45 segundos
1	72 ° C	7 minutos

11

12 Los resultados fueron visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2%, bajo  
13 una corriente eléctrica de 100 Volts durante 40 minutos, en comigración con un marcador  
14 de peso molecular de 100 pb (Bioline HyperLadder™) y teñido con Sybr gold. Las  
15 imágenes fueron digitalizadas en un fotodocumentador Kodak™ Gel Logic 112.

16

## 17 **6.4 Susceptibilidad a antimicrobianos**

18

19 La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de Kirby Bauer de  
20 difusión en placa siguiendo las recomendaciones del The Clinical & Laboratory Standards  
21 Institute (CLSI 2017). Se cultivaron los aislados en agar soya triptica (TSA) a 37°C  
22 durante 18-24 h. A partir de los crecimientos obtenidos se prepararon suspensiones  
23 bacterianas en solución salina al 0.85% y se ajustaron a la turbidez del estándar 0.5 de  
24 McFarland. Dichas suspensiones contenían una concentración final de aproximadamente  
25  $1 \times 10^8$  UFC/mL. Posteriormente, 100 µL de la suspensión fueron sembrados en placas de  
26 Muller Hinton. Posteriormente, se dispensaron 4 discos de antibióticos por placa y se  
27 incubaron a 37°C durante 18-24 h. Para probar un total de 16 antibióticos (enlistados en  
28 el Cuadro 3). La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo con el halo de  
29 inhibición, con ayuda de un vernier digital, se midieron de manera individual el diámetro  
30 en mm. Siguiendo las indicaciones del CLSI, se clasificaron los aislados frente a cada uno  
31 de los antibióticos en 3 categorías: Resistente (R), Intermedio (I) o Sensible (S).

1 **Cuadro 3.- Antibióticos usados en la prueba de susceptibilidad a antimicrobianos.**

Familia	Agente antimicrobiano	Concentración	Halo de inhibición		
			R	I	S
Aminoglucósidos	Estreptomina	10 µL	≤11	12-14	≥15
	Gentamicina	10 µL	≤12	13-14	≥15
	Netilmicina	30 µL	≤12	13-14	≥15
	Amikacina	30 µL	≤14	15-16	≥17
Cefalosporinas	Cefalotina	30µL	≤14	15-17	≥18
	Cefotaxima	30µL	≤22	23-25	≥26
	Ceftriaxona	30µL	≤19	20-22	≥23
	Cefepime	30µL	≤18	19-24	≥25
Penicilinas	Ampicilina	10µL	≤13	14-16	≥17
	Amoxicilina y ácido clavulánico	30µL	≤13	14-17	≥18
Nitrofuranos	Nitrofurantoina	30µL	≤14	15-16	≥17
Cloranfenicol	Cloranfenicol	30µL	≤8	13-17	≥18
Quinolonas	Ciprofloxacino	5µL	≤15	16-20	≥21
	Levofloxacino	5µL	≤13	14-16	≥17
Sulfonamidas	Trimetoprim/sulfametoxazol	25µL	≤10	11-15	≥16
Tetraciclinas	Tetraciclina	30µL	≤14	15-18	≥19

2

3 La multirresistencia se estimó de acuerdo a los criterios de Selim y colaboradores (2014).

4 Donde, el índice de multirresistencia (IDMR) se calculó para cada aislado que fue  
5 resistente usando la siguiente formula:

6

$$7 \quad IDMR(\%) = \frac{\text{número de antibióticos resistentes}}{\text{número total de antibióticos probados}} \times 100$$

8

9 Considerando los valores de IDMR superiores al 20%, estas se consideraron como  
10 multirresistentes.

11

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Toma de muestra

En total, se obtuvieron muestras en 69 comercios diferentes, tanto tiendas departamentales como carnicerías locales. Siendo 35 comercios de Reynosa, 11 de la ciudad de Río Bravo y 23 de Matamoros. En suma, se incluyeron en este estudio un total de 207 muestras (69 carne de res, 69 carne de cerdo y 69 carne de pollo).

### 7.2.-Aislamiento e identificación de *E. coli*

Del total de 69 comercios incluidos en este estudio, en el 76.8% se identificó la presencia de *E. coli* (53/69). La mayor prevalencia de *E. coli* se observó en las muestras obtenidas de Matamoros con un 91.3% (21/23), seguido de Río Bravo con un 90.9% (10/11) y finalmente Reynosa, con una prevalencia del 62.8% (22/35) (Cuadro 4). Considerando el tipo de carne, en la suma de las tres localidades de muestreo, la mayor prevalencia de *E. coli* se obtuvo por igual en la carne de res y pollo (35/69) con un 50.71%, seguido de la carne de cerdo con un 47.8% (47.8%).

**Cuadro 4. Prevalencia de *E. coli* en muestras de carne en el Noreste de Tamaulipas**

Localidad	No. Muestras	Prevalencia de <i>E.coli</i> (%)	Prevalencia de <i>E. coli</i> por tipo de carne (%)		
			Res	Cerdo	Pollo
Reynosa	35	22/35 (62.8%)	12/35 (34.2%)	14/35 (40%)	18/35 (51.4%)
Matamoros	23	21/23 (91.3%)	15/23 (65.2%)	13/23 (56.5%)	9/23 (39.1%)
Río Bravo	11	10/11 (90.9%)	8/11 (72.7%)	6/11 (54.5%)	8/11 (72.7%)
Total	69	53/69 (76.8%)	35/69 (50.7%)	33/69 (47.8%)	35/69 (50.7%)

De cada una de las 207 muestras comprendidas en este estudio (69 por cada tipo de carne), se aislaron e identificaron 6 colonias, analizando un total de 1,242 cepas. De tal modo, que para la carne de res se identificaron 115 cepas de *E. coli*, 80 cepas en carne de cerdo y 101 cepas a partir de pollo (Cuadro 5).

1 **Cuadro 5. Prevalencia de muestras/cepas de *E. coli* por tipo de carne.**

Localidad	Muestras/cepas <i>E. coli</i> positivas (%)					
	Res		Cerdo		Pollo	
	Muestras	Cepas	Muestras	Cepas	Muestras	Cepas
Reynosa	12/35 (34.2%)	41/72 (56.9%)	14/35 (40%)	32/84 (38%)	18/35 (51.4%)	50/108 (46.2%)
Matamoros	15/23 (65.2%)	38/90 (42.2%)	13/23 (56.5%)	27/78 (34.6%)	9/23 (39.1%)	24/54 (44.4%)
Río Bravo	8/11 (72.7%)	36/48 (75%)	6/11 (54.5%)	21/36 (58.3%)	8/11 (72.7%)	27/66 (40.9%)
<b>Total</b>	35/69 (50.7%)	115/210 (54.7%)	33/69 (47.8%)	80/198 (40.4%)	35/69 (50.7%)	101/228 (44.2%)

2

3 **7.3.- Detección de factores de virulencia**

4

5 De un total de 296 cepas de *E. coli* analizadas, se detectó un 6.4% (19/296) con  
 6 algún factor de virulencia (*eae*, *bfp*, *stx1*, *stx2* y/o *hlyA*). Los genes *eae* y *bfp* no fueron  
 7 observados en ninguna de las cepas incluidas en este estudio. El gen *hlyA* fue el de mayor  
 8 presencia entre los factores de virulencia identificados, con un 89.4% (17/19). No fue  
 9 común observar combinaciones de más de un gen por cepa, con la única excepción de una  
 10 cepa que mostro los genes *stx1* y *stx2* juntos (Cuadro 6).

11

12 **Cuadro 6. Prevalencia de factores de virulencia por tipo de carne y localidad.**

Localidad	Res			Cerdo			Pollo			Total
	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>	
Reynosa	0	1	2	0	0	1	0	0	6	10
Matamoros	1*	1*	2	0	0	1	0	0	3	7
Río Bravo	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Total	1	2	4	0	0	2	0	0	11	19

13 \* Ambos factores de virulencia estuvieron presentes en la misma cepa.

1 **7.4.- Susceptibilidad a antimicrobianos**

2

3 A partir de las 296 cepas identificadas como *E. coli*, se seleccionó al azar una sola  
 4 cepa por muestra y tipo de carne (las 19 cepas con algún factor de virulencia fueron  
 5 incluidas sin importar que fueran de la misma muestra o tipo de carne). De tal modo, que  
 6 se utilizaron para las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos un total de 108 cepas  
 7 (108/296). Las cepas mostraron un mayor porcentaje de resistencia a cefalotina (CF) en  
 8 un 88.8%, ampicilina (AM) con 79.6% y tetraciclina (TE) con 59.2%. Por otro lado, las  
 9 cepas fueron sensibles principalmente a netilmicina (NET) en un 92.5%, levofloxacina  
 10 (LEV) con un 81.4% y gentamicina (GE) con un 76.8% (Cuadro 7).

11

12 **Cuadro 7. Susceptibilidad a antimicrobianos en las muestras de carne en conjunto**

Grupo	Agente antimicrobiano	Cepas resistentes (%)	Cepas intermedias (%)	Cepas sensibles (%)
Aminoglucosidos	NET	1/108 (0.9%)	8/108 (7.4%)	100/108 (92.5%)
	AK	18/108 (16.6%)	30/108 (27.7%)	60/108 (55.5%)
	GE	18/108 (16.6%)	7/108 (6.4%)	83/108 (76.8%)
	STR	37/108 (34.2%)	37/108 (34.2%)	34/108 (31.4%)
Cefalosporinas	CF	96/108 (88.8%)	10/108 (9.2%)	2/108 (1.8%)
	CTX	57/108 (52.8%)	41/108 (38.0%)	10/108 (0.9%)
	FEP	13/108 (12.0%)	58/108 (53.7%)	37/108 (34.3%)
	CRO	32/108 (29.6%)	48/108 (44.4%)	28/108 (25.9%)
Penicilinas	AM	86/108 (79.6%)	18/108 (16.6%)	4/108 (3.7%)
	AMC	45/108 (41.6%)	50/108 (46.2%)	13/108 (12%)
Nitrofuranos	NF	59/108 (54.6)	30/108 (27.7%)	19/108 (17.5%)
Cloranfenicol	CL	31/108 (28.7%)	10/108 (9.2%)	67/108 (62%)
Sulfonamidas	STX	29/108 (26.8%)	20/108 (18.5%)	59/108 (54.6%)
Quinolonas	LEV	15/108 (13.8%)	5/108 (4.6%)	88/108 (81.4%)
Tetraciclinas	TE	64/108 (59.2%)	21/108 (19.4%)	23/108 (21.2%)
Fluroquinolonas	CIP	11/108 (10.2%)	14/108 (13.0%)	83/108 (76.8%)

13 Agente antimicrobiano: STR=Estreptomycin, GE=Gentamicina, NET=Netilmicina,  
 14 AK=Amikacina, CF=Cefalotina, CTX=Cefotaxima, CRO=Ceftriaxona, FEP=Cefepime,  
 15 AM=Ampicilina, AMC=Amoxicilina y ácido clavulánico, NF=Nitrofurantoina,  
 16 CL=Cloranfenicol, CIP=Ciprofloxacino, LEV=Levofloxacino

17

1 Considerando la resistencia a antimicrobianos por tipo de muestra se observa que  
 2 en los tres tipos de carne las cepas fueron resistentes en mayor porcentaje a CF (res 97.2%,  
 3 cerdo 80% y pollo 91.8%) y AM (res 80.5%, cerdo 77.1% y pollo 81%). Al probar algunos  
 4 antibióticos como cefotaxima (CTX), en los tres tipos de carne se presentan valores  
 5 similares, alrededor del 50% (res 55.5%, cerdo 51.4% y pollo 51.3%). Sin embargo, en la  
 6 prueba con antibióticos como AMC, LEV y CIP, los mayores porcentajes de cepas  
 7 resistentes se observaron en carne de pollo, hasta 17% más que en res y cerdo (Cuadro 8).

8

9 **Cuadro 8.- Resistencia antimicrobiana por tipo de carne**

Grupo	Agente antimicrobiano	Res (n=36)	Cerdo (n=35)	Pollo (n=37)
Aminoglucósidos	NET	0/36 (0.0%)	1/35 (2.8%)	0/37 (0.0%)
	AK	5/36 (13.8%)	7/35 (20%)	6/37 (16.2%)
	GE	4/36 (11.1%)	7/35 (20%)	7/37 (18.9%)
	STR	9/36 (25%)	15/35 (42.8%)	13/37 (35.1%)
Cefalosporinas	CF	35/36 (97.2%)	28/35 (80%)	34/37 (91.8%)
	CTX	20/36 (55.5%)	18/35 (51.4%)	19/37 (51.3%)
	FEP	4/36 (11.1%)	5/35 (14.2%)	4/37 (10.8%)
	CRO	11/36 (30.5%)	8/35 (22.8%)	13/37 (35.1%)
Penicilinas	AM	29/36 (80.5%)	27/35 (77.1%)	30/37 (81%)
	AMC	12/36 (33.3%)	12/35 (34.2%)	19/37 (51.3%)
Nitrofuranos	NF	15/36 (41.6%)	20/35 (57.1%)	24/37 (64.8%)
Cloranfenicol	CL	9/36 (25%)	11/35 (31.4%)	11/37 (29.7%)
Sulfonamidas	STX	8/36 (22.2%)	10/35 (28.5%)	11/37 (29.7%)
Quinolonas	LEV	3/36 (8.3%)	4/35 (11.4%)	8/37 (21.6%)
Tetraciclinas	TE	22/36 (61.1%)	18/35 (51.4%)	24/37 (64.8%)
Fluroquinolonas	CIP	2/36 (5.5%)	3/35 (8.5%)	6/37 (16.2%)

10 Agente antimicrobiano: STR=Estreptomina, GE=Gentamicina, NET=Netilmicina,  
 11 AK=Amikacina, CF=Cefalotina, CTX=Cefotaxima, CRO=Ceftriaxona, FEP=Cefepime,  
 12 AM=Ampicilina, AMC=Amoxicilina y ácido clavulánico, NF=Nitrofurantoina,  
 13 CL=Cloranfenicol, CIP=Ciprofloxacino, LEV=Levofloxacino

14

15 Con base al índice de multirresistencia (IDMR) (Selim *et al.*, 2014), las cepas con  
 16 resistencia a 4 o más antibióticos fueron consideradas multirresistentes. De tal modo, que  
 17 el 75.9% (82/108) de los aislados, fueron multirresistentes (principalmente a CF, AM y  
 18 TE) (Cuadro 9). Entre estos aislados, destacan particularmente 8 cepas (7.4%, 8/108), que  
 19 mostraron resistencia ante 11 a 13 antibióticos. Sobresaliendo un aislado de carne de cerdo



1 procedente de Río Bravo, que presentó multiresistencia a 13 de los 16 antibióticos  
 2 probados.

3

4 **Cuadro 9.-Multiresistencia de los aislados de *E. coli* por tipo de carne**

<b>Número de Resistencias</b>	<b>Número de aislados</b>		<b>Res n=36</b>		<b>Cerdo n=35</b>		<b>Pollo n=37</b>	
1	2/108	1.9%	1	0.9%	1	0.9%	0	0.0%
2	10/108	9.3%	4	3.7%	5	4.6%	1	0.9%
3	14/108	13.0%	5	4.6%	3	2.8%	6	5.6%
4	18/108	16.7%	5	4.6%	7	4.6%	6	5.6%
5	16/108	14.8%	6	5.6%	4	3.7%	6	5.6%
6	8/108	7.4%	4	3.7%	3	2.8%	1	0.9%
7	14/108	13.0%	4	3.7%	4	3.7%	6	5.6%
8	6/108	5.5%	4	3.7%	1	0.9%	1	0.9%
9	8/108	7.4%	1	0.9%	3	2.8%	4	3.7%
10	4/108	3.7%	1	0.9%	2	1.9%	1	0.9%
11	5/108	4.6%	0	0.0%	1	0.9%	4	3.7%
12	2/108	1.9%	1	0.9%	0	0.0%	1	0.9%
13	1/108	0.9%	0	0.0%	1	0.9%	0	0.0%

5

6 Analizando solamente las cepas que presentaron algún factor de virulencia, se  
 7 observa que el 63.1% (12/19) exhibieron multiresistencia a  $\geq 4$  antibióticos, con IDMR  
 8 mayores a 20 %. Cabe destacar que aquellos aislados en los que se encontró algún gen *stx*  
 9 el IDMR fue menor a 20% (Cuadro 10). En estas 19 cepas con factor de virulencia, se  
 10 diferenciaron 18 patrones de multiresistencia diferentes, donde, la resistencia a cefalotina  
 11 (CF) fue el principal denominador (18/19), seguido de la ampicilina (AM) (13/19) y  
 12 nitrofurantoina (NF) (11/19).

13

1 **Cuadro 10.-Índice de multiresistencia y caracterización molecular de *E. coli***

<b>Factor de virulencia</b>	<b>Patrón de resistencia</b>	<b>IDMR</b>
<i>hylA</i>	STR	6.3
<i>stx1/stx2</i>	CF TE	12.5
<i>sxt2</i>	CF NF	12.5
<i>hylA</i>	CF NF	12.5
<i>hylA</i>	FEP CF NF	18.8
<i>hylA</i>	CF CTX NF	18.8
<i>hylA</i>	STR CF AM	18.8
<i>hylA</i>	CF CTX AM NF	25.0
<i>hylA</i>	CF AM NF AMC	25.0
<i>hylA</i>	CF AM NF TE	25.0
<i>hylA</i>	CF SXT AM TE AMC	31.3
<i>hylA</i>	STR CF AM CRO AMC	31.3
<i>hylA</i>	STR CF CTX AM CRO	31.3
<i>hylA</i>	CF CTX AM CRO NF AMC	37.5
<i>hylA</i>	CF CTX AK AM CRO TE AMC	43.8
<i>hylA</i>	LEV CF SXT AM NF TE AMC	43.8
<i>hylA</i>	CF CTX SXT AK AM NF TE	43.8
<i>hylA</i>	STR CF GE AM CL NF TE AMC	50.0
<i>hylA</i>	STR LEV CF GE CTX SXT AK AM CL TE CIP	68.8

2

## 8. DISCUSIÓN

1  
2  
3 De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó una prevalencia de  
4 *Escherichia coli* fue 50.7%, 47.8% 50.7% en carne de res, cerdo y pollo respectivamente  
5 por lo que no se observó una diferencia significativa, lo cual descarta al tipo de carne  
6 como factor determinante de la contaminación e indica que la manipulación es más  
7 importante para la contaminación, Valores similares obtuvo Magwedere y colaboradores  
8 (2013) en los Estados Unidos, con una prevalencia del 45.7%, sin embargo, ellos  
9 obtuvieron una marcada diferencia entre los tipos de carne, encontrando un 35% en res,  
10 50% en cerdo y 75% en pollo. Otro trabajo con resultados similares realizado por Martínez  
11 y colaboradores (2018) el cual se realizó en Tamaulipas, encontraron una prevalencia de  
12 *E. coli* en el 55.6% de las muestras, en este, la carne de res tuvo una prevalencia del 49.1%  
13 y en cerdo un 57.6%, sin embargo, no incluye muestras de pollo. Estudios donde detectan  
14 una menor prevalencia a la nuestra es el realizado en México por Canizalez y  
15 colaboradores (2013), donde en Sinaloa detectaron una prevalencia de *E. coli* del 17%,  
16 detectando una mayor prevalencia en productos cárnicos(res, cerdo, aves y productos  
17 procesados), mientras que, en Egipto, Gwida y colaboradores (2014) obtienen un 21.8%  
18 en carne (res 28.7% y pollo 12.1%), además de que en ese mismo país Selim y  
19 colaboradores (2014) publican un 32.2% de *E. coli* en muestras de carne (res 35.4% y  
20 pollo 21.4%). Valores similares obtuvieron Skockova y colaboradores (2015) en la  
21 Republica Checa, donde encontraron una prevalencia del 33.9% (res 36.5%, cerdo 29% y  
22 aves 36.2%). Por su parte, en Corea, Park y colaboradores (2015) reportaron una  
23 prevalencia del 36.1%, donde la carne de pollo presentó valores muy superiores (res  
24 30.1%, cerdo 22.2% y pollo 77.8%). En contraste, otros estudios reportan porcentajes de  
25 prevalencia de *E. coli* superiores al obtenido en el presente trabajo, tal es el caso de  
26 Martínez y colaboradores (2015) en donde en muestras procedentes de Jalisco, reportaron  
27 una prevalencia de *E. coli*, en carne de res, de 84.5% en carne en trozos y 100% en la  
28 presentación molida. Igualmente, Amézquita y colaboradores (2015) en Colombia reporta  
29 para carne de res picada una prevalencia del 100% de *E. coli*. Por lo que de lo anterior  
30 podemos considerar que la prevalencia detectada en nuestro trabajo representa un valor  
31 intermedio lo cual indica una baja calidad higiénica en el manejo de la carne debido a que

1 esta puede ser contaminada durante todo su procesamiento, tanto a nivel del rastro o  
2 también deberse al hecho de que en México la carne es procesada en establecimientos  
3 tradicionales en los que las medidas de higiene no son las adecuadas, por lo que puede  
4 darse una contaminación cruzada entre manipuladores, utensilios y las diversas piezas de  
5 carne, dado que *E. coli* solo llega a la carne por contaminación externa (Martínez-Chávez  
6 *et al*, 2015).

7  
8 Con respecto a la presencia de factores de virulencia, se lograron detectar los genes  
9 *hlyA*, *stx1* y *stx2* en el 6.4% de las cepas (19/296) aisladas de los diferentes tipos de carne.  
10 De estos, el gen *stx* representan un 0.6% e *hlyA* un 5.7%. Al comparar estos resultados  
11 con otros trabajos similares, se observa que la presencia de genes *stx* es baja en el actual  
12 trabajo. Considerando que Minh y colaboradores (2015) en Japón identificaron un 19.1%  
13 de muestras positivas a *stx1* y/o *stx2*. Llorente y colaboradores (2014) en Argentina  
14 detectaron un 36.1% de STEC en carne molida. Y el contraste con los resultados  
15 reportados en un estudio previo en Tamaulipas, donde Martínez y colaboradores (2018)  
16 detectaron 41.1% para *stx1*, *stx2* y *hlyA*. Este contraste de resultados podría deberse a que  
17 nuestro trabajo se realizó solo en tres ciudades del noreste de Tamaulipas mientras que el  
18 trabajo de Martínez y colaboradores abarco muestras de 11 ciudades del estado de  
19 Tamaulipas, donde las condiciones en la manipulación y procesamiento del alimento  
20 pueden variar de región en región. Cabe destacar que el 89.4%(17/296) de los aislados en  
21 los que se identificó algún factor de virulencia poseían únicamente el gen *hlyA*, el cual  
22 codifica para una importante toxina relacionada con la formación de poros y daño al  
23 enterocito (Balière *et al*, 2016), dichos resultados coinciden con los publicados por Shen  
24 y colaboradores en el 2015, quienes detectaron una prevalencia del 71.0 % para el gen  
25 *hlyA* en aislados provenientes de muestras alimentarias, además de que hay que mencionar  
26 que la presencia del gen *hlyA*, se encuentra relacionada con un plásmido presente en el  
27 serotipo O157:H7 y en otros serotipos STEC los cuales son un riesgo para la salud debido  
28 a que se encuentran relacionados con padecimientos diarreicos y síndrome urémico  
29 hemolítico (Balière *et al*, 2016).

30

1 Así mismo, se observó una baja prevalencia de los genes *stx*, uno de los aislados poseía la  
2 combinación de genes *stx1/stx2* y otro poseía el otro solamente el gen *stx2*, cabe destacar  
3 dichos aislados se detectaron en carne molida de res, el cual es uno de los principales  
4 vehículos relacionado con la transmisión de este patógeno (Ahlstrom *et al*, 2017).Es  
5 importante recalcar que la presencia de los genes *stx* está altamente relacionada con el  
6 desarrollo de complicaciones como lo son el SUH y falla renal (Bonanno *et al*, 2016).De  
7 acuerdo a las referencias, las prevalencias de estos genes varían según las diferentes  
8 regiones, un ejemplo es el trabajo publicado por Brussa y colaboradores en el 2013 en  
9 Argentina, donde encontraron que el gen *stx2* en un 83.4 % de los aislados de carne molida  
10 de res, además de un 16.6% contenía la combinación *stx1/stx2*, destacando que Argentina  
11 es uno de los países con más altos rangos de SUH relacionados con el grupo STEC (Brussa  
12 *et al*, 2013), por otra parte, Toro y colaboradores (2015) detectaron una prevalencia del  
13 49 % para los genes *stx* en muestras de carne molida de res, detectando el gen *stx2* en el  
14 41% de los aislados Hay que destacar que la presencia del gen *stx2* está más altamente  
15 relacionada con el desarrollo de complicaciones por la infección de STEC (Toro *et al*,  
16 2017), y en nuestros resultados, a pesar de que la prevalencia fue baja en comparación con  
17 los resultados encontrados por otros investigadores, se demuestra que el gen está presente  
18 en aislados de nuestra región, por lo que representa un riesgo para la salud, debido a la  
19 baja dosis infectiva de *E. coli* y a las graves consecuencias para la salud del consumidores  
20 (Baker *et al*, 2016). Por otra lado, en la mayoría de los aislados no que contenían el gen  
21 *hlyA* tampoco se detectó algún gen *stx*, esto puede deberse al hecho de los genes que  
22 codifican para la Shiga toxina se encuentran codificados por un fago lisogénico de tipo  
23 lambda, y es posible que sea perdido debido a la inestabilidad genómica entre la cepas  
24 (Ferdous *et al*, 2015).También cabe señalar que no se encontró la presencia de ningún  
25 aislado que contuviera los genes de virulencia *eae* y *bfp*, , los cuales se encuentran  
26 principalmente en cepas de origen humano, resultados similares son encontrados por  
27 Nobil en el 2016 quien no identifico ningún aislado que contuviera los genes *eae*, en  
28 contraste con los obtenido por Canizalez en el 2013 en Sinaloa, donde se observó una alta  
29 prevalencia de EPEC atípicas.

30 En otro tenor, también se evaluaron los perfiles de resistencia antimicrobiana a 16  
31 antibióticos usados normalmente en el tratamiento de enfermedades en humanos y

1 animales. En este estudio, todas las cepas fueron resistentes al menos a un antibiótico,  
2 destacando la resistencia a la cefalotina (88.8%), ampicilina (79.6%,) y tetraciclina  
3 (59.2%). Resultados similares en alimentos han sido publicados por diversos  
4 investigadores en el alrededor de mundo, en México, Canizalez, Skockova en Republica  
5 Checa y Nobil en Italia, identificaron altos rangos de resistencia a la betalactámicos como  
6 la ampicilina y Tetraciclina, los cuales han sido señalados por diversos investigadores  
7 como unos de los antibióticos más comúnmente utilizados en la producción ganadera,  
8 tanto como profilácticos y como promotores de crecimiento (Economou and Gousia,  
9 2015; Colavecchio *et al*, 2017).

10 En este estudio, el 88.9% (96/108) de los aislados fueron resistentes a más de 3  
11 antibióticos, el 29.6% (32/108) mostro multi resistencia ante 7 a 10 antibióticos, el 4.6 %  
12 (5/108) de los aislados mostro resistencia a 11 de los antibióticos, mientras que dos  
13 aislados mostraron resistencia a 12 y uno a 13 de los antibióticos probados, a pesar de que  
14 la terapia con antibióticos no es una opción en el caso de las infecciones ocasionadas por  
15 *E. coli* (Konaté *et al*, 2017) el alto número de aislados resistentes puede deberse al hecho  
16 de que *E. coli* poseé una gran plasticidad genómica, lo que le permite adaptarse y  
17 desarrollar resistencia (Shousha et al, 2015), además de que *E. coli* juega una papel  
18 importante en la diseminación de los genes de resistencia mediante la transferencia  
19 horizontal a, a otras bacterias patógenas (Ercoli *et al*, 2015) lo que ocasionar una  
20 diseminación de la resistencia a antimicrobianos, con la consecuente la ineffectividad de  
21 los tratamientos, aumentando la duración de los padecimientos e incluso aumentando la  
22 mortalidad (Colavecchio *et al*, 2017).

23

24

25

26

## 9. CONCLUSIONES

- En el 76% (53/69) de las muestras se identificó la presencia de *Escherichia coli*.
- Considerando la prevalencia de *E. coli* por localidad de muestreo, esta fue mayor en Matamoros con un 91.3% (21/23), seguido de la ciudad de Río Bravo con 90.9% (10/11) y Reynosa con 62.8% (22/35).
- La prevalencia de *E. coli* fue similar en los tres tipos de carne, con un 50.7% en carne de res y pollo, y un 47.8% en carne de cerdo.
- Ninguna de las cepas de *E. coli* analizadas presento los genes *eae* y *bfp*.
- El 6.4% (19/296) de las cepas de *E. coli* presento algún factor de virulencia.
- El gen *hlyA* fue el factor de virulencia de mayor presencia en las cepas de *E. coli*, con un 89.4% (17/19), mientras que *stx1* y *stx2* se presentaron únicamente en un 10.5% (2/19).
- Las cepas de *E. coli* mostraron los mayores porcentajes de resistencia a cefalotina (88.8%), ampicilina (79.6%) y tetraciclina (59.2%).
- Las cepas de *E. coli* mostraron los mayores porcentajes de sensibilidad ante netilmicina (92.5%), levofloxacin (81.4%), gentamicina (76.8%) y ciprofloxacina (76.8%).
- Todas las cepas *E. coli* analizadas, mostraron ser resistentes a al menos uno de los 16 antibióticos probados en este estudio.
- Se identifico un índice de multiresistencia del 75.9%  $\geq$  4 antibióticos.

- 1 • De las cepas que presentaron algún factor de virulencia, el 63.1% fueron
- 2 multirresistentes a  $\geq 4$  antibióticos (IDMR  $\geq 20\%$ ).



## REFERENCIAS

- 1  
2  
3  
4 1. Adane, M., Teka, B., Gismu, Y., Halefom, G., & Ademe, M. (2018). Food hygiene  
5 and safety measures among food handlers in street food shops and food  
6 establishments of Dessie town, Ethiopia: A community-based cross-sectional  
7 study. *PloS one*, 13(5), e0196919.  
8
- 9 2. Ahlstrom, C., Muellner, P., Lammers, G., Jones, M., Octavia, S., Lan, R., & Heller,  
10 J. (2017). shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 shedding Dynamics in an  
11 australian Beef herd. *Frontiers in veterinary science*, 4, 200.  
12
- 13 3. Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2015). Molecular analysis of multidrug  
14 resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 isolated from meat  
15 and dairy products. *International journal of food microbiology*, 193, 68-73.  
16
- 17 4. Akhtar, M., Maserati, A., Diez-Gonzalez, F., & Sampedro, F. (2016). Does  
18 antibiotic resistance influence shiga-toxigenic *Escherichia coli* O26 and O103  
19 survival to stress environments?. *Food Control*, 68, 330-336.  
20
- 21 5. Álvarez-Suárez, M. E., Otero, A., García-López, M. L., Dahbi, G., Blanco, M.,  
22 Mora, A., ... & Santos, J. A. (2016). Genetic characterization of Shiga toxin-  
23 producing *Escherichia coli* (STEC) and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*  
24 (EPEC) isolates from goat's milk and goat farm environment. *International journal*  
25 *of food microbiology*, 236, 148-154.  
26
- 27 6. Amézquita-Montes, Z., Tamborski, M., Kopsombut, U. G., Zhang, C., Arzuza, O.  
28 S., & Gómez-Duarte, O. G. (2015). Genetic relatedness among *Escherichia coli*  
29 pathotypes isolated from food products for human consumption in Cartagena,  
30 Colombia. *Foodborne pathogens and disease*, 12(5), 454-461.\\  
31

- 1 7. Bai, X., Wang, H., Xin, Y., Wei, R., Tang, X., Zhao, A., ... & Zhang, Z. (2015).  
2 Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated  
3 from retail raw meats in China. *International journal of food microbiology*, 200,  
4 31-38.  
5
- 6 8. Baker, C. A., Rubinelli, P. M., Park, S. H., Carbonero, F., & Ricke, S. C. (2016).  
7 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food: Incidence, ecology, and detection  
8 strategies. *Food Control*, 59, 407-419.  
9
- 10 9. Balière, C., Rincé, A., Delannoy, S., Fach, P., & Gourmelon, M. (2016). Molecular  
11 Profiling of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Enteropathogenic *E. coli*  
12 Strains Isolated from French Coastal Environments. *Applied and Environmental*  
13 *Microbiology*, 82(13), 3913–3927. <http://doi.org/10.1128/AEM.00271-16>  
14
- 15 10. Bauwens, A., Marejková, M., Middendorf-Bauchart, B., Prager, R., Kossow, A.,  
16 Zhang, W., ... & Bielaszewska, M. (2017). Characterization of Sorbitol-  
17 Fermenting Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H-from Czech Patients  
18 Identifies Novel Plasmid Composition Not Previously Seen in German Isolates.  
19 *Applied and Environmental Microbiology*, AEM-01454.  
20
- 21 11. Beyi, A. F., Fite, A. T., Tora, E., Tafese, A., Genu, T., Kaba, T., ... & De Zutter,  
22 L. (2017). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157 in  
23 beef at butcher shops and restaurants in central Ethiopia. *BMC microbiology*,  
24 17(1), 49.  
25
- 26 12. Bonanno, L., Petit, M. A., Loukiadis, E., Michel, V., & Auvray, F. (2016).  
27 Heterogeneity in induction level, infection ability, and morphology of Shiga toxin-  
28 encoding phages (Stx phages) from dairy and human Shiga toxin-producing  
29 *Escherichia coli* O26: H11 isolates. *Applied and environmental microbiology*,  
30 82(7), 2177-2186.

- 1 13. Borch, E., & Arinder, P. (2002). Bacteriological safety issues in red meat and  
2 ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat science*, 62(3), 381-  
3 390.
- 4
- 5 14. Browne, A. S., Midwinter, A. C., Withers, H., Cookson, A. L., Biggs, P. J.,  
6 Marshall, J. C., ... & French, N. P. (2018). Molecular epidemiology of Shiga toxin-  
7 producing *Escherichia coli* (STEC) on New Zealand dairy farms: application of a  
8 culture-independent assay and whole genome sequencing. *Applied and  
9 environmental microbiology*, AEM-00481.
- 10
- 11 15. Brusa, V., Aliverti, V., Aliverti, F., Ortega, E. E., de la Torre, J. H., Linares, L. H.,  
12 ... & Peral Garcia, P. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail  
13 markets from Argentina. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 171.
- 14
- 15 16. Canizalez-Roman, A., Flores-Villaseñor, H. M., Gonzalez-Nuñez, E., Velazquez-  
16 Roman, J., Vidal, J. E., Muro-Amador, S., ... & León-Sicairos, N. (2016).  
17 Surveillance of Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Diarrhea  
18 Cases from Children, Adults and Elderly at Northwest of Mexico. *Frontiers in  
19 microbiology*, 7, 1924.
- 20
- 21 17. 17. Canizalez-Roman, A., Gonzalez-Nuñez, E., Vidal, J. E., Flores-Villaseñor,  
22 H., & León-Sicairos, N. (2013). Prevalence and antibiotic resistance profiles of  
23 diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from food items in northwestern  
24 Mexico. *International journal of food microbiology*, 164(1), 36-45.
- 25
- 26 18. Centers for disease control and prevention. 2015. *E. coli* (*Escherichia coli*).  
27 Disponible en la página: [https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html#what-are-](https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html#what-are-shiga-toxin)  
28 [shiga-toxin](https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html#what-are-shiga-toxin) Fecha de acceso mayo 2017.
- 29
- 30 19. Colavecchio, A., Cadieux, B., Lo, A., & Goodridge, L. D. (2017). Bacteriophages  
31 Contribute to the Spread of Antibiotic Resistance Genes among Foodborne

- 1 Pathogens of the Enterobacteriaceae Family—A Review. *Frontiers in*  
2 *microbiology*, 8, 1108.
- 3
- 4 20. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent  
5 advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol*  
6 *Rev.* 2013;26(4):822–880.
- 7
- 8 21. Delannoy, S., Beutin, L., Mariani-Kurkdjian, P., Fleiss, A., Bonacorsi, S., & Fach,  
9 P. (2017). The *Escherichia coli* serogroup O1 and O2 lipopolysaccharides are  
10 encoded by multiple O-antigen gene clusters. *Frontiers in cellular and infection*  
11 *microbiology*, 7, 30.
- 12
- 13 22. FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations  
14 /Organización Mundial de la Salud). 2006. Conferencia Regional FAO/OMS sobre  
15 inocuidad de alimentos para las Américas y el Caribe. FAO. Roma, Italia. 126 p.
- 16
- 17 23. Ferdous, M., Zhou, K., Mellmann, A., Morabito, S., Croughs, P. D., de Boer, R.  
18 F., ... & Friedrich, A. W. (2015). Is shiga toxin-negative *Escherichia coli* O157:  
19 H7 enteropathogenic or enterohemorrhagic *Escherichia coli*? Comprehensive  
20 molecular analysis using whole-genome sequencing. *Journal of clinical*  
21 *microbiology*, 53(11), 3530-3538.
- 22
- 23 24. Ferens, W. A., & Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157: H7: animal reservoir  
24 and sources of human infection. *Foodborne pathogens and disease*, 8(4), 465-487.
- 25
- 26 25. Fratamico, P. M., Bagi, L. K., Bush, E. J., & Solow, B. T. (2004). Prevalence and  
27 characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine feces  
28 recovered in the National Animal Health Monitoring System's Swine 2000 study.  
29 *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7173-7178.

- 1 26. Frye, J. G., & Jackson, C. R. (2013). Genetic mechanisms of antimicrobial  
2 resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus*  
3 spp. isolated from US food animals. *Frontiers in microbiology*, 4, 135.  
4
- 5 27. Gaytán, M. O., Martínez-Santos, V. I., Soto, E., & González-Pedrajo, B. (2016).  
6 Type three secretion system in attaching and effacing pathogens. *Frontiers in*  
7 *cellular and infection microbiology*, 6, 129.  
8
- 9 28. Gómez-Aldapa, C. A., Segovia-Cruz, J. A., Cerna-Cortes, J. F., Rangel-Vargas,  
10 E., Salas-Rangel, L. P., Gutiérrez-Alcántara, E. J., & Castro-Rosas, J. (2016).  
11 Prevalence and behavior of multidrug-resistant shiga toxin-producing *Escherichia*  
12 *coli*, enteropathogenic *E. coli* and enterotoxigenic *E. coli* on coriander. *Food*  
13 *microbiology*, 59, 97-103.  
14
- 15 29. Gwida, M., Hotzel, H., Geue, L., & Tomaso, H. (2014). Occurrence of  
16 Enterobacteriaceae in raw meat and in human samples from Egyptian retail sellers.  
17 *International scholarly research notices*, 2014.  
18
- 19 30. Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J.,  
20 & Speybroeck, N. (2015). World Health Organization global estimates and  
21 regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS medicine*,  
22 12(12), e1001923.  
23
- 24 31. Herbert, L. J., Vali, L., Hoyle, D. V., Innocent, G., McKendrick, I. J., Pearce, M.  
25 C., ... & Hanson, M. (2014). *E. coli* O157 on Scottish cattle farms: Evidence of  
26 local spread and persistence using repeat cross-sectional data. *BMC veterinary*  
27 *research*, 10(1), 95.  
28
- 29 32. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994).  
30 *Bergey's Manual of determinate bacteriology*.  
31

- 1 33. Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*.  
2 Nature reviews microbiology, 2(2), 123.  
3
- 4 34. Kirk, M.D., Pires, S.M., Black, R.E., Caipo, M., Crump, J.A., Devleesschauwer,  
5 B., Döpfer, D., Fazil, A., Fischer-Walker, C.L., Hald, T. and Hall, A.J., 2015.  
6 World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of  
7 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. PLoS  
8 medicine, 12(12):375-379.  
9
- 10 35. Konaté, A., Dembélé, R., Guessennd, N. K., Kouadio, F. K., Kouadio, I. K.,  
11 Ouattara, M. B., ... & Bagré, T. S. (2017). Epidemiology and antibiotic resistance  
12 phenotypes of diarrheagenic *Escherichia coli* responsible for infantile  
13 gastroenteritis in Ouagadougou, Burkina Faso. European Journal of Microbiology  
14 and Immunology, 7(3), 168-175.  
15
- 16 36. Llorente, P., Barnech, L., Irino, K., Rumi, M. V., & Bentancor, A. (2014).  
17 Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ground  
18 beef collected in different socioeconomic strata markets in Buenos Aires,  
19 Argentina. BioMed research international, 2014.  
20
- 21 37. López-Banda, D. A., Carrillo-Casas, E. M., Leyva-Leyva, M., Orozco-Hoyuela,  
22 G., Manjarrez-Hernández, Á. H., Arroyo-Escalante, S., ... & Hernández-Castro, R.  
23 (2014). Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from  
24 women with urinary tract infection in Mexico. BioMed research international,  
25 2014.  
26
- 27 38. Magwedere, K., Dang, H. A., Mills, E. W., Cutter, C. N., Roberts, E. L., &  
28 DebRoy, C. (2013). Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains  
29 in beef, pork, chicken, deer, boar, bison, and rabbit retail meat. Journal of  
30 veterinary diagnostic investigation, 25(2), 254-258.  
31

- 1 39. Majowicz, S. E., Scallan, E., Jones-Bitton, A., Sargeant, J. M., Stapleton, J.,  
2 Angulo, F. J., ... & Kirk, M. D. (2014). Global incidence of human Shiga toxin–  
3 producing *Escherichia coli* infections and deaths: a systematic review and  
4 knowledge synthesis. *Foodborne pathogens and disease*, 11(6), 447-455.
- 5
- 6 40. Martínez-Chávez, L., Cabrera-Díaz, E., Pérez-Montaña, J. A., Garay-Martínez, L.  
7 E., Varela-Hernández, J. J., Castillo, A., ... & Martínez-González, N. E. (2015).  
8 Quantitative distribution of *Salmonella spp.* and *Escherichia coli* on beef carcasses  
9 and raw beef at retail establishments. *International journal of food microbiology*,  
10 210, 149-155.
- 11
- 12 41. Martínez-Vázquez, A. V., Rivera-Sánchez, G., Méndez, K. L., Reyes-López, M.  
13 Á., & Bocanegra-García, V. (2018). Prevalence, antimicrobial resistance and  
14 virulence genes in *Escherichia coli* isolated from retail meats in Tamaulipas,  
15 México. *Journal of global antimicrobial resistance*
- 16
- 17 42. Mc Nulty, K., Soon, J. M., Wallace, C. A., & Nastasišević, I. (2016). Antimicrobial  
18 resistance monitoring and surveillance in the meat chain: A report from five  
19 countries in the European Union and European Economic Area. *Trends in Food*  
20 *Science & Technology*, 58, 1-13.
- 21
- 22 43. McEvoy, J. M., Doherty, A. M., Sheridan, J. J., Thomson-Carter, F. M., Garvey,  
23 P., McGuire, L., ... & McDowell, D. A. (2003). The prevalence and spread of  
24 *Escherichia coli* O157: H7 at a commercial beef abattoir. *Journal of Applied*  
25 *Microbiology*, 95(2), 256-266.
- 26
- 27 44. Niyonzima, E., Ongol, M. P., Kimonyo, A., & Sindic, M. (2015). Risk factors and  
28 control measures for bacterial contamination in the bovine meat chain: a review  
29 on *Salmonella* and pathogenic *E. coli*. *Journal of Food Research*, 4(5), 98.

- 1 45. Nobili, G., Franconieri, I., La Bella, G., Basanisi, M. G., & La Salandra, G. (2017).  
2 Prevalence of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from raw beef  
3 in southern Italy. *International journal of food microbiology*, 257, 201-205.  
4
- 5 46. NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba  
6 microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación  
7 de microorganismos patógenos y toxinas microbianas.  
8
- 9 47. O'Neill J, for the review on antimicrobial resistance. Tackling drug-resistant  
10 infections globally: final report and recommendations. 2016 [https://amr-](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)  
11 [review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)  
12 [review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf) fecha  
13 de acceso mayo 2018  
14
- 15 48. Park, H. J., Yoon, J. W., Heo, E. J., Ko, E. K., Kim, K. Y., Kim, Y. J., ... & Moon,  
16 J. S. (2015). Antibiotic resistance and virulence potentials of shiga toxin-  
17 producing *Escherichia coli* isolates from raw meats of slaughterhouses and retail  
18 markets in Korea. *Journal Microbiology and Biotechnology*, 25(9), 1460-1466.  
19
- 20 49. Patel, J. B. (Ed.). (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility  
21 testing. Clinical and Laboratory Standards Institute.  
22
- 23 50. Patzi-Vargas, S., Zaidi, M. B., Perez-Martinez, I., León-Cen, M., Michel-Ayala,  
24 A., Chaussabel, D., & Estrada-Garcia, T. (2015). Diarrheagenic *Escherichia coli*  
25 carrying supplementary virulence genes are an important cause of moderate to  
26 severe diarrhoeal disease in Mexico. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(3),  
27 e0003510.  
28
- 29 51. Preußel, K., Höhle, M., Stark, K., & Werber, D. (2013). Shiga toxin-producing  
30 *Escherichia coli* O157 is more likely to lead to hospitalization and death than non-  
31 O157 serogroups—except O104. *PLoS One*, 8(11), e78180.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31

52. Rasmussen, M. M., Opintan, J. A., Frimodt-Møller, N., & Styris have, B. (2015). Beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolates in imported and locally produced chicken meat from Ghana. *PloS one*, 10(10), e0139706.
53. Razzaq, A., Shamsi, S., Nawaz, A., Irfan, M., & Malik, K. A. (2016). Identification of Shiga toxin producing *E. Coli* from raw Meat. *Pure and Applied Biology*, 5(2), 255.
54. Selim, S. A., Ahmed, S. F., Aziz, M. H. A., Zakaria, A. M., Klena, J. D., & Pangallo, D. (2013). Prevalence and characterization of Shiga-toxin O157: H7 and non-O157: H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated from different sources. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27(3), 3834-3842.
55. Shen, J., Rump, L., Ju, W., Shao, J., Zhao, S., Brown, E., & Meng, J. (2015). Virulence characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from food, humans and animals. *Food microbiology*, 50, 20-27.
56. Skočková, A., Koláčková, I., Bogdanovičová, K., & Karpíšková, R. (2015). Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. *Food control*, 47, 401-406.
57. Titilawo, Y., Sibanda, T., Obi, L., & Okoh, A. (2015). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination of water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 10969-10980.
58. Toro, M., Rivera, D., Jiménez, M. F., Díaz, L., Navarrete, P., & Reyes-Jara, A. (2017). Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from retail ground beef in Santiago, Chile. *Food Microbiology*.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21

59. Wang, L., Nakamura, H., Kage-Nakadai, E., Hara-Kudo, Y., & Nishikawa, Y. (2017). Prevalence, antimicrobial resistance and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from different retail foods. *International Journal of Food Microbiology*, 249, 44-52.

60. Watson, V. E., Jacob, M. E., Flowers, J. R., Strong, S. J., DebRoy, C., & Gookin, J. L. (2017). Association of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* with diarrhea and related mortality in kittens. *Journal of clinical microbiology*, 55(9), 2719-2735.

61. Ye, Q., Wu, Q., Zhang, S., Zhang, J., Yang, G., Wang, H., ... & Wang, J. (2017). Antibiotic-resistant extended spectrum  $\beta$ -lactamase-and plasmid-mediated ampC-producing Enterobacteriaceae isolated from retail food products and the pearl river in Guangzhou, China. *Frontiers in microbiology*, 8, 96.

62. Zhang, L., Levy, K., Trueba, G., Cevallos, W., Trostle, J., Foxman, B., ... & Eisenberg, J. N. (2015). Effects of selection pressure and genetic association on the relationship between antibiotic resistance and virulence in *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(11), 6733-6740.