

# Prevalencia y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* O157:H7 aislada de canales de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano

## Prevalence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from bovine carcasses at slaughterhouses of the Central Mexican Plateau

Nydia Edith Reyes-Rodríguez<sup>a</sup>, Martín Talavera-Rojas<sup>a</sup>, Jorge Antonio Varela-Guerrero<sup>a</sup>, Jeannette Barba-León<sup>b</sup>, Adriana del Carmen Gutiérrez-Castillo<sup>a</sup>, Uxúa Alonso-Fresán<sup>a</sup>

### RESUMEN

La carne es el principal vehículo de toxiinfecciones alimentarias como consecuencia de una higiene deficiente en el sacrificio de los animales o durante el manejo de las canales. En este estudio se analizaron tres rastros municipales del Altiplano Central Mexicano, de los cuales se obtuvieron 228 muestras pareadas de canal (n=114) y contenido de colon (n=114) de bovinos que fueron sacrificados en estos rastros; se obtuvieron 2 (0.8 %) cepas de *E. coli* O157:NM a partir de contenido de colon y 6 (2.6 %) cepas de *E. coli* O157:H7 (5 de canales y 1 de contenido de colon). El porcentaje de aislamiento de cada rastro fue variable, encontrando diferencias significativas ( $P<0.05$ ). En las cepas de *E. coli* O157:NM y O157:H7 se observa que la resistencia más alta fue para cefalotina con un 75 %, carbencilina con 62.5 %, amikacina con 50 % y gentamicina con 50 %, el 16.7 % de las cepas de *E. coli* O157:H7 presentaron los genes *eae*, *stx1* y *stx2* y el 66.7 % los genes *eae* y *stx2*. En conclusión los resultados obtenidos muestran la presencia de *E. coli* O157:H7 con factores de virulencia y resistencia a antibióticos, en canales de bovinos de rastros del altiplano central Mexicano, considerándose una fuente de contaminación importante y un riesgo para la salud pública.

**PALABRAS CLAVE:** *Escherichia coli*, O157:H7, Toxinas Shiga, Multiresistencia.

### ABSTRACT

Meat is the main vehicle for food poisoning as a result of poor hygiene in the slaughtering of animals or during the handling of carcasses. This study analyzes three municipal slaughterhouses of the Central Mexican Plateau. Two hundred and twenty eight paired samples were obtained from carcasses (n= 114) and colon content (n= 114) of cattle slaughtered at these abattoirs. Two (0.8 %) *E. coli* O157: NM strains from colon content and 6 (2.6 %) *E. coli* O157: H7 strains (5 carcasses and 1 colon content) were found. The percentage of isolation from each slaughterhouse was variable, finding significant differences ( $P<0.05$ ). In *E. coli* O157: NM and O157: H7 strains, it was observed that the highest resistance to cephalothin was 75 %, 62.5 % carbenicillin, 50 % amikacin and 50 % gentamicin. *E. coli* O157: H7 strains presented 16.7 % of the *eae* gene, 16.7 % *eae*, *stx1* and *stx2* genes and 66.7 % *eae* and *stx2* genes. In conclusion the results obtained show the presence of *E. coli* O157: H7 virulence factors and antibiotic resistance in cattle carcasses of the Central Mexican Plateau, which is considered a major source of contamination and a public health risk.

**KEY WORDS:** *Escherichia coli* O157:H7, Shiga toxins, Multiresistance.

Recibido el 6 de junio de 2011. Aceptado el 22 de noviembre de 2011.

<sup>a</sup> Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Panamericana Toluca-Atlaclmulco km 15.5, Toluca, México. CP. 50200, Teléfono/Fax: 722 2965555. mtr0035@yahoo.com.mx. Correspondencia al segundo autor.

<sup>b</sup> Departamento de Salud Pública, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

Las infecciones ocasionadas por *E. coli* O157:H7 suelen ser a través del consumo de agua o alimentos contaminados con excremento de animales portadores. Varios brotes de enfermedades se han asociado con el consumo de carne de bovino, lo que sugiere que el ganado es una importante fuente de contaminación que provoca infecciones en humanos<sup>(1,2)</sup>. En la patogenia de este agente, existen genes que codifican para la adherencia y esfecelamiento (A/E) de las microvellosidades del epitelio intestinal, los cuales se localizan en la isla de patogenicidad LEE (locus for enterocyte effacement); el principal gen que produce esta acción es el *eae*, que produce una proteína de 94 a 97 kDa llamada intimina. Se ha demostrado experimentalmente que la intimina estimula la inflamación e hiperplasia del intestino, lo que favorece la colonización<sup>(3,4)</sup>, otros autores reportan una adherencia localizada en íleon terminal, colon y ciego<sup>(5)</sup>. Las manifestaciones clínicas por *E. coli* O157:H7 están asociadas a las toxinas *Stx1*, *Stx2* o ambas<sup>(3)</sup>. La toxina shiga (*Stx*) pertenece a una familia de proteínas estructurales y funcionalmente relacionadas con la toxina shiga sintetizada por *Shigella dysenteriae*<sup>(3,6)</sup>. Algunas variantes de *Stx2* son más virulentas en humanos, sin embargo la capacidad toxica de *E. coli* O157:H7 es necesaria para el desarrollo de colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica, ya que éste es el principal mecanismo de patogenicidad<sup>(7)</sup>. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en canales y contenido de colon de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano, detectar la resistencia a antibióticos, las toxinas *Stx1*, *Stx2* y el gen *eae* mediante la técnica de PCR múltiple.

Se realizó un muestreo por conveniencia en tres rastros municipales del altiplano central Mexicano; (A, B y C); de estos, se tomó el número de animales sacrificados semanalmente, teniendo un total de 575 bovinos. El tamaño de muestra se obtuvo considerando una prevalencia del 2.7 %<sup>(8)</sup> y un nivel de confianza

*E. coli* O157:H7 infections are usually caused by water or food contaminated with feces of carrier hosts. Several disease outbreaks have been associated with bovine meat consumption, which suggests that cattle is an important source of contamination causing infections in humans<sup>(1,2)</sup>. In the pathogenesis of this agent, there are genes encoding intestinal epithelium microvilli adherence and sphacelation (A/E), which are localized in the LEE pathogenicity island (locus of enterocyte effacement), the main gene that produces a 94 to 97 kDa protein called intimine. It has been experimentally demonstrated that intimine stimulates intestinal swelling and hyperplasia, favoring colonization<sup>(3,4)</sup>; other authors report a localized adherence in terminal ileum, colon and cecum<sup>(5)</sup>. *E. coli* O157:H7 is associated with toxins *Stx1*, *Stx2* or both<sup>(3)</sup>. The Shiga toxin (*Stx*) belongs to the family of structural proteins and its functionality associated with the Shigella toxin, synthesized by *Shigella dysenteriae*<sup>(3,6)</sup>. Some variants of *Stx2* are more virulent in humans; however, *E. coli* O157:H7 toxic capacity is necessary for the development of hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome and thrombocytopenic purpura, since this is the main pathogenicity mechanism<sup>(7)</sup>. The objective of this study was to determine the prevalence of *E. coli* O157:H7 in carcass and colon content of bovines slaughtered at abattoirs in the Mexican Plateau, detect antibody resistance, toxins *Stx1*, *Stx2* and *eae* gene by the multiple PCR technique.

A convenient sampling was done in three municipal slaughter plants in the Mexican Plateau (A, B and C); from these, the number of weekly slaughtered animals was obtained, having a total of 575 bovines. The sample size was obtained considering a prevalence of 2.7 %<sup>(8)</sup> and a confidence level of 95 %, using the formula of finite population sample size<sup>(9)</sup>. Once the total size of the sample was determined (38) weightings were applied in the three slaughter plants proportionally to the number of slaughtered animals, obtaining the following sample size in slaughter plant A= 8, slaughter plant B= 5 and slaughter plant C= 25; three

del 95 % mediante la fórmula de tamaño de muestra de poblaciones finitas<sup>(9)</sup>. Una vez que se determinó el tamaño total de la muestra (38) se ponderaron en los tres rastros de forma proporcional al número de animales sacrificados, obteniendo el siguiente tamaño de muestra, en el rastro A= 8, rastro B=5 y rastro C= 25; se realizaron tres repeticiones en cada rastro teniendo un total de 114 muestras pareadas, 114 de canal y 114 de contenido de colon.

Las muestras de contenido de colon se tomaron después de la evisceración del animal; se tomó aproximadamente 1 g de excremento directamente del colon y se depositó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada al 1 %<sup>(7,10)</sup>. La muestra de la canal se tomó después del lavado y antes de ser sometidas a refrigeración, se utilizó el método no destructivo con un hisopo en peptona al 0.1%+NaCl al 0.85 % descrito por la Unión Europea<sup>(11)</sup>. Posteriormente cada hisopo se depositó en un tubo tipo Falcón con 25 ml de agua peptonada al 1 %.

Las muestras se transportaron en refrigeración al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Las muestras de contenido de colon y canales se incubaron  $24 \pm 2$  h a 37 °C. Posteriormente se tomó una porción con el asa bacteriológica y se sembraron por estría en Agar MacConkey y Agar MacConkey Sorbitol (SMAC Becton Dickinson) y en Agar Gelosa Sangre e incubadas durante  $24 \pm 2$  h a 37 °C<sup>(10,12)</sup>.

Las colonias sospechosas se diferenciaron por pruebas bioquímicas (TSI, LIA, SIM y MIO) por 24 h a 37 °C; una vez identificadas, fueron inoculadas en Agar base sangre durante  $24 \pm 2$  h a 37 °C<sup>(10,12)</sup> para la identificación serológica con antisueros monovalentes anti somático (Difco™ *E. coli* O Antiserum O157) y anti flagelar (Difco™ *E. coli* H Antiserum H7).

La resistencia a los agentes antimicrobianos se determinó mediante la técnica de Kirby-Bauer

replicates were done in each abattoir having a total of 228 paired samples, 114 carcass samples and 114 colon content samples.

Colon content samples were collected after animals were eviscerated; approximately 1 g of feces was taken directly from the colon and was placed in a assay tube with 9 ml of 1% peptonate water<sup>(7,10)</sup>. Carcass samples were taken after carcass washing and before refrigeration; the nondestructive method was applied, using sterile cotton swabs moistened with 0.1% + NaCl at 0.85 % as described by the European Union<sup>(11)</sup>. Afterwards, each swab was placed in a Falcon-type tube with 25 ml of 1% peptonate water.

Refrigerated samples were transported to the Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Autónoma del Estado de México. Colon content and carcass samples were incubated for  $24 \pm 2$  h at 37 °C. Subsequently, a portion of the samples was taken using the bacterial loop and were seeded by streaking on MacConkey agar and Sorbitol MacConkey Agar (SMAC Becton Dickinson), as well as on blood agar gel and were incubated for  $24 \pm 2$  h at 37 °C<sup>(10,12)</sup>.

The suspicious colonies were differentiated by biochemical tests (TSI, LIA, SIM and MIO) for 24 h at 37 °C; once identified, they were inoculated in blood agar base for  $24 \pm 2$  h at 37 °C<sup>(10,12)</sup> for serological identification with monovalent somatic antiserum (Difco™ *E. coli* O Antiserum O157) and flagella antiserum (Difco™ *E. coli* H Antiserum H7).

The resistance to antimicrobial agents was determined by the Kirby-Bauer technique, standardized by the National Committee for Clinical Laboratory Standards<sup>(13,14)</sup>, using *E. coli* ATCC 25922 as control. The following antibiotics were evaluated: amikacin (30 µg), ampicillin (10 µg), cephalothin (30 µg), cefotaxime (30 µg), ceftriaxone (30 µg), chloramphenicol (30 µg), gentamicin (10 µg),

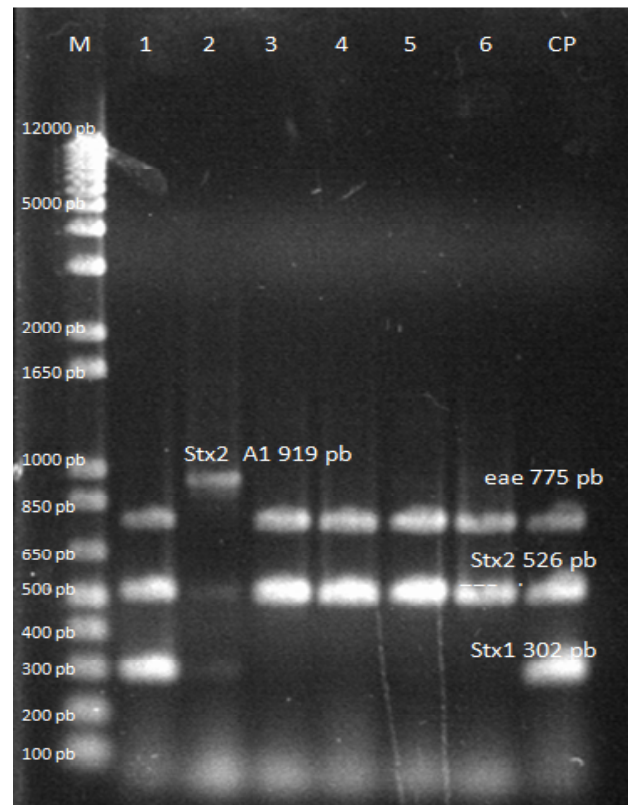
estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards<sup>(13,14)</sup> utilizando como control *E. coli* ATCC 25922. Se evaluaron los siguientes antibióticos: amikacina (30 µg), ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriazona (30 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), netilmicina (30 µg), nitrofurantoina (300 µg), pefloxacin (5 µg) y trimetropim-sulfametoxasol (25 µg) (Sensidiscos, Gram Negativos BIO-RAD). Las lecturas se compararon con las tablas de interpretación de acuerdo al NCCLS<sup>(13,14)</sup>. La extracción de ADN se realizó mediante el kit comercial DNA Purification Wizard Genomic (Promega). La cepa de referencia utilizada fue *E. coli* EDL993 como testigo positivo; la base de secuencias y el tamaño previsto de la amplificación para los oligonucleótidos específicos a utilizar fueron los reportados por Blanco *et al*<sup>(15)</sup> bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial de 95 °C por 5 min, seguido de 30 ciclos de 95 °C por 5 min de desnaturalización, 58 °C por 1 min de alineación y 72 °C durante 1 min de síntesis de ADN. Con el producto final se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1 % y se corrió 1:30 h a 85 voltios. El gel se tiñó con bromuro de etidio y se colocó en un transluminador de luz ultravioleta (UV) para su observación. Los resultados se evaluaron con la prueba de Ji cuadrada con un intervalo de confianza del 95%(10).

De un total de 228 muestras analizadas se aislaron 2 (0.8 %) cepas de *E. coli* que correspondieron al serotipo O157:NM el cual se obtuvo a partir de contenido de colon y 6 (2.6 %) a *E. coli* O157:H7 (5 de canales y 1 de contenido de colon). El porcentaje de aislamiento de cada rastro fue variable, en el rastro B no se obtuvieron aislamientos, en el rastro A 0.43 % y en el C 2.2 % ( $P < 0.05$ ). Las cepas de *E. coli* O157:NM y O157:H7 fueron resistentes a cefalotina con 75 %, carbencilina 62.5 %, amikacina 50 % y gentamicina 50%. Mediante la técnica de PCR se observó que de las cepas de *E. coli* O157:H7, el 16.7 % presentó gen *eae*, 16.7 % los genes *eae*, *stx1* y *stx2* y

netilmicin (30 µg), nitrofurantoin (300 µg), pefloxacin (5 µg) and trimethoprim-sulphamethoxazole (25 µg) (Sensidiscos, Gram Negativos BIO-RAD). Readings were compared with the interpretation tables according to NCCLS<sup>(13,14)</sup>. DNA extraction was performed by the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega). The reference strain used was *E. coli* EDL993 as positive control; the sequence of bases and the forseen size of amplification for specific oligonucleotides to be used, were the reported by Blanco *et al*<sup>(15)</sup> under the following conditions: initial denaturation period at 95 °C for 5 min, followed by 30 cycles of

Figura 1. Amplificación del DNA por PCR del gen *eae* y las toxinas *Stx1* y *Stx2*. Carril M= marcador de peso molecular; Carril 1-6= muestras de *E. coli* O157:H7; carril CP= testigo positivo

Figure 1. DNA amplification by PCR of *eae* gene and toxins *Stx1* and *Stx2*. Lane M= molecular weight marker; lane 1-6= *E. coli* O157:H7 samples; lane CP= positive control



el 66.7 % el gen *eae* y *stx2*; además que una cepa presentó una banda para *stx2* A1 (Figura 1), (Cuadro 1).

En este trabajo se demuestra la importancia y riesgo significativo para la salud pública que los bovinos portadores de *E. coli* O157:H7 representan, ya que cuando el manejo en rastros es inadecuado, puede resultar contaminada la canal. En este estudio se obtuvo una prevalencia de 2.6 %, similar a lo reportado por Varela *et al*(8), quienes encontraron 2.7 % en el estado de Jalisco; México. En comparación con otros estudios podemos encontrar prevalencias variables en canales como en Estambul con un 2.4 %(16), Egipto con 6 %(17), 0.2 % en Francia(18). En un estudio realizado(19) en plantas empacadoras en Estados Unidos, encontraron una prevalencia de 4.9 %, aunque también han reportado prevalencias que van de 0.1 a 54 %, por lo que podemos considerar que hay diferentes factores que intervienen para su aislamiento. En excremento se han encontrado 2.6 % en Canadá(20), 1 % Brasil(21), 0.19 % en Noruega(22), y posibles factores responsables de la variabilidad entre los porcentajes de aislamiento incluyen el lugar geográfico, manejo en rastro, protocolo de muestreo y aislamiento, además de la época del año.

La posibilidad de que *E. coli* O157:H7 se encuentre presente en alimentos y utensilios

denaturation at 95 °C for 5 min, annealing at 58 °C for 1 min and DNA synthesis at 72 °C for 1 min. With the final product, the agarose gel electrophoresis at 1 % was performed and ran for 1:30 h at 85 volts. The gel was stained with ethidium bromide and was transferred onto an ultraviolet (UV) transilluminator for observation. The results were evaluated using the chi-square test with a 95 % confidence interval(10).

From a total of 228 analyzed samples, 2 (0.8 %) *E. coli* strains, representing serotype O157:NM, were isolated. This serotype was obtained from colon content and 6 (2.6 %), corresponding to *E. coli* O157:H7, were obtained from five carcasses and one from colon content. The isolation percentage of each slaughter plant was variable; no isolations were obtained from slaughter plant B, 0.43 % from slaughter plant A and 2.2 % from C ( $P<0.05$ ). The *E. coli* O157:NM and O157:H7 strains were 75 % resistant to cephalothin, 62.5 % to carbencillin, 50 % to amikacin and 50 % to gentamicin. By PCR technique, it was observed that 16.7 % of *E. coli* O157:H7 strains carried the *eae* gene, 16.7 % the *eae*, *stx1* and *stx2* genes, and 66.7 % the *eae* and *stx2*; besides, one strain possessed a band for *stx2* A1 (Figure 1) (Table 1).

This study demonstrates the importance and the significant risk that *E. coli* bovine carriers

Cuadro 1. Características de los aislamientos de *E. Coli* O157 obtenidos de bovinos sacrificados en rastros

Table I. Characteristics of *E. Coli* O157 isolates obtained from slaughtered bovines at abattoirs

| Strain | Origin        | Serotype | Toxins      |             | Gene       | Antibiotic resistance |            |              |             |            |
|--------|---------------|----------|-------------|-------------|------------|-----------------------|------------|--------------|-------------|------------|
|        |               |          | <i>Stx1</i> | <i>Stx2</i> | <i>eae</i> | Amikacin              | Ampicillin | Carbencillin | Cephalothin | Gentamicin |
| 1      | Colon content | H7       | +           | +           | +          | +                     | +          | +            | +           | +          |
| 2      | Carcass       | H7       | +           | +           | -          | -                     | -          | +            | +           | +          |
| 3      | Carcass       | H7       | -           | +           | +          | +                     | -          | +            | +           | +          |
| 4      | Carcass       | H7       | -           | +           | +          | +                     | -          | +            | +           | +          |
| 5      | Carcass       | H7       | -           | +           | +          | -                     | -          | +            | +           | -          |
| 6      | Carcass       | H7       | -           | +           | +          | +                     | -          | -            | +           | -          |
| 7      | Colon content | NM       | -           | -           | -          | -                     | -          | -            | -           | -          |
| 8      | Colon content | NM       | -           | -           | -          | -                     | +          | -            | -           | -          |

lavados con agua contaminada también debe ser considerado<sup>(23)</sup>. Los resultados obtenidos por Abdul-Raouf *et al*<sup>(17)</sup>, indican que los alimentos de origen animal con frecuencia están contaminados con *E. coli* O157:H7 y señala la necesidad de mejorar el proceso de la carne; indicando que la contaminación de la canal es por el mal manejo que se le da al contenido intestinal de bovinos portadores, por lo tanto una estrategia para reducir el riesgo de infecciones por *E. coli* O157:H7 en los humanos es reducir la prevalencia en el ganado, además de mejorar el manejo en los rastros. En cuanto a las toxinas Shiga *Stx1* y *Stx2*, éstas son las desencadenantes principales de la trombosis microvascular del síndrome urémico hemolítico<sup>(24)</sup>. Se menciona<sup>(21)</sup>, que de los aislamientos de *E. coli* O157:H7 sólo el 40 % fueron positivos para ambas toxinas. Yilmaz *et al*<sup>(25)</sup>, reportaron 27 aislamientos, y de estos uno fue positivo al gen de adherencia y las toxinas, lo que se considera de gran importancia clínica. Irino *et al*<sup>(20)</sup>, obtuvieron dos aislamientos positivos al gen *eae* y la toxina *Stx2*, mientras que otros autores<sup>(22)</sup>, encontraron una cepa con el gen *eae* y las dos toxinas, además de dos cepas con el gen *eae* y la toxina *Stx2*, por lo que se puede observar que las cepas presentan mayor frecuencia del gen *eae* y *Stx2*, resultados similares a los de este estudio.

Los resultados obtenidos sobre la resistencia de *E. coli* O157:H7 han sido variados; en este estudio se encontró la resistencia a cinco antibióticos, amikacina, ampicilina, carbencilina, cefalotina y gentamicina. Alali *et al*<sup>(26)</sup>, encontraron que la *E. coli* O157:H7 fue resistente a la neomicina y oxitetraciclina. También han reportado resistencia a la tetraciclina en aislamientos de bovinos<sup>(26,27)</sup>. Ratnam *et al*<sup>(27)</sup>, mencionaron que de las 174 cepas estudiadas de *E. coli* O157:H7, una fue resistente a la ampicilina, carbencilina y tetraciclina, y otras cuatro cepas fueron resistentes sólo a tetraciclina. Byrne *et al*<sup>(18)</sup>, encontraron 6 aislamientos resistente sólo a sulfametoxazol, tetraciclina y estreptomina. Galland *et al*<sup>(28)</sup>,

representar para la salud pública, porque cuando hay un manejo inadecuado de la planta de matadero, las carcasas pueden ser contaminadas. En el presente estudio, se obtuvo una prevalencia de 2.6 %, similar a la reportada por Varela *et al*<sup>(8)</sup>, quien encontró 2.7 % en el estado de Jalisco, México. En contraste con otros estudios, puede haber una prevalencia variable en carcasas, como: Estambul con 2.4 %<sup>(16)</sup>, Egipto con 6 %<sup>(17)</sup> y Francia con 0.2 %<sup>(18)</sup>. En un estudio realizado en casas de empaque de los Estados Unidos de América, se encontró una prevalencia de 4.9 %, aunque también han reportado tasas de prevalencia que varían de 0.1 a 54 %, para lo cual puede considerarse que existen diferentes factores que explican su aislamiento. En heces, se han encontrado 2.6 % en Canadá<sup>(20)</sup>, 1 % en Brasil<sup>(21)</sup>, 0.19 % en Noruega<sup>(22)</sup> y posibles factores responsables de la variabilidad entre las tasas de aislamiento, incluyendo geografía, manejo de la planta de matadero, muestreo y protocolo de aislamiento, además de la época del año.

La posibilidad de presencia de *E. coli* O157:H7 en alimentos y utensilios lavados con agua contaminada, también debe ser considerada<sup>(23)</sup>. Los resultados obtenidos por Abdul-Raouf *et al*<sup>(17)</sup> muestran que los productos de origen animal a menudo están contaminados con *E. coli* O157:H7 y resaltan la necesidad de mejorar el procesamiento de la carne; indicando que la contaminación es debida al mal manejo del contenido intestinal de los animales portadores; por lo tanto, una estrategia para reducir el riesgo de infección por *E. coli* O157:H7 en humanos es reducir la prevalencia en el ganado, además de mejorar el manejo de la planta de matadero. Con respecto a las toxinas Shiga *Stx1* y *Stx2*, éstas son los principales desencadenantes de la trombosis microvascular del síndrome urémico hemolítico<sup>(24)</sup>. Se ha mencionado<sup>(21)</sup> que sólo el 40 % de los aislamientos de *E. coli* O157:H7 fueron positivos para ambas toxinas. Yilmaz *et al*<sup>(25)</sup> registró 27 aislamientos y, de éstos, uno fue positivo para el gen de adherencia y las toxinas, lo que tiene gran importancia clínica. Irino *et al*<sup>(20)</sup> obtuvo dos aislamientos positivos para el gen *eae* y la toxina *Stx2*, mientras que otros autores<sup>(22)</sup> encontraron una cepa que lleva el gen *eae* y las dos toxinas, además de dos cepas que sólo llevan el gen *eae* y la toxina *Stx2*, para lo cual puede considerarse que las cepas presentan mayor frecuencia del gen *eae* y *Stx2*, resultados similares a los de este estudio.

reportaron 4 cepas resistentes a trimetropim-sulfametoxazol, 10 a ampicilina, 23 a tetraciclina, 27 a amoxicilina-Ac. Clavulónico, 57 a penicilina, eritromicina y clindamicina, de un total de 57 aislamientos. La aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos en las canales pone en riesgo la salud humana; la carne de vacuno contaminada con bacterias resistentes a los antimicrobianos al no ser debidamente manipulados y cocinados, podrían transferir sus genes de resistencia además de sus toxinas, lo que podría conducir a una enfermedad difícil de tratar<sup>(3,20)</sup>.

Se demostró la presencia de *E. coli* O157:H7, sus genes de toxinas y adherencia, así como la resistencia múltiple a antibióticos en canales y contenido de colon de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano; lo cual se considera como un riesgo alto para la salud pública, y hace necesario evaluar cada una de las etapas del proceso de carnización, para identificar dónde ocurre la contaminación; además de realizar la vigilancia permanente del uso de los antibióticos en la ganadería.

## LITERATURA CITADA

1. Bouvet J, Bavai C, Rossel R, Roux AL, Montet MP, Ray-Gueniot S, *et al.* Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in pig carcasses from three French slaughterhouses. *Int J Food Microbiol* 2002;71:249-255.
2. Delignette-Muller ML, Cornu M. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households. *Int J Food Microbiol* 2008;128:158-164.
3. Rodríguez-Ángeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Publica Mex* 2002;44:464-476.
4. Higgins LM, Frankel G, Connerton I, Goncalves NS, Douglas G, MacDonald TT. Role of bacterial intimin in colonic hyperplasia and inflammation. *Nature* 1999;285:588-591.
5. Cobbold RN, Hancock DD, Rice DH, Berg J, Stilborn RA, Hovde CJ, *et al.* Rectoanal junction colonization of feedlot cattle by *Escherichia coli* O157:H7 and its association with supershedders and excretion dynamics. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:1563-1568.
6. Pistone CV, Nuñez P, Boccoli J, Silberstein C, Zotta E, Goldstein J, *et al.* Papel de la toxina Shiga en el Síndrome Urémico Hemolítico. *Mex* 2006;66:11-15.
7. Organización Mundial de la Salud. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Argentina: OMS, 2005. [en línea]

be observed that strains show higher frequency of *eae* gene and *Stx2*, similar to the results of this study.

The results obtained on *E. coli* O157:H7 resistance has been variable; the present study found resistance to five antibiotics: amikacin, ampicillin, carbencillin, cephalothin and gentamicin. Alali *et al.*<sup>(26)</sup> found that *E. coli* O157:H7 was resistant to neomycin and oxytetracycline. They have also reported resistance to tetracycline on bovine isolates<sup>(26,27)</sup>. Ratnam *et al.*<sup>(27)</sup> reported that from 174 *E. coli* O157:H7 strains studied, one was resistant to ampicillin, carbencillin and tetracycline; four strains were resistant only to tetracycline. Byrne *et al.*<sup>(18)</sup> found six isolates resistant only to sulphamethoxazole, tetracycline and streptomycin. Others<sup>(28)</sup> reported four strains resistant to trimethoprim-sulphamethoxazole; 10 to ampicillin; 23 to tetracycline; 27 to amoxicillin-clavulanic acid; 57 to penicillin, erythromycin and clindamycin, from a total of 57 isolates. The emergence of antimicrobial-resistant strains in carcasses puts human health at risk; if bovine meat contaminated with antimicrobial-resistant bacteria is not duly handled and cooked, it may transfer its resistant genes and toxins and lead to a difficult-to-treat disease<sup>(3,20)</sup>.

The presence of *E. coli*, toxin and adhesion genes, as well as multiple resistance to antibiotics in carcasses and colon content of slaughtered bovines at abattoirs of the Mexican Plateau was demonstrated; which is considered high risk for human health and makes necessary to evaluate each stage of the meat processing in order to identify the origin of contamination; besides establishing permanent surveillance on antibiotic use in cattle.

*End of english version*

---

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/print.html>. Consultado septiembre 15, 2009.

8. Varela-Hernández JJ, Cabrera-Díaz E, Cardona-López MA, Ibarra-Velázquez LM, Rangel-Villalobos H, Castillo A, *et al.* Isolation and characterization of Shiga toxin-producing

- Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughterplant in Mexico. J Food Microbiol 2007;113:237-241.
9. Wayne WD. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4a ed. México: Limus; 2004.
  10. Organización Mundial de la Salud. Manual de procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina shiga a partir de especímenes clínicos. 1a. ed. Argentina: OMS. 2007.
  11. Official Journal of the European Community L165/48. European Directive 2001/471/EC.
  12. NOM-110-SSA1-1994. Secretaría de Salud. Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario oficial de la Federación. México. DF. 15 de agosto de 1994.
  13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 8th ed. Approved standard M100-S13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, 2004.
  14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirteenth Informational Supplement. 8th ed. Approved standard M100-S13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
  15. Blanco M, Blanco JE, Mora A, Rey J, Alonso JM, Hermoso M, *et al.* Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolated from healthy sheep in Spain. J Clin Microbiol 2003;41:1351-1356.
  16. Gun H, Yilmaz A, Turkerb S, Tanlasia A, Yilmaz H. Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. Int J Food Microbiol 2003;84:339-344.
  17. Abdul-Raouf UM, Ammar MS, Beuchat LR. Insolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. Int J Food Microbiol 1996;29:423-426.
  18. Guyon R, Dorey F, Malas JP, Grimont JF, Rouviere B, Collobert JF. Superficial contamination of bovine carcasses by *Escherichia coli* O157:H7 in a slaughterhouse in Normandy (France). Meat Sci 2001;58:329-331.
  19. Byrne CM, Erol I, Call JE, Kaspar CW, Buege DR, Hiemke CJ, *et al.* Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Downer and Healthy Dairy Cattle in the Upper Midwest Region of the United States. Appl Environ Microbiol 2003;69:4683-4688.
  20. 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;40:332-338.
  21. Irino K, Kato MAMF, Vaz TMI, Ramos II, Souza MAC, Cruz AS, *et al.* Serotypes and virulence markers of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in Sao Paulo State, Brazil. Vet Microbiol 2005;105:29-36.
  22. Johnsen G, Wasteson Y, Heir E, Ivar BO, Herikstad H. *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. Int J Food Microbiol 2001;65:193-200.
  23. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiol Rev 1996;18:29-49.
  24. Dean-Nystrom E, Bosworth TB, Moon WH, O'Brien DA. *Escherichia coli* O157:H7 requires intimin for enteropathogenicity in calves. Infect Immun 1998;66:4560-4563.
  25. Yilmaz A, Gun H, Ugur M, Turan N, Yilmaz H. Detection and frequency of VT1, VT2 and *eaeA* genes in *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from cattle, cattle carcasses and abattoir environment in Istanbul. Int J Food Microbiol 2006; 106:213-217.
  26. Alali WQ, Sargeant JM, Nagaraja TG, DeBey BM. Effect of antibiotics in milk replacer on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. J Anim Sci 2004;82:2148-2152.
  27. Ratman S, March BS, Ahmed R, Bezanson SG, Kasatiya S. Characterization of *Escherichia coli* Serotype O157:H7. J Clin Microbiol 1988;26:2006-2012.
  28. 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. Appl Environ Microbiol 2001;67:1619-1627.