

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**PREVALENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN BECERRAS
HOLSTEIN CON DIARREA, EN CD. DELICIAS, CHIHUAHUA**

POR:

ARMANDO SALDAÑA PÉREZ

TESIS:

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



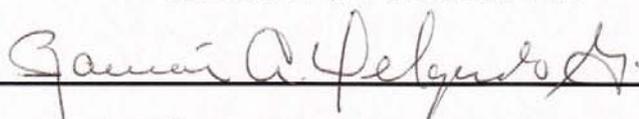
TESIS

**PREVALENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN BECERRAS
HOLSTEIN CON DIARREA, EN CD. DELICIAS,
CHIHUAHUA**

POR:

ARMANDO SALDAÑA PÉREZ

ASESOR PRINCIPAL



M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

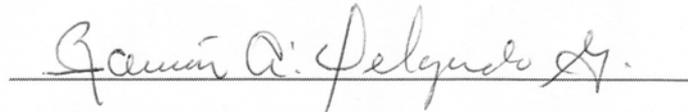
TESIS

PREVALENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN BECERRAS
HOLSTEIN CON DIARREA, EN CD. DELICIAS,
CHIHUAHUA

POR:

ARMANDO SALDAÑA PÉREZ

ASESOR PRINCIPAL



M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
UNIDAD LAGUNA



M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ARIAS



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
REGIONAL
CIENCIA ANIMAL

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2009

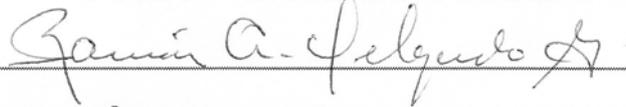
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

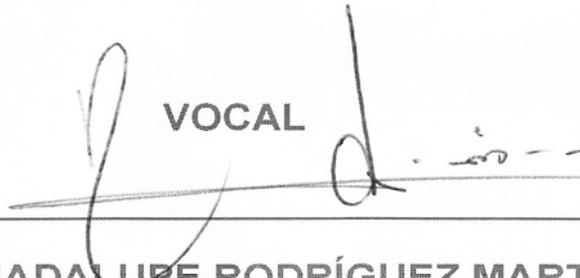
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PRESIDENTE DE JURADO



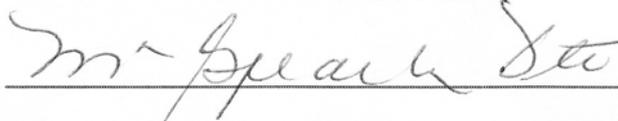
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL



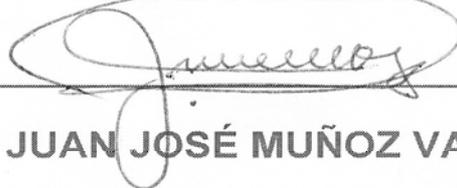
MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



MC. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE



MC. JUAN JOSÉ MUÑOZ VARELA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2009

AGRADECIMIENTOS

A DIOS POR HACERME EL GRAN FAVOR DE PRESTARME LA VIDA Y DEMOSTRARME SIEMPRE QUE AUN CUANDO NO ME DOY CUENTA ESTA Y ESTARÁ CONMIGO AUN EN LOS MOMENTOS DIFÍCILES SE QUE VENDRÁN DÍAS MEJORES PARA MI, POR PERMITIRME TERMINAR MIS ESTUDIOS DE MANERA SATISFACTORIA Y POR REGALARME UNA FAMILIA MARAVILLOSA DE LA CUAL ESTOY MUY ORGULLOSO

A MIS PADRES LOS CUALES HAN SIGO PILARES FUNDAMENTALES EN MI VIDA Y SIN LOS CUALES JAMAS LO HABRIA LOGRADO, POR TODO EL ESFUERZO Y SACRIFISIOS QUE HAN HECHO PARA QUE YO SIGA ADELANTE, POR CONFIAR EN MI Y ENSEÑARME LO QUE EN REALIDAD VALE EN ESTA VIDA, QUE NO IMPORTA EL VALOR DE LO QUE TENGAS SINO LO QUE TU VALES COMO PERSONA, PADRES SON EL REGALO MAS HERMOSO QUE ME HA DADO DIOS

A MIS HERMANAS Y HERMANOS LOS CUALES SIEMPRE HAN ESTADO CONMIGO Y ME HAN ALENTADO A SEGUIR ADELANTE POR TODO EL APOYO QUE E RESIVIDO DE ELLOS POR LAS PALABRAS DE ALIENTO QUE ME REGALARON CUANDO YO ESTABA A PUNTO DE DARME POR VENCIDO, SIMPLEMENTE GRACIAS POR ESTAR CERCA DE MI.

A MI BELLA “ALMA TERRA MATER” QUIEN ME ACOBIJO EN SUS AULAS PARA MI FORMACION PROFESIONAL Y EN ELLA CUMPLIR UN SUEÑO MAS.

A LOS MC. RAMON ALFREDO DELGADO Y MVZ GUADALUPE ROGUIGUEZ POR PERMITIRME REALIZAR ESTE TRABAJO BAJO SU TUTELA Y BRINDARME SU APOYO Y VALIOSO TIEMPO PARA CONCLUIRLO DE LA MEJOR MANERA.

A MI NOVIA ADRIANA FERNANDEZ POR TODO EL APOYO QUE ME A BRINDADO DURANTE TODO ESTE TIEMPO QUE ME E TARDADO EN LA REALIZACION DE ESTE SUEÑO. POR APOYARME EN MOMENTOS DIFICILES POR LOS QUE E PASADO TE AMO CHAPARRA HERMOSA

A TODOS MIS AMIGOS POBLANOS CON LOS QUE COMPARTI CASA Y COMPAÑEROS CON LOS QUE COMPARTI CURSOS LOS CUALES TUVIERON QUE SOPORTARME DURANTE UN LARGO TIEMPO ESPERO PODER SEGUIR CONTANDO CON USTEDES

DEDICATORIAS

A MIS PADRES LOS SEÑORES JESUS SALDAÑA Y FRANCISCA PEREZ QUIENES DARIAN LA VIDA POR MI Y ME DAN LA FUERZA PARA SEGUIR ADELANTE EN TODO MOMENTO AUN CUANDO YO NO SOY LA MEJOR PERSONA, Y NUNCA DEJARAN QUE ME DE POR VENCIDO QUIENES ME HAN APOYADO EN TODAS LAS DESICIONES BUENAS QUE E TOMADO EN MI VIDA Y ME HACEN DESISTIR DE LAS MALAS, A USTEDES PADRES ES DEDICADA MI CARRERA PROFESIONAL Y TODOS MIS LOGROS, ESPERO ESTEN ORGULLOSOS DE MI. LOS AMO

A TODOS MIS HERMANOS ALEJANDRA, AMELIA, ALFREDO, ROCIO, SUSANA, OFELIA Y DIEGO LOS CUALES SIEMPRE ESTAN A MI LADO HERMANOS SABEN QUE LOS QUIERO MUCHO Y LES DEDICO ESTE TRABAJO POR TODOS LOS ESFUERZOS Y SACRIFICIOS QUE HAN REALIZADO PARA QUE YO PUEDA TERMINAR MI CARRERA ESPERO NO DEFRAUDARLOS

ÍNDICE

Agradecimientos.....	i
Dedicatorias.....	ii
Índice.....	iii
Índice de figuras.....	iv
Resumen.....	v
I Introducción.....	1
II Justificación.....	3
III Objetivos.....	4
objetivo general.....	4
objetivos específicos	4
IV Antecedentes.....	5
1 Historia.....	5
2 Grupos de <i>Escherichia coli</i> patógenos.....	7
3 <i>Escherichia coli</i> enteropatogenica.....	8
4 <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica.....	9
5 Diferencias entre E. coli enteropatogenica y E. coli enterohemorrágica.....	9
6 <i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica.....	10
7 <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa.....	11
8 <i>Escherichia coli</i> invasiva.....	12
9 <i>Escherichia coli</i> verotoxigenica.....	13
10 Signos y lesiones.....	14
11 Patogenia.....	15
12 Diagnóstico.....	16
13 Control y tratamiento.....	17

V Material y métodos.....	19
VI Resultados.....	23
VII Discusión.....	25
VIII Conclusión y sugerencias.....	27
IX Literatura citada.....	28

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de animales positivos y negativos

Escherichia coli.....23

Figura 2. Porcentaje de infección por *Escherichia coli*

de acuerdo al sexo.....24

Figura 3. Edad en días de animales que resultaron

positivos.....24

RESUMEN

El presente estudio fue realizado para determinar la prevalencia de la bacteria *Escherichia coli* en becerras lactantes en Cd. Delicias Chihuahua entre los meses de julio a noviembre del 2008, las muestras fueron tomadas de diferentes establos, con un total de 21 muestras tomadas al azar de animales de diferentes edades y de ambos sexos, posteriormente se enviaron al laboratorio para su análisis. Los resultados mostraron que del total de las 21 muestras, el 9.52% de las muestras resultaron positivas a la prueba. Del total de las muestras positivas, un 8.33% correspondieron a hembras. Con referencia a los machos, el 11.11% fueron positivos.

Palabras clave. *Prevalencia, escherichia coli, becerros holstein, diarrea.*

I. INTRODUCCION

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa, móvil o inmóvil, anaeróbica facultativa, no formadora de esporas, miembro de la familia *Enterobacteriaceae*. La estructura genómica principal es común tanto para bacterias comensales como patógenas, dando a los microorganismos los mecanismos requeridos para la supervivencia en las condiciones competitivas en el intestino, así como la capacidad de extenderse entre mas hospederos y sobrevivir en el ambiente (Kaper *et al.*, 2004). El género *Escherichia* comprende cinco especies: *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* y *Escherichia vulneris*. La especie *E. coli*, es la única que tiene significancia clínica. No obstante, *E. hermannii* y *E. vulneris* se han aislado raramente de infecciones extraintestinales, especialmente de heridas.

Existen alrededor de 225 serotipos de *E. coli*, y la mayoría de éstas no son patógenas. A las cepas de *E. coli* diarreagénicas, se les han clasificado en seis categorías: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* difusamente adherente (DAEC). ETEC, EPEC y EHEC son tipos diarreagénicos descritos en becerros. La importancia de ETEC en la etiología de la diarrea en becerros está bien reconocida y los tipos EPEC y EHEC son menos comunes en los síndromes diarreicos (Nataro y Kaper, 1998). Estas bacterias han cobrado gran interés en los últimos años por los cuadros clínicos en el humano, particularmente el síndrome urémico hemolítico y su vinculación con el consumo de alimentos contaminados, especialmente cárnicos de origen bovino.

La diarrea es un problema importante de salud pública por todo el mundo, con más de 2 millones de muertes que ocurren cada año, en particular entre infantes menores de 5 años. Una de las causas más comunes de diarrea en neonatos es *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) (Goosney *et al.*, 2000). *Escherichia coli* O157:H7 causa aproximadamente 60 muertes y 73,000 enfermedades cada año en los Estados Unidos (Mead *et al.*, 1999). El ganado sano es el hospedador principal y puede portar al microorganismo como parte de la flora del intestino. Los brotes más frecuentes son debido al alimento contaminado o al agua. La transmisión directa de *E. coli* O157:H7 de animales y su

ambiente a la gente es una preocupación creciente. La mayor parte de informes son de casos solos o pequeños brotes, y pocos han permitido las investigaciones epidemiológicas extensas al establecer factores de riesgo para la infección (Warshawsky *et al.*, 2002).

II. JUSTIFICACION

De acuerdo a estos antecedentes que demuestran que la colibacilosis es una enfermedad infecciosa que afecta a los animales domésticos y al hombre, siendo una de las zoonosis más importantes en la industria de los alimentos, tomando en cuenta que en los bovinos lecheros es una enfermedad que se presenta en épocas de lluvias debido a que esta bacteria permanece en lugares húmedos por varios meses y se trasmite por contaminación fecal del agua y los alimentos y considerando que en Cd. Delicias, Chihuahua, se han estado reportando brotes de *colibacilosis* en hatos lecheros y el riesgo de la infección de un hato a otro es muy alto, se pretende determinar la frecuencia de colibacilosis en becerras con diarrea de 1 a 60 días de edad.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general.

Determinar la frecuencia de *Escherichia coli* en becerros lactantes en hatos lecheros de Cd. Delicias Chihuahua.

3.2. Objetivos específicos

Tomar muestras de becerros con signos de diarrea.

Identificar *Escherichia coli*, utilizando la técnica de ELISA.

Determinar a qué edad los becerros son más susceptibles a contraer la infección por *E. coli*.

IV. ANTECEDENTES

1. Historia

La bacteria *Escherichia coli* fue descubierta en 1885 por Theodor Escherich, quien la denominó inicialmente *Bacterium coli*. En 1947, Kauffmann propone una forma de diferenciar las cepas de *E. coli* en base a la determinación de los antígenos superficiales O (somáticos), K (capsulares) y H (flagelares). Esta forma de clasificación serológica resultó muy útil en los estudios epidemiológicos y de patogenicidad de *E. coli*, facilitando la diferenciación entre cepas virulentas e inocuas (Ewing *et al.*, 1996).

El serotipado rutinario de las cepas de *E. coli* aisladas de casos esporádicos y brotes de diarrea en Europa y Estados Unidos permitió, en los años cuarenta y cincuenta, asociar con la diarrea neonatal a un grupo de cepas de *E. coli* pertenecientes a un limitado grupo de serotipos a las que denominaron en 1955 como *E. coli* enteropatógenicas (EPEC) (Hicks *et al.*, 1996). A pesar de que varios estudios realizados con voluntarios en la década de los cincuenta demostraron claramente que estas cepas eran capaces de inducir diarrea, al descubrirse en los años setenta que las EPEC no producían enterotoxinas ni tenían capacidad enteroinvasiva, algunos investigadores concluyeron precipitadamente que dichas cepas no eran enteropatógenas. La polémica suscitada fue resuelta en 1978 al demostrar, tras inoculación oral a voluntarios, que las cepas EPEC no enterotoxigénicas ni enteroinvasivas, conservadas en el laboratorio durante más de siete años, todavía eran capaces de causar diarrea por mecanismos no conocidos (Smith y Huggins, 1983).

Sin embargo, los mecanismos de virulencia de EPEC han sido mejor entendidos, principalmente gracias al advenimiento de la biología celular y molecular. Mientras EPEC invade células en cultivos de tejido *in vitro*, esto no ocurre *in vivo* (Francis *et al.*, 1991) Hace casi medio siglo, en 1963 se determinó que ciertos serotipos de EPEC están asociados con los brotes de diarrea. Cravioto, en 1979, describió un ensayo *in vitro* basado en la adherencia de la bacteria a células, mostrando que EPEC se adhiere a las células. Unos años más tarde fue demostrado que aquellas bacterias No-EPEC adherentes asociadas con diarrea si se adherían y fueron llamadas "*E. coli* enteroadherentes" (Cravioto *et al.*, 1991). Al

mismo tiempo Nataro, en 1987, reconoció dos fenotipos diferentes entre las bacterias enteroadherentes, el difuso y el agregativo. El trabajo de Nataro fue la primera descripción de EAEC. La adhesión agregativa es caracterizada por un “apilado” en la formación de células bacteriales conectadas a las células de los cultivos celulares (Nataro *et al.*, 1998). En 1982 *Escherichia coli* O157:H7 fue reconocida como un patógeno, durante una investigación de brote de colitis hemorrágica. La infección por *Escherichia coli* O157 puede conducir a el síndrome hemolítico uremico, caracterizado por anemia hemolítica, trombocitopenia, y una lesión renal (Bell *et al.*, 1994).

Aproximadamente 73,480 infecciones debido a la *E. coli* O157 ocurren cada año en los Estados Unidos, causando aproximadamente 2,168 hospitalizaciones y 61 muertes cada año (Mead *et al.*, 1999). En 1995 los primeros brotes de *E. coli* enterohemorrágica O157:H7 incluyendo 100 casos humanos en California fueron descritos en Suecia. Se sabe que el ganado puede ser portador de esta bacteria y en muchos casos es la fuente de infección. Muestras fecales individuales fueron recogidas en los 16 rastros suecos de abril de 1996 a agosto de 1997. De 3071 muestras fecales fueron encontradas 37 (1.2%) *E. coli* verotoxigénica (VTEC) O157 que codifican genes para verotoxinas (VT1 y/o VT2). Otras 3 muestras fueron de serotipo O157:H7, pero no produjeron verotoxinas (Albihn *et al.*, 2003). La preocupación por la seguridad sobre los productos alimenticios de origen bovino surgió hace tres décadas y ha aumentado debido al número creciente de infecciones humanas con infección con *E. coli* con producción de la toxina Shiga (STEC) (Griffin y Tauxe, 1991). Los brotes de *E. coli* O157:H7 y la infección causada por la transmisión de animales de granja o su ambiente fueron reconocidos en los Estados Unidos durante el 2000.

El número de casos permitió a la caracterización de factores de riesgo, y un estudio medioambiental simultáneo de la granja fue conducido para definir las fuentes de infección (Pennsylvania y Washington, 2000).

2. Grupos de *Escherichia coli* patógenos

Escherichia coli es la especie predominante de la flora normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo en la mayor parte de los mamíferos, y se elimina por las heces al exterior. Se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento es un indicador de contaminación fecal reciente (Blanco *et al.*, 2001).

Algunas cepas de *E. coli* son patógenas y pueden producir infecciones entéricas como enteritis, diarrea, disentería, colitis hemorrágica, o extraintestinales, síndrome urémico hemolítico y enfermedad del edema, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis, e infecciones pulmonares y de heridas. *E. coli* provoca en seres humanos del orden de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775.000 muertes al año, afectando fundamentalmente a la población infantil del tercer mundo (Johnson, 1991). Es el patógeno oportunista más frecuentemente asociado con infecciones urinarias y septicemias en seres humanos. En animales domésticos las colibacilosis son muy frecuentes, incidiendo esencialmente en animales de pocos días de edad y en recién destetados (Blanco *et al.*, 2005) ocasionan importantes pérdidas económicas en las explotaciones de ganado bovino, porcino y ovino. Mientras que en terneros, lechones, corderos y gazapos *E. coli* suele producir diarrea, en aves provoca fundamentalmente infecciones respiratorias y septicemias. Además *E. coli* puede causar en rumiantes, ganado porcino, perros y gatos colisepticemias en neonatos, infecciones urinarias y mastitis (Gyles, 1994).

La virulencia bacteriana es un fenómeno multifactorial. Las cepas patógenas de *E. coli* poseen diferentes tipos de factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potencializar su patogenicidad (Warshawsky *et al.*, 2002). Así, las *E. coli* enterotoxigénicas para poder causar diarrea además de secretar enterotoxinas, responsables de la deshidratación, deben poseer factores de colonización que les permitan adherirse a los enterocitos y colonizar el epitelio intestinal (Hancock *et al.*, 1998). Sin las adhesinas las bacterias enterotoxigénicas serían eliminadas mecánicamente por el lavado ejercido por los movimientos peristálticos del intestino delgado, y no podrían provocar diarrea a pesar de producir enterotoxinas (Harmon *et al.*, 1999).

Aunque las cepas de *E. coli* que causan infecciones en seres humanos y animales pueden compartir determinados factores de virulencia, en general presentan diferentes serotipos y poseen adhesinas específicas que son responsables de su especificidad de hospedador. Por lo tanto, las cepas de *E. coli* patógenas para seres humanos no suelen producir infecciones en animales y viceversa. No obstante, se ha comprobado que los animales pueden ser un reservorio de *E. coli* enteropatógena para las personas. Así, las *E. coli* verotoxigénicas (VTEC) que causan colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico en humanos, forman parte de la flora normal intestinal del ganado bovino y ovino donde se comportan, en la mayor parte de los casos, como comensales (Grauke *et al.*, 2002).

Las *E. coli* patógenos se han englobado en diferentes grupos o categorías: *E. coli* enteropatógenas (EPEC), *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* verotoxigénicas (VTEC) o enterohemorrágicas (EHEC), *E. coli* enteroagregativas (EAEC), *E. coli* enteroadhesivas con adherencia difusa (ADEC), *E. coli* uropatógenas y *E. coli* bacteriémicas o septicémicas. Las cepas de estos grupos presentan mecanismos de patogenicidad específicos, serotipos distintos y producen infecciones y síndromes diferentes (Presterl *et al.*, 1999). Estas categorías tienen atributos de virulencia que ayudan a la bacteria a causar enfermedades por mecanismos diferentes. Los tipos EIEC, EHEC Y ETEC poseen atributos de virulencia específicos, incluyendo toxinas diferentes, invasión y factores de colonización.

3. *E. coli* enteropatógenas (EPEC)

El serotipado rutinario de las cepas de *E. coli* aisladas de casos esporádicos y brotes de diarrea en Europa y Estados Unidos, permitió en los años cuarenta y cincuenta, asociar con la diarrea neonatal a un grupo de cepas de *E. coli* pertenecientes a un limitado grupo de serotipos a las que denominaron en 1955 EPEC (McDaniel y Kaper 1997). A pesar de que varios estudios realizados con voluntarios en la década de los cincuenta demostraron claramente que estas cepas eran capaces de inducir diarrea, al descubrirse en los años setenta que las EPEC no producían enterotoxinas ni tenían capacidad enteroinvasiva, algunos

investigadores concluyeron precipitadamente que dichas cepas no eran enteropatógenas (Kaper *et al.*, 2004). La polémica suscitada fue resuelta al demostrar, tras inoculación oral a voluntarios, que las cepas EPEC no enterotoxigénicas ni enteroinvasivas, conservadas en el laboratorio durante más de siete años, todavía eran capaces de causar diarrea por mecanismos no conocidos. Aunque los brotes de diarrea provocados por las EPEC en los países desarrollados han remitido drásticamente en las últimas dos décadas, se siguen produciendo frecuentes casos esporádicos y algunos brotes (Porter *et al.*, 2005).

Las cepas de *E. coli* que causan diarrea en terneros provocan lesiones intestinales de adhesión y borrado, por lo que se incluyen dentro de las EPEC. No obstante, las cepas que infectan los terneros poseen distintas adhesinas que las humanas (Sircili *et al.*, 2004).

4. *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC)

Los rumiantes son un depósito importante de EHEC e infecciones humanas con frecuencia son asociadas con el contacto directo o indirecto con excrementos de rumiantes. Las estrategias de reducir el predominio de EHEC en rumiantes deberían bajar la incidencia de infección humana (Frankel *et al.*, 1994). Sin embargo, actualmente poco se conoce sobre los mecanismos de colonización intestinal de rumiantes por EHEC y ninguna vacuna eficaz aún ha sido desarrollada (Lema *et al.*, 2001).

5. Diferencias entre *E. coli* enteropatógena y *E. coli* enterohemorrágica

Escherichia coli enteropatógena (EPEC) y *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) causan una morbilidad y mortalidad significativa por todo el mundo (Clarke *et al.*, 2003). Aunque estos patotipos de *E. coli* están genéticamente relacionados, muchos rasgos de su epidemiología, su patogénesis y los lugares que ellos ocupan dentro del hospedador son únicos. EHEC produce una Shigatoxina (Stx) que puede causar daño a células endoteliales renales, causando síndrome hemolítico uremico, mientras EPEC no posee Stx (Leverton y Kaper., 2005). La enfermedad de EHEC aparece principalmente en naciones industrializadas aunque

causa menos brotes de enfermedad que en países en vía de desarrollo. Esta observación anecdóticamente ha sido atribuida a la protección inmunológica de la bacteria relacionada, EPEC, en las regiones menos desarrolladas del mundo.

Hay dos diferencias adicionales importantes que distinguen estos dos patotipos de *E. coli*. Aproximadamente de 10⁸ a 10¹⁰ bacterias de EPEC son necesarias para causar la infección (Donnenberg *et al.*, 1993), mientras la dosis infecciosa para EHEC es mucho menor, estimada de 100 CFU. EPEC infecta el intestino delgado; EHEC infecta el intestino grueso, produciendo la diarrea sanguinolenta que es resultado del daño al colon. Las variantes de la proteína de la membrana interna, expresado por ambos patotipos, han sido implicados como contribuidores al tejido (Reece *et al.*, 2001). EPEC y EHEC comparten semejanzas genotípicas y fenotípicas codificando un sistema de secreción y la capacidad de producir adherencia y eliminación en las lesiones intestinales (Moon *et al.*, 1983).

6. *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC)

La diarrea neonatal en terneros causa importantes daños económicos en las producciones pecuarias en todo el mundo, su principal agente causal son las cepas de ETEC (Runnels *et al.*, 1986). ETEC tiene dos grupos de factores de virulencia: fimbrias (pili) y enterotoxinas, las fimbrias K99 y/o F41 median la adhesión al íleon. El becerro infectado con ETEC produce enterotoxina termoestable, que causa la hipersecreción en el lumen intestinal (Butler y Clarke, 1994) y reduce la absorción en el intestino (Holland, 1990). La Fimbria más comúnmente observada sobre ETEC de terneros con diarrea es F5 (K99) y F41, sin embargo las cepas con fimbria F165 también han sido aisladas (Contrepolis *et al.*, 1989).

Las inmunoglobulinas colostrales juegan un papel importante en la protección del becerro contra ETEC. Una respuesta de anticuerpos activada por lo general no es descubierta hasta las cuatro semanas de edad en terneros con un nivel suficiente de inmunoglobulinas colostrales, mientras que terneros hipogammaglobulinémicos pueden responder durante la primera semana de vida (Logan *et al.*, 1974). Se reportado una mortalidad del 8.8% en terneros entre 24 horas de edad y el destete. Aproximadamente el 89% de las muertes ocurre en terneros menores de un mes; la muerte es debido a la diarrea en el 26% de los

terneros (Harel *et al.*, 1991). La patogénesis involucra la unión de las fimbrias a glicoproteínas y glicolípidos que actúan como receptores en la mucosa y en las células epiteliales del intestino delgado del hospedero así como, la inducción de diarreas a través de las enterotoxinas (Francis *et al.*, 1998).

Las ETEC son consideradas en la actualidad, junto con las EPEC los patógenos que con mayor frecuencia causan diarrea colérica y diarrea del viajero en países con condiciones higiénico-sanitarias deficientes (Duchet *et al.*, 1992). En los estudios realizados en Asia, África e Iberoamérica, las ETEC se aíslan de entre el 10% y el 50% de los pacientes con diarrea. En los países desarrollados, las ETEC son aisladas muy raramente de casos esporádicos de diarrea (0 y el 4%) (Sherman *et al.*, 1983). En animales domésticos, las colibacilosis causadas por ETEC son muy frecuentes, afectan fundamentalmente a animales de pocos días de edad y recién destetados, y ocasionan importantes pérdidas económicas en las explotaciones de ganado porcino y bovino (Acres *et al.*, 1979). Las cepas humanas sintetizan las enterotoxinas LT/ó STa y poseen los factores de colonización CFA/I a CFA/IV; mientras que las bovinas producen la enterotoxina STa y llevan fimbrias K99 y/ó F41. Existe una alta especificidad de huésped, no siendo las ETEC de origen animal patógenos para los seres humanos y viceversa. Las enterotoxinas actúan incrementando la concentración de adenosín o guanósín monofosfato cíclico en los enterocitos, lo que provoca una fuerte salida de agua y electrolitos al lumen intestinal (Brunder *et al.*, 1997). Las ETEC que causan diarrea en los animales pertenecen a un limitado número de serotipos que son totalmente diferentes a los encontrados en las cepas humanas. La enfermedad edematosa afecta fundamentalmente a terneros destetados, tiene una alta mortalidad y es causada por cepas que además de producir enterotoxinas sintetizan la verotoxina VT2v (también conocida como VT2e ó toxina edematosa) responsable de las alteraciones neuronales (Herold *et al.*, 2005).

7. *E. coli* enteroagregativas (EAEC)

En países en vía de desarrollo un número creciente de estudios ha apoyado la asociación de EAEC con la diarrea, el más prominente está asociado con la diarrea persistente (Lima *et al.*, 1992). Varios estudios en niños con diarrea han mostrado una diferencia significativa en el predominio de EAEC (Bouzari *et al.*, 1994).

Provocan una diarrea acuosa mucoide, pero se puede observar sangre en un número significativo de muestras fecales. Son muy frecuentes los individuos portadores asintomáticos. Las EAEC presentan fimbrias que les permiten adherirse de forma agregativa a las células y unirse al epitelio intestinal. Provocan un aumento de la secreción de moco que conduce a la formación de una biopelícula donde quedan atrapadas las bacterias. Se cree que la formación de la biopelícula puede promocionar la colonización persistente y tal vez una mala absorción. Posteriormente la bacteria produce una enterotoxina termoestable y una citotoxina que pueden ser responsables de la diarrea y de las lesiones histopatológicas. La detección de ECEA se realiza investigando la adhesión agregativa a células y por pruebas genéticas (hibridación ó PCR) que detectan un plásmido asociado con el patrón de adherencia enteroagregativa. Las EAEC se han asociado al síndrome de diarrea persistente. El número creciente de tales informes y la proporción creciente de casos de diarrea en los cuales EAEC es implicada sugiere que las EAEC son los agentes importantes, emergentes de diarrea pediátrica (Wanke *et al.*, 1991).

8. *E. coli* enteroinvasivas (EIEC)

En 1971 se describe un nuevo grupo de cepas de *E.coli* que provocaron disentería, asociados a EIEC. En estudios llevados a cabo en Brasil, México y Tailandia, las cepas invasivas no se detectaron o su frecuencia de aislamiento fue muy baja (Falconi *et al.*, 1998). Sin embargo, se han producido algunos brotes causados por este tipo de cepas en Estados Unidos, Checoslovaquia y en España. La mayor parte de los pacientes infectados desarrollan una diarrea acuosa indistinguible de la provocada por otros grupos de *E. coli* diarreagénicas. Solamente algunos pacientes presentan disentería, que se manifiesta con sangre, moco y leucocitos en las heces, y fiebre. Las EIEC son muy parecidas a *Shigella* ya que generalmente son incapaces de fermentar la lactosa, no son móviles, lisina descarboxilasa negativas y además poseen antígenos O que presentan reacción cruzada con las de *Shigella*.

El modelo actual de patogénesis de *Shigella* y EIEC comprende los siguientes pasos: (1) penetración por endocitosis dentro de las células de la mucosa intestinal del colon, (2) lisis de la vacuola endocítica, (3) multiplicación intracelular, (4) movimiento intracelular y (5) diseminación lateral a las células adyacentes (Wallace *et al.*, 1989).

9. *E. coli* verotoxigénicas (VTEC)

Las VTEC, y muy especialmente las enterohemorrágicas altamente virulentas del serotipo O157:H7, son importantes patógenos emergentes que causan patologías muy severas en seres humanos: colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico (Blanco *et al.*, 1996). Hay mucho interés en entender la diseminación de VTEC O157 entre el ganado de carne y de leche y los motivos por qué estas no causan colitis y diarrea en este hospedador. Un punto de partida lógico para tales investigaciones es el transporte y la expresión de adherencia bacteriana establecida, aunque hasta el momento no haya ningunas pruebas claras que *E. coli* O157 coloniza la mucosa gastrointestinal bovina. *E. coli* O157 no tiene genes para la adherencia que podría desempeñar un papel en la colonización del hospedador bovino, como K99 y F41 (Galfi *et al.*, 1998).

Uno de estos patotipos, produce una citotoxina llamada Shigatoxina (STEC), también llamada verotoxina que causa disenteria parecida a la producida por el serotipo 1 de *Shigella* (O'Brien *et al.*, 1982). Sobre todo el bovino, constituye un depósito enorme de STEC, y no es sorprendente que la infección humana con frecuencia pueda ser remontada a la contaminación de alimento o agua con el abono de ganado. Es importante reducir la contaminación de alimento y del medio ambiente debido a STEC, en ganado de engorda y por lo tanto en la producción de carne (Roldgaard *et al.*, 2004). Varios métodos son usados para caracterizar la eliminación de microorganismos STEC, y para conocer los factores que influyen en la eliminación por los bovinos y entender los mecanismos por los cuales STEC causa la enfermedad en la gente. Los datos de estos estudios probablemente conducen a los métodos mejorados de prevención y tratamiento de enfermedad en la gente (Jenkins *et al.*, 2003).

A nivel de hato, se requiere la disminución de la concentración de *E. coli* O157:H7 disminuyendo el número de bovinos que eliminan ésta bacteria en heces (Hancock *et al.*, 1994) y por lo tanto, controlando la transmisión del organismo a terneros y al ganado adulto. Una práctica común en los hatos de ganado lechero es la administración de leche con

antibióticos a terneros recién nacidos para prevenir la enfermedad y mejorar el crecimiento. Sin embargo, *E. coli* O157:H7 ha sido aislada de terneros de los hatos que usaron antibióticos oralmente administrados en el agua y la leche, pero no de terneros de hatos donde los antibióticos sólo de vez en cuando fueron usados (Shere *et al.*, 1998).

No obstante, también se ha encontrado el VTEC O157:H7 en ganado ovino. Más de la mitad de los terneros y corderos llevan en su flora intestinal VTEC O157, muchos de los cuales pertenecen a los mismos serotipos de las cepas que causan infecciones en seres humanos. El número de animales colonizados por VTEC altamente virulentos del serotipo O157:H7 es aproximadamente el 10% del ganado bovino y el 3% del ganado ovino. Se calcula, que el 10% de las canales de carne de bovinos están contaminadas por VTEC No-O157 y el 1% por O157:H7 (Rahn *et al.*, 1996).

10. Signos y lesiones

En terneros con septicemia, las manifestaciones se evidencian a los 4 días de vida aproximadamente. Hay depresión, taquicardia, anorexia, con temperatura elevada al principio que luego desciende por debajo de la temperatura normal. Puede haber diarrea y signos de disentería. También puede haber evidencia de afecciones en otras localizaciones; artritis, meningitis, panoftalmitis, neumonía, entre otras (Lima *et al.*, 1992).

En los terneros con colibacilosis enterotóxica, las primeras manifestaciones clínicas aparecen entre 1 y 2 semanas de vida. Hay debilidad severa, temperatura disminuida, mucosas pálidas, piel fría, colapso de venas superficiales, irregularidad cardíaca, movimientos convulsivos y apnea. Es importante la toxemia entérica, hay diarrea acuosa, amarillenta, pálida o blanca, con estrías de sangre, olor fétido y desagradable. La muerte sobreviene de forma aguda, luego de 2 a 6 horas de aparición de los primeros signos.

En animales infectados natural o experimentalmente, las lesiones producidas por cepas de *E. coli*, productoras de citotoxinas, ocurren principalmente en ciego y colon distal; con presencia de erosiones y úlceras, histológicamente los enterocitos se presentan cuboidales y no parece existir predisposición particular por algún tipo de célula en la mucosa. También se

puede observar edema extenso, erosiones, úlceras y hemorragias en otros sitios del tracto gastrointestinal, sin que se demuestre colonización bacteriana, el aspecto de la diarrea ha sido definido como “disenteriforme” (Holland, 1990).

Los cuadros clínico-patológicos que se presentan en bovinos por estas cepas de *E. coli* son: septicémico, enterotóxico y enterotoxémico (enfermedad edematosa bovina). A pesar de que se aíslan frecuentemente cepas EHEC, productoras de STX, en bovinos, son pocas las comunicaciones en las que se les ha podido asociar con cuadros clínicos entéricos. En un caso se estudió un cuadro de diarrea disenteriforme con identificación de cepas EPEC que no produjeron STX; los cuatro animales involucrados no respondieron a la terapia de líquidos, electrolitos, transfusiones de plasma y antibióticos (Mainil *et al.*, 1987) mientras que en otros trabajos en que se estudiaron situaciones de diarrea y enfermedad entérica en bovinos, en un caso se aisló una cepa de *E. coli* perteneciente al serotipo O157:H7 y en otro se aislaron cepas productoras de STX y se identificaron distintos serotipos (Dorn *et al.*, 1989).

11. Patogenia

La patogenia y patología de estas cepas citotóxicas de *E. coli* en el bovino no ha sido completamente esclarecida. El problema se ha estudiado fundamentalmente considerando al bovino como un reservorio y fuente de infección para el humano, a través de los alimentos contaminados, dado que se han identificado los mismos serotipos bacterianos y tipos de STX en ambas especies (Barrón *et al.*, 1989).

Las infecciones por rotavirus en animales domésticos están restringidas al intestino delgado, yeyuno e íleon, y determinan trastornos en la absorción de nutrimentos al producir disminución del tamaño y fusión de las vellosidades (Barker *et al.*, 1985). En los bovinos se han descrito infecciones en las cuales todos los diagnósticos correspondieron a un mismo fenotipo o a patrones diferentes (Taniguchi y Urasawa, 1995) Se ha comunicado mayor prevalencia del grupo A en los bovinos en donde pueden causar desde infecciones asintomáticas hasta cuadros de diarrea con pérdida abundante de líquido y desbalance

electrolítico. La diferente presentación se atribuye a la variación en la virulencia de las cepas, edad de los animales, estado inmunológico, dosis infectante, estrés ambiental, así como infecciones asociadas. En un estudio de varias explotaciones, la incidencia de infecciones por rotavirus varió del 7% al 11%, con 26.9% de aislamientos positivos, y se determinó que en terneros de una semana de edad fue común encontrar infecciones asociadas que incluyen la presencia de cepas de *E. coli* enterotoxigénicas (Wohlgemuth, 1977). Se ha demostrado la presencia de cepas de *E. coli* citotóxicas y de rotavirus asociadas con brotes de diarrea hemorrágica en terneros, se ha analizado la relación entre estos agentes como factor de riesgo y como determinantes de lesiones intestinales en los bovinos (Justin y Madec, 1986).

12. Diagnóstico

Para el diagnóstico de *E. coli* se debe diferenciar el fenotipo de cepas patógenas de la flora no patógena normal utilizando análisis inmunoabsorbentes ligado a enzimas (ELISA) para toxinas y fimbria. Estas pruebas pueden llevar mucho tiempo, son complicadas y rutinariamente no son usadas en muchos laboratorios clínicos. Histológicamente el examen del intestino puede indicar la participación de ETEC O AEEC, pero este es un diagnóstico presuntivo (Kiesling *et al.*, 1982).

Las muestras a procesar deben ser representativas del tipo de infección y pueden ser de heces (coprocultivo), orina (urocultivo), sangre (hemocultivo), exudado de una herida, una muestra de un líquido orgánico (ascítico, pleural, líquido cefalorraquídeo), bilis ó leche materna. Los medios más frecuentemente utilizados para el aislamiento de *E. coli* son el agar MacConkey con lactosa y el medio eosina azul de metileno (EMB) (Huck *et al.*, 2000). Se trata de medios selectivos que diferencian las colonias en lactosa positivas y negativas. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son lactosa positivas, no se deben descartar el estudio de las colonias lactosa negativas, ya que entre el 5% de los *E.coli* que no son fermentadores de la lactosa se pueden encontrar cepas patógenas. Así, la mayor parte de los EIEC son lactosa negativos (Walter *et al.*, 1992).

En los urocultivos y hemocultivos también se emplea una placa de un medio no selectivo como el agar sangre. Recuentos superiores a 10^5 unidades formadoras de colonias por mL de orina son indicativos de una bacteriuria. En muestras procedentes de tejidos ó líquidos (sangre, líquido cefalorraquídeo, etc...) habitualmente estériles cualquier crecimiento es indicativo de infección (Fuller, 1989).

El diagnóstico genotípico puede ser logrado por la hibridación de mancha de colonia de ADN para identificar genes que codifiquen factores de virulencia. Sin embargo, el empleo de isótopos radiactivos y el tiempo requerido hace este método inadecuado para muchos laboratorios diagnósticos (Moon *et al.*, 1986). La muestra clínica más difícil de valorar para el microbiólogo clínico es la procedente de personas ó animales con diarrea, ya que al sembrar las heces en el agar MacConkey - Lactosa nos va a crecer casi siempre un abundante número de colonias de *E. coli*. Entonces, el problema consiste en diferenciar entre las cepas diarreagénicas de las no patógenas que forman parte de la microbiota normal del intestino grueso. Actualmente, la técnica más frecuentemente empleada para detectar los *E. coli* diarreagénicos es hacer una PCR múltiple capaz de detectar los genes de virulencia más representativos de los ECEP, ECET, ECEI, ECVT, ECEA y ECAD (China *et al.*, 1996). Conviene probar una mezcla de al menos 10 colonias antes de descartar que el coprocultivo sea negativo. Para efectos epidemiológicos es muy importante determinar el serotipo O:H de la cepa aislada. En el caso de aislar un ECVT O157:H7 convendría determinar su fagotipo y patrón de electroforesis en campos pulsantes (PFGE). Sólomente en determinados laboratorios de investigación de referencia se realiza el serotipado completo, el fagotipado y la técnica de PFGE (Rothbaum *et al.*, 1982).

13. Control y tratamiento

Intereses sociales sobre el empleo de antibiótico en la agricultura de producción y la necesidad de productores para poner en práctica medidas preventivas contra brotes patógenos en el suministro de alimentos han destacado el empleo potencial de probióticos en operaciones alimenticias. Así, para rumiantes, existe la posibilidad de que los probióticos mejoran condiciones microbianas tanto en el rumen como en la vía digestiva inferior (Fuller, 1989).

Normalmente las infecciones extraintestinales requieren tratamiento con antibióticos, el cual debe empezar lo antes posible en los casos de septicemias. En general, todos los procesos diarreicos requieren como base fundamental del tratamiento una adecuada reposición de líquidos y electrolitos. Esta reposición puede ser oral en casos leves, pero en situaciones de severa deshidratación la rehidratación parenteral no debe demorarse. El tratamiento de las enteritis con antibióticos está muy cuestionado, y en algunos casos totalmente contraindicado. Se ha demostrado que algunos antibióticos potencian la liberación de las verotoxinas, de tal forma que pueden agravar el estado del enfermo y favorecer el desarrollo del SUH. No obstante, se ha visto que la fosfomicina es un antibiótico adecuado para el tratamiento de las diarreas y colitis hemorrágicas causadas por los ECVT O157:H7.

Los antibióticos a utilizar deben ser activos "*in vitro*" (Krehbiel *et al.* 2003), y alcanzar cantidades suficientes en el foco infeccioso, debiéndose escoger los menos tóxicos y los que tengan menor tendencia a seleccionar formas de resistencia entre los eficaces. Los antibióticos más frecuentemente empleados son la amoxicilina, amoxicilina - ácido clavulánico, cefalosporinas, aminoglicósidos, cotrimoxazol y quinolonas. Entre los antibióticos que presentan menores tasas de resistencias están la amoxicilina - ácido clavulánico, las cefalosporinas de 2ª y 3ª generación, gentamicina, tobramicina, amikacina, colistina y polimixina B. En general las cepas de origen animal presentan mayores tasas de resistencias a los antibióticos que las de origen humano (Krehbiel *et al.* 2003).

La prevención se debe basar en el sanamiento de las aguas, en el control de los alimentos, y en la mejora de las condiciones higiénicas y de manejo. Hay que intentar eliminar todos los factores predisponentes de las infecciones oportunistas. Para evitar las septicemias neonatales que afectan a terneros hipogammaglobulinémicos menores de una semana de vida, es fundamental alimentar a los neonatos con un calostro rico en anticuerpos sobre todo en los hatos en los que este tipo de infecciones son frecuentes. Se han desarrollado vacunas elaboradas con bacterias enteras muertas (bacterinas) ó con antígenos fimbriales (K88, P987, K99 y F41) purificados para prevenir la diarrea en lechones y en terneros recién nacidos (Kmet *et al.*, 1993).

Se vacuna a las madres uno ó dos meses antes del parto y su descendencia recibe los anticuerpos pasivamente vía calostro. Para prevenir las diarreas postdestete y la enfermedad edematosa hay que vacunar a los animales durante la segunda semana de vida, pero en general los resultados no son tan buenos como los conseguidos con las vacunas contra la diarrea neonatal.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Marco de referencia. Delicias es una ciudad agrícola, ganadera e industrial, ubicada a 65 km al sur de la capital de Chihuahua y a 70 km al norte de Camargo. Tienen una superficie de 335,43 km², localizándose en la latitud norte de 28°11' y longitud oeste de 105°28', a una altitud de 1,170 metros sobre el nivel del mar. Es el municipio más pequeño del Estado, cabecera del Municipio de Delicias. Limita al norte con Meoqui, al sur y al este con Saucillo, y al oeste con Rosales. El uso del suelo es fundamentalmente agrícola e industrial. El tipo de tenencia de la tierra corresponde en su mayoría al régimen de pequeña propiedad con 18.936 hectáreas, y en segundo término el ejidal con 7.856 hectáreas distribuidas en seis ejidos. El clima es semiárido, la precipitación pluvial media anual oscila entre 300 y 400 milímetros (promedio 366), con un promedio anual de 82 días de lluvia y una humedad relativa del 45%. Se estiman 60 días de lluvia y 2 de granizo. Los días con heladas son 110 y existen 3 días de heladas tempranas en octubre y 4 de heladas tardías en abril, según las estadísticas oficiales. Los vientos dominantes proceden del sudoeste. La temperatura diaria máxima promedio es de 25 °C y la mínima promedio de 10 °C.

Fase de campo. El presente estudio fue diseñado y realizado para determinar la frecuencia de *Escherichia coli* en becerros Holstein lactantes en hatos lecheros de Cd. Delicias Chihuahua, entre los meses de Julio a Noviembre del 2008. Se tomaron muestras de heces de 7 hatos lecheros (Cuadro 1), de animales de 0 a 35 días de edad con signos clínicos de diarrea. Cada muestra fue tomada asépticamente en bolsas estériles y transportada en refrigeración al laboratorio de patología de la

Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro para su análisis.

Fase de laboratorio. El estudio se realizó en la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna ubicada en Torreón Coahuila. Se utilizó un paquete comercial de diagnóstico de la técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) para la detección del antígeno K99 de *Escherichia coli* en heces. El paquete permaneció almacenado en refrigeración a una temperatura de 4 a 8 °C, y se puso a temperatura ambiente para su uso.

Cuadro 1. Número de becerros muestreados en 7 hatos lecheros de Cd. Delicias, Chihuahua.

Establos	n
1. Leche Delicias	3
2. El Espejo	6
3. El Orejas	2
4. Las Alazanas	2
5. Los Arados	1
6. Los Pinos	2
7. La Campera	5
Total	21

Se diluyeron el reactivo control negativo (N), el reactivo control positivo (P) y las muestras de materia fecal (M), cada uno al 50%, con un diluyente amortiguado con fosfatos como se observa en la hoja de trabajo (placa).

Las muestras se homogenizaron utilizando perlas de vidrio dentro de un recipiente de vidrio (tubos de ensayo de 5 mL) y se agitaron vigorosamente.

Se preparó una solución de lavado concentrada (X20) 1:20 con agua destilada, eliminando los cristales que se formaron a 5°C (\pm 3°C). Pasado el tiempo de la primera incubación se llenaron los pocillos de la placa con 300 μ L de la solución de lavado, se vació el líquido de la placa con un golpe sobre la superficie firme con tela absorbente y se repitió este paso un total de 3 veces, evitando la formación de burbujas.

Se depositaron en cada pocillo 100 μ L de conjugado (Anticuerpo anti IgG) y se dejó incubar la placa a 21°C (\pm 5°C) durante 30 minutos (\pm 3 min).

Se lavaron los pocillos de la placa llenando cada uno con 300 μ L de la solución de lavado, se vació el líquido de la placa con un golpe sobre la superficie firme con tela absorbente y se repitió este paso un total de 3 veces, evitando la formación de burbujas.

Hoja de trabajo:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	N	N	M19								
B	P	P	P	M20								
C	M1	M7	M13	M21								
D	M2	M8	M14									
E	M3	M9	M15									
F	M4	M10	M16									

G	M5	M11	M17									
H	M6	M12	M18									

Se depositaron 100 μ L de solución reveladora y se incubaron durante 10 minutos a 21 °C \pm 5°C en un área sin luz.

Criterios de validación. El resultado fue considerado positivo cuando:

- A) El control positivo presentó un color azul bien marcado.
- B) El control negativo no presentó color o un color azul ligero.

Interpretación. La placa fue validada cuando:

- A) Fue considerada como positiva cualquier muestra que presentó un color azul, que sea más oscuro que el color del control negativo.
- B) Es considerada como negativa cualquier muestra que presentó un color equivalente o ligeramente menor que el control negativo.

VI. RESULTADOS

Este trabajo fue realizado con el objetivo de determinar la prevalencia de *Escherichia coli* involucrada en la diarrea indiferenciada de las becerras y la edad en la que éstas se afectan, obteniéndose lo siguientes (Figuras 1, 2 y 3).

De un total de 21 muestras de heces de becerras con diarrea obtenidas, solo 2 (9.52%) resultaron positivas a la prueba, indicando que el antígeno K99 se encontró en estos animales y por lo tanto el 90.48% restante, fueron negativas.

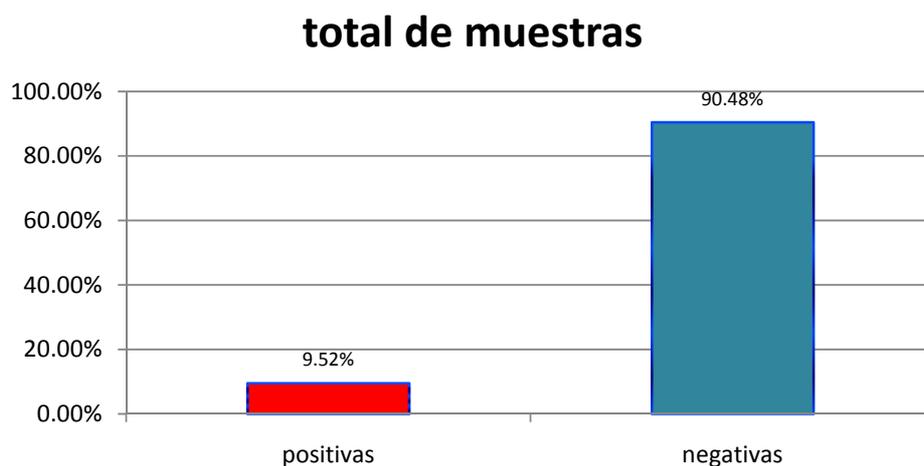


Figura 1. Porcentaje de animales positivos y negativos a *Escherichia coli*.

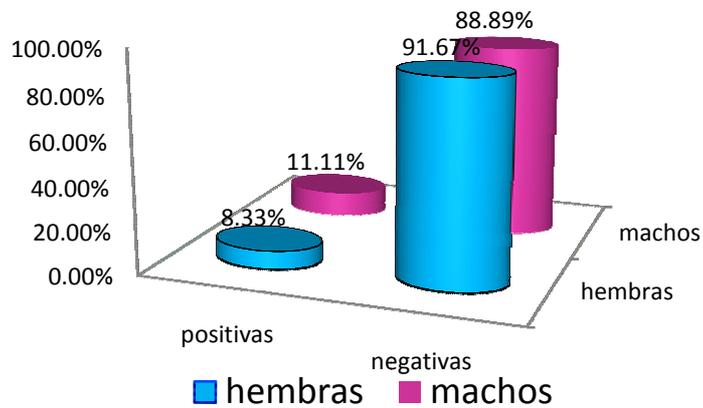


Figura 2. Porcentaje de infección por *Escherichia coli* de acuerdo al sexo.

Del total de las muestras positivas, 60% correspondieron a hembras, y 40% a machos.

La Figura 3 muestra la edad de los animales positivos y negativos a colibacilosis, encontrándose un promedio de 7 a 8 días de edad en que se presenta la infección.

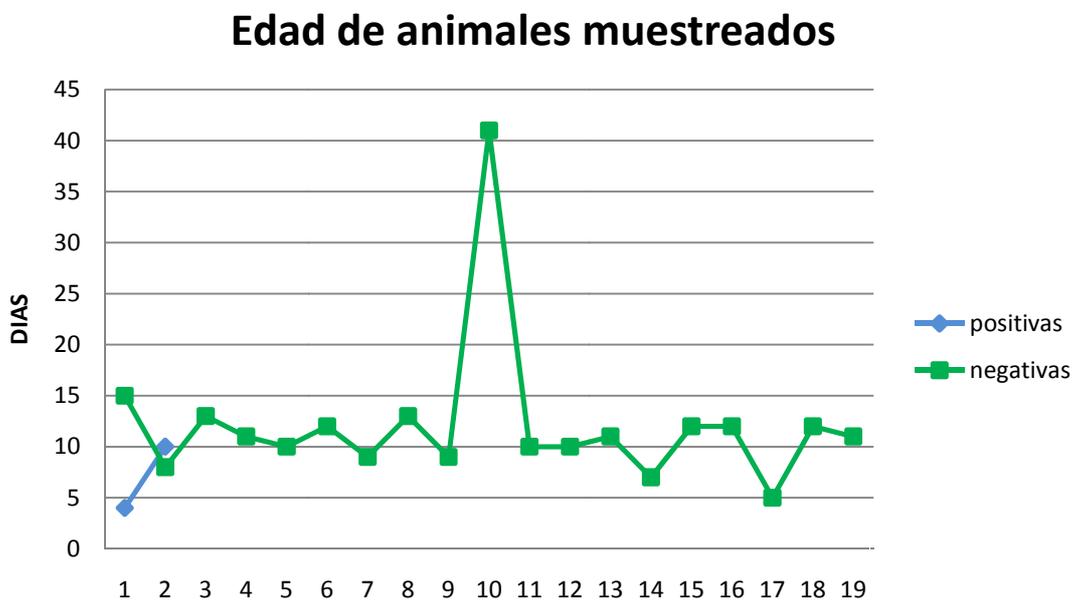


Figura 3. Edad en días de los animales que resultaron positivos

VII. DISCUSION

El presente estudio fue dirigido sobre becerros con diarrea observándose una alta prevalencia de diarreas en hatos lecheros de Cd. Delicias, Chihuahua. En el Valle de México se han reportado incidencias de diarreas superiores al 50% en los primeros 30 días de lactancia, lo que indica serias deficiencias en el manejo. Así mismo existen diferencias significativas en la prevalencia de diarreas entre las becerras nacidas de vaquillas de primer parto y las nacidas de vacas adultas. De acuerdo a un estudio la diarrea afectó al 14% de las becerras nacidas de vacas adultas y al 27% de los becerras nacidas de vaquillas de primer parto en los primeros 60 días de vida (Medina *et al.*, 1996). Estos datos nos muestran que la calidad del calostro de las vacas es mayor que de las vaquillas y en este caso para evitar las diarreas en becerros de vaquillas se deben implementar técnicas de manejo donde se utilice calostro de buena calidad y/o sustitutos de calostro.

En Suecia se reportan bajas prevalencias de *E. coli* enteropatógena productora de verotoxina, en los principales 16 rastros se recolectaron muestras de heces fecales de abril de 1996 a agosto de 1997. De 3071 muestras fecales, 37 (1.2%) fueron positivas (Albihn *et al.*, 2003). Los bovinos son los principales reservorios de *E. coli* y sus heces son la principal fuente de contaminación de alimentos y de agua que causan enfermedades transmitidas por los alimentos en los seres humanos.

Reinstein y colaboradores (2009) realizaron estudios en los cuales los resultados que obtuvieron mostraron tasas de prevalencia del 14,8% a *E. coli*. Además, la concentración mínima inhibitoria de una variedad de antibióticos para *E. coli* aislados fueron analizados para determinar los efectos y se observó que no hubo diferencia significativa en la susceptibilidad antibiótica (Reinstein *et al.*, 2009). Aunque la prevalencia de *Escherichia coli* patógena en las explotaciones de ganado vacuno se ha examinado ampliamente, la relación entre este patógeno y el tipo de explotación se ha establecido sólo en raras ocasiones. En un estudio a gran escala realizado en el 2007 por Cobbaut y colaboradores (2009), para determinar la prevalencia de *E. coli* en la región flamenca de Bélgica en las explotaciones de ganado lechero, ganado de carne, productos lácteos mixtos y de ganado vacuno y terneros, 180 granjas fueron seleccionadas aleatoriamente considerando el tamaño de la explotación,

y el número de animales comprados. Se tomaron muestras de cada hato donde los animales se categorizaron en tres diferentes edades, menores a 8 meses, 8 a 30 meses, y mayores de 30 meses. Se tomaron 820 muestras y se analizaron para determinar la presencia de *E. coli* utilizando un medio de enriquecimiento, separación inmunomagnética, y siembra en agar selectivo. La prevalencia global de *E. coli* fue de 37,8% (68 de 180 hatos). La prevalencia más alta se encontró en las explotaciones de ganado lechero (61,2%, en 30 de 49 hatos). Las prevalencias en becerras fue de 9,1% (1 de 11 hatos). Se observó una correlación positiva significativa entre la edad y la prevalencia de *E. coli*. No hubo influencia del tamaño de la explotación o la introducción de nuevos animales (Cobbaut *et al.*, 2009).

Tomando en cuenta los datos de los autores antes mencionados y los resultados obtenidos en este trabajo se puede observar que la prevalencia de colibacilosis en los becerros lactantes no es muy alta en comparación con otras infecciones que afectan a estas mismos animales, ya que nunca se ve rebasado el 15% de los animales infectados del total de las muestras que se toman para realizar los estudios de investigación, independientemente del número de éstas.

VIII. CONCLUSIÓN Y SUGERENCIAS

De acuerdo a los resultados obtenidos en ésta investigación se puede concluir que la edad de mayor susceptibilidad de la infección por *E. coli* es en animales menores de 10 días de edad y que no hay predilección ni diferencias entre machos y hembras.

Al parecer las becerras recién nacidas se contaminan inmediatamente al caer al piso y se infectan con *E. coli*, al estar en contacto la bacteria por medio de la materia fecal de la madre con la cavidad oral, lo cual puede provocar una mayor frecuencia de infección en los becerros.

Es recomendable realizar estudios con un mayor número de animales para determinar la prevalencia y frecuencia de la infección y buscar los principales factores que inciden en la presentación de nuevos casos.

Aun que dando una buena dosis de calostro en el tiempo adecuado las becerras pueden tener una mejor resistencia a desarrollar los serotipos patógenos de *Escherichia coli*. En los terneros con colibacilosis enterotóxica, las primeras manifestaciones clínicas aparecen entre 1 y 2 semanas de vida.

IX. LITERATURA CITADA

- Acres, S.D., Isaacson, R.E., Babluck, I.A. y Kapitany R.A. 1979. Immunization of calves against enterotoxigenic colibacillosis by vaccinating dams with purified K99 antigen and whole – cell bacterins. *Infect. Immun.* 25: 121–126.
- Barker I.K., Van Dreumel, A.A. The alimentary system. In: Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., y Palmer, N. 1985. Pathology of domestic animals. 3rd ed. Orlando (Ca): Academic Press Inc. 1–237.
- Barrón, R.B.L., López, M.C., Bañuelos, P.G., Cuervo, H.G. González, J.Z., Maya, N.V. 1989. Rotavirus. En: Manual de prácticas del laboratorio de virología: Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 108–116.
- Bell, B.P., Goldoft, M., Griffin, P.M., Davis, M.A., Gordon, D.C. y Tarr, P.I. 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. *J. Am Med Assoc.* 272:1349–1353.
- M.Prüß, B., Besemann, Ch., Denton, A. y Wolfe, A.J. 2006. A Complex Transcription Network Controls the Early Stages of Biofilm Development by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 188(11):3731–3739.
- Blanco, M, Blanco, J.E., y Blanco, J. 1996. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other verotoxin-producing *E. coli* in healthy cattle. *Epidemiol Infect.* 117:251–257.
- Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Alonso, M.P., González, E.A. y Bernárdez, M.I. 2001. Enterobacterias: características generales. Género *Escherichia*. Capítulo 21. Manual de Microbiología Veterinaria, S. Vadillo, S. Píriz y E. Mateos. Editorial McGraw – Hill Interamericana, Madrid, España, pp.301–325.

- Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Alonso, M.P., González, E.A. y Bernárdez, M.I. 2005. *Escherichia coli* patógenos para seres humanos y animales Laboratorio de Referencia de *E. coli* (LREC), Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, Campus de Lugo.
- Bouzari, S., Jafari, A., Farhoudi-Moghaddam, A. A., Shokouhi, F. y Parsi, M. 1994. Adherence of non-enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *J. Med. Microbiol.* 40: 95–97.
- Brown, T.D., Jones-Mortimer, M.C. y Kornberg, H.L. 1977. The enzymic interconversion of acetate and acetyl-coenzyme A in *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* 102:327–336.
- Brunder, W., Schmidt, H. y Karch, H. 1997. EspP, a novel extracellular serine protease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 cleaves human coagulation factor V. *Mol. Microbiol.* 24:767–778.
- Butler, D.G., y R.C. Clarke. 1994. Diarrhoea and dysentery in calves, p. 91–116. In C. L. Gyles (ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- China, B., Pirson, V. y Mainil, J. 1996. Typing of bovine attaching and effacing *Escherichia coli* by multiplex in vitro amplification of virulence associated genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:3462–3465.
- Clarke, S.C., Haigh, R.D., Freestone, P.P. y Williams, P.H. 2003. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:365–378.
- Cobbaut, K., Berkvens, D., Houf, K., de Deken, R., y De Zutter, L. 2009. *Escherichia coli* O157 Prevalence in Different Cattle Farm Types and Identification of Potential Risk Factors. *J. Food Protec.* 72 (9): 1848–1853.

- Contrepois, M., Fairbrother, J.M., Kaura, K., y Girardeau, J.P. 1989. prevalence of cs31a and f165 surface antigens in *Escherichia coli* isolates from animals in France, Canada and India. *Fems. Microbiol. Lett.* 59: 319–323.
- Cravioto, A., Tello, A., Navarro, A., Ruiz, J., Villafan, H., Uribe, F. y Eslava, C. 1991. Association of *Escherichia coli* HEp-2 adherence patterns with type and duration of diarrhoea. *Lancet.* 337: 262–264.
- Donnenberg, M.S., Tacket, C.O., James, S.P., Losonsky, G., Nataro, J.P., Wasserman, S.S., Kaper, J.B. y Levine, M.M. 1993. Role of the *eaeA* gene in experimental enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *J. Clin. Investig.* 92:1412–1417.
- Dorn, C.R., Scotland, S.M., Smith, H.R., Willshaw, G.A., y Rowe, B. 1989. Properties of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli* of human and animal origin belonging to serotypes other than O157:H7. *Epidemiol. Inf.* 103:83–95.
- Duchet–Suchaux, M., Menanteau, P. y Van Zijderveld, F. 1992. Passive protection of suckling infant mice against F41 – positive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains by intravenous inoculation of the dams with monoclonal antibodies against F41. *Infect. Immun.* 60 (7): 2828–2834.
- Ewing, W.H. 1996. Edwards and Ewing’s identification of *Enterobacteriaceae* (4^a Ed.). Elsevier, New York, USA.
- Fairbrother, J.M., Nadeau, E. y Gyles, C.L. 2005. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: An update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 1:17–39.
- Falconi, M., Colonna, B., Prosseda, G., Micheli, G. y Gualerzi, C.O. 1998. Thermoregulation of *Shigella* and *Escherichia coli* EIEC pathogenicity. A temperature-dependent structural transition of DNA modulates accessibility of *virF* promoter to transcriptional repressor H-NS. *EMBO J.* 17:7033–7043.

- Francis, C.L., Jerse, A.E., Kaper, J.B. y Falkow, S. 1991. Characterization of interactions of enteropathogenic *Escherichia coli* O127:H6 with mammalian cells in vitro. *J. Infect. Dis.* 164:693–703.
- Francis, D.H., Grange, P.A., Zeman, D.H., Baker, D.R., Sun, R. y Erickson, A.K. 1998. Expression of mucin type glycoprotein K88 receptors strongly correlates with piglets susceptibility to K88 + enterotoxigenic *Escherichia coli*, but adhesion of this bacterium to brush borders does not. *Infect. Immun.* 66:4050 – 4055.
- Frankel, G., Candy, D.C., Everest, P. y Dougan, G. 1994. Characterization of the C-terminal domains of intimin-like proteins of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, and *Hafnia alvei*. *Infect Immun.* 62:1835–1842.
- Fuller, R. 1989. A review: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365–378.
- Galfi, P., Neogrady, S., Semjen, G., Bardocz, S. y Pusztai, A. 1998. Attachment of different *Escherichia coli* strains to cultured rumen epithelial cells. *Vet. Microbiol.* 61:191–197.
- Goosney, D.L., Gruenheid, S y Finlay, B.B. 2000. Gut feelings: enteropathogenic *E. coli* (EPEC) interactions with the host. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16:173–189.
- Grauke, L.J., Kudva, I.T., Yoon, J.W., Hunt, C.W., Williams, C.J. y Hovde, C.J. 2002. Gastrointestinal tract location of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants. *Appl Environ Microbiol.* 68:2269–2277.
- Griffin, P.M., y Tauxe, R.V. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.* 13:60–98.
- Gyles C.L. 1994. *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, UK

- Hancock, D.D., Besser, T.E., Rice, D.H., Ebel, E.D., Herriott, D.E., y Carpenter, L.V. 1998. Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the northwestern USA. *Prev Vet Med*; 35:11–19.
- Harel, J., Lapointe, H., Fallara, A., Lortie, L.A., Bigras-Poulin, M., Lariviere, S., y Fairbrother, J.M. 1991. Detection of genes for fimbrial antigens and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 29:745-752.
- Harmon, B.G., Brown, C.A., Tkalcic, S., Mueller, P.O.E., Parks, A., Jain, A.V., Zhao, T. y Doyle, M.P. 1999. Fecal shedding and rumen growth of *Escherichia coli* O157:H7 in fasted calves. *J. Food Prot.* 62:574–579.
- Herold, S., Siebert, J., Huber, A. y Schmidt, H. 2005. Global expression of prophage genes in *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933 in response to norfloxacin. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 49:931–944.
- Hicks, S., Candy, D.C. y Phillips, A.D. 1996. Adhesion of enteroaggregative *Escherichia coli* to pediatric intestinal mucosa in vitro. *Infect. Immun.* 64:4751–4760.
- Holland, R.E. 1990. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin. Microbiol. Rev.* 3:345–375.
- Huck, G.L., Kreikemeir, K.K. y Ducharme, G.A. 2000. Effects of feeding two microbial additives in sequence on growth performance and carcass characteristics of finishing beef steers. Online. Available: <http://www.oznet.ksu.edu/library/lvstk2/spr850.pdf>. Accessed January 10, 2003.
- Jenkins, C, Perry, N.T., Cheasty, T, Shaw, D.J., Frankel, G., Dougan, G., Gunn, G.J., Smith, H.R., Paton, A.W., Paton, J.C. 2003. Distribution of the *saa* gene in strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of human and bovine origins. *J Clin Microbiol.* 41:1775–1778.

- Jestin, D., Madec, F. 1986. Les diarrhées blanches du porcelet sous la mere. 2. Mise en évidence et signification de la présence du rotavirus chez le porcelet au moment du sevrage. *Rec. Méd. Vét.* 162:1195–1201.
- Johnson, J.R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 4:80–128.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. y Mobley, H.L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123–140.
- Kiesling, H.E., Lofgreen, G.P. y Thomas, J.D. 1982. A viable lactobacillus culture for feedlot cattle. *Proc. Western Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 33:53–56.
- Kmet, V., Flint, H.J. y Wallace, R.J. 1993. Probiotics and manipulation of rumen development and function. *Arch. Anim. Nutr.* 44:1–10.
- Krehbiel, C.R., Berry, B.A., Reeves, J.M., Gill, D.R., Smith, R.A., Step, D.L., Choat, W.T., y Ball, R.L. 2001. Effects of feed additives fed to sale barn-origin calves during the receiving period: Animal performance, health and medical costs. Available: <http://www.ansi.okstate.edu/research/2001rr/27/27.htm>. Accessed February 5, 2003.
- Krehbiel, C.R., Rust, S.R., Zhang, G. y Gilliland, S.E. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E120–E132.
- Lema, M., Williams, L. y Rao, D.R. (2001). Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in lambs by feeding microbial feed supplement. *Small. Ruminant Res.* 39, 31–39.
- Leverton, L.Q., y Kaper, J.B. 2005. Temporal expression of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence genes in an in vitro model of infection. *Infect. Immun.* 73:1034–1043.

- Lima, A.A., Fang, G., Schorling, J.B., De Albuquerque, L., McAuliffe, J.F., Mota, S., Leite, R. y Guerrant, R.L. 1992. Persistent diarrhea in northeast Brazil: etiologies and interactions with malnutrition. *Acta Paediatr. Suppl.* 381:39–44.
- Logan, E., Mcbeath, D., y Lowman, B. 1974. Quantitative studies on serum immunoglobulin levels in suckled calves from birth to five weeks. *Vet. Rec.* 94: 367–370.
- Mainil, J.G., Duchesnes, C.J., Whipp, S.C., Marques, T.D., O'Brien, A.D., Casey, T.A., Moon, H.W. 1987. Shiga like toxin production and attaching effacing activity of *Escherichia coli* associated with calf diarrhea. *Am. J. Vet. Res.* 48:743–748.
- McDaniel, T.K., y Kaper, J.B. 1997. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K-12. *Mol. Microbiol.* 23:399–407.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M. y Tauxe, R.V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5:607–25.
- Medina, C.M., Quiroz, R.G., Unamuno, H.L. 1996. Etiología y diagnóstico diferencial de las diarreas en el becerro. Memorias del curso internacional teórico-práctico de actualización en el diagnóstico de las enfermedades más frecuentes en bovinos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México D.F. 56–60.
- Moon, H.W., Schneider, R.A. y Mosley, S.C. 1986. Comparative prevalence of four enterotoxin genes among *Escherichia coli* isolated from swine. *Am. J. Vet. Res.* 47:210–212.
- Moon, H.W., Whipp, S.C., Argenzio, R.A., Levine, M.M. y Giannella, R.A. 1983. Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. *Infect. Immun.* 41:1340–1351.
- Nataro, J.P. y Kaper, J.B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:142–201.

- Nataro, J.P., Steiner, T. y Guerrant, R.L. (1998). Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis.* 4:251–261.
- O'Brien, A.D., LaVeck, G.D., Thompson, M.R. y Formal, S.B. 1982. Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 146:763–769.
- Control Diseases Center. 2001. Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infections among children associated with farm visits – Pennsylvania and Washington, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 50(15):293–297.
- Porter, M.E., Mitchell, P., Free, A., Smith, D.G. y Gally, D.L. 2005. The *LEE1* promoters from both enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* can be activated by PerC-like proteins from either organism. *J. Bacteriol.* 187:458–472.
- Presterl, E., Nadrchal, R., Wolf, D., Rotter, M. y Hirschl, A.M. 1999. Enteroaggregative and enterotoxigenic *Escherichia coli* among isolates from patients with diarrhea in Austria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18:209–212.
- Rahn, K, Wilson, J.B., McFadden, K.A., Read, S.C., Ellis, A.G., Renwick, S.A., Clarcke, R.C. y Johnson, R.P. 1996 Comparison of Vero cell assay and PCR as indicators of the presence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in bovine and human fecal samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:4314–4317.
- Reece, S., Simmons, C.P., Fitzhenry, R.J. Matthews, S., Phillips, A.D., Dougan, G. y Frankel, G. 2001. Site-directed mutagenesis of intimin alpha modulates intimin-mediated tissue tropism and host specificity. *Mol. Microbiol.* 40:86–98.
- Reinstein, R, Fox, J.T., Shi, X., Alam, M.J., Renter, D.G. y Nagaraja, T.G. 2009. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in organically and naturally raised beef cattle. *Applied Environ. Microbiol.* 75(16):5421–5423.

- Roldgaard, B.B., Scheutz, F., Boel, J., Aabo, S., Schultz, A.C., Cheasty, T., Nielsen, E.M., Olsen, K.E y Christensen, B.B. 2004. VTEC O157 subtypes associated with the most severe clinical symptoms in humans constitute a minor part of VTEC O157 isolates from Danish cattle. *Int. J. Med. Microbiol.* 294:255–259.
- Rothbaum, R., McAdams, A.J., Gianella, R.y Partin, J.C. 1982. A clinicopathologic study of enterocyte-adherent *Escherichia coli*: a cause of protracted diarrhea in infants. *Gastroenterology.* 83:441–454.
- Runnels, P.L., Moon, H.W., Mathews, P.J. 1986. Effects of microbial and host variables on the interaction of rotavirus and *Escherichia coli* infections in gnotobiotic calves. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 1542-1550.
- Shere, J.A., Bartlett, K.J. y Kasper, C.W. 1998. Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1390–1399.
- Sherman, D.M., Acres, S.D., Sadowski, P.L., Springer, J.A., Bray, B., Raybould, T.J.D., Muscoplat, C.C. 1983. Protection of calves, against fatal enteric colibacillosis by orally administered *Escherichia coli* K99 – specific monoclonal antibody. *Infect. Immun.* 42:653–658.
- Sircili, M.P., Walters, M., Trabulsi, L.R., y Sperandio, V. 2004. Modulation of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence by quorum sensing. *Infect. Immun.* 72:2329–2337.
- Smith, H.W. y Huggins, M.B. (1983). Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs. *J. Gen. Microbiol.* 129:2659–2675.
- Taniguchi, K., Urasawa, S. 1995. Diversity in rotavirus genomes. *Sem. Virol.* 6:123–131.
- Walter, P.H., Weiss, N. y Holzapfel, W. 1992. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. Chapter 70 in Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: Ecophysiology,

isolation, identification, applications. 2nd ed. Albert Balows, ed. Springer-Verlag, New York.

Wallace, J.R., Falconer, M.L. y Bhargava, P.K. 1989. Toxicity of volatile fatty acids at rumenpH prevents enrichment of *Escherichia coli* by sorbitol in rumen contents. *Curr. Microbiol.* 19:277–281.

Wanke, C.A., Schorling, J.B., Barrett, L.J., Desouza, M.A. y Guerrant, R.L. 1991. Potential role of adherence traits of *Escherichia coli* in persistent diarrhea in an urban Brazilian slum. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 10:746–751.

Warshawsky, B., Gutmanis, I., Henry, B., Dow, J., Reffle, J., Pollet, G., Ahmed, R., Aldom, J., Alves, D., Chagla, A., Ciebin, B., Kolbe, F., Jamieson, F. y Rodgers, F. 2002 An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 related to animal contact at a petting zoo. *Can. J. Infect. Dis.* 13:175–181.

Wohlgemuth K. 1977. Diarrhea in calves, diagnosis and incidence in the North Central States. Proceedings of the 81st Annual Meeting of the Animal Health Association; 1977 August; Washington (DC). Washington (DC): The Animal Health Association. 131–140.