

PREVALENCIA DE *Escherichia coli* Y *Salmonella spp.* EN BECERRAS HOLSTEIN CON DIARREA EN LA COMARCA LAGUNERA, MÉXICO

Prevalence of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in Diarrheic Holstein Calves from La Comarca Lagunera, Mexico

Ramón Alfredo Delgado-González¹, Vicente Homero González-Álvarez¹, Rafael Rodríguez-Martínez¹, Francisco Gerardo Véliz-Deras^{1*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna, Posgrado en Ciencias en Producción Agropecuaria, carretera a Santa Fe y Periférico, Torreón, Coahuila, México.
e-mail: velizderas@gmail.com

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue describir la prevalencia *E. coli* y *Salmonella spp.* en becerras Holstein con diarrea. Se recolectaron 90 muestras de heces de becerras entre 1 a 35 días de edad en 9 establos de la Comarca Lagunera. *E. coli* se detectó en un 15.5% de las muestras, con un 13.3% de infecciones mixtas y un 2.2% de infecciones simples, donde la mayor prevalencia se observó en la primera y segunda semanas de edad. La prevalencia de *Salmonella spp.* fue de 28.9%, un 20.0% mixtas y un 8.8% simples, con mayor número de casos en la segunda semana de edad. *E. coli* y *Salmonella spp.* deben ser consideradas en el diagnóstico diferencial del síndrome diarreico durante el primer mes de vida de las becerras en el área de estudio; además, son importantes debido al potencial zoonótico de estos enteropatógenos.

Palabras clave: *E. Coli*, *Salmonella spp.*, síndrome diarreico, becerras Holstein, Comarca Lagunera.

SUMMARY

This study describes the prevalence of *E. coli* and *Salmonella spp.* in diarrheic Holstein calves.

Fecal samples were collected from 90 calves ranging from 1 to 35 days of age at 9 dairy farms from la Comarca Lagunera. *E. coli* was detected in 15.5% of the samples, with 13.3% of mixed and 2.2% of single infections, respectively, in the first and second week of age. The prevalence for *Salmonella spp.* was 28.9%, 20.0% mixed and 8.8% for single infections, with the most of cases in the second week of age. *E. coli* and *Salmonella spp.* must be considered in the differential diagnostic of the diarrheic syndrome in calves during the first month of age; furthermore, these enteropathogens are of concern due to its zoonotic potential.

Key words: *E. coli*, *Salmonella spp.*, diarrheic syndrome, Holstein calves, Comarca Lagunera.

INTRODUCCIÓN

En la Comarca Lagunera, México, la producción de leche de vaca es una de las principales actividades económicas del sector pecuario (Reta-Sánchez *et al.*, 2015), con un rendimiento de alrededor de 10 millones de ton de leche y que representa el 20% de la producción total en el país (García-Muñiz *et al.*, 2015); sin embargo, la muerte temprana de las becerras tiene como resultado la pérdida de hembras de reemplazo y por consecuencia la reducción en la producción de leche

(Mushtaq *et al.*, 2013). El deceso de las crías puede darse por procesos tales como la diarrea neonatal de las becerras, alteración muy frecuente que se presenta durante los primeros días de vida del animal y que representa más de un cuarto del total de la mortalidad en los establos (Foster y Smith, 2009), proceso que puede presentarse como un síndrome complejo en el que participan factores infecciosos, ambientales, nutricionales e inmunológicos (Smith, 2012).

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son heces acuosas, amarillentas y ocasionalmente con estrías de sangre, deshidratación, fiebre y depresión (Blanchard, 2012). Clínicamente, la identificación del agente etiológico no es posible, lo que hace necesario realizar estudios de laboratorio; para esto, se toman muestras fecales frescas directamente del recto del animal, para evitar contaminación y posteriormente, se envíanlos especímenes al laboratorio de diagnóstico veterinario, donde generalmente son procesados mediante cultivos bacteriológicos o detección de antígenos con ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) (Cho y Yoon, 2013).

Entre los principales agentes infecciosos causantes de diarrea en becerras se reconoce a agentes bacterianos como *E. coli* (Fairbrother y Nadeau, 2006), *Salmonella spp.* (Kemal, 2014) y *Clostridium perfringens* tipo C (García *et al.*, 2013), virales tales como Calicivirus (Alkan *et al.*, 2015), Corona y Rotavirus (Meganck *et al.*, 2014), Norovirus (Otto *et al.*, 2011) y Torovirus (Lojkić *et al.*, 2015), además de los protozoarios *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* (Gillhuber *et al.*, 2014). Sin embargo, los más comunes y económicamente importantes son *E. coli* y *Salmonella spp.* (Mukhtar *et al.*, 2015); de los cuales, se tienen reportes en Alemania (Wielier *et al.*, 2007), Bangladesh (Abdullah *et al.*, 2013), Brasil (Ambrosim *et al.*, 2002), Bulgaria (Urumova *et al.*, 2015), Egipto (Youssef y El-Haig, 2012), Estados Unidos (Santos *et al.*, 2002), Holanda (Bartels *et al.*, 2010), Irán (Pourtaghi y Reza-Sodagari, 2016), Nueva Zelanda (Al Mawly *et al.*,

2015), Pakistán (Anwarullah *et al.*, 2014), Polonia (Żychlińska-Buczek *et al.*, 2015), Suecia (Torsein *et al.*, 2011) y Sudán (Abubaker *et al.*, 2015). A pesar de su importancia económica y sanitaria, la información sobre estos enteropatógenos en nuestra región es escasa; por tal motivo, el propósito de la presente investigación es describir la prevalencia de *E. coli* y *Salmonella spp.* en becerras Holstein con diarrea.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio.

De diciembre del 2007 a diciembre del 2008 se muestrearon becerras Holstein de la Comarca Lagunera en los Estados de Coahuila y Durango, México, ubicada en el subtrópico mexicano al norte del país (102°22' y 104°47' LO y 24°22' y 26°23' LN), a una altitud de 1,139 msnm. La región presenta un clima semidesértico con temperatura promedio anual de 21°C, con variaciones de 40°C (mayo-agosto) a 6°C (diciembre-enero) que se registran en el mes de junio y diciembre, respectivamente. La precipitación promedio anual es de 266 mm con un rango de 163 a 504 mm, con época de sequía de noviembre a mayo (INEGI, 2013). La producción lechera en la región es desarrollada por empresas que producen con altos costos unitarios bajo un sistema de producción intensivo que requiere grandes volúmenes para tener utilidad, utilizando ganado raza Holstein, estabulado en instalaciones especializadas con procesos mecanizados y alimentado con forrajes de corte y concentrados. En el 2014 el censo de ganado lechero en la Comarca Lagunera fue de 443,526 cabezas, de éstas alrededor de 250,000 estaban en producción, el resto en crianza y como ganado seco. La producción de leche en México para el mismo año fue de 11,129,918 (miles de litros) y en la región Lagunera fue de 2,274,475 (miles de litros) (SAGARPA, 2015).

Toma de muestras.

Se visitaron 9 hatos de Torreón y Matamoros en Coahuila y Gómez Palacio, Durango con una población de 3534 becerras; un solo hato tenía alrededor de 2100 becerras y el resto un promedio de 179 animales. Las becerras estaban alojadas en jaulas individuales, alimentadas con sustituto de leche y suplementadas con concentrado a base de avena y maíz. Se recolectaron 90 muestras de heces de becerras Holstein entre 1 a 35 días de edad, con signos clínicos de diarrea, de cada animal se obtuvieron entre 15-20 g de heces directamente del recto, utilizando guantes de vinil y se depositaron en envases de plástico estériles, se almacenaron a 4°-8°C hasta su procesamiento dentro de las siguientes 24 a 48 horas.

Análisis de muestras.

Aislamiento de *Salmonella* spp. Fueron aisladas por enriquecimiento de heces en medios selectivos. Aproximadamente 1 g de heces fueron agregadas a 9 mL de caldo tetracionato. Después de 24 horas de incubación a 37°C las muestras fueron sembradas en Agar *Salmonella-Shigella*, e incubadas por 24 horas a 37°C. Los aislamientos fueron clasificados de acuerdo a las características de la colonia y a la tinción de Gram. Las colonias lactosa negativas, fueron probadas en medios de TSI y urea, para darlas como positivas de acuerdo a lo descrito por de la Fuente *et al.* (1999).

Detección de *E. coli* F5 (K99). Para la identificación se utilizó ELISA, mediante el paquete BIO-X EASY-DIGEST (BIO K 151) (Bio-X Diagnostics) (Imre *et al.*, 2007), el cual es un paquete diagnóstico antigénico *in vitro* de heces de bovino que corresponde a la técnica de ELISA de doble sándwich. Los principios de la prueba indican que toda la placa de microtitulación está sensibilizada con

una mezcla de tres anticuerpos específicos para los patógenos referidos. Estos anticuerpos capturan estos agentes a partir de las muestras fecales. El material fecal se diluye en una solución amortiguada de dilución y se incuba en la microplaca durante media hora a 21°C +/- 3°C. Los controles positivos y negativos también se depositan sobre la placa. La placa se incuba y se lava y luego se añaden los conjugados, listos para usar en los pocillos. Después de una segunda incubación durante media hora a 21°C +/- 3°C, la placa se lava de nuevo y se añade el cromógeno tetrametilbencidina. Este cromógeno presenta la doble ventaja de ser más sensible que otros cromógenos de peroxidasa y de no ser carcinogénico. Si uno o más de los agentes patógenos que se buscan están presentes en las heces, el conjugado o conjugados correspondientes permanecen unidos a los pocillos correspondientes y la enzima cataliza la transformación del cromógeno incoloro en un producto azul. La intensidad del color resultante es proporcional a la presencia del patógeno en la muestra.

Análisis estadístico.

Los datos recolectados fueron tabulados y analizados utilizando la prueba de χ^2 para encontrar diferencia significativa ($P < 0.05$), utilizando el paquete MYSTAT 12 Versión 12.02.00 (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se investigó la prevalencia de los dos principales patógenos causantes de diarrea en becerras, *E. coli* y *Salmonella* spp. En un 15.5% de las muestras analizadas mediante la técnica de ELISA se detectó *E. coli*, con un 85.7% de infecciones mixtas y un 14.3% de infecciones simples, mientras que la prevalencia de *Salmonella* spp. fue de 28.9%, un 42.6% mixtas y un 30.8% simples (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de becerras con infección mixta y simple con *E. coli* y *Salmonella* spp.

Patógeno	Total		Infección			
			Mixta		Simple	
	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	14/90 ^a	15.5	12/14 ^a	85.7	2/14 ^a	14.3
<i>Salmonella</i> spp.	26/90 ^b	28.9	12/26 ^b	46.2	8/26 ^a	30.8

^{a,b}Distintas letras entre filas son estadísticamente diferentes (**P<0.05**).

La mayor prevalencia para *E. coli* se observó en la primera y segunda semanas de edad (42.9% en cada una), y el 14.3% en la tercera, a partir de la cual, ya no se observaron casos para este patógeno. Para *Salmonella* spp. la mayor prevalencia

también se observó durante la primera y segunda semanas de vida (30.8% y 34.6% respectivamente), observándose una declinación durante la tercera y cuarta semanas (23.1% y 11.5% respectivamente) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Edad en días de las becerras con infección con *E. coli* y *Salmonella* spp.

Edad	1-7	8-14	15-21	22-28	Total	Promedio
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
<i>E. coli</i>	6 (42.9) ^{a,x}	6 (42.9) ^{a,x}	2 (14.3) ^{b,z}	0 (0) ^{b,z}	14 ^a	9.2
<i>Salmonella</i> spp.	8 (30.8) ^{a,x}	9 (34.6) ^{a,x}	6 (23.1) ^{a,x,z}	3 (11.5) ^{b,z}	26 ^b	11.8

^{a,b}Distintas letras entre filas presentan diferencia significativa (**P<0.05**).

^{x,z}Representan diferencias estadísticas entre columnas (**P<0.05**).

Los resultados obtenidos difieren, respecto a las infecciones mixtas, de lo reportado por Younis *et al.* (2009) en Egipto, quienes observaron una prevalencia del 1.4% para las infecciones combinadas. El mayor porcentaje de becerras con infección por *Salmonella* spp. coincide también con el mayor número de infecciones mixtas para este patógeno, lo que pudiera ser explicado por la administración de antibióticos durante la presentación de un cuadro diarreico, lo cual puede empeorar el proceso debido a que el antibiótico suprime la flora normal, en este caso *E. coli*, permitiendo la sobrepoblación de *Salmonella* spp. en el intestino (Blanchard, 2012).

La ingestión de calostro proporciona protección temporal al recién nacido, debido a la transferencia pasiva de factores de inmunidad, tales como citosi-

nas, inmunoglobulinas, hormonas y leucocitos; sin embargo, al nacimiento la protección contra patógenos es deficiente (Gomes *et al.*, 2014). Debido a su pobre capacidad inmune, en el periodo cercano al nacimiento la cría es más vulnerable a las infecciones; además, otros elementos tales el consumo insuficiente de calostro, limpieza deficiente, variaciones en el clima u otras causas que desencadenen una situación de estrés, pueden mermar el sistema defensivo predisponiendo a la afección por enteropatógenos, y a su vez a las infecciones mixtas (Mukhtar *et al.*, 2015).

La mayor susceptibilidad observada para infecciones por *E. coli* y *Salmonella* spp. en las primeras dos semanas posteriores al nacimiento concuerda con lo reportado por Cho *et al.* (2013), quienes reportaron que los casos se concentraron en los

primeros 15 días de vida de las beceras, con una prevalencia del 4%, muy similar al 3.9% obtenido en el 2015 por Pourtaghi *et al.*, pero demasiado bajo comparado con el 42.9% que presentaron las beceras de esa misma edad en nuestro estudio. Este resultado sugiere que *E. coli* debe ser considerado un factor importante en la presentación de la diarrea de las beceras en el área de estudio. No obstante, existen otros estudios donde las prevalencias fueron demasiado elevadas, con un 75.6%, 78% y 100% (El-Seedy *et al.*, 2016; Sa'ayinzat *et al.*, 2015; Langoni *et al.*, 2004), respectivamente. La localización geográfica, las prácticas de manejo, las medidas de higiene, así como el consumo de agua y alimento contaminado son factores que pueden influir en las diferencias entre los porcentajes de prevalencias obtenidas en los diferentes estudios, lo que pudiera orientar a estudios posteriores para identificar el cómo estos factores pudieron influir en los resultados reportados en este estudio y por lo tanto, ser considerados elementos de riesgo para la supervivencia de las beceras en los establos de la región.

La mayoría de los casos de infección se presentaron en el grupo de 8-14 d con una prevalencia del 34.6%, contrastando con lo descrito por Langoni *et al.* (2004) quienes reportaron una prevalencia del 6.1% en animales entre las 3-6 semanas de edad; además, la prevalencia reportada en nuestro estudio es alta comparada con las obtenidas por otros investigadores: 8.8% (Ansari *et al.*, 2014), 10.1% (Zahran y El-Behiry, 2014), 18.1% (El-Seedy *et al.*, 2016), 18.6% (Anwarullah *et al.*, 2014) y 21.9% (Abdullah *et al.*, 2013). La vía predominante de transmisión de la *Salmonella* es mediante un ciclo fecal-oral, en las instalaciones de crianza donde se admiten animales susceptibles continuamente favoreciendo la transmisión, teniendo como resultado una rápida diseminación de la enfermedad (Lanzas *et al.*, 2008); además, las distintas serovariedades de *Salmonella* tienen capacidad de resistir condiciones ambientales severas como la desecación (Andino y Hanning, 2015), condiciones que son predominantes en la Región Lagunera.

CONCLUSIONES

Las prevalencias obtenidas muestran que *E. coli* y *Salmonella* spp. deben ser consideradas en el diagnóstico diferencial del síndrome diarreico durante el primer mes de vida de las beceras en el área de estudio. En los casos de diarrea en los cuales no se encontraron los patógenos de interés, no debe descartarse la acción de otros enteropatógenos. El hecho de que las crías sean portadoras y diseminadoras de estos patógenos debe ser de preocupación debido al potencial zoonótico que poseen estos enteropatógenos; además, se requiere de más investigaciones sobre los serotipos de *Salmonella* spp. presentes en la región y determinar la resistencia a antibióticos por parte de estos microorganismos.

LITERATURA CITADA

- Abdullah, M., M.R. Akter, S.M.L. Kabir, M.A.S. Khan y M.S.I.A. Aziz. 2013. Characterization of bacterial pathogens isolated from calf diarrhoea in Panchagarh district of Bangladesh. *J. Agric. Food Tech.* 3(6):8-13.
- Abubaker, A., E. Ayis, A.A. Elgaddal y Y.A. Almofti. 2015. Isolation, identification and enterotoxin detection of *Escherichia coli* isolated from calf diarrhoea and their virulence characteristics. *JAIS.* 3(4):141-149.
- Alkan, F., I. Karayel, C. Catella, L. Bodnar, G. Lannave, K. Bányai, B. Di Martino, N. Decaro, C. Buonavoglia y V. Martella. 2015. Identification of a bovine enteric calicivirus, Kirklareli virus, distantly related to neboviruses, in calves with enteritis in Turkey. *J. Clin. Microbiol.* 53:3614-3617.
- Al Mawly, J., A. Grinberg, D. Prattley, J. Moffat, J. Marshall y N. French. 2015. Risk factors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Vet. J.* 203:155-160.

- Ambrosim, J.A., F.S. Almeida, E.C. Rigobelo, A.F.P. Castro, R.P. Schocken-Iturrino, J.L. Quintana y F.A. Avila. 2002. Epidemiological, antigenic and pathogenic profile of bovine diarrhea in a Brazilian cattle population. *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.* 55(1):15-20.
- Andino, A. y I. Hanning. 2015. Salmonella enterica - Survival, colonization, and virulence differences among serovars. *Sci. World J.* 2015:1-16.
- Ansari, A.R.M.I.H., M.M. Rahman, M.Z. Islam, B.C. Das, A. Habib, S.M.S.H. Belal y K. Islam. 2014. Prevalence and antimicrobial resistance profile of Escherichia coli and Salmonellai solated from diarrheic calves. *J. Anim. Health Prod.* 2(1):12-15.
- Anwarullah, M., J.A. Khan, M.S. Khan, K. Ashraf y M. Avais. 2014. Prevalence of Salmonella and Escherichia coli associated with diarrhea in buffalo and cow calves. *Buffalo Bull.* 33(3):332-336.
- Bartels, C.J.M., M. Holzhauer, R. Jorritsma, W.A.J.M. Swart y T.J.G.M. Lam. 2010. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 93:162-169.
- Blanchard, P.C. 2012. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. Food Anim.* 28:443-464.
- Cho, Y., K.-J. Yoon, J.-I. Han, C. Wang, V. Cooper, K. Schwartz y T. Engelken. 2013. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Vet. Microbiol.* 166:375-385.
- Cho, Y. y K.-J. Yoon. 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.* 15(1):1-17.
- De la Fuente, R., M. Luzón, J.A. Ruiz-Santa-Quiteria, A. Garcia, D. Cid, J.A. Orden, S. Garcia, R. Sanz y M. Gómez-Bautista. 1999. Cryptosporidium and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet. Parasitol.* 80:179-185.
- El-Seedy, F.R., A.H. Abed, H.A. Yanni y S.A.A. Abd El-Rahman. 2016. Prevalence of Salmonella and E. coli in neonatal diarrheic calves. *Beni-Seuf Univ. J. Appl. Sci.* 5(1):45-51.
- Fairbrother, J.M y É. Nadeau. 2006. Escherichia coli: on-farm contamination of animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 25(2):555-569.
- Foster, D.M. y G.W. Smith. 2009. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin Food Anim.* 25:13-36.
- Garcia, J.P., M. Anderson, P. Blanchard, A. Mete y F.A. Uzal. 2013. The pathology of enterotoxemia by Clostridium perfringens type C in calves. *J. Vet. Diag. Inv.* 25(3):438-442.
- García-Muñiz, J.G., C.D. Herrera-Monsalvo, A. Lara-Bueno, R. López-Ordaz, J. Jaimes-Jaimes y R. Ramírez-Valverde. 2015. Effects of drinking water desalination on several traits of dairy cows in a mexican semiarid environment. *Life Sci. J.* 12(2s):87-93.
- Gillhuber, J., D. Rügamer, K. Pfistery y M.C. Scheuerle. 2014. Giardiasis and other enteropathogenic infections: a study on diarrhoeic calves in Southern Germany. *BMC Res. Notes.* 7(112).
- Gomes, V.C. Costa-Baccili, V.A. Passos-Baldacim, K. Medici-Madureira, A.G. Alves-Guilloux, C. Rodriguez-Pozzi y C.O.M. Salles-Gomes. 2014. Development of the innate immune response and influence of colostrum suckling in calves. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 9(2):77-83.

- Imre, K., Gh. Dărăbus, M. Ilie y M. Palca. 2007. Epidemiological study using ELISA on the parasitism with *Cryptosporidium* spp. in association with other enteropathogens, at calves. *Bulletin USAMV-CN*. 64(1-2):454-458.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2013. El sector alimentario en México. Serie estadísticas sectoriales.
- Kemal, J. 2014. A review on the public health importance of bovine salmonellosis. *J. Veterinar. Sci. Technol.* 5(2):1-10.
- Langoni, H., A.C. Linhares, F.A. de Avila, A.V. da Silva y A.O. Elias. 2004. Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim.* 41(5):313-319.
- Lanzas, C., L. D. Warnick, R. Ivanek, P. Ayscue, D.V. Nydamy y Y.T. Gröhn. 2008. The risk and control of *Salmonella* outbreaks in calf-raising operations: a mathematical modeling approach. *Vet. Res.* 39(6).
- Lojkić, I., N. Crešić, I. Šimić y T. Bedeković. 2015. Detection and molecular characterization of bovine corona and toroviruses from Croatian cattle. *Vet. Res.* 11(202).
- Meganck, V., G. Hoflack y G. Opsomer. 2014. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Vet. Scand.* 56(75):1-8.
- Muktar, Y., G. Mamo, B. Tesfaye, y D. Belina. 2015. A review on major bacterial causes of calf diarrhoea and its diagnostic method. *J. Vet. Med. Anim. Health.* 7(5):173-185.
- Mushtaq, H.M., M.N. Saleem, M.R. Ayyub y I. Khat-tak. 2013. Challenges due to early calf mortality in dairy industry of Pakistan and strategies for improvement. *Veterinaria.* 1:13-17.
- Otto, P.H., I.N. Clarke, P.R. Lambden, O. Salim, J. Reetz, y E.M. Liebler-Tenorio. 2011. Infection of calves with Bovine Norovirus GIII. 1 Strain Jena Virus: an experimental model to study the pathogenesis of norovirus infection. *J. Virol.* 85(22):12013-12021.
- Pourtaghi, H., S. Ghaznavi, H. Reza-Sodagari y A. Ghadimianazar. 2015. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from claves' diarrhoea samples by molecular and serological methods. *Adv. Stud. Biol.* 7(6):293-300.
- Pourtaghi, H. y H. Reza-Sodagari. 2016. Antimicrobial resistance of enterotoxigenic and non-enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves in Iran. *Int. J. Enteric. Pathog.* In Press.
- Reta-Sánchez, D.G., U. Figueroa-Viramontes, J.S. Serrato-Corona, H.M. Quiroga-Garza, A. Gaytán-Mascorro y J.A. Cueto-Wong. 2015. Potencial forrajero y productividad del agua en patrones de cultivos alternativos. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 6(2):153-170.
- Sa' Ayinzat, F.E., S.J. Shaibu y L.B. Tekdek. 2015. The earliest occurrence of *Escherichia coli* in calves in Zaria, Nigeria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4(6):218-223.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2015. Boletín de Leche Enero-Marzo de 2015. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Santos, R.L., S. Zhang, R.M. Tsois, A.J. Bäumlery L.G. Adams. 2002. Morphologic and molecular characterization of *Salmonella typhimurium* infection in neonatal calves. *Vet. Pathol.* 39(2):200-215.
- Smith, D.V. 2012. Field disease diagnostic investigation of neonatal calf diarrhoea. *Vet. Clin. Food Anim.* 28:465-481.

- Torsein, M., A. Lindberg, C. Hallén-Sandgren, K. Persson-Waller, M. Törnquist y C. Svensson. 2011. Risk factors for calf mortality in large Swedish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 99:133-147.
- Urumova, V., M. Lyutzkanov y V. Petrov. 2015. Investigations on prevalence and antimicrobial resistance of enterohaemorrhagic *Escherichiacoli* (EHEC) among dairy farms in the north part of the Republic of Bulgaria. *Mac. Vet. Rev.* 38(1):21-29.
- Wieler, L.H., G. Sobjinski, T. Schlapp, K. Failing, R. Weiss, C. Menge y G. Baljer. 2007. Longitudinal prevalence study of diarrheagenic *Escherichiacoli* in dairy calves. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 120(7-8):296-306.
- Younis, E.E, A.M. Ahmed, S.A. El-Khodery, S.A. Osman y Y.F.I. El-Naker. 2009. Molecular screening and risk factors of enterotoxigenic *Escherichiacoli* and *Salmonella* spp. in diarrheic neonatal calves in Egypt. *Vet. Res. Sci.* 87(3):373-379.
- Youssef, A.I. y M.M. El-Haig. 2012. Herd problems and occupational zoonoses of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis infection in diarrheic cattle and buffalo calves in Egypt. *HVM Bioflux.* 4(3):118-123.
- Zahran, R. y A. El-Behiry. 2014. Prevalence, molecular identification and virulence attributes of *Salmonella* serovars isolated from feces of diarrheic cow and buffalo-calves. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(11):9-27.
- Żychlińska-Buczek, J., E. Bauer, J. Kania-Gierdziewicz, y A. Wrońska. 2015. The main causes of calf mortality in dairy farms in Poland. *J. Agric. Sci. Technol. A.* 5:363-369.