



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS ZOOTÉCNICAS Y
SALUD ANIMAL**

TESIS

PREVALENCIA DE PATOTIPOS DE *Escherichia coli* PRESENTES EN CARNE MOLIDA DE RES, DE VENTA AL POR MENOR EN EL VALLE DEL MEZQUITAL

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Zootécnicas y Salud Animal

PRESENTA

Biol. Ana Paola Cordero López

Directora

Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez

Codirector (a)

Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez

Comité tutorial

Dr. Vicente Vega Sánchez
Dra. Jeannette Barba León
Dr. José Ignacio Olave Leyva

Ciudad Universitaria Tulancingo, febrero de 2026



Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

El Comité Tutorial de la TESIS del programa educativo de posgrado titulado “**Prevalencia de patotipos de *Escherichia coli* presentes en carne molida de res, de venta al por menor en el Valle del Mezquital**”, realizado por la (el) sustentante, **Ana Paola Cordero López** con número de cuenta **231135** perteneciente al programa de **Maestría en Ciencias Zootécnicas y Salud Animal**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el artículo 110 del reglamento de estudios de posgrado, tiene bien a extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

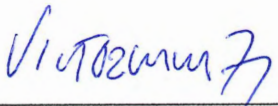
Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, a 06 de febrero de 2026


El Comité Tutorial



Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez
 Director



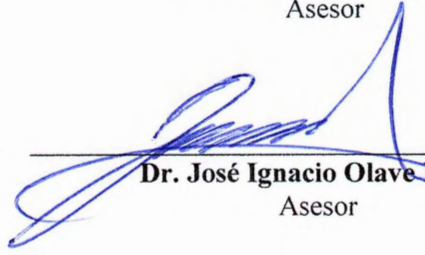
Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez
 Codirector



Dr. Vicente Vega Sánchez
 Asesor



Dra. Jeannette Barba León
 Asesor



Dr. José Ignacio Olave Leyva
 Asesor

Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda
 Aquetzalpa, Tulancingo de Bravo, Hidalgo
 México; C.P. 43600
 Teléfono: 771 71 72000 ext 2440
 meczysa@uaeh.edu.mx



AGRADECIMIENTOS

Inicialmente externo mi agradecimiento a mis directores de tesis, la dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez y el dr. Víctor Manuel Martínez Juárez, por aceptar ser mis mentores y guías en este proceso, por la confianza que depositaron en mí, por su apoyo constante en todo lo implicado en este proyecto, pero, sobre todo por su exigencia y el constante desafío intelectual al que fui expuesta, que sacaron lo mejor de mí en esta faceta.

Al igual, agradezco a mis asesores, el dr. Vicente Vega Sánchez, la dra. Jeannette Baraba León y el dr. Ignacio Olave Leyva, que secundaron este proyecto, por regalarme su tiempo a través de asesorías, revisiones, consejos y mejoras que fueron fundamentales para la culminación exitosa de esta investigación, y por supuesto, contribuyeron significativamente en mi crecimiento académico y profesional.

Al dr. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez, por ser un actor fundamental en la realización de esta investigación. Por su participación y apoyo en la logística de la toma de muestras, al igual, por sus consejos y asesoramiento para el análisis y expresión de los resultados.

También agradezco al laboratorio de patogenicidad microbiana de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. En especial al dr. Armando Navarro Ocaña, por admitirme en su laboratorio y brindar la facilidad para la realización de la técnica de serotipificación. También, a la biol. Delia Licona Moreno, al TL Gabriel Pérez Soto, al TL Luis Antonio León Alamilla y a la laboratorista Yolanda Martínez, por su apoyo y consejos brindados que facilitaron culminar con esta faceta en tiempo y forma, también agradezco su compañía, sus charlas y risas que hicieron mucho más amena mi estancia en su laboratorio.

A cada compañero de laboratorio, con el cual tuve la dicha de coincidir, a Emmanuel, Valeria, Tinoco, Paulina, Erick y Paola, por su apoyo en el laboratorio y en cada seminario, por hacer un poco más ligeras aquellas largas jornadas de trabajo.

Finalmente, agradezco al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) ahora Secretaría de Ciencias, Humanidades Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca número 4021415, otorgada durante el curso de este posgrado.

DEDICATORIA

Para la mejor madre que me pudo haber tocado, Vianey López Oliver. Por seguir siendo un ejemplo de superación y resiliencia, por enseñarme a trabajar por mis sueños y hacerme una persona independiente, que indirectamente me obligó a ser disciplinada y a siempre sacar mi mejor versión en cualquier lugar. Pero, sobre todo, por abrigarme con su cariño hasta este momento, por consentirme más que cuando era niña, por apoyarme en esta travesía, aunque no entienda muy bien de que va. Para usted mi querida madre, esperando que cada día se sienta un poco más orgullosa de su hija.

A mis hermanos, Yuridia Vianey, Jhorman José, Josue Ismael y Emmanuel Isaac, por contribuir en mi formación desde otras vertientes, por incentivar de manera directa o indirecta a ser mejor persona, mejor hija y por supuesto una mejor hermana.

Al amor de mis días, Johan, por ser el ejemplo de un excelente profesional y sobre todo de un gran ser humano, por motivarme cada día a superarme, por creer en mí, por los debates, los consejos, las felicitaciones y también los regaños, que siempre son en pro de mejorar, pero, por encima de todo, por elegirme cada día y compartir la vida conmigo.

RESUMEN

Escherichia coli es una enterobacteria que forma parte de la microbiota intestinal de mamíferos; sin embargo, también existen diferentes patotipos asociados a enfermedades diarreicas, e infecciones extraintestinales causadas por DEC y ExPEC. Además, estos patotipos se relacionan con la contaminación de carne de origen bovino. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue caracterizar a *E. coli* patógena presente en carne molida de res en el Valle del Mezquital, Hidalgo, utilizando diversas técnicas microbiológicas convencionales, inmunológicas y moleculares. Se recolectaron un total de 87 muestras de carne molida de res y se realizó el conteo de CFU de *E. coli*. De estas, 71 muestras (81.60%) presentaron conteos superiores al límite máximo permisible establecido por la NOM-194-SSA1-2004. Se observó que la presencia de objetos ajenos a la carnicería, el uso de equipos no aptos, tuberías expuestas, infestaciones de plagas y la manipulación de carne por parte de personal con signos clínicos incrementaron significativamente el riesgo de contaminación por *E. coli*, obteniéndose un OR superior a 2.5. También, se obtuvieron 231 aislados de *E. coli* identificadas bioquímicamente, teniendo una prevalencia de *E. coli* del 88.50% en la carne molida de res analizada. Asimismo, se identificaron 153 serotipos dentro de los 231 aislados de *E. coli*, los cuales, se han reportado en los patotipos: 40.52% (62/153) en EHEC, 8.49% (13/153) en EPEC, 6.54% (10/153) en ETEC, 4.57% (7/153) en EAEC, 1.31% (2/153) en EIEC, 1.31% (2/153) en UPEC, y el 2.61% (4/153) en cepas híbridas. En cuanto a la resistencia evaluada, el mayor porcentaje de resistencia fue a los compuestos β -lactámicos con el 74.03% (171/231) de aislados resistentes, seguido de los fenicoles (52.81% 122/231) y sulfonamidas potencializadas (47.19% 109/231). Se identificaron 103 perfiles de resistencia; el 48.05% (111/231) de los aislados presentaron MDR, el 50.22% (116/231) XDR y el 0.43% (1/231) PDR. Adicionalmente, se encontró que el 54.11% (125/231) de los aislados presentaron el gen *floR*, y el 33.33% (77/231) presentaron el gen *bla*_{TEM-1}, ambos confieren resistencia antimicrobiana. En cuanto a los genes de virulencia

característicos de EHEC, el gen predominante fue *stx2* (32.22% 58/180) seguido del gen *hlyA* (8.33% 15/180) y *eaeA* (5.00% 9/180). Los datos obtenidos posicionan a la carne como un reservorio importante de *E. coli* patógena, principalmente de EHEC, además, los aislados de *E. coli* presentaron multirresistencia, representado una potencial amenaza en salud pública. Adicionalmente, las malas prácticas higiénico-sanitarias detectadas en las carnicerías incrementaron el *OR* correspondiente a la contaminación de la carne con *E. coli*, evidenciando la necesidad de fortalecer el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura y los sistemas de regulación y la vigilancia sanitaria en la cadena comercial de cárnicos, esto para garantizar la obtención de alimentos inocuos y minimizar la transmisión de este tipo de agentes etiológicos al consumidor.

ABSTRACT

Escherichia coli is an enterobacteria that is part of the intestinal microbiota of mammals; However, there are also different pathotypes associated with diarrheal diseases, and extraintestinal infections caused by DEC and ExPEC. Furthermore, these pathotypes are related to contamination of beef. In this context, the objective of this study was to characterize pathogenic *E. coli* present in ground beef in the Valle del Mezquital, Hidalgo, using several conventional microbiological, immunological and molecular techniques. A total of 87 ground beef samples were collected and CFU of *E. coli* were counted. Of these, 71 samples (81.60%) presented counts higher than the maximum permissible limit established by NOM-194-SSA1-2004. It was observed that the presence of objects unrelated to the butcher shop, the use of unsuitable equipment, exposed pipes, pest infestations and the handling of meat by personnel with clinical signs significantly increased the risk of contamination by *E. coli*, obtaining an OR greater than 2.5. 231 *E. coli* isolates were also obtained and biochemically identified. *E. coli* prevalence was 88.50% in the ground beef analyzed. Likewise, 153 serotypes were identified within the 231 *E. coli* isolates, which have been reported in the pathotypes: 40.52% (62/153) in EHEC, 8.49% (13/153) in EPEC, 6.54% (10/153) in ETEC, 4.57% (7/153) in EAEC, 1.31% (2/153) in EIEC, 1.31% (2/153) in UPEC, and 2.61% (4/153) in hybrid strains. Regarding the resistance evaluated, the highest percentage of resistance was to β -lactam compounds with 74.03% (171/231) of resistant isolates, followed by phenicols (52.81% 122/231) and potentiated sulfonamides (47.19% 109/231). 103 resistance profiles were identified; 48.05% (111/231) of the isolates presented MDR, 50.22% (116/231) XDR and 0.43% (1/231) PDR. Additionally, it was found that 54.11% (125/231) of the isolates presented the *floR* gene, and 33.33% (77/231) presented the *bla*_{TEM-1} gene, both confer antimicrobial resistance. Regarding the virulence genes characteristic of EHEC, the predominant gene was *stx2* (32.22% 58/180) followed by the *hlyA* gene (8.33% 15/180) and *eaeA* (5.00% 9/180). The data obtained position meat as an important

reservoir of pathogenic *E. coli*, mainly of EHEC, and *E. coli* isolates presented multidrug-resistance, representing a potential public health threat. Additionally, the poor hygienic-sanitary practices detected in butcher shops increased the *OR* corresponding to the contamination of meat with *E. coli*, evidencing the need to strengthen compliance with good manufacturing practices and the regulation systems and health surveillance in the meat commercial chain, this to guarantee the obtaining of safe food and minimize the transmission of this type of etiological agents to the consumer.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIA	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	8
ÍNDICE	10
ÍNDICE DE FIGURAS	13
ÍNDICE DE TABLAS	16
ABREVIATURAS	17
INTRODUCCIÓN	20
MARCO TEÓRICO	22
Panorama de la producción de la carne de res	22
Composición nutrimental y proximal de la carne de res	23
Enfermedades Transmitidas por los Alimentos	24
Contaminación de la carne.....	25
<i>Escherichia coli</i>	26
<i>E. coli</i> enteropatógena	27
<i>E. coli</i> enterohemorrágica	30
<i>E. coli</i> enterotoxigénica	32
<i>E. coli</i> enteroinvasiva.....	34
<i>E. coli</i> enteroagregativa.....	36
<i>E. coli</i> de adherencia difusa.....	38
Resistencia antimicrobiana	40
JUSTIFICACIÓN	42
HIPÓTESIS	44

OBJETIVOS.....	45
Objetivo general.....	45
Objetivos específicos	45
MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
Área de muestreo	47
Tamaño de muestra.....	48
Método de muestreo	49
Toma de muestra.....	51
Recuento de células viables en placa	52
Análisis de datos para el recuento de células viables	52
Evaluación sanitaria.....	53
Análisis de la evaluación sanitaria por cálculo de <i>Odds Ratio</i>	53
Aislamiento de colonias de <i>E. coli</i>	54
Identificación bioquímica de <i>E. coli</i>	54
Prueba de catalasa	55
Prueba de indol	55
Pruebas rojo de metilo y Vogues-Prokauer.....	55
Prueba de citrato.....	56
Prueba en agar hierro triple azúcar.....	56
Prueba de ornitina descarboxilasa	56
Perfil bioquímico de <i>E. coli</i>	57
Análisis de datos de la identificación bioquímica de <i>E. coli</i>	57
Serotipificación de <i>E. coli</i>	57
Obtención del antígeno somático “O”	58
Obtención del antígeno flagelar “H”	58
Ensayos de serotipado por aglutinación	59
Asignación de patotipo para los serotipos determinados.....	60
Cálculo de índices ecológicos	60
Resistencia antimicrobiana	61

Análisis de datos de la resistencia de <i>E. coli</i>	62
Extracción de DNA	63
Lectura de concentración y pureza del material genético	64
Genes de resistencia antimicrobiana	64
Visualización de los productos amplificados de los genes de resistencia	66
Análisis de datos del perfil genotípico de resistencia	67
Factores de virulencia	67
Visualización de los productos amplificados de los genes de virulencia.....	68
Análisis de datos de la presencia de genes de virulencia	68
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
Conteos de unidades formadoras de colonias de coliformes totales	69
Conteo de Unidades Formadoras de Colonias de <i>E. coli</i>	71
Evaluación sanitaria de los puntos de venta	75
Prevalencia de <i>E. coli</i> en la carne molida	83
Identificación serológica	85
Perfil de resistencia antimicrobiana	97
Genes de resistencia antimicrobiana	105
Factores de virulencia	116
CONCLUSIONES	122
REFERENCIAS	124
ANEXO 1. Lista de verificación sanitaria de las prácticas de higiene en establecimientos de venta de carne roja, en el Valle del Mezquital y las palabras clave utilizadas para los ítems de la lista de verificación sanitaria.	172
ANEXO 2. Perfil bioquímico de los aislados de <i>E. coli</i>	175

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del Estado de Hidalgo, México, se resalta la región del Valle del Mezquital, región en la que se ubican los 4 municipios seleccionados para el análisis de <i>E. coli</i> en la carne molida de res, comercializada al por menor. Elaboración propia.....	48
Figura 2. Rutas generadas con Google Maps, para realizar la visita de prospección a los puntos de venta del área de estudio. Elaboración propia.	51
Figura 3. Conteos de CFU de coliformes totales en las muestras de carne molida. A) muestras del municipio A; B) muestras del municipio B; C) muestras del municipio C; D) muestras del municipio D. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$).	70
Figura 4. Conteos de CFU de <i>E. coli</i> en las muestras de carne molida. A) muestras del municipio A; B) muestras del municipio B; C) muestras del municipio C; D) muestras del municipio D. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$).	73
Figura 5. Recuento de <i>E. coli</i> en las muestras de carne molida del Valle del Mezquital, las barras expresan la media \pm desviación estándar por municipio analizado. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$). Los superíndices indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$).	75
Figura 6. Valores del <i>Odds Ratio</i> para la presentación de <i>E. coli</i> en los puntos de venta analizados, se observan como factores de exposición los ítems del listado de verificación de buenas prácticas para establecimientos de venta de carnes rojas. Se incluyen las categorías asociadas al mantenimiento de instalaciones, equipos y utensilios.	77
Figura 7. Valores del <i>Odds Ratio</i> para la presentación de <i>E. coli</i> en los puntos de venta analizados, se observan como factores de exposición los ítems del listado de verificación de buenas prácticas para establecimientos de venta de carnes rojas. Se incluyen las categorías asociadas a la manufactura y al personal.	78
Figura 8. A) Siembra de los aislados lactosa + de <i>E. coli</i> en agar MacConkey. B) Reacción de catalasa +. C) Prueba indol + en agar SIM y motilidad +. D) Prueba indol + en agar SIM y motilidad -. E) Prueba rojo de metilo + en agar MR-VP. F) Prueba Voges-Proskauer - en agar MR-VP. G) Prueba citrato - en agar citrato de Simmons. H) Prueba ornitina descarboxilasa + en agar MIO y motilidad -. I) Reacción A/ALK en agar TSI. J) Reacción A/AG en agar TSI.....	84

Figura 9. Porcentajes de los serotipos reportados dentro de los patotipos de <i>E. coli</i> , de las muestras de carne molida comercializadas en el Valle del Mezquital. EHEC: <i>E. coli</i> enterohemorrágica. EPEC: <i>E. coli</i> enteropatógena. ETEC: <i>E. coli</i> enterotoxigénica. EAEC: <i>E. coli</i> enteroagregativa. EIEC: <i>E. coli</i> enteroinvasiva. UPEC: <i>E. coli</i> uropatógena.	94
Figura 10. Porcentajes del origen de las muestras donde se han identificado los serotipos de <i>E. coli</i> , con base en la literatura.	96
Figura 11. Porcentajes de aislados de <i>E. coli</i> con resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad por familia de antibióticos.	98
Figura 12. Porcentajes de aislados de <i>E. coli</i> con resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad por antibiótico evaluado. AM: ampicilina, CB: carbenicilina, CF: cefalotina, CFX: cefotaxima, AK: amikacina, GE: gentamicina, NET: netilmicina, CPF: ciprofloxacino, NOF: norfloxacino, CL: cloranfenicol, NF: nitrofurantoína, SXT: sulfametoxazol/trimetoprim.	100
Figura 13. Perfiles de resistencia de los aislados de <i>E. coli</i> en carne de res. Se observa el número de perfil, la frecuencia de cada perfil, la clasificación de multiresistencia del perfil y el cálculo de MARI. AM: ampicilina, CB: carbenicilina, CF: cefalotina, CFX: cefotaxima, AK: amikacina, GE: gentamicina, NET: netilmicina, CPF: ciprofloxacino, NOF: norfloxacino, CL: cloranfenicol, NF: nitrofurantoína, SXT: sulfametoxazol/trimetoprim. MDR: multiresistencia. XDR: resistencia extendida. PDR: panresistencia.	103
Figura 14. Porcentajes de los aislados de <i>E. coli</i> con resistencia a al menos un antibiótico evaluado de cada familia de antibiótico por municipio muestreado. R: resistente. S: sensible.	105
Figura 15. Revelado de la electroforesis en gel de agarosa al 2.00%. M: marcador de peso molecular. Pozos 1 – 5 controles positivos de los 7 genes de resistencia evaluados en los aislados de <i>E. coli</i>	106
Figura 16. Porcentajes de aislados de <i>E. coli</i> que amplificaron para cada uno de los 7 genes de resistencia evaluados. Los genes <i>gyrA</i> y <i>aac(6')Ie-aph(2'')-Ia</i> no amplificaron en ninguno de los 231 aislados evaluados.	107
Figura 17. Porcentaje de aislados de <i>E. coli</i> de cada municipio evaluado que amplificaron para los genes de resistencia antimicrobiana.	108
Figura 18. Asociación entre la resistencia fenotípica y la resistencia genotípica evaluada en los 231 aislados de <i>E. coli</i> . En la resistencia fenotípica el signo - indica sensibilidad a todos	

los antibióticos evaluados de la familia, el signo + indica resistencia a al menos un compuesto de cada familia evaluada. En la resistencia genotípica el signo - indica la ausencia del gen(s) de resistencia, el signo + indica la presencia del gen(s) de resistencia. El ancho y largo de los rectángulos exhiben la proporción de aislados que presentaron cada variable de resistencia o sensibilidad respecto a la presencia o ausencia de los genes de resistencia. 110

Figura 19. Revelado de la electroforesis en gel de agarosa al 2.00%. M: marcador de peso molecular. +: control positivo. -: control negativo. Pozos 1 – 6 aislados de *E. coli* que amplificaron para uno o más genes de virulencia. 116

Figura 20. Porcentajes de aislados de *E. coli* que amplificaron para cada uno de los 4 genes de virulencia evaluados. El gen *stx1* no amplificó en ninguno de los 180 aislados. 117

Figura 21. Relación expresada en proporción entre el municipio de origen de los aislados de *E. coli*. La clasificación asignada dentro del patotipo de EHEC o híbridos, RSP: reportada sin patotipo y SR: sin reporte, con base en la revisión de los serotipos. También se observan los genes de virulencia, +: positivo, -: negativo. 119

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución proporcional del tamaño de muestra, para los municipios incluidos en el estudio.....	50
Tabla 2. Frecuencia del cumplimiento para los ítems de la evaluación sanitaria aplicada en los puntos de venta, en los que, las frecuencias no permitieron la estimación de <i>OR</i>	82
Tabla 3. Prevalencia de <i>E. coli</i> por municipio, determinaciones correspondientes a carne molida de res comercializada en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo, México.	85
Tabla 4. Identificación y frecuencia de los 153 serotipos de los aislados de <i>E. coli</i> obtenidos de las muestras de carne molida de res. Se determinó el patotipo al que pertenece el serotipo con base en reportes previos.	86
Tabla 5. Índices ecológicos determinados sobre la diversidad de serotipos <i>E. coli</i> identificados en la carne de res.	97
Tabla 6. Serotipos de <i>E. coli</i> sin reporte, reportados sin patotipo específico y EHEC que amplificaron para 1 o 2 genes de virulencia.	121

ABREVIATURAS

AA	Adherencia agregativa
AFP	Pili formadores de agregados
AM	Ampicilina
AME	Enzimas modificadoras de aminoglucósidos
AK	Amikacina
ATP	Adenosín trifosfato
BFP	Pili formador de haces tipo IV
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico
CAT	Enzimas acetiltransferasas de cloranfenicol
CB	Carbenicilina
CEACAM	Molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario humano
CF	Cefalotina
CFA	Antígenos de los factores de colonización
CFs	Factores de colonización
CFTR	Canal regulador transmembrana de la fibrosis quística
CFX	Cefotaxima
cGMP	Guanosín monofosfato cíclico
CFU	Unidades Formadoras de Colonias
CFU gr ⁻¹	Unidades Formadoras de Colonias por gramo
CL	Cloranfenicol
CLSI	Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
CPF	Ciprofloxacino
CS	Antígenos de superficie de coli
DAEC	<i>E. coli</i> de adherencia difusa
DAF	Factor acelerador de la descomposición del complemento
DEC	<i>E. coli</i> diarreogénica
DENUE	Estadístico Nacional de Unidades Económicas
dNTPs	Desoxirribonucleótidos
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EAST-1	Enterotoxina enteroagregativa termoestable de <i>E. coli</i> 1

EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatógena
ESDR	Enfermedad Renal en Etapa Final
ETA's	Enfermedades Transmitidas por los Alimentos
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigénica
ExPEC	<i>E. coli</i> extraintestinales
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FERG	Grupo de Referencia Epidemiológica Transmitidas por Alimentos
Gb3	Globotriaosilceramida
GE	Gentamicina
GTA	Agentes de transferencia de genes
GTP	Guanosín trifosfato
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
LEE	Locus de borramiento de enterocitos
Lesiones A/E	Lesiones de adhesión y borramiento
LMP	Límite Máximo Permisible
LT	Enterotoxinas termolábiles
MAP	Proteína quinasa activada por mitógenos
MARI	Índice de resistencia múltiple a antibióticos
MDR	Multirresistencia
MIO	Motilidad, indol, ornitina
MR-VP	Rojo de metilo y Voges-Proskauer
MUC2	Mucina 2
Nck	Tirosina quinasa no catalítica
NET	Netilmicina
NF	Nitrofurantoína
NHE3	Intercambiador de sodio-protones 3
NOF	Norfloxacino
N-WASP	Proteína neural del síndrome de Wiskott-Aldrich
OMS	Organización Mundial de la Salud
OMV	Vesículas de membrana externa
OR	<i>Odds Ratio</i>
pAA	Plásmido de adherencia agregativa

PCF	Factor de colonización putativo
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PDR	Panresistencia
pEAF	Plásmido del factor de adherencia de EPEC
Pet	Toxina codificada en plásmidos
Pic	Proteasa involucrada en la colonización intestinal
PKA	Enzima quinasa A
PKGII	Enzima quinasa G II
PMN	Neutrófilos polimorfonucleares
Qnr	Proteínas de resistencia a las quinolonas
RAM	Resistencia antimicrobiana
RNA	Ácido ribonucleico
SIM	Sulfuro, indol, motilidad
SPATE	Proteína autotrasportadora de serina proteasa de la familia <i>Enterobacteriaceae</i>
ST	Enterotoxinas termoestables
STEC	<i>E. coli</i> productora de la toxina Shiga
STX	Sulfametoxazol/trimetoprim
SUH	Síndrome urémico hemolítico
Tir	Receptor de intimina translocado
TSA	Agar soya tripticaseína
TSI	Hierro Triple Azúcar
T1SS	Sistema de secreción tipo I
T2SS	Sistema de secreción tipo II
T3SS	Sistema de secreción tipo III
T6SS	Sistema de secreción tipo VI
XDR	Resistencia extendida

INTRODUCCIÓN

La carne es un alimento relevante en la alimentación del ser humano, hablar de su producción de manera inocua, es de relevancia ya que, juega un papel importante en la seguridad alimentaria al ser la principal fuente de proteína, aunado al hecho de ser un eslabón económico (Amaya & Salas, 2021; Díaz, 2014; Gutiérrez-Torres et al., 2023; Mejías et al., 2021). En 2023 la producción mundial de carne de res fue poco más de 69 millones de toneladas, mientras que, en México la producción fue de 2.21 millones de toneladas, representó un valor en producción de aproximadamente 171 millones de pesos (DGSIAP, 2026; FAO, 2025). Este tipo de proteína es la tercera más consumida en la dieta mexicana, para el 2024 se registró un consumo nacional de 2.2 millones de toneladas (COMECARNE, 2025); además aporta diferentes macro y micronutrientes aprovechados por el humano, sin embargo, estas características también la colocan como un medio enriquecido para la proliferación de diversos microorganismos (Ayala, 2018; Carrillo et al., 2007; Heredia et al., 2014; Pereira & Vicente, 2013). Algunos de esos microorganismos son patógenos para el humano, lo que representa riesgos sanitarios asociados al consumo de la carne, la cual, es un alimento altamente susceptible de albergarlos y permite su supervivencia al conferirles los nutrientes necesarios para su multiplicación (Pellissery et al., 2020; Shao et al., 2021). La contaminación de la carne con los diversos patógenos se puede dar durante cualquier etapa del procesamiento primario y manipulación (Palomino-Camargo et al., 2018), dicha contaminación, compromete la inocuidad de la carne, ya que se, pierde la garantía de que ésta no cause daño al ser ingerida (Halagarda & Wójciak, 2022). Por otro lado, la carne molida de res ha sido considerada como el vehículo alimentario más frecuente asociado a brotes epidémicos, debido a que ha reportado mayor susceptibilidad a la contaminación biológica, que otras matrices alimentarias (Di Pillo & Sotomayor, 2018). Entre las principales bacterias patógenas reportadas que alberga la carne destacan *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*

(Abuelnaga et al., 2021; Hassanzadeh et al., 2022; Soto-Varela et al., 2016). Cepas de *E. coli* catalogadas como patógenas están comúnmente asociadas a la ocurrencia de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA's), ocasionando infecciones diarreicas principalmente. Anualmente se le atribuyen 111 millones de enfermedades y 63,000 muertes a *E. coli* diarreogénica con base en las estimaciones del informe sobre la carga mundial de enfermedades transmitidas por los alimentos, (FAO/WHO, 2018; Jesser & Levy, 2020; Patil et al., 2023). Otro gran problema asociada a la presencia de *E. coli*, es el surgimiento de la resistencia antimicrobiana (RAM), esta resistencia se fundamenta en diversos mecanismos que han adquirido las bacterias para evitar la acción de los antibióticos, dichos mecanismos se agrupan en: cambio en la permeabilidad de la membrana, disminución de la concentración del fármaco, modificación del sitio diana, y modificación del propio antibiótico (Abushaheen et al., 2020; Ahmed et al., 2024). El surgimiento de este tipo de bacterias es considerado por la OMS como uno de los principales problemas de salud pública del siglo XXI, pues se estima que para el 2050, será la principal causa de muertes a nivel mundial (Dadgostar, 2019; WHO, 2015). México cuenta con reportes de la presencia *E. coli* diarreogénica, en productos cárnicos (Anduro-Jordan et al., 2022; Gómez-Aldapa et al., 2013; Martínez-Vázquez et al., 2018; Narváez-Bravo et al., 2015), por lo que, es importante detectar la presencia de los patotipos de *E. coli* en productos como la carne molida destinada al consumo humano, debido a que, es un reservorio de este agente etiológico que compromete la inocuidad de la misma y puede originar enfermedades diarreicas, sin olvidar la resistencia a antibióticos que presentan las cepas, que comprometen el tratamiento clínico en caso del surgimiento de un brote epidémico. Razón por la que, el objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *E. coli* en carne molida, que es comercializada en la región del Valle del Mezquital, además de realizar la identificación y serotipificación de las cepas aisladas, para coadyuvar en la evaluación de riesgos en salud pública asociados a la contaminación biológica de productos cárnicos.

MARCO TEÓRICO

Panorama de la producción de la carne de res

La producción ganadera es una actividad fundamental en los sistemas agroalimentarios, contribuye a la seguridad alimentaria y a la nutrición de diversas poblaciones, pues aporta el 37% de suministro mundial de proteínas (Arciniegas-Torres & Flórez-Delgado, 2018; Greenwood, 2021; Mejías et al., 2021). Dentro de esta actividad, la producción del ganado bovino aporta el 40% del valor de la producción ganadera, y aporta aspectos en la seguridad alimentaria de casi 1,300 millones de personas (Hidalgo-Cumbicos et al., 2020). Para el 2023 la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés “Food and Agriculture Organization of the United Nations”) reportó una producción mundial de carne de 370.135 millones de toneladas, de las cuales aproximadamente el 19.00% (69.462 millones de toneladas) fueron de res, siendo Estados Unidos, Brasil y China los principales países en la producción de carne de res (FAO, 2025). Para México la producción cárnica también es importante, en el año 2024 se reportó una producción de 8.278 millones de toneladas, de las cuales 2.254 millones de toneladas fueron de res, aportando poco más del 27.00% de la producción nacional pecuaria, posicionando al país como el 6.º en producción a nivel mundial, además, esta actividad aportó un valor en producción de 182.733 millones de pesos. Los principales estados en la producción de este tipo de carne son Veracruz, Jalisco, San Luis Potosí, Durango, Chiapas, Sinaloa, Baja California, Michoacán, Chihuahua y Tabasco (COMECARNE, 2025; DGSIAF, 2026). Hidalgo, también es un estado en el que la producción pecuaria es eslabón de la economía, en el mismo año se reportó una producción de carne de poco más de 151.00 mil toneladas, aportando un valor en producción de 8.240 millones de pesos, de estas cifras, 33.262 mil toneladas fueron de carne de res, con un valor en la producción de 2.541 millones de pesos, lo que permite identificar la importancia de esta

actividad económica (DGSIA, 2026). De manera puntal, la región del Valle del Mezquital aportó cerca del 21.00% de la producción de carne del Estado, de Hidalgo con una producción de 31.465 mil toneladas y un valor en producción de 1.890 millones de pesos.

Composición nutrimental y proximal de la carne de res

La carne de res es un alimento frecuente en la dieta del ser humano, para el 2024 se reportó una ingesta a nivel mundial de 59.5 millones de toneladas, en México la ingesta fue de 2.2 millones de toneladas, dejando un consumo per cápita de 17.0 Kg, situándola en el 3.º lugar de ingesta, precedida por carne de pollo y cerdo (COMECARNE, 2025). Este alimento también es importante por su aporte nutrimental, pues brinda los 9 aminoácidos catalogados como esenciales para la síntesis de proteínas (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), ácidos grasos monoinsaturados (oleico) y poliinsaturados (omega 3 y omega 6), minerales (hierro, zinc, selenio y fósforo) y vitaminas (complejo B, A y D) (Cabrera & Saadoun, 2014; Davis et al., 2022; Pighin et al., 2016; Wyness, 2015). La carne cuenta en su composición proximal con 75% de agua, 19% de proteínas, 2.5% de grasa intramuscular, 1.2% de carbohidratos, 1.5% de compuestos nitrogenados no proteicos y un pH de 5.7 (valor en que una amplia diversidad bacteriana presenta crecimiento), estas características químicas posicionan a la carne como un excelente alimento, que desafortunadamente, también funge como un sustrato con los nutrientes necesarios para la proliferación de diferentes microorganismos, incluyendo bacterias patógenas, que propician la contaminación y degradación de este producto primario (León et al., 2017; Rani et al., 2023; Soepranionondo et al., 2019; Stellato et al., 2016).

Enfermedades Transmitidas por los Alimentos

Las ETA's, son aquellas enfermedades provocadas por el consumo de alimentos y/o agua contaminados con elementos bióticos y abióticos, presentes en cantidades que afectan la salud del consumidor (Fernández et al., 2021; Sharif et al., 2018). Existen tres tipos de contaminación que pueden presentarse en los alimentos incluyendo a la carne: contaminación física (e.g. fragmentos de vidrio, metal y madera), química (e.g. compuestos inorgánicos tóxicos, antimicrobianos, aditivos alimentarios, toxinas, metales pesados y pesticidas) y biológica (e.g. bacterias, parásitos, hongos, virus y priones), esta última es la más relevante (Abdolshahi & Shokrollahi, 2020). La contaminación biológica de los alimentos se puede dar por tres vías, la contaminación primaria (o de origen), la secundaria y la cruzada. La primera refiere a la contaminación que se da durante la producción primaria, los alimentos pueden albergar por sí mismos microorganismos patógenos, toxigénicos y saprófitos; la contaminación secundaria se da durante la manipulación y preparación de los alimentos, en este escenario, quien contamina es la persona que tiene contacto con los alimentos; finalmente, la contaminación cruzada refiere a la contaminación de un alimento inocuo al estar en contacto con otros alimentos, utensilios o superficies contaminadas (FAO/OPS, 2017; Radilla et al., 2019). Entre las principales causas de ETA's se incluyen deficiencias en el manejo y almacenamiento insalubre de los alimentos preparados, el consumo de alimentos crudos o mal cocidos, incluyendo productos pecuarios como carne, huevo, mariscos y leche sin pasteurizar, así como productos agrícolas como frutas y hortalizas crudas (CDC, 2025). Actualmente, se conocen más de 250 enfermedades que se transmiten por alimentos contaminados, los microorganismos asociados colonizan el tracto gastrointestinal y provocan síntomas que incluye náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre, además en infecciones sin atención médica, se pueden presentar complicaciones como sepsis, meningitis, abortos, síndrome de Reiter (enfermedad sistémica, con desarrollo de artritis séptica) síndrome de Guillan Barré (trastorno autoinmune que ataca al

sistema nervioso), insuficiencia renal y hepática, trastornos cerebrales y neurológicos, artritis reactiva e incluso la muerte (Fernández et al., 2021; Soto-Varela et al., 2016). La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta una carga mundial de ETA's que es equiparable con las principales enfermedades infecciosas: VIH/sida, paludismo y tuberculosis (Zúñiga & Caro, 2017), se estima que 600 millones de personas enferman por alguna ETA's a nivel mundial, de esta cifra 420,000 individuos fallecen, de los cuales 125,000 son niños menores de 5 años (FERG, 2015; Fernández et al., 2021; Lee & Yoon, 2021; OMS, 2015).

Contaminación de la carne

La NOM-194-SSA1-2004 define a la carne como “la estructura muscular estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos; proveniente de los animales para abasto, que no ha sido sometida a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas; se incluyen las refrigeradas o congeladas” (DOF, 2004). La carne es considerada como el vehículo principal para la diseminación de patógenos transmitidos por alimentos, la contaminación de la carne con estos microorganismos se puede dar durante cualquier etapa del procesamiento primario, en actividades de riesgo asociado como el faenado, transporte al matadero, sacrificio del animal, evisceración, distribución y comercialización en centros minoristas (Diyantoro & Wardhana, 2019; Niyonzima et al., 2015). La carne puede contaminarse con microorganismos presentes en la cadena de procesamiento, al tener contacto con diversos reservorios como agua, aire, suelo, operarios y equipos implementados (Stellato et al., 2016). Además, el mercado actual oferta una amplia diversidad de productos, que evidencian una diversificación del procesamiento para su obtención (Rojas-Juárez et al., 2022), por lo que, algunas presentaciones del procesamiento primario pueden representar mayor riesgo de contaminación (Shaltout, 2024). En este tenor, la carne molida se

ha reportado como el vehículo más frecuente asociado a brotes epidémicos, su susceptibilidad a la contaminación deriva del proceso de molienda, donde las fascias protectoras del músculo se destruyen y las fibras musculares se fragmentan liberando su contenido, situaciones que permiten a las bacterias penetrar el tejido muscular; además, el equipo implementado en este proceso es de difícil saneamiento, lo que representa riesgos de contaminación cruzada en la carne (Cardona-López et al., 2020; Galué & Cáceres, 2018; Torso et al., 2015). Dentro de las principales bacterias patógenas, asociadas a la carne se encuentran *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *E. coli*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *L. monocytogenes* (CCMPH, 2005; Mocanu & Constantin, 2024; Soto-Varela et al., 2016).

Escherichia coli

E. coli es una bacteria que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*, y forma parte del microbioma (1% de la microbiota) de mamíferos, incluidos los seres humanos y rumiantes, donde usualmente es comensal e inofensiva (Juan et al., 2016). Su morfología corresponde a una forma de bacilo Gram negativo que mide entre 1.1-1.5 µm de ancho y 2-6 µm de largo, con la presencia de pilis peritricos y un flagelo polar (Gomes et al., 2016; Rípodas-Navarro et al., 2017). Está catalogada como un microorganismo anaerobio facultativo, lo que indica que cuenta con metabolismo respiratorio y fermentativo (Blount, 2015). Los procesos evolutivos han propiciado la diversificación de la especie incluyendo el surgimiento de cepas patógenas, como las *E. coli* diarreogénicas (DEC por sus siglas en inglés “diarrheagenic *E. coli*”) causales de diversas enfermedades gastrointestinales y las *E. coli* extraintestinales (ExPEC por sus siglas en inglés “extraintestinal pathogenic *E. coli*”) que ejercen su patogenicidad fuera del tracto gastrointestinal (Chien et al., 2016). *E. coli* comensal se distingue de la patógena por no presentar rasgos asociados a la virulencia, de manera general *E. coli* cuenta con un genoma de entre 4000 y 5000 genes, pero solamente 3000 son compartidos entre las diferentes cepas de

E. coli (Poirel et al., 2018). Dentro de las DEC se han descrito seis patotipos, clasificados con base en la enfermedad que provocan y factores de virulencia característicos para cada grupo patógeno (Salleh et al., 2022; Tapia-Pastrana et al., 2024). Estos patotipos incluyen a *E. coli* enteropatógena (EPEC por sus siglas en inglés “Enteropathogenic *E. coli*”) que presentan el gen *eaeA*; *E. coli* enterohemorrágica (EHEC por sus siglas en inglés “Enterohemorrhagic *E. coli*”) con los genes *stx1* y *stx2*; *E. coli* enterotoxigénica (ETEC por sus siglas en inglés “Enterotoxigenic *E. coli*”) caracterizada por los genes *elt* y *est*; *E. coli* enteroinvasiva (EIEC por sus siglas en inglés “Enteroinvasive *E. coli*”) con presencia del gen *ipaH*; *E. coli* enteroagregativa (EAEC por sus siglas en inglés “Enteroaggregative *E. coli*”) con el gen *aggR*; y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC por sus siglas en inglés “Diffusely adhering *E. coli*”) con los genes *afa* o *dr*, y (Aditya et al., 2023; Tavares et al., 2024; Jesser & Levy, 2020; Miranda-Valdés et al., 2023; Salleh et al., 2022; Tapia-Pastrana et al., 2024).

***E. coli* enteropatógena**

El patotipo de EPEC está implicado principalmente en diarreas en infantes menores de 5 años en países en vías de desarrollo (Jesser & Levy, 2020; Kaur & Dudeja, 2023). La signología característica de este patotipo son las lesiones de adhesión/borramiento (A/E por sus siglas en inglés “attaching and effacing”), que requieren de cinco etapas para efectuarse, las cuales son: (1) adherencia de EPEC a los enterocitos, (2) formación de microcolonias, (3) translocación de señales moleculares entre EPEC y la célula hospedera, (4) adhesión a través de la intimina, y (5) formación de pedestales (Govindarajan et al., 2020; Lee et al., 2022). La patogenicidad de EPEC radica en factores de virulencia localizados en el plásmido del factor de adherencia de EPEC (pEAF por sus siglas en inglés “plasmid EPEC Adherence Factor”) y la isla de patogenicidad LEE (por sus siglas en inglés “Locus of Enterocyte Effacement”) (Pakbin et al., 2021). En pEAF se ubica el gen *bfp* que codifica para el pili formador de haces tipo IV (BFP por sus siglas en inglés “bundle-forming pilus”), por otro lado, la isla de patogenicidad LEE se

subdivide en 5 operones policistrónicos (LEE1-LEE5) que albergan 41 genes, 2 operones bicistrónicos (*espG-rorf1* y *grlA-grlR*) y 4 genes independientes (*etgA*, *cesF*, *map* y *escD*) (Romão et al., 2024). LEE1, LEE2 y LEE3 albergan genes que codifican para proteínas que conforma el sistema de secreción tipo III (T3SS por sus siglas en inglés “Type 3 secretion system”), LEE4 contiene genes encargados de la expresión de proteínas secretoras (EspA, EspB y EspD) que en conjunto, conforman un sistema de translocación EspABD, en este operón también se ubican genes que codifican para proteínas efectoras como EspF, EspG, EspH, EspZ y Map, finalmente, LEE5 contiene especialmente dos genes de gran relevancia *tir* que codifica para el receptor de intimina translocado (Tir por sus siglas en inglés “translocated intimin receptor”) y el gen *eaeA* que codifica para la intimina (Lee et al., 2022; Pearson et al., 2016). La patogenicidad comienza con el reconocimiento de EPEC al nicho de la célula huésped, la unión inicial de EPEC al enterocito se logra a través del flagelo y el BFP, este último también tiene la función de auto-agregación bacteriana dando como resultado la formación de microcolonias que se adhieren a la célula hospedera, este patrón de adherencia se conoce como adherencia localizada (LA por sus siglas en inglés “localized adherence”) (Mare et al., 2021; Pakbin et al., 2021). Posteriormente el T3SS inyecta al citosol de los enterocitos las proteínas efectoras (EspF, EspG, EspH, EspZ y Map) que exacerbaban daño celular llegando incluso a la muerte celular lítica, estas proteínas tienen diferentes roles que incluyen la irrupción de la barrera epitelial, antifagocitosis, disfunción del potencial de membrana mitocondrial, provocan exocitosis lisosomal, alteración de los microtúbulos del citoesqueleto, formación de filopodios, interrupción de las uniones celulares, formación de conductos y poros que incrementan la permeabilidad de la membrana permitiendo el ingreso al interior del enterocito de patógenos y provocando un desequilibrio en el transporte de iones y agua (Roxas et al., 2022; Shtuhin-Rahav et al., 2023). Por otro lado, T3SS también inyecta el receptor Tir, indispensable para que se logre la adherencia de EPEC a la membrana celular del enterocito mediante la intimina, una vez que se logró esta adhesión íntima, Tir es fosforilado por

enzimas quinasas propias del enterocito en tirosina 474, que es capaz de unirse a las proteínas adaptadoras de la célula huésped Nck1 y Nck2 (por sus siglas en inglés “Non-catalytic tyrosine kinase”), esta unión recluta a N-WASP (por sus siglas en inglés “neural Wiskott-Aldrich-syndrome protein”) que a su vez, activa el complejo Arp2/3 regulador en la polimerización de los filamentos de actina del citoesqueleto por debajo de la unión de EPEC a la membrana celular, dando como resultado la formación de los pedestales (Farfán-García et al., 2016; Pakbin et al., 2021; Velle & Campellone, 2018). Por otro lado, los serotipos O (antígeno somático) característicos de este patotipo son: O26, O39, O55, O86, O88, O103, O111, O114, O119, O125ac, O126, O127, O128ab, O142, O145, O157 y O158, en cuanto a los serotipos H (antígeno flagelar) se incluyen: H2, H6, H7, H8, H9, H12, H21, H27, H25 y H34 (Haassan et al., 2021; Hu & Torres, 2015; Kaur & Dudeja, 2023). EPEC es un agente etiológico de gran relevancia, se estima que es responsable de entre el 30 y 40% de los casos de diarrea infantil, con una elevada tasa de mortalidad, en especial en bebés de 0-11 meses (Kaur & Dudeja, 2023), también puede ocasionar diarreas en adultos, con una dosis infectiva de 10^8 células bacterianas (Yang et al., 2017). De los brotes ocasionados por consumo de agua y alimentos registrados en Corea del Sur durante los años de 2009 y 2010 se registraron 26 brotes provocados por EPEC, afectaron a 11,302 personas y una tasa de incidencia de 15.90% (Lee et al., 2012). En Oregón se registró el primer brote por EPEC en el 2021, este brote sucedió en una guardería infantil, con la particularidad de que hubo coinfección de EPEC con otras enterobacterias y norovirus (Bonner et al., 2022). En 2022 ocurrió un brote por O45:H15 en Kinki, Japón, el brote fue ocasionado por el consumo de una ensalada de tofu con espinacas que afectó a 934 personas, (Saito et al., 2025).

***E. coli* enterohemorrágica**

El patotipo de EHEC, también es conocido como *E. coli* productora de la toxina Shiga (STEC por sus siglas en inglés “Shiga toxin-producing *E. coli*”), es responsable de enfermedades como diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico (SUH). Además, tiene como característica principal la producción de toxinas Shiga (Stx1 y Stx2), parecidas a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* tipo 1, codificadas por los genes *stx1* y *stx2* respectivamente, estos genes tienen origen vírico, se ubican en un profago tipo λ en el cromosoma bacteriano (Blount, 2015; Di Pillo & Sotomayor, 2018). A su vez, se han reportado distintos subtipos de estas toxinas, por un lado, Stx1 se subdivide en 4 tipos (Stx1a, Stx1c, Stx1d y Stx1e), mientras que Stx2 se subdivide en 15 tipos (Stx2a-o), su diferencia radica principalmente en la inmunorreactividad y la secuencia de nucleótidos, aunque presentan la misma actividad enzimática. (Melton-Celsa, 2014; Wang et al., 2024). De entre todos los subtipos de Stx, se asocian principalmente a enfermedad más grave en los seres humanos, los subtipos Stx2a y Stx2b que se encuentran ligados al desarrollo de SUH y Stx1a provoca síntomas similares a la disentería (Jenkins et al., 2025). Estas toxinas atacan los vasos sanguíneos pequeños, inducen a la apoptosis de células intestinales y renales, se une a los receptores Gb3 (globotriaosilceramida), abundantes en el riñón, son endocitadas y dentro de la célula tienen acción de una N-glicosidasa, que escinde el residuo de adenina A4324, ubicado en el bucle-sarcina/ricina del ribosoma 28S RNA, lo que desencadena estrés ribotóxico y la respuesta de proteína mal plegada, que a su vez, conducen a la apoptosis y producción de citoquinas (Chan & Ng, 2016; Melton-Celsa, 2014; Paletta et al., 2020). Este patotipo comparte con EPEC el gen *eaeA*, la patogenicidad es igual a la antes descrita, la intimina es una adhesina que ayuda a la adherencia de la bacteria en los enterocitos, y es capaz de producir las lesiones A/E provocando la eliminación de las microvellosidades del intestino, la unión inicial a las células epiteliales se da a través de pili tipo IV y 2 tipos de fimbrias, la fimbria polar

larga y la fimbria de unión a la lámina (Amin et al., 2022; Govindarajan et al., 2020; Leibiger et al., 2019; Vélez et al., 2023). También se ha reportado los genes de virulencia *hlyA* y *saa* en cepas de EHEC, el gen *hlyA* codifica para la toxina α -hemolisina, capaz de lisar los eritrocitos con la finalidad de obtener el hierro para ayudar al metabolismo de *E. coli* (Akomoneh et al., 2020; Hua et al., 2021); el gen *saa* también codifica para una adhesina, usualmente está presente en ausencia del gen *eaeA* (Cortimiglia et al., 2021). Las EHEC incluyen más de 100 serotipos, clasificadas por su serotipo O y serotipo H, el más importante es el O157:H7, el resto de serotipos se denominan no-O157 e incluyen a O23, O26, O45, O91, O103, O104, O111, O113, O117, O118, O121, O128 y O145 (FAO/WHO, 2011; Rípodas-Navarro et al., 2017). En un reporte del Grupo de Referencia Epidemiológica Transmitidas por Alimentos (FERG por sus siglas en inglés “Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group”) estimó 2.5 millones de nuevos casos por STEC en todo el mundo, provocando 3,330 casos de SUH, 200 de ESDR (Enfermedad Renal en Etapa Final) y 269 muertes (FAO/WHO, 2018). Alrededor del mundo se han presentado brotes epidémicos provocados por algún serotipo de EHEC, ya que, su dosis infectiva es muy baja, basta con 10-100 células para que puedan colonizar el intestino (Bowser et al., 2024) el primer reporte para *E. coli* O157:H7 como patógeno fue en 1982 en Michigan y Oregón en Estados Unidos tras el consumo de hamburguesas mal cocidas, se reportaron 47 personas infectadas y 2 casos de colitis hemorrágica (Mead & Griffin, 1998); en 1996 se reportó un brote grave por O157 en Japón, se reportaron 12,680 pacientes con síntomas, 121 desarrollaron SUH y 3 murieron (Kim et al., 2020); en 2008 se presentó un brote por O157 en Canadá, con 235 personas infectadas (Hovdey et al., 2022); en Alemania en 2011 hubo un brote por O104:H4, se notificaron 3,816 casos, 845 desarrollaron SUH y fallecieron 54 personas; este mismo serotipo se reportó el mismo año en dos brotes más, uno en Francia (24 casos, 7 desarrollaron SUH) y el otro en Estados Unidos (6 casos, 4 desarrollaron SUH y 1 defunción) (Yang et al., 2017); Kanayama y colaboradores (2015) realizaron un estudio de brotes de EHEC en guarderías de Japón durante el periodo de 2010-2013, reportaron un total

de 15,887 casos, provocados principalmente por O26, O157, O111, O103, O121 y O145; en 2017, también en Japón se reportó un brote por O157:H7 tras el consumo de brochetas, hubo 29 casos, entre los cuales 4 desarrollaron SUH (Sato et al., 2022).

***E. coli* enterotoxigénica**

El patotipo de ETEC es considerado la principal causa de la diarrea del viajero, enfermedad característica de visitantes de países desarrollados a países en vías de desarrollo, también se asocia a diarreas acuosas en niños de países con ingresos bajos, la dosis infectiva de este patógeno es de 10^{8-10} de células (Jesser & Levy, 2020). Se estima que anualmente ETEC es responsable de 220 millones de casos de diarrea incluidos 75 millones de episodios en niños menores de 5 años, provocando 51,186 defunciones y de esta cifra, 18,700 son menores de 5 años (Khalil et al., 2021; Khalil et al., 2018). Sin embargo, reportes previos indican que ETEC también afecta a animales de producción, siendo la causa principal de diarrea neonatal profusa en lechones, terneros, ovejas y perros (Dubreuil et al., 2016). La patogenicidad de este grupo presenta 2 fases, la primera es la unión y colonización de los enterocitos y la segunda es la producción de enterotoxinas termolábiles (LT) y termoestables (ST), los genes implicados en la patogenicidad se ubican tanto en plásmidos como en profagos en el cromosoma (Pakbin et al., 2021). La patogénesis de ETEC al igual que otros patotipos, inicia con el reconocimiento del medio y posteriormente la unión a la membrana de las células epiteliales intestinales mediante distintos factores de colonización (CFs por sus siglas en inglés “colonization factors”), se trata de apéndices proteicos filamentosos con morfología fimbrial, afimbrial, fibrilar o helicoidal (Y. Zhang et al., 2022). A su vez, los CFs se clasifican en antígenos de superficie de coli (CS por sus siglas en inglés “coli surface”), antígenos de los factores de colonización (CFA por sus siglas en inglés “colonization factor antigens”) y factor de colonización putativo (PCF por sus siglas en inglés “putative colonization factor”) (Yang et al., 2017). Los CFs se unen a receptores de las células epiteliales del intestino delgado que incluyen glucoesfingolípidos (como la

sulfatida) y glicoproteínas (como la fibronectina) (Govindarajan et al., 2020). Adicional a los CFs, existen otras proteínas que favorecen la adhesión de ETEC a los enterocitos como EatA, proteína autotrasportadora de serina proteasa de la familia *Enterobacteriaceae* (SPATE por sus siglas en inglés “serine protease autotransporter of the *Enterobacteriaceae*”) encargada de escindir la mucina 2 (MUC2) para eliminar la capa protectora epitelial de mucina y permitir el paso de ETEC (Fleckenstein & Sheikh, 2021). También la adhesina extracelular EtpA que se expresa en el flagelo de ETEC y funciona como un puente molecular entre el extremo flagelar con el aminoazúcar N-acetilgalactosamina (GalNAc) que se encuentra en la mucosa intestinal (Fleckenstein & Kuhlmann, 2019). Además de las adhesinas Tia, que se unen al heparán sulfato y TibA que también se ve implicada en la agregación celular y formación de biopelículas (Desvaux et al., 2020). Una vez dada la colonización de ETEC a las células epiteliales, se producen las enterotoxinas LT y/o ST, se trata de proteínas de tipo AB, donde la subunidad A es la que presenta actividad patógena y la subunidad B es la que se une a los receptores de las células hospederas (Pakbin et al., 2021). Por un lado, ST es secretada por el sistema de secreción tipo I (T1SS) y se subdivide en STI y STII codificadas por los genes *sta* y *estB* respectivamente, se unen al receptor guanilato ciclasa C (GC-C), que cataliza la formación de guanosín monofosfato cíclico (cGMP) por hidrólisis del guanosín trifosfato (GTP), el incremento de cGMP activa a la enzima quinasa G II (PKGII), que transfiere el grupo fosfato del adenosín trifosfato (ATP) al canal regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) para activarlo, al igual se activa la enzima quinasa A (PKA) dependiente de adenosín monofosfato cíclico (cAMP) y se bloquea la función del intercambiador de sodio-protones 3 (NHE3) con lo que se reduce la reabsorción de sodio, se libera cloruro y bicarbonato lo que propicia la acumulación de estos iones y agua en la luz intestinal, provocando la diarrea (Farfán-García et al., 2016; Fleckenstein & Kuhlmann, 2019; Mirhoseini et al., 2018; Y. Zhang et al., 2022). Por otro lado, la LT se clasifica en LTI y LTII codificadas por los genes *eltA* y *eltB* respectivamente, son secretadas por medio de vesículas de membrana externa (OMV por sus siglas en inglés “outer

membrane vesicles”) por el sistema de secreción tipo II (T2SS), se unen al gangliósido GM1 y son endocitadas al citoplasma, una vez dentro, estresan el retículo endoplasmático interfiriendo en su función, además, estas toxinas tienen actividad ADP-ribosiltransferasas, transfiere unidades de ADP-ribosa a la proteína de señalización celular $GS\alpha$, dando pie a la formación del complejo ADP-ribosa- $GS\alpha$ -GTP que activa la adenilato ciclasa incrementando la conversión de ATP en cAMP, el incremento del cAMP activa a la PKA, que a su vez, activa al CFTR provocando la salida de electrolitos y agua al lumen intestinal, dando como resultado la diarrea (Farfán-García et al., 2016; Fleckenstein & Kuhlmann, 2019; Mirhoseini et al., 2018; Y. Zhang et al., 2022). En cuanto a los serotipos O reportados en este patotipos, destacan O2, O6, O9, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O101, O109, O115, O136, O138, O141, O147, O148, O149, O153, O159, O167 y O168, en cuanto a los serotipos H prevalecen H4, H8, H9, H10, H11, H12, H16, H19, H20, H21 H25, H27, H42 y H43, tanto en aislados humanos como en ganado bovino y porcino (Blanco et al., 1993; Fu et al., 2024). Al igual que otros patotipos, ETEC ha sido responsable de distintos brotes, como el ocasionado en Noruega en 2012, por O78, se reportaron 214 casos de gastroenteritis por el consumo de huevo con cebolla cambray (MacDonald et al., 2015), otro ejemplo son los ocurridos en Corea del Sur, uno sucedió entre los años 2013-2014, por O6, que fue responsable de 1,189 casos de gastroenteritis en estudiantes, el alimento asociado al brote fue el kimchi (Shin et al., 2016), el secundó ocurrió en 2016, donde O159:H20 fue responsable de 38 casos de diarrea en estudiantes, asociada al consumo de fideos instantáneos (Kim et al., 2017).

***E. coli* enteroinvasiva**

El agente etiológico EIEC, posee la particularidad de desarrollar sintomatología idéntica a la provocada por *Shigella* spp., se encuentra implicada en la disentería bacilar, esta enfermedad afecta a 165 millones de personas anualmente, y provoca la muerte de 1.1 millones de personas (Chang et al., 2016). La dosis infectiva para humanos es de 10^{6-10} de células, que

comparada con la dosis infectiva de *Shigella* de 10-100 organismos, es mucho mayor (Yang et al., 2017). Este patotipo de *E. coli* tiene la característica de invadir el interior de las células epiteliales del colón y evadir la respuesta inmune ya que, invade las células adyacentes intracelularmente, ocasionando la disentería bacilar, que se caracteriza por la presencia de sangre, moco y leucocitos en las heces (Pasqua et al., 2017). La capacidad patógena se alberga en genes ubicados en el plásmido de virulencia tipo F pINV, que codifican para el T3SS, más de 25 proteínas efectoras (como OscpB, VirA, OspG, etc.), antígenos de invasión de plásmidos (Ipa por sus siglas en inglés “invasion plasmid antigens”), IpaA, IpaB, IpaC, IpaD, además de chaperonas, reguladores transcripcionales y translocadores (Farfán-García et al., 2016; Pakbin et al., 2021). El contacto inicial, en este caso se da entre EIEC y las células M (células micropliegue), estas células son las encargadas de capturar patógenos del lumen intestinal y transportarlos en vesículas a la superficie basolateral de las células epiteliales del colon, entonces EIEC atraviesa la barrera epitelial por transcitosis en vesículas e invade a los macrófagos, posteriormente entra en acción las proteínas IpaB, IpaC, IpaD e IpaH7.8 para romper la vacuola y libera a EIEC del fagosoma, además de inducir la apoptosis del macrófago por acción de la caspasa 1. Una vez liberada, EIEC entra en contacto con los receptores hialuronano CD44 y la integrina $\alpha 5\beta 1$ de las células epiteliales, a través de proteínas del complejo IpaBCD e IpaB, para invadir el citoplasma de los colonocitos. Posterior a ello, EIEC va invadiendo las células epiteliales lateralmente, para ello, se requiere la formación del complejo VirG-N-WASP-actina, que se logra porque VirG nuclea la actina que induce la adquisición de N-WASP, que a su vez contribuye a la formación de ARP2/3. Por otro lado, entran en acción IpaA, IpaC, IpgB1, IpgD y VirA, implicadas en la reorganización de las células epiteliales y el rizado de la membrana celular para la formación de protuberancias de la membrana celular y permite el paso de EIEC entre los colonocitos. EIEC presenta diversas estrategias para evadir la respuesta inmune, y lograr persistir en los colonocitos, por ejemplo, OspF y OspG inhiben la activación y transcripción del factor nuclear kappa B (NF- κ B); IpaH9.8 y OspB suprimen la

expresión de citocinas inflamatorias como la IL-8; OspZ, Ospl e IpaH4.5 tienen la función de regular negativamente y amortiguar la respuesta inflamatoria (Farfán-García et al., 2016; Govindarajan et al., 2020; Haassan et al., 2021; Pakbin et al., 2021; Pasqua et al., 2017). Los serotipos mayormente implicados en este grupo patógeno se basan principalmente en el antígeno O, ya que, en su mayoría son no móviles, por lo que, no cuentan con antígeno H, en este patotipo se clasifican 21 serotipos: O28:NM, O29:NM, O112:NM, O115:NM, O121:NM, O124:NM, O124:H7, O124:H30, O124:H32, O135:NM, O136:NM, O143:NM, O144:NM, O144:H25, O152:NM, O159:H2, O164:NM, O167:NM, O167:H4, O167:H5 y O173:NM (Govindarajan et al., 2020; Yang et al., 2017). Algunos de los brotes por EIEC reportados son el ocurrido en Nottingham, Inglaterra, en el año 2014, por O96:H19, se reportaron 123 individuos con gastroenteritis, el alimento implicado fue lechuga y agua de grifo (Newitt et al., 2016). Otro ejemplo fue el ocurrido en Milán, Italia, en 2012, en el que se reportaron 109 casos de gastroenteritis, en el cuerpo de bomberos de Milán, provocadas por O96:H19, en este brote estuvieron implicadas distintas verduras como, betabel, papas, pimientos y ejotes (Escher et al., 2014). En Suecia, específicamente en el condado de Halland, se reportó un brote por O96:H19, en 2017, se reportaron 83 casos de gastroenteritis, y el vehículo de infección fueron verduras de hoja verde (Lagerqvist et al., 2020). Un brote más reciente ocurrió en la provincia de Loei, Tailandia, en el año 2023, se reportó 154 casos de gastroenteritis por O8:H19, este brote se asoció al consumo del platillo “Larb-nua-dib”, que es carne cruda molida con salsa de pescado (Okada et al., 2025).

***E. coli* enteroagregativa**

EAEC afecta a todos los grupos etarios, es la segunda causa de la diarrea del viajero, principalmente a países industrializados, la signología se caracteriza por diarrea acuosa con la presencia de moco y usualmente no provoca fiebre (Jesser & Levy, 2020; Yang et al., 2017). Además, este patotipo presenta un patrón de adherencia agregativa (AA por sus siglas en

inglés “aggregative adherence”) característico, conocido también como patrón de ladrillo apilado o panal a las células Hep-2 (Meza-Segura et al., 2020). Los mecanismos de patogénesis de este agente etiológico son diversos y complejos, sin embargo, se pueden agrupar en 3 fases: (1) adherencia al epitelio intestinal por medio de fimbrias agregativas, (2) formación de biopelículas y (3) secreción de enterotoxinas y citotoxinas, inflamación de la mucosa y daño citotóxico (Pakbin et al., 2021). Los genes de virulencia se ubican en distintos plásmidos de virulencia, incluyendo el plásmido de adherencia agregativa (pAA por sus siglas en inglés “plasmid of aggregative adherence”) que alberga el activador transcripcional codificado por plásmido AggR, codificada por el gen *aggR*, además, este patotipo incluye islas de patogenicidad ubicadas en el cromosoma (Dias et al., 2020). La patogénesis de EAEC inicia con la unión y adherencia a la mucosa del epitelio del intestino delgado y el colón, mediada por 5 tipos de fimbrias de adhesión agregativa (AAF por sus siglas en inglés “aggregative adhesion fimbria”) AAFI-V codificadas por los genes *aggA*, *aafA*, *agg3A*, *agg4A* y *agg5A* respectivamente, también se encuentran implicadas adhesinas afimbriales y el pili tipo IV denominado pili formadores de agregados (AFP por sus siglas en inglés “aggregate-forming pili”) codificado por *afp*. Posterior a la colonización, comienza la formación de biopelículas compuestas por exopolisacáridos, regulada por AggR, que implica un sistema de secreción tipo VI (T6SS) codificado por el operón denominado *aaiA-aaiP*. La secreción de enterotoxinas es la fase final de la patogénesis de EAEC, la enterotoxina 1 EAST-1 (por sus siglas en inglés “enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1”) es característica de este patotipo, es codificada por el gen *astA*, al igual que las enterotoxinas de ETEC influyen en el incremento del cGMP que induce la secreción de iones y agua al lumen intestinal. Otras toxinas importantes son la proteasa involucrada en la colonización intestinal (Pic por sus siglas en inglés “protease involved in intestinal colonization”) y la toxina codificada en plásmidos (Pet por sus siglas en inglés “plasmid encoded toxin”), ambas pertenecen a las SPATE. Pic, tiene actividad mucolítica, pero también se ve implicada en el incremento de las células calciformes y

producción de moco para atrapar a más bacterias auto-aglutinándolas en el epitelio intestinal. Pet, en cambio, tiene actividad citotóxica, se une a la espectrina de la membrana del aparato de Golgi e impide su correcto funcionamiento (Bamidele et al., 2019; Dias et al., 2020; Farfán-García et al., 2016; Meza-Segura et al., 2020; Pakbin et al., 2021). En cuanto a los serotipos asociados a este patotipo, se encuentran O44:H18, O73:H18, O92:H33, O104:H4, O111ab:H21, O126:H27 y O136:H2 (Govindarajan et al., 2020). De entre los brotes epidémicos provocados por este agente etiológico, destaca el de Alemania en 2011, por O104:H4 con la particularidad de expresar tanto genes de virulencia de EAEC como los genes *stx* de EHEC, este brote afectó a 3911 personas que presentaron cuadros de diarreas, 900 desarrollaron SUH y se reportaron 54 defunciones (EFSA, 2011). En 2013, se reportó un brote de 592 casos de gastroenteritis, en Inglaterra, este brote se asoció a O104:H4 y O131:H27, en este brote se determinó el consumo de hojas de curry provenientes de Pakistán como fuente de infección (Newitt et al., 2016) Otro ejemplo fue el ocurrido en la región de Marce, Italia, en 2006, se reportaron 46 casos de gastroenteritis asociado a O92:H33, el vehículo de este brote se asoció al consumo de queso pecorino, elaborado con leche de oveja sin pasteurizar (Brzuszkiewicz et al., 2011; Scavia et al., 2008).

***E. coli* de adherencia difusa**

DAEC se asocia con diarrea en niños menores de 5 años de todos los países, y también se encuentra relacionada a infecciones del tracto urinario en adultos, así como a complicaciones en el embarazo (Jesser & Levy, 2020). Su denominación se encuentra relacionada al patrón de adherencia difusa que presenta ante células HeLa o Hep-2 (Haassan et al., 2021). La patogénesis de DAEC comienza con la adherencia a las células epiteliales del intestino delgado a través de adhesinas fimbriales y afimbriales, las adhesinas fimbriales son codificadas por los genes *daa* y *dra* que codifican para las proteínas F1845 y Dr respectivamente; y las adhesinas afimbriales Afa codificadas por el gen *afa* (Naidoo & Zishiri, 2025). Las adhesinas F1845 y Dr

se unen al factor acelerador de la descomposición del complemento (DAF por sus siglas en inglés “decay-accelerating factor”) CD55 que se encuentra en la superficie celular de las células epiteliales intestinales, urinarias y genitales, posterior a la unión, sigue una reorganización del citoesqueleto de las microvellosidades que culmina con la eliminación de éstas. Por otro lado, algunas adhesinas Afa/Dr se unen a la molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario humano (CEACAM por sus siglas en inglés “Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecule”) CECAM1 y CECAM2, esta unión activa a CDC42 y a su vez, permite el ingreso de DAEC al citosol de la célula hospedera, este ingreso es favorecido por la expresión de DAF, que promueve la formación de microtúbulos y balsas lipídicas. Por otro lado, la unión de las adhesinas Afa/Dr a los receptores CD55 o CEACAM, activa la acción de la enzima quinasa Src, necesaria para la movilización y organización de DAF alrededor de DAEC, y también, se activa la proteína quinasa activada por mitógenos (MAP por sus siglas en inglés “mitogen-activated protein”) que promueve la producción de IL-8 y la trans migración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), esto tiene un efecto de regulación positiva para la expresión de DAF proporcionando más receptores de adhesión, y por otro lado promueve la producción de citoquinas proinflamatorias como TGF- α e IL-1 β , que culmina con la apoptosis celular (Farfán-García et al., 2016; Govindarajan et al., 2020; Meza-Segura et al., 2020; Naidoo & Zishiri, 2025; Pakbin et al., 2021). Los brotes por DAEC son difíciles de identificar, ya que presenta prevalencias bajas, por ejemplo, la prevalencia de DAEC en Nigeria es únicamente del 2.23% (Tula et al., 2022), sin embargo, la evaluación de DAEC en casos de diarrea en niños va cobrando relevancia, especialmente por el surgimiento de cepas híbridas que comparten genes de virulencia con otros patotipos, la presencia de los genes *daaD* (DAEC) y *aggR* (EAEC) incrementa la capacidad de *E. coli* para causar bacteriemia en niños (Riveros et al., 2017). Por otro lado, en Shiraz, Irán, se reportó una prevalencia del 6.70% de DAEC resistente a la ampicilina en casos de diarreas en pacientes menores de 13 años (Javadi et al., 2020). Otro ejemplo es el estudio de Mansan-Almeida y colaboradores (2013) donde

reportó una prevalencia del 39.37% de DAEC en casos con diarrea y 45.66% de prevalencia en controles asintomáticos, concluyendo que DAEC puede formar parte del microbioma intestinal en los niños.

Resistencia antimicrobiana

El uso de antibióticos en la producción animal ha incrementado, las malas prácticas entorno a su uso han propiciado el surgimiento de bacterias resistentes a estos fármacos (Carhuapoma et al., 2020). Una mayor exposición a los antibióticos incrementa la posibilidad de que éstos pierdan eficacia y las bacterias adquieran resistencia, por eso el uso indiscriminado de antibióticos es la causa principal del surgimiento de bacterias resistente (Aslam et al., 2023). Se estima que hasta el 73.00% de antibióticos producidos a nivel mundial se utilizan en la producción animal (Boeckel et al., 2019), inclusive éstos se implementan como promotores de crecimiento, o de manera preventiva para evitar que los animales enfermen (Carvajal et al., 2019; Jiménez et al., 2017). De éstos, hasta el 90.00% se excretan en la orina y heces del ganado, que después son dispersados en los fertilizantes usados en la agricultura, y a través de aguas subterráneas y escorrentías superficiales (Ventola, 2015). Las mismas actividades antropogénicas (clínica, agricultura, ganadería) proveen nichos ricos en antibióticos para las bacterias que promueven el surgimiento de bacterias multirresistentes (Martínez-Martínez & Calvo, 2010). Las bacterias presentan resistencia antimicrobiana (RAM) intrínseca y adquirida, los procesos biológicos por lo que se transmite la RAM se clasifican en dos tipos: por evolución vertical, tras mutaciones que incluyen, deleciones, inserciones, inversiones, translocaciones y duplicaciones en el propio genoma bacteriano que después se heredan a la progenie (Bobay & Ochman, 2017); y por transferencia horizontal, que requiere de material genético donante (usualmente son elemento genéticos móviles) y una célula bacteriana receptora, este proceso se puede dar tradicionalmente por conjugación, transducción o transformación (Mancuso et al.,

2021). La conjugación es el proceso biológico en el cual, la transferencia de genes se da entre la conexión directa entre una célula bacteriana donante y una célula bacteriana receptora, a través de un pilus conjugador. La transducción implica la transferencia de materia genética entre bacterias a través de un bacteriófago. En la transformación, una bacteria adquiere el material genético de otra bacteria, el cual se encuentra libre en el medio, se asocia principalmente a la lisis celular (Arnold et al., 2022; Brito, 2021; Emamalipour et al., 2020; Morrison & Zembower, 2020). No obstante, se han descrito otras vías de transferencia de material genético, éstas incluyen la formación de vesículas extracelulares por las bacterias, en las que el DNA es liberado al ambiente, por esta vía no solo se libera DNA, sino otras moléculas como mRNA, o proteínas; otro mecanismo es la transferencia mediada por agentes de transferencia de genes (GTA por sus siglas en inglés “Gene Transfer Agents”), se trata de partículas biológicas similares a los bacteriófagos, que transfieren porciones aleatorias de DNA a otras células bacterianas; y la transferencia de material genético por estructuras denominadas nanotubos, se trata de estructuras proteicas similares a un pilus, en los que se puede transferir metabolitos, DNA, mRNA, proteínas u otras moléculas (Arnold et al., 2022; Brito, 2021; Emamalipour et al., 2020). Por otro lado, las bacterias que presentan resistencia al menos a un antibiótico de 3-5 clases de antibióticos se clasifican como multirresistentes (MDR), si la resistencia es a al menos un antibiótico de entre 6-8 clases de antibióticos se clasifican con resistencia extendida (XDR), y son panresistentes (PDR) si se presenta resistencia a todos los compuestos evaluados de al menos 8 clases de antibióticos (Jiménez et al., 2019; Magiorakos et al., 2012). El surgimiento de este tipo de bacterias es considerado por la OMS como uno de los principales problemas en salud pública del siglo XXI (Tacconelli et al., 2017), solo en 2019 las defunciones en el mundo fueron de 4.95 millones asociadas a bacterias multirresistentes (Resistance Collaborators Antimicrobial, 2022). Además, se estima que para 2050 las muertes causadas por bacterias multirresistentes alcanzarán una cifra de 10 millones al año (O’Neill, 2016).

JUSTIFICACIÓN

De manera conjunta, la producción y el consumo de carne de res es de gran relevancia en el sector agropecuario y dentro de la dieta, pues ocupa el 3.º puesto a nivel nacional en ambos frentes, precedida por la carne de pollo y de cerdo. Con una producción de 2.25 millones de toneladas y un consumo de 2.23 millones de toneladas para el año 2024, dejando un consumo aproximado de 17 Kg por persona, y que, estas cifras van al alza, por ser una fuente de proteína económica y de fácil acceso. No obstante, en el país existen desafíos importantes entrono a la obtención de carne de calidad e inocua, que garanticen la seguridad alimentaria y a la par salvaguardar la salud de la población mexicana. Dentro de los principales peligros de contaminación que presenta la carne es la biológica, en especial la bacteriana, pues, se puede adquirir en cualquier etapa de la producción y procesamiento primario, incluyendo la comercialización minorista, en los puntos de venta existen riesgos asociados a la contaminación microbiológica de la carne, la mayoría implica deficiencias en las prácticas higiénico-sanitarias de los manipuladores de alimentos, además, es importante resaltar que esta es la última faceta para que la carne llegue al consumidor, por lo que, cobra relevancia la aplicación de buenas prácticas de manufactura, para disminuir los riegos de contaminación. Por otro lado, la calidad microbiología de la carne se puede evaluar a través de microorganismo indicadores como lo son los coliformes totales, coliformes fecales, que incluyen a *E. coli*, entorno a éstos, existen marcos legislativos que establecen límites máximos permisibles que permiten determinar si la carga microbiana de carne la hacen apta para su consumo. Adicionalmente, *E. coli* puede ser un indicador de contaminación fecal por formar parte del microbioma intestinal de mamíferos, pero también es un importante agente etiológico responsable de brotes de ETA's. Aunado a ello, el uso indiscriminado y no controlado de antibióticos a potenciado el surgimiento de cepas multirresistentes, lo cual, se ha convertido en uno de los problemas de salud pública con mayor importancia, debido a que deriva en dificultades terapéuticas, en la gestión de salud animal y

humana. En atención a estas circunstancias esta investigación pretende evaluar la contaminación en carne molida por DEC determinando dos factores, el potencial patogénico y la resistencia a antibióticos, en el Valle del Mezquital, del Estado de Hidalgo para conocer la calidad microbiológica de la carne en punto de venta, así como el potencial riesgo asociado a brotes de infección por este grupo patógeno de *E. coli*.

HIPÓTESIS

La carne molida de res comercializada en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo, podría presentar contaminación con patotipos de *E. coli* con potencial virulento y con resistencia antimicrobiana.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar los patotipos de *E. coli* presente en la carne molida de res del Valle del Mezquital, con el uso de técnicas bioquímicas, inmunológicas y moleculares, para establecer bases del monitoreo epidemiológico sobre la contaminación de la carne respecto a este agente etiológico.

Objetivos específicos

1. Cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias (CFU) de *E. coli* presentes en las muestras de carne molida, con el método de recuento de células viables para su comparativa con el límite máximo permisible establecido por la normatividad mexicana vigente.
2. Evaluar el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura e higiene, en los puntos de venta, a través de una evaluación sanitaria, para determinar las condiciones higiénico-sanitarias de las carnicerías de la región.
3. Identificar aislados de *E. coli*, con el uso de métodos bioquímicos, para determinar la prevalencia de este patógeno en las muestras de carne molida analizadas.
4. Identificar serológicamente los aislados de *E. coli* patógena, a través de ensayos de aglutinación para su clasificación dentro de los patotipos.

-
5. Evaluar la resistencia a antibióticos de los aislados de *E. coli* patógena mediante la técnica Kirby-Bauer para exponer el perfil de resistencia de *E. coli* en la zona de estudio.
 6. Determinar la presencia de genes que confieren resistencia antimicrobiana por PCR punto final, para la detección de cepas de *E. coli* de importancia en salud pública.
 7. Determinar la presencia de factores de virulencia mediante la técnica de PCR múltiple para explicar el potencial patógeno de los aislados de *E. coli*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de muestreo

El Valle del Mezquital (20°27'10" latitud norte y 99°14'57" latitud oeste) es una región geográfica y cultural ubicada en el suroeste del estado de Hidalgo. Es la región más grande del estado, abarca 27 municipios, representando el 32.00% de la superficie de todo el Estado de Hidalgo (Figura 1). La población de esta región alcanza los 986,812 habitantes, con base en el censo de población del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2020). La economía en esta región se basa principalmente en actividades agropecuarias como la agricultura y la ganadería, enfocada en la industria lechera, pero también, cuenta con una zona industrializada al sur de la región, enfocada en la industria petrolera, eléctrica, cementera y textil, así como un corredor de balnearios de aguas termales que atraen a un gran número de turistas en el norte de la región, de ahí la importancia de evaluar la calidad microbiológica de la carne molida de res, enfatizando la contaminación con *E. coli* patógena. En el presente estudio se eligieron 4 municipios de la región del Valle del Mezquital (Figura 1), para el análisis de la calidad microbiológica de la carne de res, denominados como A, B, C y D. La selección de estos municipios fue direccionada por los altos niveles de población que concentran, juntos representan el 37.76% de la población total del Valle de Mezquital, la alta presencia humana sugiere mayor demanda y consumo de carne, estos municipios también cuentan con su propio rastro municipal, con capacidad promedio mensual de sacrificio por arriba de las 1,000 cabezas (SADER/SENASICA, 2022), además, son los municipios con mayor número de registros de carnicerías en el Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas del INEGI (DENUE, 2024), la región del Valle del Mezquital cuenta con un total de 574 carnicerías registradas, y entre ellas, el 40.94% se encuentran registradas en los 4 municipios seleccionados para este estudio.



Figura 1. Mapa del Estado de Hidalgo, México, se resalta la región del Valle del Mezquital, región en la que se ubican los 4 municipios seleccionados para el análisis de *E. coli* en la carne molida de res, comercializada al por menor. Elaboración propia.

Tamaño de muestra

Una vez elegidos los municipios a muestrear, se definió el universo muestral a partir de la base de registros de carnicerías del DENUE (DENUE, 2024), donde se reportaron 40 carnicerías para el municipio A, 57 carnicerías para el municipio B, 68 carnicerías para el municipio C y 70 carnicerías para el municipio D, dando un registro total de 235 carnicerías. El tamaño de muestra se calculó a través de la fórmula de tamaño de muestra para poblaciones finitas con un nivel de confianza del 95.00% y considerando una prevalencia mínima esperada del 10.00% (Gómez-Aldapa et al., 2013):

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Dónde:

N= universo muestral (235 carnicerías)

$Z_{\alpha}^2= 1.96^2$ (valor de tabla de z a un nivel de confianza 95.00%)

p= proporción esperada (10.00% = 0.10)

q= 1 – p

$d^2= 0.05^2$

Sustituyendo la fórmula se obtuvo un tamaño de muestra de 87 carnicerías:

$$n = \frac{235 * 1.96^2 * 0.10 * 0.90}{0.05^2 * 234 + 1.96^2 * 0.10 * 0.90} = 87$$

Método de muestreo

El método de muestreo que se siguió fue proporcional y aleatorio. La proporcionalidad se realizó con base en el total carnicerías registradas en cada municipio, esta información se refleja en la Tabla 1. Por otro lado, para elegir las carnicerías aleatoriamente, se extrajo información de las carnicerías registradas en el DENUE que incluía el nombre de la carnicería, y datos relacionados a la ubicación de la misma, como municipio, localidad y coordenadas geográficas. Asimismo, se asignó un número de identificación a cada carnicería para poder realizar la asignación aleatoria, la cual, se realizó a través del programa Excel Office® 2019, con la función =ALEATORIO.ENTRE(1;N).

Tabla 1. Distribución proporcional del tamaño de muestra, para los municipios incluidos en el estudio.

Municipio	Total de carnicerías	Carnicerías a muestrear	Porcentaje (%)
A	40	15	17.00
B	57	21	24.00
C	68	25	29.00
D	70	26	30.00
Total	235	87	100.00

En cada carnicería seleccionada para el estudio, se realizó una visita de prospección, con el objetivo de verificar la existencia, funcionalidad y venta de la presentación cárnica a colectar. Para ello, se asignó un código de identificación a cada carnicería, posteriormente cada punto de venta fue georreferenciado en Google Maps, mediante la herramienta “añadir una etiqueta”, subsiguientemente se trazaron rutas, considerando todas las georreferenciaciones por municipio (Figura 2). La visita de prospección permitió corroborar 70 carnicerías que cubrieron las características para incluirse en el estudio, del mismo modo, permitió reconocer 17 que no cubrieron el perfil, por lo que fueron sustituidas: 10 no existían al momento de hacer la visita, 5 se especializaban en la venta de carne de cerdo y 2 en carne de pollo, la sustitución de los 17 puntos de venta se realizó por la carnicería con la georreferencia más cercana que cubriera los criterios de inclusión. Esta actividad permitió establecer la logística de la toma de muestras, optimizando la colecta y el tiempo de traslado.

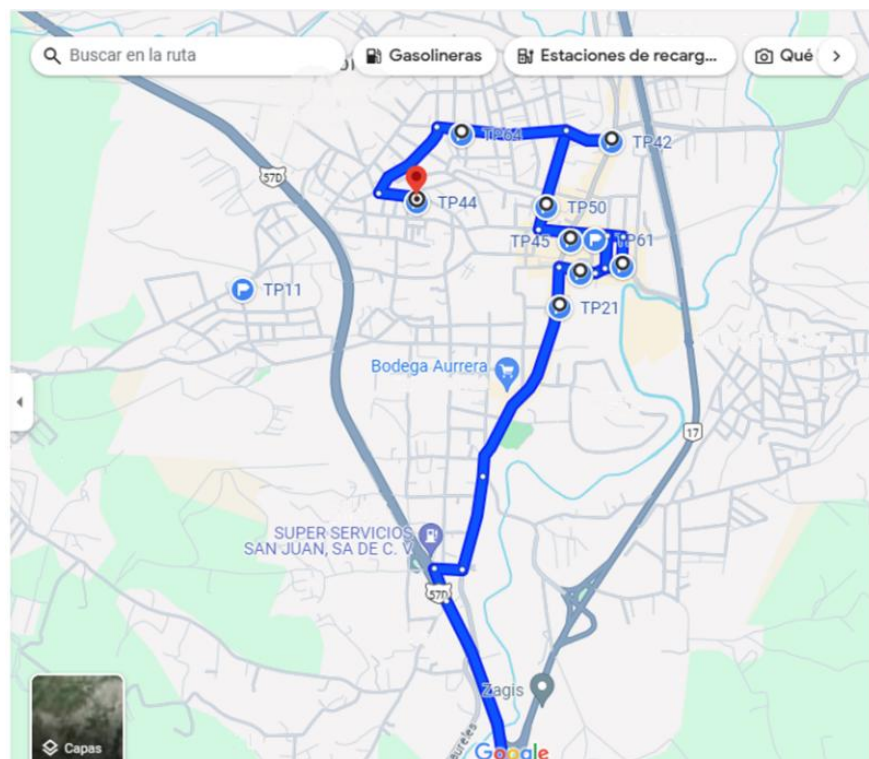


Figura 2. Rutas generadas con Google Maps, para realizar la visita de prospección a los puntos de venta del área de estudio. Elaboración propia.

Toma de muestra

La toma de muestra se realizó entre los meses de junio y julio del año 2024. En cada punto de venta, se solicitó al vendedor 100 gr de carne molida de res. Las muestras se colocaron en refrigeración a 4 °C para su traslado al laboratorio de Genética y Genómica de Investigación del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, para su procesamiento, según lo estipula la NOM-213-SSA1-2018 (DOF, 2018).

Recuento de células viables en placa

Se utilizaron placas de recuento de coliformes/*E.coli* 3M™ Petrifilm®, las cuales siguen los lineamientos del AOAC Official Method 991.14 recuento de coliformes y *E. coli* en los alimentos. El recuento se realizó por duplicado, para ello, se pesó 1 gr de carne molida dentro del campo estéril y se colocó en bolsas estériles Ziploc® que contenían 9 mL de agua peptonada, posteriormente, la muestra se homogenizó durante 120 segundos a velocidad alta en el equipo Stomacher® 80 Biomaster, para obtener una dilución 1:10, subsecuentemente, con ayuda de una micropipeta se inoculó 1 mL de la dilución en la placa petrifilm, que se sometieron a un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C (Curiale et al., 1991; Púa & Navas, 2014). Después de la incubación se procedió a realizar el recuento de las células viables, siguiendo las instrucciones del proveedor.

Análisis de datos para el recuento de células viables

Los datos se tabularon con hoja de cálculo de Excel Office® 2019, posteriormente, la expresión gráfica del recuento de *E. coli* y coliformes totales se realizó en el software Past versión 3.0, los datos se expresaron como Unidades Formadoras de Colonias (CFU, por sus siglas en inglés Colony Forming Unit), sobre gramo de carne molida (CFU gr⁻¹), además, los datos se transformaron a escala logarítmica base 10 (Log₁₀) para su graficación. La media de recuento de las CFU de *E. coli* por punto de venta, se analizó en comparativa con el Límite Máximo Permisible (LMP) de 5000 CFU gr⁻¹ de carne molida, establecido por la norma oficial mexicana NOM-194-SSA1-2004 (DOF, 2004). Finalmente, sobre los valores de media por municipio se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba post hoc de Tukey cuando se observó significancia.

Evaluación sanitaria

Se realizó una evaluación de las prácticas higiénico-sanitarias a cada punto de venta. La evaluación fue de tipo observacional y se basó en el acta de verificación sanitaria anexa a la NOM-251-SSA1-2009 (DOF, 2010), la cual consta de 140 ítems, distribuidos en 22 secciones. En una primera etapa se realizó una prueba piloto, para ello, durante la visita de prospección se aplicaron 4 evaluaciones a 4 carnicerías al azar, una para cada municipio, la aplicación permitió depurar el listado de verificación mediante la eliminación de ítems que no aplicaban para el producto y punto de venta bajo estudio. Al final, la lista de verificación aplicada en este estudio constó de 53 ítems distribuidos en 12 categorías: instalaciones y áreas que incluyó 8 ítems; equipos y utensilios incluyó 5 ítems; servicios incluyó 8 ítems; almacenamiento incluyó 4 ítems; control de operaciones incluyó 4 ítems; materias primas incluyó 2 ítems; agua en contacto con los alimentos incluyó 2 ítems; mantenimiento y limpieza incluyó 4 ítems; control de plagas incluyó 3 ítems; manejo de residuos incluyó 3 ítems; salud e higiene del personal incluyó 6 ítems; y prácticas del personal incluyó 3 ítems (Anexo 1).

Análisis de la evaluación sanitaria por cálculo de *Odds Ratio*

Se realizó el cálculo del *Odds Ratio* (OR) $[(a/b)/(c/d)]$ (Cerdea et al., 2013; George et al., 2020) para determinar la probabilidad de contaminación de la carne con *E. coli* relacionado al incumplimiento de los ítems de la lista de la verificación de las prácticas higiénicas. Los 53 ítems se subdividieron en dos grupos, en el primero se incluyeron aquellos relacionados a la infraestructura, equipos y utensilios, que constó de 23 ítems e incluyó a las categorías de: Instalaciones y áreas, equipos y utensilios, servicios y agua en contacto con los alimentos; el segundo grupo incluyó a aquellos ítems relacionados a la manufactura y el personal, este grupo constó de 29 ítems de las categorías de: almacenamiento, control de operaciones, materias primas, mantenimiento y limpieza, control de plagas, manejo de residuos, salud e higiene del

personal y prácticas del personal. Para su expresión gráfica, se asignó una frase clave para identificar a cada ítem (Anexo 1), ésta se realizó en el software Rstudio versión 2025.05.1.

Aislamiento de colonias de *E. coli*

Para realizar el aislamiento de *E. coli*, primeramente, se realizó un pre-enriquecimiento en agua peptonada al 1.00%, para ello, se pesó 1 gr de carne en condiciones asépticas y se colocó en tubos para centrifuga con 9 mL de agua peptonada estéril, se homogenizó en un agitador de laboratorio Vórtex VX-200 Labnet® a 3,400 rpm por 30 segundos, se incubó por 24 horas a 37 °C. Posteriormente, con un asa bacteriológica se tomó una gota del cultivo y se sembró por agotamiento en estría en agar MacConkey MCD LAB® (No. catálogo 7111) con un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C, tras el crecimiento, de cada muestra, se seleccionaron aproximadamente el 5.00% de las morfologías de las colonias lactosa positivo, color rosa y con la presencia de un halo de precipitado. Después, las colonias seleccionadas se sembraron por estría en agar MacConkey con sorbitol BD Difco™ (No. catálogo 279100), se incubaron durante 24 horas a 37 °C, para determinar la capacidad de los aislados para fermentar el sorbitol (Allen, 2005; Zimbro et al., 2009).

Identificación bioquímica de *E. coli*

Las colonias presuntivas de *E. coli* se sometieron a las pruebas bioquímicas de: catalasa, motilidad, ácido sulfúrico, indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer, citrato, ornitina descarboxilasa, capacidad de fermentar tres azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa) y producción de gas (De la Maza et al., 2004).

Prueba de catalasa

La prueba de la catalasa es una prueba rápida, con el asa bacteriológica se tomó una porción de la colonia a evaluar, cerciorándose de que no contuviera agar, y se colocó en un portaobjetos, posteriormente se le adicionó 1 gota de peróxido de hidrógeno al 3.00%. Las reacciones positivas se evidenciaron por la formación de burbujas generadas por efervescencia (Reiner, 2010).

Prueba de indol

Para la prueba de indol se colocó 3 mL de agar semisólido SIM (sulfuro, indol, motilidad) DIBICO® (No. catálogo 1054-A) en tubos de 5 mL. Se inocularon por punción con un asa recta y se incubaron por 24 horas a 37 °C, posteriormente se adicionaron 5 gotas del reactivo de Kovac's SIGMA-ALDRICH (No. catálogo 60983), la prueba fue positiva cuando el reactivo se tornó de color rojo; si la prueba fue negativa el reactivo se queda en un tono café. En este medio también se determinó la motilidad y la producción de ácido sulfúrico; la motilidad fue positiva cuando hubo crecimiento bacteriano en todo el tubo con agar, y fue negativa cuando el crecimiento resultó solo en el área de inoculación; la producción de ácido sulfúrico se observó por la presencia de un precipitado color negro en el medio (MacWilliams, 2009b).

Pruebas rojo de metilo y Vogues-Prokauer

Para las pruebas de rojo de metilo y Vogues-Proskauer se utilizó el medio MR-VP DIBICO® (No. catálogo 1053-E), se colocaron 2 mL de caldo en tubos de 5 mL, posteriormente se inoculó con el asa bacteriológica, el periodo de incubación fue de 24 horas a 37 °C; posterior a ello, se agregaron 10 gotas del indicador de pH rojo de metilo para la prueba con ese nombre y para la prueba de Vogues-Proskauer se adicionó sulfato de cobre de amonio. La prueba rojo de metilo se consideró positiva si, después de agregar el indicador de pH, el cultivo viró a un color rojizo, y negativa si el cultivo presentó color amarillo. Para la prueba de Vogues-Proskauer, el cultivo

viró a un tono rosa-rojizo cuando fue positiva, si la prueba fue negativa, el cultivo presentó un tono café (Mcdevitt, 2009).

Prueba de citrato

En el caso de la prueba de citrato, se colocó 3.5 mL del medio citrato de Simmons DIBICO® (No. catálogo 1006-E) en tubos de 5 mL, posteriormente, los tubos con el agar se colocaron en una inclinación de 22° y se esperó a que solidificaran, la siembra se realizó por estría sobre toda la superficie del agar, el periodo de incubación fue de 48 horas a 37 °C. Esta prueba se consideró positiva, cuando las bacterias lograron crecer en este medio, es decir, las bacterias presentaron la capacidad de utilizar el citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno, donde los productos del metabolismo alcalinizan el medio y éste viró a color azul; la prueba resultó negativa, si no hubo crecimiento y el medio se mantiene en su tono original, verde (MacWilliams, 2009a).

Prueba en agar hierro triple azúcar

En el caso de la prueba para evaluar la capacidad de fermentar tres azúcares (glucosa, lactosa y sacarosa) y hierro, se utilizó el medio TSI (por sus siglas en inglés “Triple Sugar Iron”) DIBICO® (No. catálogo 1016-A), para realizar esta prueba, se agregaron 3.5 mL del medio en tubos de 5 mL, se dejaron solidificar con una inclinación de 22°. Posteriormente se realizó la siembra por punción combinada con estría en toda la superficie del agar, y se incubaron por un lapso de 24 horas a 37 °C. En esta prueba, cuando el medio fue ácido se presentó una coloración amarilla, cuando el medio fue alcalino la coloración es rojiza; la producción de gas se observó mediante la fragmentación y/o elevación del medio de cultivo (Lehman, 2005).

Prueba de ornitina descarboxilasa

Para esta prueba, se colocaron 3 mL de agar semisólido MIO (motilidad, indol, ornitina) DIBICO® (No. de catálogo 1052-E) en tubos de 5 mL, se realizó la siembra por punción con un

asa recta, los tubos con el inóculo se sometieron a un periodo de incubación a 37 °C y un lapso entre 24–48 horas. La prueba resultó positiva cuando las bacterias presentaron la enzima ornitina descarboxilasa, en el que el medio viró a color púrpura, en cambio, la prueba fue negativa si el medio presentó una coloración amarilla. También, en esta prueba se confirmó la motilidad de las bacterias (Lal & Cheeptham, 2015).

Perfil bioquímico de *E. coli*

Las cepas de *E. coli*, de acuerdo con la literatura, presentan un perfil bioquímico que incluye los siguientes resultados: catalasa positiva (+), motilidad positiva (+)/negativa (-), ácido sulfúrico negativo (-), indol positivo (+), rojo de metilo positivo (+), Voges Proskauer negativo (-), citrato negativo (-), en TSI presentan medio ácido (A) o alcalino (ALK), con producción de gas (A) o sin la producción de gas y ornitina descarboxilasa positiva (+) (De la Maza et al., 2004). El perfil bioquímico permitió la selección de las cepas de *E. coli* incluidas en las pruebas subsecuentes.

Análisis de datos de la identificación bioquímica de *E. coli*

Para esta sección se calculó la prevalencia de *E. coli* identificada por el perfil bioquímico en las 87 muestras de carne molida analizadas. También se realizó la prueba de χ^2 para determinar si existió una asociación entre las variables categóricas que correspondieron a los municipios de la zona norte de la región (A y B) y los municipios de la zona sur de la región (C y D) y la contaminación de la carne con *E. coli*.

Serotipificación de *E. coli*

Se realizó la serotipificación de los aislados que cumplieron con el perfil bioquímico reportado para *E. coli*. Para ello, se realizaron ensayos de serotipado por aglutinación en placas de microtitulación de 96 pocillos, se utilizaron sueros específicos anti-H y anti-O SERUNAM®

contra un total de 186 antígenos somáticos y 53 antígenos flagelares para *E. coli* (Reyes-Rodríguez et al., 2015, 2020).

Obtención del antígeno somático “O”

Para la obtención del antígeno somático, primeramente, se prepararon tubos de ensayo de 16 x 150 mm con 10 mL de agar soya tripticaseína (TSA por sus siglas en inglés “Tryptic Soy Agar”) GranuCult® Millipore® (No. de catálogo 105458), los cuales se dejaron solidificar con una inclinación de 22°. Posteriormente los aislados se inocularon con un asa bacteriológica en toda la superficie del agar, con un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C. Una vez cumplido el tiempo de incubación, se agregaron aproximadamente 10 mL de solución salina al 0.85%, la cual se preparó con cloruro de sodio J.T.Baker® (No. de catálogo 3624) y agua destilada, se homogenizó hasta que el cultivo se desprendiera del agar y la suspensión bacteriana se transfirió a otro tubo de ensayo de 16 x 150 mm, posteriormente se sometió a una temperatura de entre 110 - 113 °C por 70 minutos con vapor fluente, con el objetivo de inactivar a las bacterias y la liberación del antígeno O. Para la conservación de los antígenos O obtenidos, una vez que los tubos se enfriaron se agregaron aproximadamente 10 mL de solución de formalina al 0.06%, para su preparación se utilizó formaldehído J.T.Baker® (No. de catálogo 2106-03), cloruro de sodio J.T.Baker® (No. de catálogo 3624) y agua destilada (Navarro et al., 2021; Ørskov & Ørskov, 1984).

Obtención del antígeno flagelar “H”

Por otro lado, para la obtención de antígenos flagelares se prepararon tubos de ensayo de 16 x 150 mm con tapa de rosca y con agar semisólido, éste se preparó utilizando peptona de caseína o triptona BD Bioxon® (No. de catálogo 232200), extracto de carne BD Bioxon® (No. de catálogo 211802), agar-agar DIBICO® (No. de catálogo 1001-E), gelatina bacteriológica DIBICO® (No. de catálogo 2009-E) y cloruro de sodio J.T.Baker® (No. de catálogo 3624). A cada

tubo se le agregaron 9 mL del agar semisólido y una varilla hueca de vidrio en posicionada en el centro del tubo. La inoculación se realizó en el centro de la varilla, sin tocar el fondo del tubo, posteriormente se incubaron a 37 °C por hasta 15 días. Se observó turbidez del medio en los tubos donde hubo desarrollo del flagelo, los cuales presentaron un conglomerado blanquecino rodeando la varilla de vidrio en la superficie del agar, se tomó una porción de este conglomerado con un asa bacteriológica que fue inoculada en caldo biotriptasa, el cual se preparó con peptona de caseína BD Bioxon® (No. de catálogo 232200), extracto de levadura BD Bioxon® (No. de catálogo 211546), extracto de carne BD Bioxon® (No. de catálogo 211802) y cloruro de sodio J.T.Baker® (No. de catálogo 3624). Posteriormente, los tubos con el inóculo se sometieron a un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C, finalmente, al cultivo se le agregaron aproximadamente 10 mL de solución de formalina al 0.06% para conservar el antígeno H (Navarro et al., 2021; Ørskov & Ørskov, 1984).

Ensayos de serotipado por aglutinación

Una vez obtenidos los antígenos somáticos y flagelares se procedió a realizar las pruebas de aglutinación, para ello, se colocaron 50 µL de los 186 antisueros somáticos distribuidos en 3 microplacas y 50 µL de los 53 antisueros flagelares en los pocillos de las placas de microtitulación, este paso se realizó con ayuda del dispensador automatizado para microplacas Quick spense® Dynatech laboratories Inc. Posteriormente, con ayuda de una micropipeta multicanal se agregaron 50 µL del antígeno somático o flagelar, según lo correspondiente, en los pocillos de las microplacas con el antisuero, una vez culminado este paso, las microplacas se cubrieron completamente con papel film y se incubaron. Las correspondientes al antígeno somático se incubaron por 24 horas a 50 °C y las correspondientes al antígeno flagelar se incubaron por 2 horas a 50 °C. Posterior a la incubación se realizó la lectura de las reacciones en las placas, los resultados positivos fueron aquellos que mostraron un precipitado en el fondo del pocillo de la placa, producto de la interacción antígeno-anticuerpo. Posteriormente se

realizó la titulación de reacción con diluciones de antisueros de 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12800 en solución salina al 0.85%, con el objetivo de disminuir las reacciones cruzadas. Por último, en aquellas reacciones que se necesitaba confirmación se realizó la titulación con sueros puros con diluciones de 1:50 hasta 1:6400, se definieron los antígenos que presentaron mayor grado de aglutinación con la mayor dilución del suero (Morales-Cauti et al., 2020; Morales et al., 2017; Navarro et al., 2021; Ørskov & Ørskov, 1984).

Asignación de patotipo para los serotipos determinados

Una vez que se obtuvieron los serotipos de los aislados de *E. coli*, se procedió a realizar un cotejo y asignación dentro de los patotipos de *E. coli*, para ello se realizó una búsqueda de los reportes de los serotipos en la literatura especializada, con ayuda de los motores de búsqueda Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), PubMed® (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) y ScienceDirect® (<https://www.sciencedirect.com/>), se realizó una base de datos en una hoja de cálculo de Excel Office® 2019 para el control de la información recopilada y se calculó el porcentaje de los serotipos reportados en la literatura dentro de un patotipo, los serotipos reportados como inespecíficos en la literatura y los serotipos no reportados en la literatura.

Cálculo de índices ecológicos

Para el análisis de la diversidad de los serotipos de *E. coli* en las muestras de carne, se realizó el cálculo de 4 índices ecológicos (Moreno, 2001; Valdez et al., 2018):

Índice de diversidad de Simpson (D):

$$D = 1 - \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)}$$

Índice de dominancia de Berger-Parker (d):

$$d = \frac{N_{\text{Max}}}{N_T}$$

Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H'):

$$H' = - \sum_{i=1}^s [(p_i) \times \ln(p_i)]$$

Índice de equidad de Pielou (J'):

$$J' = H' / \ln(S)$$

Resistencia antimicrobiana

Se evaluó la resistencia antimicrobiana de los aislados de *E. coli* identificados bioquímica y serológicamente. Se utilizaron los multidiscos PT-35 MULTIBAC I.D. (Investigación Diagnóstica S.A. de C.V., México, CDMX) para bacterias Gram negativas con 12 antibióticos: amikacina (AK 30 µg), ampicilina (AM 10 µg), carbenicilina (CB 100 µg), cefalotina (CF 30 µg), cefotaxima (CFX 30 µg), ciprofloxacino (CPF 5 µg), cloranfenicol (CL 30 µg), gentamicina (GE 10 µg), netilmicina (NET 30 µg), nitrofurantoína (NF 300 µg), norfloxacino (NOF 10 µg) y sulfametoxazol/trimetoprim (STX 25 µg). Los 12 antibióticos utilizados pertenecen a 6 familias de antibióticos: β-lactámicos (AM, CB, CF y CFX), aminoglucósidos (AK, GE y NET), fluoroquinolonas (CPF y NOF), fenicoles (CL), nitrofuranos (NF) y sulfonamidas potencializadas (STX). La evaluación de la sensibilidad antibiótica se realizó siguiendo el método de difusión en disco Kirby-Bauer. Para ello, las cepas de *E. coli* se sembraron por estría en agar Mueller-Hinton MCD LAB® (No. catálogo 7131) se incubaron por 24 horas a 37 °C y del cultivo fresco se tomó con ayuda de un asa bacteriológica de 1 a 3 colonias de *E. coli* para inocularlas en tubos de ensayo de 13 x 100 mm con 5 mL de caldo Mueller-Hinton DIFCO® (No. de catálogo

275730), hasta conseguir una turbidez similar a 0.5 de la escala de MacFarland, con el fin de obtener una concentración de 1.5×10^8 de CFU mL⁻¹ de caldo, la turbidez se fue ajustando según el caso, ya sea agregando más colonias en caso de que faltara turbidez o diluyendo con caldo en caso de exceder la turbidez requerida. Una vez alcanzada la turbidez a 0.5 de la escala de MacFarland, se sumergió un hisopo estéril para posteriormente inocular en cajas Petri con agar Mueller-Hinton MCD LAB® (No. catálogo 7131) se cercioró de cubrir por completo la superficie del agar, una vez que se encontraba totalmente seca la superficie del agar, se colocaron los multidiscos con ayuda de unas pinzas de disección estériles, posteriormente se incubaron por entre 16-18 horas a 37 °C (Hudzicki, 2009). Una vez transcurrido el periodo de incubación, se midieron los halos de inhibición con una regla milimétrica, siguiendo las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés “Clinical and Laboratory Standards Institute”); el diámetro obtenido de cada antibiótico se comparó con la tabla de referencia del diámetro y los puntos de corte de la concentración mínima inhibitoria para *Enterobacteriaceae* del CLSI, los resultados se expresaron por categorías: sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) (CLSI, 2020).

Análisis de datos de la resistencia de *E. coli*

Los datos obtenidos se manejaron en una hoja de cálculo Microsoft Office Excel® 2019, donde se calculó el porcentaje de aislados que presentaron resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad, por familia de antibiótico y por antibiótico evaluado. Adicionalmente se determinaron los perfiles de resistencia, la frecuencia de cada perfil, la clasificación del perfil dentro de la multiresistencia y también se calculó el índice de resistencia múltiple a antibióticos (MARI por sus siglas en inglés “Multiple Antibiotic Resistance Index”). Para ello se siguieron guías para la estandarización de la clasificación de la resistencia antimicrobiana, inicialmente, todos los antibióticos que presentaron aislados con sensibilidad intermedia, se consideraron

como resistentes. Para la clasificación de MDR, se consideraron 8 categorías de antibióticos: penicilinas (AM y CB), cefalosporinas de 1.^a y 2.^a generación (CF), cefalosporinas de 3.^a y 4.^a generación (CFX), aminoglucósidos (AK, GE y NET), fluoroquinolonas (CPF y NOF), fencoles (CL), nitrofuranos (NF) e inhibidores del folato (STX). La clasificación de la resistencia fue: no multirresistente si se presentó resistencia a un compuesto de 2 o menos categorías de antibióticos; multirresistencia (MDR por sus siglas en inglés “Multidrug-resistant”) cuando se presentó resistencia al menos a 1 compuesto de entre 3 y 5 categorías de antibióticos; resistencia extendida (XDR por sus siglas en inglés “Extensively drug-resistance”) cuando se presentó resistencia a al menos 1 compuesto de entre 6 y 8 categorías de antibióticos; y finalmente panresistencia (PDR por sus siglas en inglés “Pandrug-resistant”) cuando se presentó resistencia a todos los compuestos de las 8 categorías evaluadas (CLSI, 2020; Magiorakos et al., 2012). Por otro lado, para el cálculo de MARI se dividió el número de antibióticos a los que un aislado presentó resistencia sobre el total de antibióticos evaluados; valores >0.2 indican riesgo alto para la salud (Afshan et al., 2021; Jain et al., 2021).

Extracción de DNA

La extracción de DNA se realizó por el método de choque térmico. Primero se sembraron las cepas de *E. coli* en agar Mueller-Hinton MCD LAB[®] (No. catálogo 7131) con un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C. Posterior a ello se tomó aproximadamente 1/16 de la superficie de la caja de colonia fresca, después fue suspendida en 400 µL de agua destilada estéril en un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL, para realizar un enjuague, esta se mezcló completamente con ayuda de un agitador Vórtex VX-200 Labnet[®] a 3,400 rpm por 30 segundos, posteriormente se centrifugó a 14,500 rpm por 5 minutos en una microcentrífuga MiniSpin Eppendorf[®] y se retiró el sobrenadante. Al pellet que quedó, se le agregaron 200 µL de agua destilada estéril y se homogenizó perfectamente con ayuda del vórtex. Posterior a ello, las muestras se

sometieron a calor a 100 °C en un baño seco digital BSH1002-E Benchmark Scientific® y a frío a -20 °C en una placa de hielo resguardada en un congelador, estos pasos se efectuaron con intervalos de 5 minutos en cada temperatura hasta completar 3 ciclos. Después del choque térmico, las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 14500 rpm, se recuperó el sobrenadante que contiene el material genético en tubos para microcentrifuga de 1.5 mL estériles y se mantuvieron en congelación a -20 °C para usos posteriores (Ribeiro et al., 2016).

Lectura de concentración y pureza del material genético

Se midió la pureza y concentración del DNA en el espectrofotómetro ND-1000 Thermo NanoDrop®; como blanco se utilizó agua destilada estéril. Se consideró una concentración de DNA óptima >150 ng/μL; en cuanto a la pureza, para la relación de absorbancia A260/280 se consideró que el DNA fue óptimo cuando el valor fue de entre 1.8-2.0, y con pureza aceptable si la relación fue >1.6; en complemento, la relación de absorbancia A260/230 se consideró un valor óptimo de pureza de entre 2.0-2.2, y pureza aceptable >1.8 (BNADN, 2020).

Genes de resistencia antimicrobiana

Se determinaron 7 genes de resistencia antimicrobiana a todos los aislados de *E. coli* identificados bioquímica y serológicamente, los cuales fueron: *acc(6')/le-aph(2'')-la* que confiere resistencia contra aminoglucósidos; *bla*_{TEM-1}, *bla*_Z y *bla*_{PSE-1} asociados a resistencia contra β-lactámicos; *floR* que confiere resistencia a fenoles; y *gyrA* y *parC* asociados a resistencia frente a las fluoroquinolonas. Para todos los genes se ocupó el kit para PCR GoTaq® Flexi DNA Polymerase (No. catálogo M8291) y el Termociclador Mastercycler® Pro con panel de control Eppendorf®. El gen *acc(6')/le-aph(2'')-la* se determinó por PCR punto final, con los iniciadores *aacF* (5' CAGAGCCTTGGGAAGATGAAG 3') y *aacR* (5' CCTCGTGTAATTCATGTTCTGGC 3') (Vakulenko et al., 2003); la concentración de la mezcla de reacción fue: 1X de buffer, 1.5 mM

de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 1.0 μM de cada iniciador, 1.0 U de Taq polimerasa y 1.0 μL de DNA, ajustado a un volumen final de reacción de 25 μL. Las condiciones de reacción fueron: desnaturalización inicial a 94 °C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización (94 °C por 40 segundos), alineación (55 °C por 40 segundos), extensión (72 °C por 40 segundos) y una extensión final a 72 °C por 2 minutos. Para el gen *bla*_{PSE-1} se utilizaron los iniciadores Pse-F (5' GGCAATCACACTCGATGATGCGT 3') y Pse-R (5' GGCTCAATACGGTCTAGACGAGT 3') (Chiu et al., 2006). La concentración de mezcla de reacción fue de: 1X de buffer, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 1.0 μM de cada iniciador, 1.0 U de Taq polimerasa y 1.0 μL de DNA, ajustado a un volumen final de reacción de 25 μL. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización inicial a 95 °C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturalización (95 °C por 45 segundos), alineación (62 °C por 45 segundos), extensión (72 °C por 1 minuto) y una extensión final a 72 °C por 5 minutos. Para el gen *floR*, se utilizaron los iniciadores FloR-F (5' CTTTGGCTATACTGGCGATG 3') y FloR-R (5' GATCATTACAAGCGCGACAG 3') (Chiu et al., 2006). Se utilizó una mezcla de reacción con una concentración de: 1X de buffer, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 1.0 μM de cada iniciador, 1.0 U de Taq polimerasa y 1.0 μL de DNA, ajustado a un volumen final de reacción de 25 μL. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización inicial a 95 °C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturalización (95 °C por 45 segundos), alineación (57 °C por 45 segundos), extensión (72 °C por 1 minuto) y una extensión final a 72 °C por 5 minutos. Por otro lado, los genes *bla*_Z y *bla*_{TEM} se determinaron por PCR-multiplex, se utilizaron los iniciadores BlaZ-F (5' -ACTTCAACACCTGCTGCTTTC 3') y BlaZ-R (5' TGACCACTTTTATCAGCAACC 3') (Duran et al., 2012), BlaTEM-F (5' ATGAGTATTCAACATTTCCG 3') y BlaTEM-R (5' CCAATGCTTAATCAGTGAGG 3') (Tofteland et al., 2007). El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25 μL con una concentración de: 1X de buffer, 3.0 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 0.6 μM de cada iniciador, 2.0 U de Taq polimerasa y 3.0 μL de DNA. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización inicial a 94.5 °C por 4 minutos, seguido de 15 ciclos de desnaturalización (94 °C por 30 segundos),

alineación (56 °C por 30 segundos), extensión (72 °C por 40 segundos), seguido de 15 ciclos de desnaturalización (95 °C por 30 segundos), alineación (54 °C por 30 segundos), extensión (72 °C por 30 segundos), seguido de 15 ciclos de desnaturalización (94 °C por 30 segundos), alineación (56 °C por 30 segundos), extensión (72 °C por 40 segundos), seguido de 15 ciclos de desnaturalización (95 °C por 30 segundos), alineación (54 °C por 30 segundos), extensión (72 °C por 30 segundos) y una extensión final a 72 °C por 10 minutos. Finalmente, los genes *gyrA* y *parC* se determinaron por PCR-multiplex, se utilizaron los iniciadores *gyrA*-F (5' AGGGGATGTTATGGGTAAAT 3') y *gyrA*-R (5' GTGAATTCCAGATTTCCCCAT 3'), *parC*-F (5' CTTGAGGACATCATGGGAGAG 3') y *parC*-R (5' TTCCGTATCGTCAAAGTTCC 3') (Uruén et al., 2024). El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25 µL con una concentración de: 1X de buffer, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 0.8 µM de cada iniciador para el gen *gyrA*, 0.4 µM de cada iniciador para el gen *parC*, 1.0 U de Taq polimerasa, 1.0 µL de DNA y 15.7 µL de agua libre de nucleasas. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización inicial a 94 °C por 10 segundos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización (94 °C por 45 segundos), alineación (55 °C por 30 segundos), extensión (72 °C por 1 minuto), seguido de una extensión final a 72 °C por 7 minutos.

Visualización de los productos amplificados de los genes de resistencia

La presencia de los amplicones: *bla*_{PSE-1} 156 pb, *bla*_Z 173 pb, *floR* 266 pb, *acc(6')Ie-aph(2'')-Ia* 348 pb, *parC* 423 pb, *gyrA* 481 pb, y *bla*_{TEM-1} 858 pb, se verificaron por electroforesis en gel de agarosa al 2.00%, con una corrida de 2 horas a 80V, el gel se tiñó con bromuro de etidio y se colocó en un fotodocumentador Gel Logic 1500 Imaging Kodak® para capturar el revelado de la electroforesis con las bandas correspondientes (Reyes-Rodríguez et al., 2020).

Análisis de datos del perfil genotípico de resistencia

Los datos obtenidos de esta sección se manejaron en una hoja de cálculo Microsoft Office Excel® 2019, para cada gen de resistencia antimicrobiana se calculó la frecuencia y el porcentaje de aislados positivos y negativos, para su expresión gráfica. Adicionalmente, se realizó una comparativa entre la frecuencia de la resistencia expresada fenotípica y la genotípicamente, para ello se calculó una χ^2 para determinar la existencia de asociación entre estas dos variables, y posteriormente se calculó el índice V de Cramer para determinar el grado de asociación (Akoglu, 2018).

Factores de virulencia

La determinación de los genes de virulencia se realizó a 180 aislados, en éstos se incluyeron los que se identificaron dentro del patotipo de EHEC, los reportados como inespecíficos y aquellos no reportados en la literatura, con base en la búsqueda de los serotipos. Se determinaron 4 genes de virulencia: *stx1*, *stx2*, *eaeA*, y *hlyA*. Se realizó una PCR-multiplex para detectar estos genes, para ello se utilizó el kit para PCR GoTaq® Flexi DNA Polymerase (No. catálogo M8291) y los siguientes primers *stx1*-F (5' ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC 3'), *stx1*-R (5' AGAACGCCCACTGAGATCATC 3'), *stx2*-F (5' GGCACTGTCTGAAACTGCTCC 3'), *stx2*-R (5' TCGCCAGTTATCTGACATTCTG 3'), *eaeA*-F (5' GACCCGGCACAAGCATAAGC 3'), *eaeA*-R (5' CCACCTGCAGCAACAAGAGG 3'), y *hlyA*-F (5' GCATCATCAAGCGTACGTTCC 3'), *hlyA*-R (5' AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT 3') (Paton & Paton, 1998, 2002). El volumen final de la reacción fue de 25 µL, con concentración de: 1X de buffer, 1.0 mM de MgCl₂, 0.08 mM de dNTPs, *stx1*F 1.0 µM, *stx1*R 1.0 µM, *stx2*F 1.0 µM, *stx2*R 1.0 µM, *hlyA*F 1.0 µM, *hlyA*R 1.0 µM, *eaeA*F 1.0 µM, *eaeA*R 1.0 µM, 1.0 U de Taq polimerasa, 5.0 µL de DNA, y 10.2 de agua libre de nucleasas, la mezcla de reacción fue depositada en tubos para microcentrifuga de 200 µL. Se utilizó el Termociclador Mastercycler® Pro con panel de control Eppendorf® con

las siguientes condiciones: 9 ciclos de: desnaturalización (95°C por 1 minuto), alineación (66°C por 2 minutos) y extensión (72°C por 1:30 minutos); 5 ciclos de: desnaturalización (95°C por 1 minuto), alineación (65.5°C por 2 minutos) y extensión (72°C por 1:30 minutos); 9 ciclos de: desnaturalización (95°C por 1 minuto), alineación (61.5°C por 2 minutos) y extensión (72°C por 1:30 minutos); finalmente 10 ciclos de: desnaturalización (95°C por 1 minuto), alineación (61°C por 2 minutos) y extensión (72°C por 2:30 minutos) (Reyes-Rodríguez et al., 2015).

Visualización de los productos amplificados de los genes de virulencia

La presencia de los amplicones: *stx1* 180 pb, *stx2* 255 pb, *eaeA* 384 pb, *hlyA* 534 pb, se verificaron por electroforesis en gel de agarosa al 2.00%, con una corrida de 2 horas a 80V, el gel se tiñó con bromuro de etidio y se colocó en un fotodocumentador Gel Logic 1500 Imaging Kodak® para capturar el revelado de la electroforesis con las bandas correspondientes (Reyes-Rodríguez et al., 2020).

Análisis de datos de la presencia de genes de virulencia

Los datos obtenidos de esta sección se manejaron en una hoja de cálculo Microsoft Office Excel® 2019, se calculó la frecuencia y el porcentaje de aislados positivos y negativos para los 4 genes de virulencia, para su expresión gráfica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Conteos de unidades formadoras de colonias de coliformes totales

Se realizó el conteo de coliformes totales de los 87 puntos de venta, desafortunadamente, a la fecha del análisis de resultados, no existe una norma oficial mexicana que establezca un LMP de coliformes en carne molida. No obstante, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA por sus siglas en inglés “United States Department of Agriculture”) a través de la Ley Nacional de Almuerzos Escolares Richard B. Russell (Richard B. Russell National School Lunch Act), establece un LMP de 1000 (10^3) CFU g^{-1} de coliformes totales en carne molida (USDA/AMS, 2015). En el marco regulatorio de este LMP, de los 87 puntos de venta, únicamente 1 (1.15%) cumple este criterio, éste pertenece al municipio A y se trata de la muestra A5 con 895 ($10^{2.951}$) CFU g^{-1} de coliformes totales (Figura 3-A). Los puntos de venta A1 y A2 presentaron conteos de 7700 ($10^{3.886}$) y 1385 ($10^{3.141}$) CFU g^{-1} respectivamente, en cambio, las muestras A4, A6, A9, A10, A11, A13 y A14 tuvieron conteos de 10^7 CFU g^{-1} , y los puntos de venta A3, A7, A8, A12, A15 presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 3-A). Para el municipio B, las muestras B2, B3, B6 e B21 presentaron conteos de 3300 ($10^{3.518}$), 4700 ($10^{3.672}$), 3600 ($10^{3.556}$) y 3500 ($10^{3.544}$) CFU g^{-1} respectivamente, mientras que las muestras B5, B9, B11, B13 e B15 presentaron conteos de 10^7 CFU g^{-1} y las muestras B1, B4, B7, B8, B10, B12, B14, B16, B17, B18, B19 e B20 tuvieron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 3-B). El municipio C, tuvo la particularidad de que los 25 puntos de venta muestreados (C1-C25), presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 3-C). Por último, el municipio D presentó la muestra D1 con 6900 ($10^{3.838}$) CFU g^{-1} , mientras que las carnicerías D2, D3, D5, D17, D18, D19, D20, D21 y D26 tuvieron conteos de 10^7 CFU g^{-1} , y las muestras D4, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D22, D23, D24 y D25 presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 3-D).

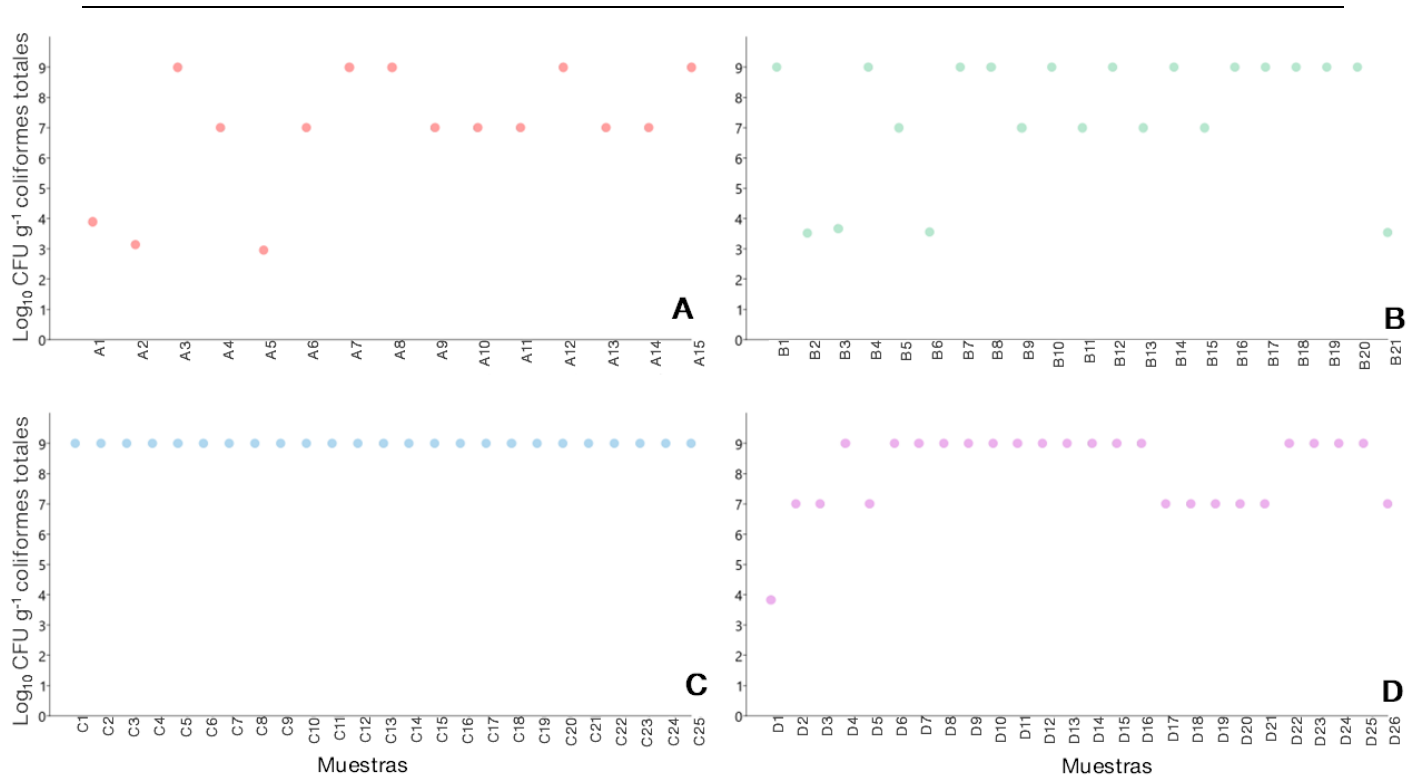


Figura 3. Conteos de CFU de coliformes totales en las muestras de carne molida. A) muestras del municipio A; B) muestras del municipio B; C) muestras del municipio C; D) muestras del municipio D. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$).

Por otro lado, 86 (98.85%) puntos de venta se encuentran con conteos de coliformes totales $>1000 \text{CFU g}^{-1}$, porcentaje similar al obtenido en Monterey, Nuevo León donde se reportó que el 100.00% de la carne analizada se encontró fuera de este LMP (García & Salazar, 2001), contrario al reporte de Estados Unidos, donde, de los años 2015-2018 únicamente el 0.07% de las muestras y de los años 2019-2022 el 0.16% de las muestras analizadas superaron las 1000 CFU g^{-1} (Stone et al., 2025; Vial et al., 2019), resaltando las deficiencias que presenta la regulación mexicana respecto a este indicador microbiológico en la carne, al no existir un LMP establecido en ninguna normativa. Al igual, se obtuvo una media general de $8.250 \pm 1.673 \text{log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$; por municipio, el municipio C fue el que presentó mayor carga de coliformes con una media de $9 \text{log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$, seguido del municipio D con $8.791 \pm 1.296 \text{log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$, el municipio B con $8.758 \pm 2.120 \text{log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$, por último, el municipio A con $8.528 \pm 2.085 \text{log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$; por otro lado, no se encontró diferencia estadística entre las medias ($p= 0.2$). En otras regiones

del país se han reportado conteos >1000 CFU g^{-1} de coliformes en carne de res, como lo reportado en Jalisco con una media de $10^{4.700}$ CFU g^{-1} (Cabrera et al., 2020); mientras que en Ciudad de México se reportó una media de $10^{3.130}$ CFU g^{-1} (Pond et al., 2016). Igualmente, en otros sitios como el Cairo, Egipto, se reportó una media de $10^{3.623}$ CFU g^{-1} en carne local y $10^{3.851}$ CFU g^{-1} en carne importada (Hassanien et al., 2020), mientras que, en Windhoek, Namibia la media fue de $10^{4.010}$ CFU g^{-1} (Nkandi, 2017). Sin embargo, la carga de coliformes en carne fue al doble en el presente estudio, evidenciando una calidad microbiológica deficiente en la región de estudio, que, sin duda alguna, representa una amenaza en el ámbito de salud pública, esto por la presencia de patógenos de origen entérico que puede albergar la carne y que conforman a este grupo indicador, tales como *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. y *Klebsiella* spp. (Martin et al., 2016). Además, la presencia elevada de coliformes totales en la carne analizada se encuentra altamente relacionada con deficiencias sanitarias durante la cadena alimentaria, en particular en malas prácticas de manufactura durante el procesamiento de la carne en los puntos de venta, enmarcando principalmente deficiencias en los procesos de sanitización y desinfección de equipos, utensilios y cualquier superficie que se encuentre en contacto con la carne, además de una mala calidad del agua utilizada en los establecimientos, prácticas antihigiénicas por parte de los manipuladores de este alimento, sin pasar por alto que parte de esta contaminación puede provenir del ambiente (Kassem et al., 2020; Laban et al., 2021; Mladenović et al., 2021).

Conteo de Unidades Formadoras de Colonias de *E. coli*

La norma oficial mexicana NOM-194-SSA1-2004 establece un LMP de 5000 CFU g^{-1} ($10^{3.7}$ CFU g^{-1}) de carne molida. Los conteos de cada municipio se expresan en la Figura 4. El municipio A presentó 5 (33.33%) puntos de venta dentro de este LMP y 10 (66.66%) que estuvieron fuera del LMP, las muestras A1, A2, A5, A10 y A11 presentaron conteos de 750 ($10^{2.875}$), 100 (10^2), 160 ($10^{2.204}$), 580 ($10^{2.763}$) y 705 ($10^{2.848}$) CFU g^{-1} respectivamente, mientras que las muestras

A4, A6, A9, A13 y A14 presentaron conteos de 10^7 CFU g^{-1} , Asimismo las muestras A3, A7, A8, A12 y A15 presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 4-A). El municipio B presentó 6 (28.57%) puntos de venta con conteos <5000 CFU g^{-1} y 15 (71.42%) puntos de venta con conteos >5000 CFU g^{-1} , de manera específica las muestras B10 e B21 no presentaron conteos para *E. coli*, además, las muestras B2, B3, B6 e B18 presentaron conteos de 260 ($10^{2.414}$), 475 ($10^{2.676}$), 385 ($10^{2.585}$) y 200 ($10^{2.301}$) CFU g^{-1} respectivamente, mientras que, las muestras B5, B9, B11, B13 y B15 presentaron conteos de 10^7 CFU g^{-1} y las muestras B1, B4, B7, B8, B12, B14, B16, B17, B19 y B20 presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 4-B). Por otro lado, el municipio C presentó únicamente 2 (8.00%) puntos de venta con conteos <5000 CFU g^{-1} y 23 (92.00%) con conteos >5000 CFU g^{-1} , específicamente, las carnicerías C2 y C16 presentaron conteos de 535 ($10^{2.728}$) y 250 ($10^{2.397}$) CFU g^{-1} , mientras que el resto de carnicerías (C1, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C24 y C25) presentaron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 4-C). El municipio D presentó 3 (11.53%) puntos de venta dentro del LMP establecido por la NOM-194-SSA1-2004, mientras que 23 (88.46%) estuvieron fuera de este LMP; las carnicerías D1, D3 y D21 presentaron conteos de 460 ($10^{2.662}$), 220 ($10^{2.342}$) y 290 ($10^{2.462}$) CFU g^{-1} respectivamente, en cambio, los puntos de venta D2, D5, D17, D18, D19, D20 y D26 presentaron conteos de 10^7 CFU g^{-1} , y los puntos de venta D4, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D22, D23, D24 y D25 tuvieron conteos de 10^9 CFU g^{-1} (Figura 4-D), evidenciando conteos superiores de *E. coli* en los últimos dos municipios, ubicados al sur de la región. En un contexto general, de las 87 carnicerías analizadas, el 81.60% (71/87) presentaron conteos superiores al LMP, en cambio, el 18.40% (16/87) de los puntos de venta presentaron conteos dentro del LMP estipulado por la norma oficial mexicana, contrastando con otros estudios realizados en el país, en la ciudad de Guadalajara, Jalisco se reportó que el 61.50% de las muestras analizadas se encontraban fuera del LMP, en cambio el 38.50% cubrían el LMP de la norma (Cabrera et al., 2020), contrario a lo reportado en la ciudad de Culiacán, Sinaloa con conteos que oscilaban entre las 100-700 CFU

g^{-1} (Jiménez et al., 2012), evidenciando mayor carga de *E. coli* en carne de res en el presente estudio.

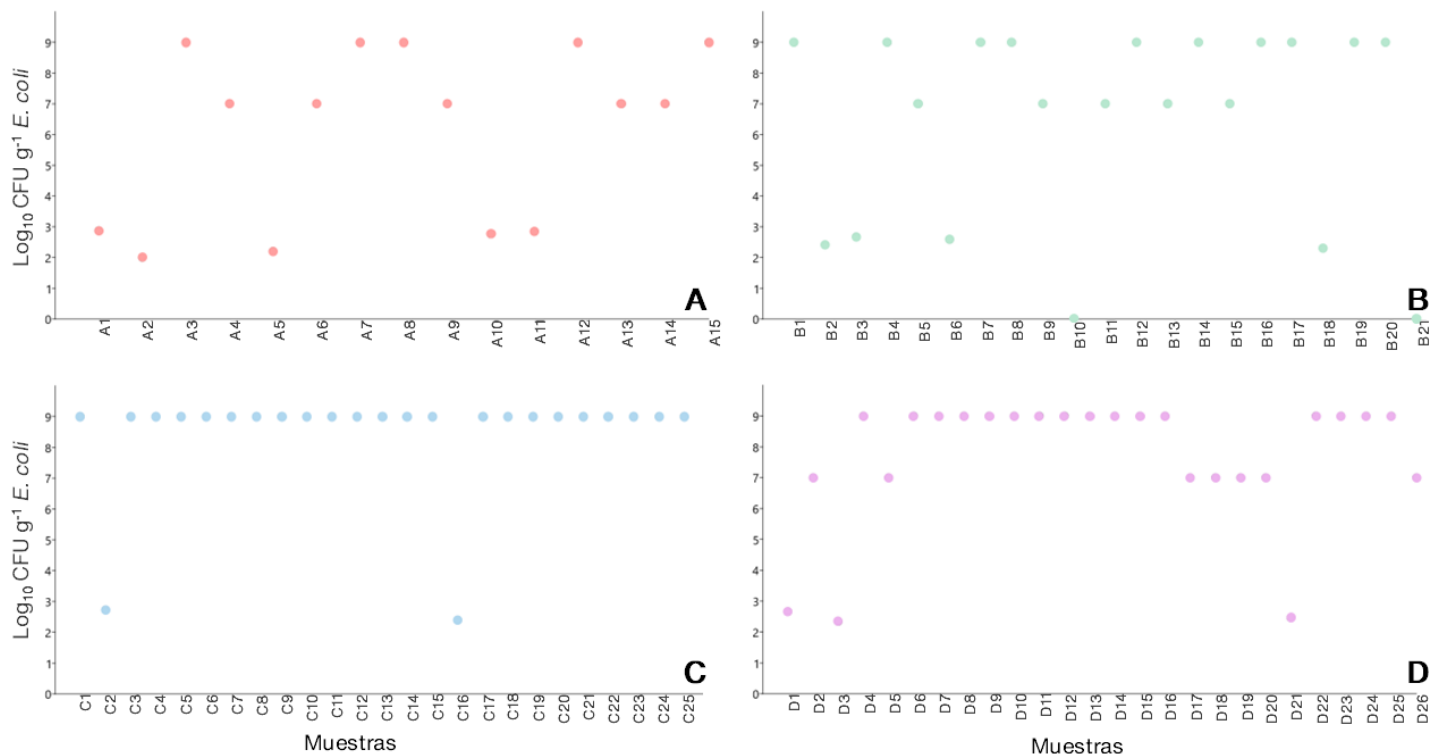


Figura 4. Conteos de CFU de *E. coli* en las muestras de carne molida. A) muestras del municipio A; B) muestras del municipio B; C) muestras del municipio C; D) muestras del municipio D. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$).

En comparativa con otros LMP de índole internacional, dependencias como la USDA (USDA/AMS, 2015) y la Unión Europea (EU por sus siglas en inglés “European Union”) a través del reglamento (EC) No 1441/2007 (European Council, 2007) establecen un LMP de 500 ($10^{2.700}$) CFU g^{-1} de *E. coli* en carne molida o picada, contrastando nuestros datos con este LMP, se obtuvo que el 11.50% (10/87) de las muestras se encuentran dentro del LMP, mientras que, el 88.50% (77/87) exceden el LMP, lo que implica que la calidad microbiológica de la mayoría de la carne analizada presenta deficiencias y por consecuencia, limitaciones para su comercialización o distribución en los países bajo estas normas, una situación que cobra relevancia debido a que aproximadamente el 11.00% de la carne de res importada en Estados

Unidos proviene de México (USDA, 2025), por ejemplo, en el 2024 de las 272 mil toneladas exportadas nacionalmente, el 87.60% fue destinado a Estados Unidos (COMECARNE, 2025). En complemento, en otras regiones del mundo como Turquía, se reportó una media de $10^{3.110}$ CFU g⁻¹ de *E. coli* en carne molida (Eyi & Arslan, 2012), en Líbano se reportó el 76.00% de muestras de carne molida con conteos de >500 CFU g⁻¹ (Kassem et al., 2020), asimismo en Irak se reportó que el 93.33% de la carne local evaluada presentó conteos >500 CFU g⁻¹ y 90.00% de carne proveniente de la India presentó conteos >500 CFU g⁻¹ (Al-Chalaby, 2020), evidenciando así la presencia de *E. coli* en altas concentraciones y que superan el LMP de 500 CFU g⁻¹, incluidos los datos de la presente investigación, contrario a lo reportado en Estados Unidos de América con únicamente el 0.04% y 0.08% de muestras de carne con conteos de *E. coli* >500 CFU g⁻¹ en los años 2015-2018 y 2019-2022 respectivamente (Stone et al., 2025; Vial et al., 2019). Lo anterior, está relacionado a la deficiencia en la aplicación de normativa y de sistemas de vigilancia de las buenas prácticas de manufactura a lo largo de la cadena de producción primaria de la carne y en la comercialización minorista en países en vías de desarrollo (Vidal et al., 2022). Además, se evidencia la importancia de seguir con el monitoreo de *E. coli* en carne, por ser el indicador sanitario más fiable de contaminación fecal directa o indirecta en los alimentos (Scheinberg et al., 2017; Suman et al., 2022), también es un indicador de la contaminación con patógenos de origen entérico de alta relevancia en salud pública, por lo tanto, su presencia en la carne de res compromete la inocuidad de este alimento y predispone una amenaza a la salud de la población (Wang et al., 2021; Wispriyono et al., 2021). Por otro lado, se obtuvo una media general de $8.794 \pm 2.600 \log_{10}$ CFU g⁻¹ de *E. coli* de las 87 muestras analizadas, evidenciando conteos de *E. coli* elevados, adicionalmente, se obtuvo en C los conteos más altos de *E. coli* en las muestras de carne, con una media de $8.963 \pm 1.780 \log_{10}$ CFU g⁻¹, seguido de D con $8.791 \pm 2.120 \log_{10}$ CFU g⁻¹, cabe mencionar, que estos municipios corresponden a la zona sur de la región del Valle del Mezquital. Adicionalmente, de los municipios que incluye la zona norte de la región, A presentó los conteos más bajos, con una media de $8.527 \pm 2.800 \log_{10}$ CFU g⁻¹ y B presentó una media de $8.679 \pm 3.250 \log_{10}$ CFU g⁻¹

(Figura 5). La comparativa entre municipios evidencio diferencias estadísticas significativas ($p=0.01$), donde el municipio C presentó el mayor valor en los conteos de *E. coli* (Figura 5).

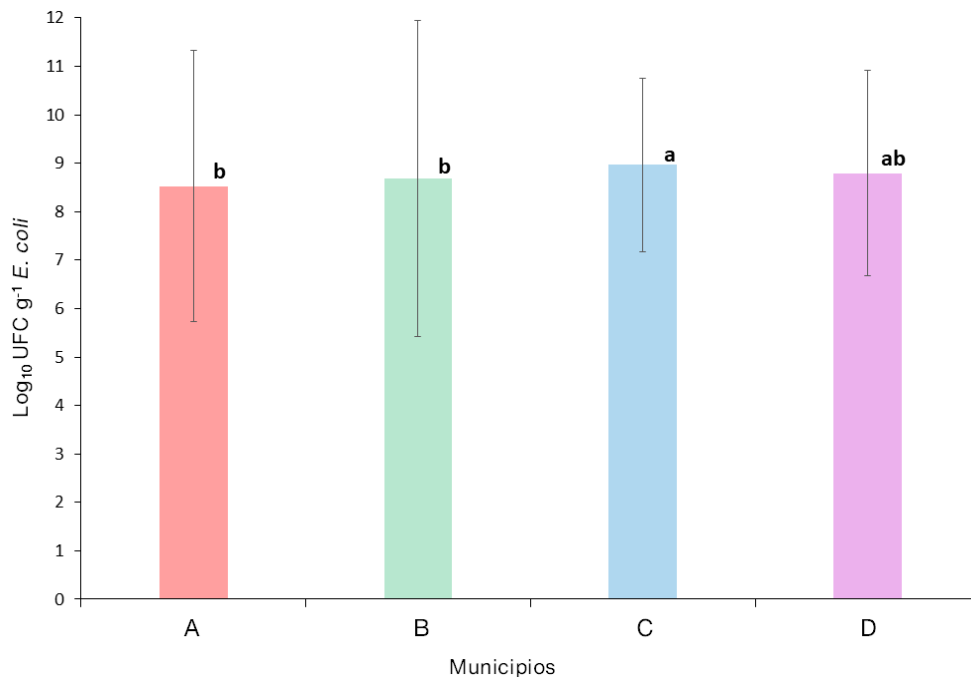


Figura 5. Recuento de *E. coli* en las muestras de carne molida del Valle del Mezquital, las barras expresan la media \pm desviación estándar por municipio analizado. Los valores son expresados en escala logarítmica base 10 sobre gramo de carne ($\text{Log}_{10} \text{CFU g}^{-1}$). Los superíndices indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

Evaluación sanitaria de los puntos de venta

De los 53 ítems de la lista de verificación sanitaria, 41 ítems fueron susceptibles para el cálculo del *Odds Ratio* (*OR*). La primera categoría, consistió en los ítems relacionados a la infraestructura, equipos y utensilios. Los valores de *OR* correspondientes se ilustran en la Figura 6. Se observó que diferentes elementos pueden jugar un rol como factores de exposición protectores (valor de *OR* < 1.0), respecto a la contaminación por *E. coli* en la carne molida, entre ellos destacaron los ítems:, los equipos de refrigeración y/o congelación contaban con termómetros o dispositivos para el registro de temperatura y se encontraron funcionando correctamente y en un lugar visible ($OR= 0.36$ [IC95.00% 0.27-0.44]); los pisos, paredes, techos

y/o las uniones en las superficies de pisos o paredes se encontraban recubiertas con materiales no continuos en las áreas de producción y eran de fácil limpieza ($OR= 0.44$ [IC95.00% 0.36-0.53]); los equipos, utensilios y materiales que se emplearon en la producción y/o procesamiento, se encontraron inocuos y resistentes a la corrosión ($OR= 0.49$ [IC95.00% 0.40-0.57]); el punto de venta contaba con abastecimiento de agua potable e instalaciones apropiadas para su almacenamiento y distribución ($OR= 0.5$ [IC95.00% 0.41-0.58]); el drenaje tenía trampa contra olores, coladeras y canaletas con rejillas, libres de basura, sin estancamiento y en buen estado ($OR= 0.67$ [IC95.00% 0.58-0.75]); los equipos se encontraban instalados en forma tal, que el espacio entre estos, la pared, el techo y el piso permitían su limpieza y desinfección ($OR= 0.68$ [IC95.00% 0.59-0.76]); y finalmente, se determinó la práctica de alguna medida y/o método que garantizaba la potabilidad del agua ($OR= 0.76$ [IC95.00% 0.67-0.84]) (Figura 6). Por otro lado, aquellos ítems que no se cubrieron y que tras el cálculo del OR se determinó que incrementaban la probabilidad de contaminación de la carne molida de res con *E. coli*, fueron: una mala iluminación que impedía llevar a cabo la realización de las operaciones de manera higiénica ($OR= 2.19$ [IC95.00% 2.10-2.27]), las puertas y ventanas de las áreas de producción no se encontraban provistas de protección para evitar la entrada de lluvia y fauna nociva ($OR= 2.42$ [IC95.00% 2.33-2.50]); presencia tuberías, ductos, rieles, vigas, o cables, que pasan por encima del área de producción y donde la carne se encontraba expuesta ($OR= 2.54$ [IC95.00% 2.45-2.62]); los equipos, utensilios y materiales en contacto con la carne no fueron lisos, lavables, presentaban roturas y no permitían su desinfección ($OR= 3.0$ [IC95.00% 2.91-3.08]); no hubo protección de los focos y/o lámparas en el área de procesamiento y la carne se encontraba expuesta ($OR= 3.05$ [IC95.00% 2.96-3.13]); la presencia de tuberías con goteos que sobrepasaban por encima del área de producción y donde la carne estaba expuesta ($OR= 3.24$ [IC95.00% 3.15-3.32]) (Figura 6). En otro estudio realizado en Autlán de Navarro, Jalisco, se aplicó la misma lista de verificación en distintas carnicerías de la ciudad (Jiménez et al., 2022), las cuales, el 100.00% presentaron deficiencias en el cumplimiento de las categorías de instalaciones y áreas, así como la de servicios,

contrastando con los datos del presente estudio, 4 ítems de la categoría instalaciones y áreas, y 5 ítems de categoría de servicios presentaron un $OR > 1$, evidenciando que estas dos categorías son un área de mejora importante para garantizar la inocuidad de la carne en el país.

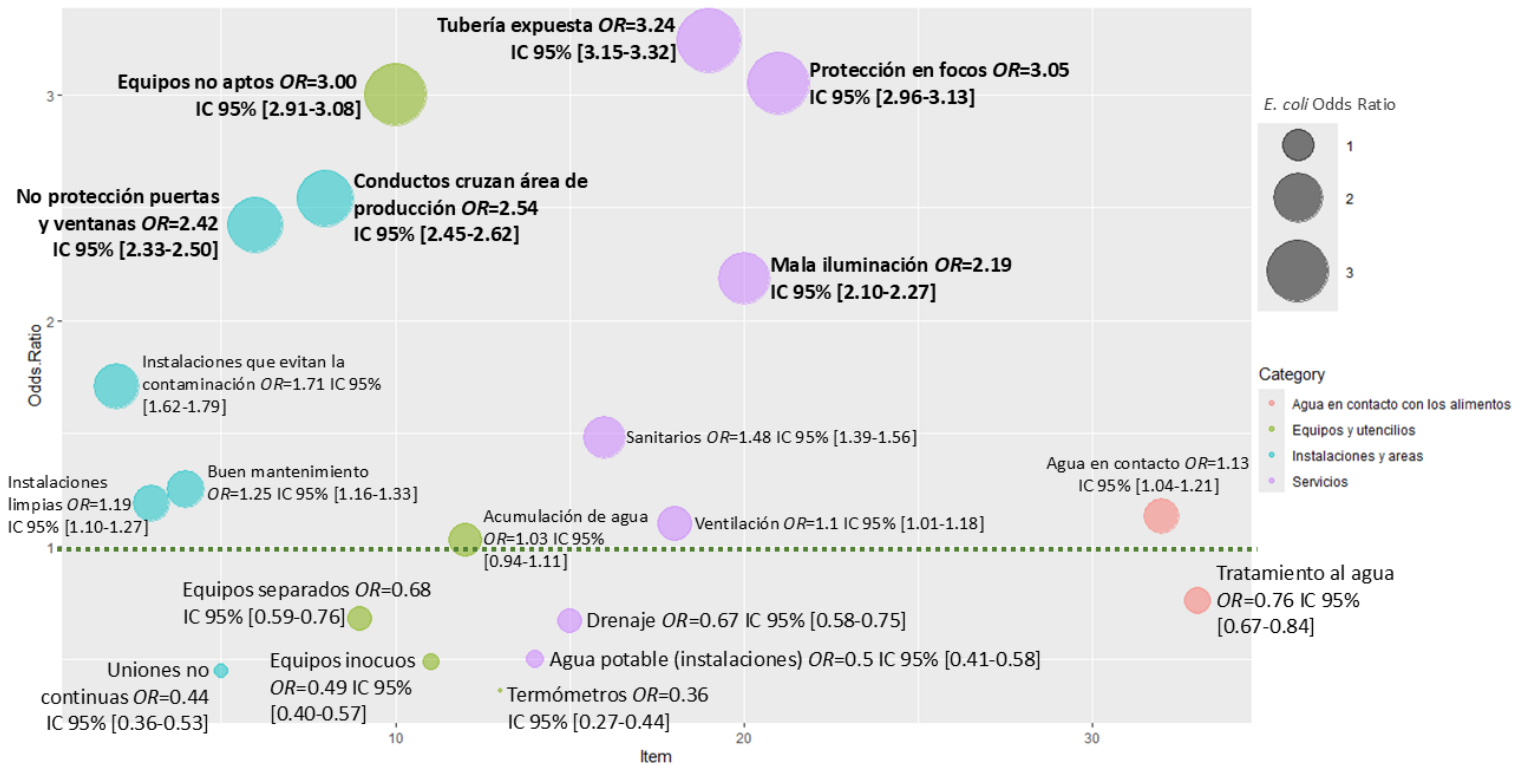


Figura 6. Valores del Odds Ratio para la presentación de *E. coli* en los puntos de venta analizados, se observan como factores de exposición los ítems del listado de verificación de buenas prácticas para establecimientos de venta de carnes rojas. Se incluyen las categorías asociadas al mantenimiento de instalaciones, equipos y utensilios.

Por otro lado, respecto a los ítems de la segunda categoría, es decir, los relacionados a la manufactura y el personal quedan ilustrados en la Figura 7. Los ítems que funcionaron como protectores ($OR < 1$) para que la carne no sufriera contaminación con *E. coli* fueron: el personal se presentó aseado al área de trabajo, con ropa y calzado limpios e íntegros, además de presentar mandil o delantal limpio y cofia o gorra para cubrir el cabello ($OR= 0.44$ [IC95.00% 0.35-0.52]); son retirados del establecimiento los productos, materiales inútiles, obsoletos o fuera de especificaciones ($OR= 0.45$ [IC95.00% 0.36-0.53]); el drenaje contaba con cubierta

para evitar la entrada de plagas provenientes del alcantarillado o áreas externas ($OR= 0.57$ [IC95.00% 0.48-0.65]); los equipos de refrigeración se encontraban a una temperatura máxima de 4°C ($OR= 0.59$ [IC95.00% 0.50-0.67]); los envases y recipientes en contacto directo con la materia prima y productos estaban protegidos del polvo, lluvia, fauna nociva y materia extraña ($OR= 0.67$ [IC95.00% 0.58-0.75]); finalmente, no hubo evidencia de que el personal coma, beba, fume, mastique, escupa, tosa y/o estornude en las áreas en donde se entre en contacto directo con materias primas, productos y envases ($OR= 0.81$ [IC95.00% 0.72-0.89]).

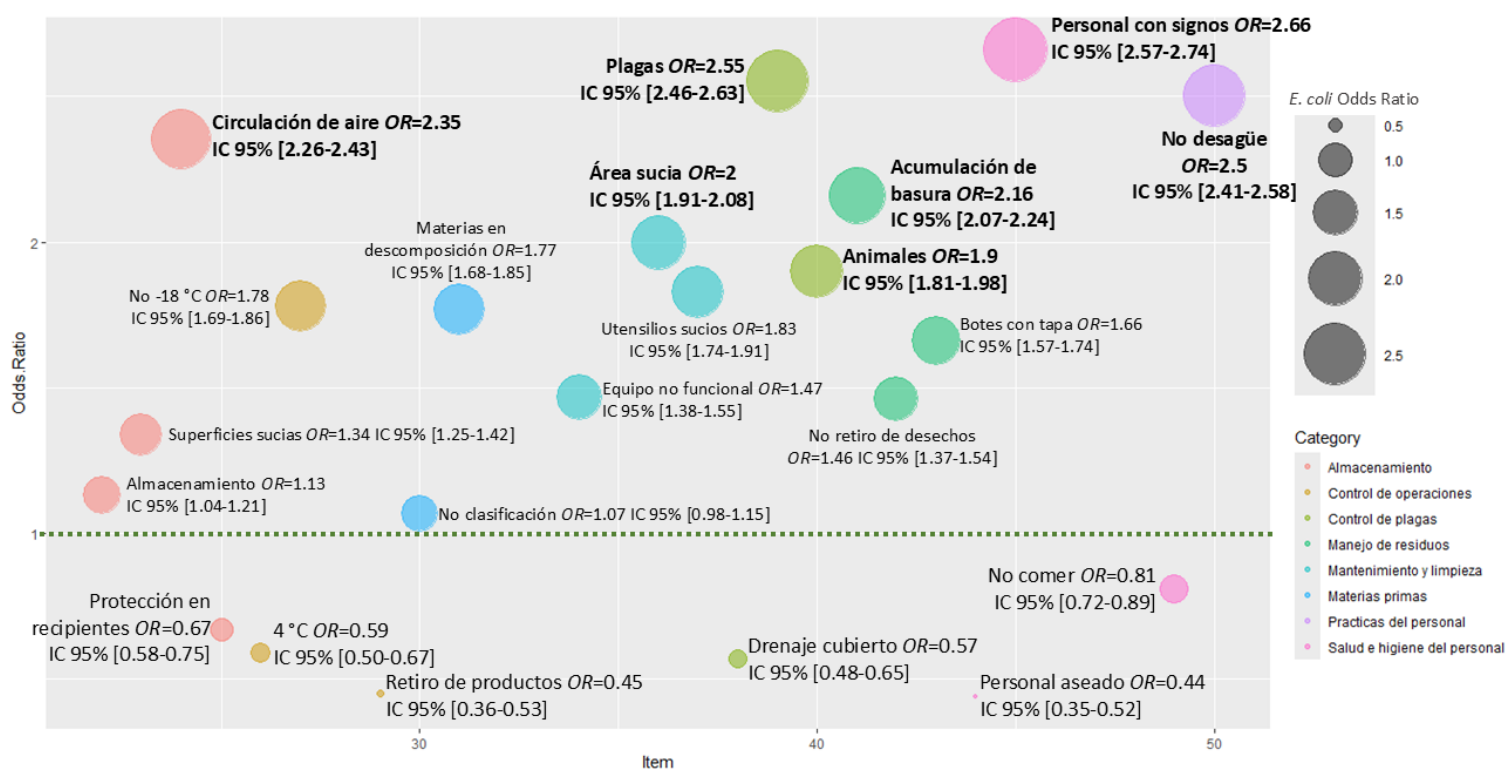


Figura 7. Valores del Odds Ratio para la presentación de *E. coli* en los puntos de venta analizados, se observan como factores de exposición los ítems del listado de verificación de buenas prácticas para establecimientos de venta de carnes rojas. Se incluyen las categorías asociadas a la manufactura y al personal.

Contrario a este escenario, los ítems cuyo incumplimiento incrementaron la probabilidad de contaminación de la carne molida con la bacteria de *E. coli*, fueron: la presencia de animales domésticos y/o mascotas en el punto de venta durante el procesamiento de la carne ($OR= 1.9$

[IC95.00% 1.81-1.98]); no se realizó una limpieza y desinfección de acuerdo a lo que requiere el procesamiento de la carne molida ($OR= 2.0$ [IC95.00% 1.91-2.08]); se presentó una acumulación de basura, desechos y desperdicios en la zona destinada para el manejo y procesamiento de la carne molida ($OR= 2.16$ [IC95.00% 2.07-2.24]); la materia prima y productos se colocaron de forma tal, que no permitían la circulación del aire ($OR= 2.35$ [IC95.00% 2.26-2.43]); los mostradores para exhibición y venta donde se utiliza hielo para conservar los productos, no contaban con un sistema de drenaje para el agua de deshielo y cuando los refrigeradores no contaban con un desagüe que en conjunto se propiciaba la acumulación de agua ($OR= 2.5$ [IC95.00% 2.41-2.58]); la presencia de plagas y/o fauna nociva en el área de procesamiento, en específico la presencia de moscas ($OR= 2.55$ [IC95.00% 2.46-2.63]); y finalmente, el personal de producción y manipulación de la carne presentó signos como tos frecuente, secreción nasal, ictericia o heridas en áreas corporales que entren en contacto directo con la materia prima o productos ($OR= 2.66$ [IC95.00% 2.57-2.64]) (Figura 7). Al igual, en el estudio realizado por Jiménez y colaboradores (2022), el 100.00% de las carnicerías presentaron deficiencias en el cumplimiento de las categorías de almacenamiento y mantenimiento y limpieza, en el presente 3 ítems de ambas categorías presentaron un $OR >1$. Lo que en conjunto sugiere que en distintas regiones del país, el almacenamiento de la carne expedida no es el correcto, además de evidenciar la falta y/o fallas en la aplicación de los Procesos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) en los puntos de venta, ya que, malas condiciones de higiene y limpieza en los equipos, utensilios y superficies en contacto con la carne se asocia directamente con la contaminación de la carne con patógenos además de favorecer su proliferación (Grace & Sandoval, 2020). Otra categoría que presentó fallas en el estudio de Jiménez y colaboradores (2022) fue control de plagas con el 85.00% de carnicerías evaluadas que no cubrieron totalmente los ítems de esta categoría, al igual que en el presente estudio, con 2 ítems con $OR >1$. En específico la plaga con mayor frecuencia fueron las moscas sinantrópicas, estos insectos son catalogados como vectores de patógenos entéricos incluida a *E. coli* por el contacto con materia fecal, que pueden adherirse en distintas partes de las

moscas, como patas, alas, piezas bucales y abdomen (Jacques et al., 2017). Lindeberg y colaboradores (2018) determinaron que la probabilidad de contaminación del arroz con *E. coli* es 5.4 veces mayor ante el contacto con moscas, por otro lado, Doza y colaboradores (2018) determinaron un incremento de la concentración media de *E. coli* en alimentos de $10^{0.35}$ NMP g⁻¹ por cada aumento de 10^1 NMP g⁻¹ en la concentración media de *E. coli* en moscas, evidenciando el papel de las moscas en la transmisión de este agente etiológico en los alimentos. Adicionalmente, datos reportados por el CDC, indicaron que en el periodo de 2014-2022, en Estados Unidos de América, el 43.50% de los brotes de ETA's de origen bacteriano reportados, se atribuyen a alimentos contaminados por fuentes animales o ambientales (Holst et al., 2025), subrayando el papel que presentan plagas como las moscas o animales domésticos en la contaminación alimentaria, y que en el presente estudio incrementaron ($OR= 2.5$ [IC95.00% 2.46-2.63] y 1.9 [IC95.00% 1.81-1.98] respectivamente) la probabilidad de contaminación de la carne con *E. coli*. Asimismo, en este reporte del CDC, se determinó que el 24.54% los brotes de ETA's se encontró relacionado a la irrupción de la cadena de frío de los alimentos por tiempos prolongados (Holst et al., 2025), complementando con lo obtenido en este estudio, donde se evidenció que al mantener controlada la temperatura (4 °C) de almacenamiento de la carne se disminuyó ($OR= 0.59$ [IC95.00% 0.50-0.67]) la probabilidad de contaminación. Otro factor importante y que presentó el valor de OR más elevado en la 2.^a categoría fue la presencia del personal con signos clínicos ($OR= 2.66$ [IC95.00% 2.57-2.64]) que presenta concordancia con los datos de CDC, en el que se le atribuye hasta un 16.00% de brotes de ETA's a trabajadores que cursaban un proceso infeccioso, esto a través del contacto directo de las manos con los alimentos (Holst et al., 2025). De manera conjunta el cálculo del OR ayudó en la determinación de la fuerza de asociación entre el cumplimiento o incumplimiento de los ítems respecto a la presencia o ausencia de *E. coli* en la carne, evidenciando que fallas en el cumplimiento de la NOM-251-SSA1-2009 favorecen la contaminación microbiológica de la carne, comprometiendo así su inocuidad y representando un riesgo potencial para la salud poblacional. Además de evidenciar fallas en la vigilancia y

aplicación de los sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP por sus siglas en inglés “Hazar Analysis and Critical Control Point”), análisis de riesgos e inspecciones sanitarias durante el procesamiento y manipulación de la carne para su comercialización en la zona de estudio, siendo este punto, la última etapa para que llegue a la mesa del consumidor, lo que subraya la importancia de atender las deficiencias sanitarias que presentaron los puntos de venta de la región de estudio, teniendo como finalidad la reducción de la contaminación microbiológica y garantizar la obtención de carne inocua (FAO, 2023a, 2023b; Focker et al., 2022; OPS, 2021; Yu et al., 2020).

Por otro lado, de los 9 ítems que no fueron susceptibles del cálculo *OR*, se tuvo que, el 82.75% (72/87) de los puntos de venta no contaban con licencia de funcionamiento vigente y en un lugar visible para el consumidor, en el 97.70% (85/87) no presentaron una separación entre las áreas de expendio o venta respecto al área donde se procesa la carne, el 98.85% (86/87) no contó con rótulos que fomentaran la higiene personal, en especial el lavado de manos después de utilizar el sanitario, en el 91.95% (80/87) no se evita la contaminación cruzada, entre los cortes de carne y el producto que se le otorga al consumidor, lo que está íntimamente relacionado con que en el 89.65% (78/87) los equipos y utensilios en contacto con la carne no se encontraron limpios y desinfectados antes de iniciar su procesamiento, en el 100.00% no hubo lavado de manos por parte de los manipuladores de la carne, siguiendo las recomendaciones de dependencias como la Secretaría de Salud (SS, 2015) y la OMS (WHO, 2009) en contraste, únicamente en el 5.74% (5/87) hubo lavado de manos, pero sin la aplicación de jabón y sin seguir los pasos de un correcto lavado, en el 96.56% (84/87) no se utilizó guantes durante el procesamiento, para evitar el contacto directo de las manos con el alimento, y finalmente en el 95.40% (83/87) no se utilizó guantes o algún otro elemento para evitar el contacto directo con el dinero (Tabla 2). De manera conjunta, los resultados obtenidos de la evaluación sanitaria revelaron fallas alarmantes en las prácticas sanitarias por parte de los operarios de la carne, así como deficiencias en el mantenimiento, limpieza y desinfección de

equipos y utensilios en contacto directo con la en la mayoría de los puntos de venta. Esta situación se ha comprobado en otros estudios, por ejemplo, en Turquía se detectó conteos que superan el LMP de coliformes totales (≥ 2.5 CFU cm^2) y *E. coli* (≥ 1 CFU cm^2) en las manos de los manipuladores de alimentos a base de carne roja, con el 32.00% y 10.60% respectivamente (Yildirim et al., 2020), cabe mencionar que los LMP mencionados anteriormente, son utilizados para el monitoreo de la limpieza de las superficies de contacto con los alimentos, ya que no existe un LMP específico para las manos de los manipuladores de alimentos.

Tabla 2. Frecuencia del cumplimiento para los ítems de la evaluación sanitaria aplicada en los puntos de venta, en los que, las frecuencias no permitieron la estimación de OR.

Categoría	Ítem	Cumple (%)	No cumple (%)
Instalaciones y áreas	Aviso de funcionamiento vigente y visible.	15 (17.25)	72 (82.75)
	Separación entre las áreas de producción y expendio.	2 (2.30)	85 (97.70)
Servicios	Rótulos e ilustraciones para fomentar la higiene personal.	1 (1.15)	86 (98.85)
Control de operaciones	Se evita la contaminación cruzada entre la materia prima y el tipo de corte final que se vende al consumidor.	7 (8.05)	80 (91.95)
Mantenimiento y limpieza	Equipo limpio y desinfectado previo al uso.	9 (10.35)	78 (89.65)
Higiene del personal	Lavado de manos al inicio de la manipulación de la carne.	5 (5.74)	82 (94.26)
	Lavado de manos según lo estipula la Secretaría de Salud.	0 (0.00)	87 (100.00)
	Uso de guantes al momento de manipular la materia prima, y en caso de ser usarlos, se encontraron limpios e íntegros.	3 (3.44)	84 (96.56)
Prácticas del personal	Uso de guantes al momento de manipular dinero y en caso de ser usarlos, se encontraron limpios e íntegros.	4 (4.6)	83 (95.40)
	Se evita el contacto directo con las manos de la materia prima.	3 (3.44)	84 (96.56)

Al igual, se reportaron conteos elevados de *E. coli* en cuchillos ($10^{3.930} - 10^{4.610}$ CFU cm^2), tablas para picar ($10^{3.860} - 10^{4.420}$ CFU cm^2) y básculas ($10^{3.940} - 10^{4.440}$ CFU cm^2), así como conteos elevados de coliformes totales en cuchillos ($10^{4.410} - 10^{5.510}$ CFU cm^2), tablas para picar ($10^{4.230} - 10^{5.340}$ CFU cm^2) y básculas ($10^{3.960} - 10^{5.700}$ CFU cm^2) en carnicerías de distintas ciudades de Etiopía (Atlabachew & Mamo, 2021; Zerabruk et al., 2019). Lo que cobra relevancia, ya que la

presencia de estos indicadores bacterianos en las manos y otras superficies de contacto directo con la carne predispone a un riesgo de contaminación cruzada, adicionalmente, este riesgo se potencia si no se cuenta con las medidas de limpieza y desinfección necesarias en las carnicerías, incluidos protocolos de higiene y salud de los operarios, ya que se ha reportado que los manipuladores de los alimentos representan la fuente más frecuente de contaminación (Mallhi et al., 2018; Yildirim et al., 2020). De manera conjunta, la aplicación de la lista de verificación sanitaria en los puntos de venta, evidenció fallas en la aplicación de sistemas de gestión en la calidad y de inocuidad alimentaria, en específico, en las buenas prácticas de manufactura, deficiencias en las prácticas de comercialización y sobre todo en los sistemas de saneamiento y sanitización, que en el acumulado pueden potenciar la contaminación microbiológica de la carne (Gizaw, 2019).

Prevalencia de *E. coli* en la carne molida

En la presente investigación se aislaron 231 colonias lactosa positivo, que presentaron la morfología reportada para *E. coli*, con colonias redondeadas de color rosado y con la presencia de un halo rosado que corresponde al precipitado de bilis en agar MacConkey (Figura 8.A). Además, los 231 aislados fueron identificados presuntivamente como *E. coli*, al cubrir con el perfil bioquímico reportado (Ver Anexo 3) para esta especie bacteriana, las cuales fueron: catalasa + (Figura 8.B), motilidad +/- (Figura 8.C-D), ácido sulfúrico -, indol + (Figura 8.C-D), rojo de metilo + (Figura 8.E), Voges-Proskauer - (Figura 8.F), citrato - (Figura 8.G), ornitina descarboxilasa + (Figura 8.H), en TSI presentan medio ácido (A) o alcalino (ALK), con producción de gas (G) o sin la producción de gas (Figura 8.I-J). Cabe mencionar que todos los aislados fueron sorbitol + en agar MacConkey con sorbitol.

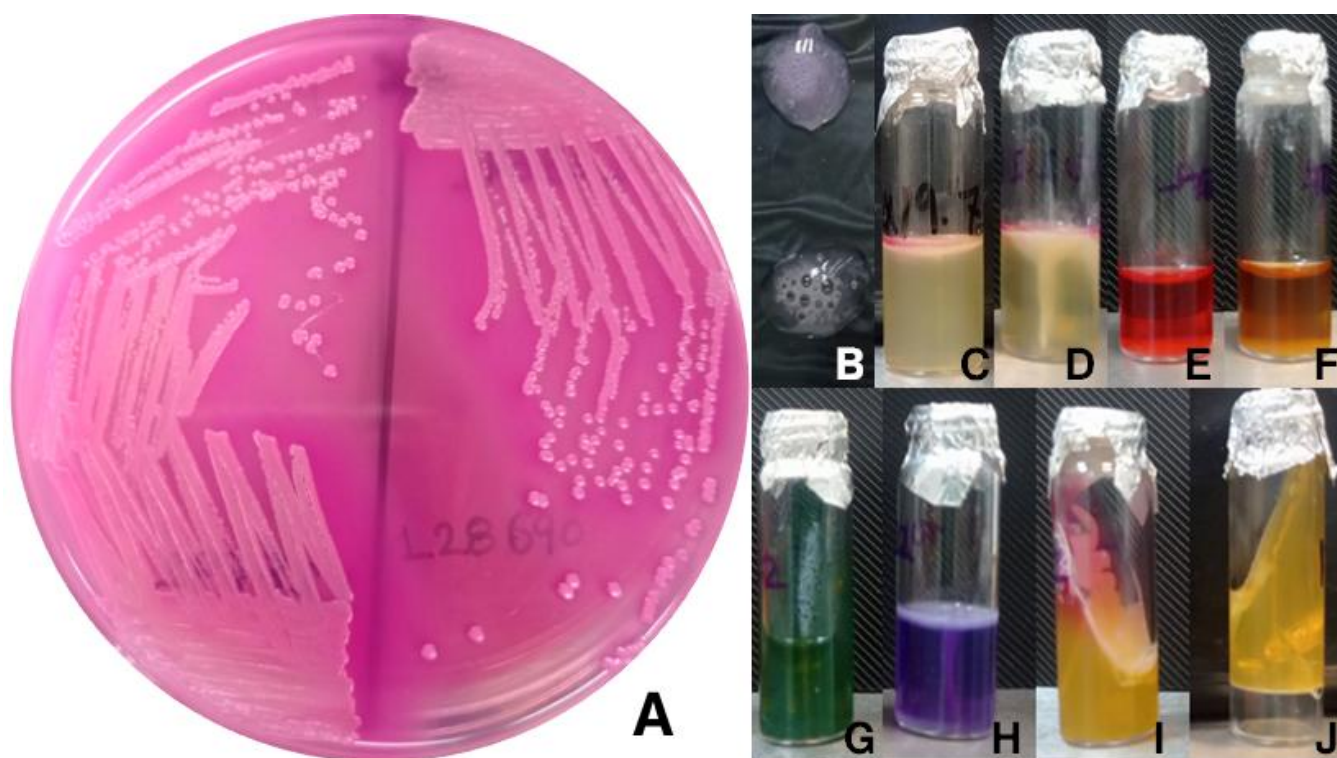


Figura 8. A) Siembra de los aislados lactosa + de *E. coli* en agar MacConkey. B) Reacción de catalasa +. C) Prueba indol + en agar SIM y motilidad +. D) Prueba indol + en agar SIM y motilidad -. E) Prueba rojo de metilo + en agar MR-VP. F) Prueba Voges-Proskauer - en agar MR-VP. G) Prueba citrato - en agar citrato de Simmons. H) Prueba ornitina descarboxilasa + en agar MIO y motilidad -. I) Reacción A/ALK en agar TSI. J) Reacción A/AG en agar TSI.

Los 231 aislados se obtuvieron de 77 carnicerías, los otros 10 puntos de venta no presentaron aislamientos identificados bioquímicamente como *E. coli* (Tabla 3). Por otro lado, el municipio D presentó una prevalencia del 100.00% de *E. coli* en las muestras de carne, y de este municipio se aislaron 86 colonias. El municipio B obtuvo la 2.^a prevalencia más alta de *E. coli* (95.23%) en la carne analizada, aportando 64 aislados. Seguido del municipio C, con una prevalencia del 80.00% y 52 aislados; finalmente, el municipio A fue el de menor prevalencia con 73.33% y 29 aislados de *E. coli*. Adicionalmente no se encontró una asociación significativa entre los municipios que pertenecen a la zona norte y los que pertenecen a zona sur, respecto a la contaminación de la carne con *E. coli* ($\chi^2 p= 0.55$) (Tabla 3). La prevalencia general de *E. coli* en las muestras de carne molida analizadas en el presente estudio fue de 88.50% (Tabla 3). Contraste a otros estudios realizados en el país se han reportado prevalencias del 31.50 y

15.00% de *E. coli* en carne molida de res en Culiacán, Sinaloa y Guadalajara, Jalisco, respectivamente (Cardona-López et al., 2020; Jiménez et al., 2012). En otras ciudades como Jimma, Etiopía se reportó una prevalencia del 23.90% (Abayneh et al., 2019), prevalencias inferiores a lo encontrado en el presente estudio. Contario a lo reportado en la Gobernación de Suez, Egipto y en São Paulo, Brasil con prevalencias altas del 76.00 y 81.50% respectivamente (Abdel-Hamied et al., 2018; Tanabe et al., 2019), al igual que en el municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo donde se reportó una prevalencia del 80.00% (Cordero-López et al., 2025), valores cercanos al presente estudio, evidenciando que diferentes zonas del estado de Hidalgo pueden presentar deficiencias sanitarias asociadas a puntos de venta, una situación relevante, ya que, bajos estándares y malas prácticas higiénicas incrementan el riesgo de contaminación de la carne con esta especie bacteriana (Abayneh et al., 2019).

Tabla 3. Prevalencia de *E. coli* por municipio, determinaciones correspondientes a carne molida de res comercializada en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo, México.

Zona	Municipio	No. de aislados	Carnicerías positivas	Prevalencia (%)	[IC 95.00%]	Chi ²
Norte	A	29	11/15	73.33	[73.09-73.56]	<i>p</i> = 0.55
	B	64	20/21	95.23	[95.13-95.32]	
Sur	C	52	20/25	80.00	[79.83-80.16]	
	D	86	26/26	100.00	n.e.	
Total		231	77/87	88.50	[88.43-88.56]	

Identificación serológica

En la presente investigación se lograron identificar 153 serotipos a los que pertenecen los 231 aislados de *E. coli* (Tabla 4). En 12 serotipos el antígeno O fue no tipificable (OUT), en 19 serotipos el antígeno flagelar fue no móvil (HNM) y en 3 serotipos en antígeno flagelar fue no tipificable (HUT). En cuanto a la frecuencia, de los 153 serotipos, 114 tuvieron una frecuencia de solo un aislado, mientras que, 39 serotipos presentaron una frecuencia >2 de aislados. El

serotipo con mayor frecuencia de aislados fue OUT:HNM con 10 (4.33%) aislados, seguido de O8:HNM con 8 (3.46%) aislados. Por otro lado, los serotipos O8:H21, O11:H15 y O149:H2 presentaron una frecuencia de 5 (2.16%) aislados cada uno. El serotipo OUT:H2 tuvo 4 (1.73%) aislados, y los serotipos OUT:H10, OUT:H21, O23:HNM, O40:HNM, O155:HNM, O6:H49, O8:H19, O10:H21, O28ac:H8, O55:H32, O84:H51, O93:H8, O113:H8 y O126:H21 presentaron una frecuencia de 3 (1.30%) aislados cada uno. Finalmente, los serotipos O48:HNM, O8:H9, O8:H51, O9:H51, O11:H10, O15:H21, O20:H8, O23:H10, O37:H10, O42:H8, O65:H11, O91:H10, O93:H16, O100:H51, O111ab:H5, O120:H8, O128:ac:H4, O129:H30 y O188:H2 presentaron una frecuencia de 2 (0.87%) de aislados cada uno. El resto de serotipos fueron los que presentaron frecuencia de solo 1 (0.43%) aislado (Tabla 4).

Tabla 4. Identificación y frecuencia de los 153 serotipos de los aislados de *E. coli* obtenidos de las muestras de carne molida de res. Se determinó el patotipo al que pertenece el serotipo con base en reportes previos.

Serotipo	Frecuencia	Patotipo reportado	Origen reportado	Referencia del patotipo
O1:H2	1	EHEC	Carne molida	(Klein & Bülte, 2003)
O6:H11	1	EHEC	Perro	(Enany et al., 2021)
O6:H49	3	EHEC	Ovino	(Kudva et al., 1997)
O7:H7	1	EHEC	Bovino (ternero)	(Aidar-Ugrinovich et al., 2007)
O7:H21	1	EHEC	Bovino	(Galli et al., 2010)
O8:H2	1	EHEC	Humano	(Friedrich et al., 2002)
O8:H30	1	EHEC	ND***	(Yang et al., 2022)
O8:H51	2	EHEC	Humano	(Prager et al., 1998)
O8:HNM	8	EHEC	Bovino	(Akiyama et al., 2017)
O9:H51	2	EHEC	Bovino	(Cookson et al., 2006)
O10:H21	3	EHEC	Bovino	(Abdulmawjood et al., 2004)
O15:H21	2	EHEC	Bovino	(Timm et al., 2007)
O20:H19	1	EHEC	Bovino/carne	(M. Blanco, Padola, et al., 2004)
O21:H21	1	EHEC	Productos frescos	(Lacher et al., 2014)
O22:H21	1	EHEC	Humano	(Koch et al., 2001)
O23:H25	1	EHEC	Ciervo	(Carrillo-Del Valle et al., 2016)
O25:H21	1	EHEC	Bovino	(Pradel et al., 2000)

O32:H36	1	EHEC	Bovino	(Barth et al., 2016)
O32:HNM	1	EHEC	Bovino	(Wilson et al., 1992)
O37:H10	2	EHEC	Bovino	(Reyes-Rodríguez et al., 2015)
O38:HUT	1	EHEC	Bovino (ternero)	(Parma et al., 2000)
O39:H7	1	EHEC	Rumiantes	(WHO, 1998)
O39:H21	1	EHEC	Bovino	(M. Blanco, Blanco, et al., 2004)
O39:H28	1	EHEC	Bovino	(Fukushima et al., 2000)
O40:H2	1	EHEC	Humano	(Beutin et al., 1996)
O48:HNM	2	EHEC	Carne	(Feng et al., 1996)
O66:HUT	1	EHEC	ND	(Reischl et al., 2002)
O68:HNM	1	EHEC	Porcino	(Fratamico et al., 2004)
O75:H9	1	EHEC	Ciervo	(Carrillo-Del Valle et al., 2016)
O75:H10	1	EHEC	Bovino (búfalo)	(Islam et al., 2008)
O86:H51	1	EHEC	Humano	(Kimata et al., 2020)
O88:H25	1	EHEC	Bovino	(Irina et al., 2005)
O89:H38	1	EHEC	Bovino	(Islam et al., 2008)
O91:H10	2	EHEC	Humano	(Nüesch-Inderbinen et al., 2021)
O93:H16	2	EHEC	Bovino (búfalo)	(Oliveira et al., 2007)
O96:H9	1	EHEC	Agua	(Doughari et al., 2011)
O100:HNM	1	EHEC	Agua	(Lienemann et al., 2011)
O109:HNM	1	EHEC	Bovino	(Pradel et al., 2000)
O110:H8	1	EHEC	ND	(Boerlin et al., 1999)
O113:H8	3	EHEC	Caprino	(Malahlela et al., 2022)
O113:HNM	1	EHEC	Bovino	(Pradel et al., 2000)
O118:H11	1	EHEC	Humano	(Khan et al., 2009)
O126:H21	3	EHEC	Humano	(Bahgat et al., 2023)
O128ac:HNM	1	EHEC	Humano	(Buvens et al., 2012)
O132:HNM	1	EHEC	Bovino	(Wilson et al., 1996)
O139:H2	1	EHEC	Bovino	(Fernández et al., 2010)
O140:H32	1	EHEC	Bovino	(Rios et al., 2019)
O146:H21	1	EHEC	Bovino/caprino	(Beutin et al., 1993)
O149:H2	5	EHEC	Bovino	(Reyes-Rodríguez et al., 2020)
O149:H8	1	EHEC	Kibbe crudo	(Peresi et al., 2016)
O153:H49	1	EHEC	Lechuga	(Catford et al., 2014)
O154:HNM	3	EHEC	Bovino	(Hornitzky et al., 2002)
O162:H10	1	EHEC	Queso	(Vernozy-Rozand et al., 2005)
O188:H2	2	EHEC	Ensalada	(Catford et al., 2014)
OR:H8	1	EHEC	Humano	(Beutin et al., 2004)
OUT:H2	4	EHEC	Humano	(Beutin et al., 2004)

OUT:H7	1	EHEC	Bovino	(Timm et al., 2007)
OUT:H9	1	EHEC	Queso	(Stephan et al., 2008)
OUT:H14	1	EHEC	Ovino	(Ayala et al., 2012)
OUT:H16	1	EHEC	Bovino/Ovino	(Chiueh et al., 2002)
OUT:H21	3	EHEC	Bovino	(Chiueh et al., 2002)
OUT:H25	1	EHEC	Bovino	(Sheng et al., 2005)
O8:H21	5	EPEC	Pollo	(Alonso et al., 2014)
O18ac:H7	1	EPEC	ND	(Robins-Browne & Hartland, 2002)
O40:H10	1	EPEC	Pollo	(M.Z. Alonso et al., 2016)
O40:HNM	3	EPEC	Pollo	(M.Z. Alonso et al., 2016)
O69:H21	1	EPEC	Bovino	(Krause et al., 2005)
O70:H11	1	EPEC	Ovino	(Krause et al., 2005)
O88:H10	1	EPEC	Humano	(Bourdin et al., 2014)
O88:HNM	1	EPEC	Humano	(Jensen et al., 2007)
O127:H21	1	EPEC	Humano	(Giammanco et al., 1996)
O129:HNM	1	EPEC	Humano	(Blanco et al., 2006)
O163:H7	1	EPEC	ND	(Torres et al., 2009)
O187:H8	1	EPEC	Leche	(Ribeiro et al., 2019)
OUT:H26	1	EPEC	Pollo	(Alonso et al., 2014)
O6:H2	1	ETEC	Queso	(Fiallos López et al., 2018b)
O8:H7	1	ETEC	Porcino	(Vu-Khac et al., 2007)
O8:H9	2	ETEC	Humano	(Rodas et al., 2011)
O9:H31	1	ETEC	Humano	(Echeverria et al., 1979)
O11:H33	1	ETEC	Humano	(Wolf et al., 1993)
O20:HNM	1	ETEC	Humano	(Pichel et al., 2000)
O23:HNM	3	ETEC	Humano	(Goldhar et al., 1980)
O25:HNM	1	ETEC	Humano	(McConnell et al., 1986)
O56:HNM	1	ETEC	Humano	(Peruski et al., 1999)
OUT:H39	1	ETEC	Porcino	(García-Meniño et al., 2019)
O11:H10	2	EAEC	Humano	(Макарова & Кафтырева, 2020)
O21:H10	1	EAEC	Humano	(Piva et al., 2003)
O99:H33	1	EAEC	Humano	(Lopes et al., 2005)
O106:HNM	1	EAEC	Humano	(Müller et al., 2007)
O108:H34	1	EAEC	Porcino	(Ahmed et al., 2017)
OUT:H10	3	EAEC	Humano	(Itoh et al., 1997)
OUT:H48	1	EAEC	Bovino	(Hinenoya et al., 2014)
O8:H19	3	EIEC	Humano	(Okada et al., 2025)
O28ac:H8	3	EIEC	Humano	(Beutin et al., 1997)
O18ac:HNM	1	UPEC	Humano	(Ballesteros-Monrreal et al., 2020)

O29:H51	1	UPEC	Humano	(Zhou et al., 2018)
O3:H2	1	EPEC/EAEC	Humano	(de Lira et al., 2021)
O9:H25	1	EHEC/EAEC	Humano	(Navarro et al., 2021)
O20:H21	1	EHEC/ETEC	Porcino	(Tseng et al., 2014)
O153:H2	1	EPEC/EHEC	Leche	(Ibrahim et al., 2019)
O4:H32	1	RSP*	ND	(Rivera-Betancourt & Keen, 2001)
O19:H10	1	RSP	Mapache	(Jardine et al., 2012)
O20:H8	2	RSP	Fluido ruminal	(Magossi et al., 2023)
O23:H10	2	RSP	Pozol	(Sainz et al., 2001)
O25:H10	1	RSP	Humano	(Hernández-Chiñas et al., 2021)
O27:H12	1	RSP	Humano	(DeBoy et al., 1981)
O38:H8	1	RSP	Humano	(Bettelheim, 1978)
O42:H8	2	RSP	Bovino	(Bettelheim et al., 2005)
O44:H30	1	RSP	Porcino	(Bettelheim, 1978)
O55:H32	3	RSP	Humano	(Chart et al., 2004)
O65:H11	2	RSP	Humano	(Bettelheim, 1978)
O84:H51	3	RSP	Porcino	(Vu-Khac et al., 2007)
O88:H31	1	RSP	Pollo	(Abdul et al., 2019)
O89:H51	1	RSP	Humano	(Bettelheim et al., 1995)
O93:H2	1	RSP	Bovino	(Bettelheim et al., 2005)
O93:H8	3	RSP	Ovino	(Acosta-Dibarrat et al., 2021)
O120:H32	1	RSP	Porcino	(Z. Peng et al., 2019)
O129:H30	2	RSP	Humano	(Bettelheim, 1978)
O146:H5	1	RSP	Yogurt	(Ismail et al., 2022)
O154:H7	1	RSP	ND	(da Cruz et al., 2006)
O157:H38	1	RSP	Porcino	(S. Zhang et al., 2022)
O173:H51	1	RSP	Humano	(Fiallos-López et al., 2018a)
OUT:HNM	10	SR**	Carne molida	Este estudio
O11:H51	5	SR	Carne molida	Este estudio
O18ab:H25	1	SR	Carne molida	Este estudio
O20:H45	1	SR	Carne molida	Este estudio
O40:H34	1	SR	Carne molida	Este estudio
O40:H51	1	SR	Carne molida	Este estudio
O42:H40	1	SR	Carne molida	Este estudio
O70:H7	1	SR	Carne molida	Este estudio
O70:H34	1	SR	Carne molida	Este estudio
O70:H49	1	SR	Carne molida	Este estudio
O76:H20	1	SR	Carne molida	Este estudio
O98:H26	1	SR	Carne molida	Este estudio

O100:H51	2	SR	Carne molida	Este estudio
O111ab:H5	2	SR	Carne molida	Este estudio
O113:H9	1	SR	Carne molida	Este estudio
O119:H51	1	SR	Carne molida	Este estudio
O120:H8	2	SR	Carne molida	Este estudio
O128ac:H4	2	SR	Carne molida	Este estudio
O129:H1	1	SR	Carne molida	Este estudio
O149:H21	1	SR	Carne molida	Este estudio
O149:H51	1	SR	Carne molida	Este estudio
O154:H38	1	SR	Carne molida	Este estudio
O162:H41	1	SR	Carne molida	Este estudio
O162:H51	1	SR	Carne molida	Este estudio
O164:H2	1	SR	Carne molida	Este estudio
O164:H40	1	SR	Carne molida	Este estudio
O173:H34	1	SR	Carne molida	Este estudio
O187:H4	1	SR	Carne molida	Este estudio
O187:H25	1	SR	Carne molida	Este estudio
O187:H51	1	SR	Carne molida	Este estudio
O49766:H8	1	SR	Carne molida	Este estudio

Total 231

*RSP: Reportado sin un patotipo específico. **SR: Sin reporte previo a la presente investigación. ***ND: no determinado.

La subtipificación de *E. coli* a través de la serotipificación es una herramienta útil y ampliamente utilizada dentro del seguimiento epidemiológico de este agente etiológico, por medio del conocimiento del tipo de antígeno O y H, se determina el linaje patógeno y la virulencia de *E. coli*, además de rastrear brotes de enfermedad hasta llegar al origen de la infección (Debroy et al., 2018). En este ámbito, el serotipo O157:H7 es considerado el serotipo más virulento de *E. coli* patógena transmitido por los alimentos, incluida la carne de res, ha sido responsable de diversos brotes, por ejemplo, en Estados Unidos de América se han registrado 177 brotes de STEC O157 transmitida por carne de res, de los años 1982 - 2017 (Heiman et al., 2015; Rangel et al., 2005; Tack et al., 2021). Por tal motivo, la detección en carne de res de *E. coli* O157 y otras STEC no-O157 como O26, O45, O103, O111, O121 y O145, asociadas a enfermedades graves e incluso la muerte, es de carácter estricto, en Estados Unidos y países de la Unión

Europea (FSANZ, 2017; USDA/FSIS, 2012). A pesar de que en el presente estudio no se identificaron los serotipos antes mencionados, incluido a O157:H7, se lograron identificar serotipos asociados a brotes de diarrea, como el serotipo O3:H2 responsable de un brote de diarrea en Brasil, cabe destacar, que también ha sido aislado de carne de res (de Lira et al., 2021); también, el serotipo O8:H2, fue aislado de pacientes que desarrollaron el SUH, además, se identificó en heces de ganado bovino y en el presente estudio, de carne molida (Bettelheim et al., 2005; Friedrich et al., 2002); también se reportó el serotipo O8:H9 en 8 niños menores de 5 años que presentaban diarrea aguda sin sangre, en La Paz, Bolivia (Rodas et al., 2011); asimismo se reportó un brote en Tailandia, provocado por el serotipo O8:H19, afectando a 154 individuos y cuyo origen fue el consumo de carne molida de res cruda, enmarcando la importancia de este alimento en los brotes por *E. coli* (Okada et al., 2025); al igual, el serotipo O8:H51 fue encontrado en pacientes con diarrea acuosa y sanguinolenta, en Alemania (Prager et al., 1998); el serotipo O9:H25 provocó cuadros de diarrea en niños menores de 5 años en México (Navarro et al., 2021); por otro lado, el serotipo O9:H31 fue responsable de gastroenteritis en pacientes adultos de origen Americano que radicaban en Filipinas (Echeverria et al., 1979); el serotipo O11:H10 se vinculó a cuadros de diarrea aguda en pacientes de Rusia (Макарова & Кафтырева, 2020); también el serotipo O11:H33 fue responsable de diarreas en militares americanos desplegados en medio oriente (Wolf et al., 1993); el serotipo O20:HNM se asoció a cuadros de diarrea en niños argentinos, este serotipo además, expresó la adhesina (CS22) (Pichel et al., 2000); el serotipo O21:H10 fue asociado a pacientes adultos con diarrea en Brasil (Piva et al., 2003); en Israel se reportó al serotipo O23:HNM en episodios de diarrea en pacientes de diversas edades (Goldhar et al., 1980); al igual, el serotipo O25:HNM ha sido vinculado a pacientes con diarrea en Europa y Japón, con la particularidad de que este serotipo produce betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (McConnell et al., 1986; Suzuki et al., 2009); el serotipo O28ac:H8 estuvo presente en pacientes con diarrea en Alemania (Beutin et al., 1997); el serotipo O29:H51 fue aislado de un paciente de 67 años con infección en el tracto urinario, en la provincia de Hebei, China (Zhou et al., 2018); mientras que, O39:H28 fue aislado

de un paciente en cuidados intensivos en Guangxi, China, además, este serotipo presentó resistencia a carbapenémicos (Zhang et al., 2023); en Abees, Egipto se reportó el serotipo O56:HNM asociado a episodios de diarrea en niños menores de 3 años (Peruski et al., 1999); por otro lado, el serotipo O86:H51 se ha encontrado en infecciones urinarias (Flores-Oropeza et al., 2024); O128ac:HNM fue identificado en pacientes con cuadros diarreicos en Bruselas, Bélgica, y en São Paulo, Brasil (Buvens et al., 2012; Dias et al., 2008); los serotipos O88:H10 y O88:HNM fueron encontrados en niños que presentaron diarrea en México y Dinamarca, respectivamente (Bourdin et al., 2014; Jensen et al., 2007); por otro lado en Suiza se aisló a O91:H10 de 6 pacientes que presentaron la signología característica de STEC (Nüesch-Inderbinnen et al., 2021); el serotipo O99:H33 se aisló de niños con diarrea en Brasil (Lopes et al., 2005); al igual, el serotipo O106:HNM se encontró asociado a cuadros de diarreas en diferentes países (Müller et al., 2007); el serotipo O118:H11 se vinculó con un paciente con diarrea en Australia (Khan et al., 2009); el serotipo O126:H21 fue identificado en 5 pacientes en Dacalia, Egipto (Bahgat et al., 2023); el serotipo O127:H21 fue asociado a un infante con diarrea aguda cuyo episodio duró menos de 10 días, en Italia (Giammanco et al., 1996); el serotipo O129:HNM estuvo involucrado en episodios de diarrea y otras complicaciones gastrointestinales en pacientes de diversas edades en la ciudad de Lugo, España (Blanco et al., 2006); al igual, los serotipos OUT:H2 y OR:H8 fueron responsables de cuadros de diarrea en niños menores de 5 años en Alemania (Beutin et al., 2004); y el serotipo OUT:H10 fue responsable de un brote masivo en Tajimi, Japón, en el que 2,697 niños desarrollaron enfermedades gastrointestinales (Itoh et al., 1997). Con base en lo anterior, se puede determinar la importancia de la carne molida de res en la transmisión de las ETA's, al ser un nicho con las condiciones idóneas para albergar distintas cepas de *E. coli* patógena y fomentar su proliferación, lo que posiciona a este alimento como un potencial vector de infecciones gastrointestinales y del tracto urinario. Por otro lado, en nuestros resultados se identificaron serotipos reportados con genes de virulencia característicos de los diferentes patotipos de *E. coli*, aunque no necesariamente hayan sido responsables de brotes epidémicos, y a su vez,

algunos otros serotipos no asociados con un patotipo en especial, lo que sugiere la presencia de cepas comensales. La coexistencia de *E. coli* comensal y patógena en la carne, sin duda representa un riesgo potencial para la salud, pues favorece la transmisión de genes de virulencia y genes de resistencia entre los distintos serotipos. En este entorno, las bacterias pueden obtener nuevo material genético a través de la transformación, transducción y conjugación, entre cepas comensales y patógenas (Dionisio et al., 2023). Por un lado, *E. coli* comensal puede albergar genes de resistencia antimicrobiana en elementos genéticos móviles como plásmidos e integrones que favorecen su transmisión a *E. coli* patógena u otras especies bacterianas (Moran et al., 2017). Por otro lado, las cepas patógenas pueden transmitir sus genes de virulencia a otras cepas patógenas, pero también a cepas comensales (Sarowska et al., 2019). Por lo que, *E. coli* patógena y comensal llegan a compartir un acervo genético, que incluye genes de resistencia y virulencia (Dionisio et al., 2023).

Adicionalmente, la búsqueda de los serotipos en bibliografía especializada (Tabla 4) arrojó que la mayoría de los serotipos se han reportado dentro del patotipo de EHEC con el 40.52% (62/153), seguido del patotipo de EPEC con el 8.49% (13/153) de serotipos reportados dentro de este patotipo, además del 6.54% (10/153) reportados dentro de ETEC, el 4.57% (7/153) reportados dentro de EAEC, el 1.31% (2/153) reportados dentro de EIEC, al igual, el 1.31% (2/153) reportados dentro de *E. coli* uropatógena (UPEC), adicionalmente, se identificaron 4 (2.61%) serotipos catalogados como híbridos, estos fueron: O3:H2 (EPEC/EAEC), O9:H25 (EHEC/EAEC), O20:H21 (EHEC/ETEC) y O153:H2 (EPEC/EHEC) (Tabla 4, Figura 9). Asimismo, se obtuvo que el 14.37% (22/153) de los serotipos han sido reportados en investigaciones, sin embargo, no están clasificadas dentro de un patotipo específico. También, el 20.26% (31/153) de los serotipos identificados no tuvieron reportes previos a la presente investigación (Tabla 4, Figura 9). Resaltando el papel de la carne como vehículo de *E. coli* patógena, ya que en esta investigación se encontraron 5 de los 6 patotipos de DEC, incluyendo a cepas híbridas y a UPEC, patotipo de ExPEC en la carne analizada. La presencia de

diferentes patotipos de *E. coli* en carne de res se ha confirmado en otras investigaciones, como la realizada en la ciudad de Mosul, Irak donde se encontró en carne de res, 44.50% de EHEC, 38.90% de ETEC, 11.11% de EAEC, 5.55% de EPEC, y al igual que en esta investigación no se encontró a DAEC (Abdilla & Al-Sanjary, 2023). Por otro lado, en Osaka, Japón, se encontró mayor prevalencia de EAEC (28.00%), seguido de EPEC y EHEC con 3.10% en ambos casos (Wang et al., 2017). Al igual, en Mashhad, Irán se detectó 54.50% de EHEC, 27.30% de EPEC y 9.10% de EAEC y ETEC cada uno. También en la ciudad de Mansula, Egipto se detectó 55.60% de EHEC, 22.22% de EPEC y ETEC cada uno (Bahgat et al., 2023). Destacando el papel de la carne como un nicho idóneo no solo para *E. coli* comensal, sino que, además, para una diversidad importante de patotipos, esto relacionado a las características físico-químicas propias de la carne que otorgan los requerimientos metabólicos para la proliferación de este agente etiológico, al ser un medio rico en carbono, nitrógeno y fósforo (Jang et al., 2017; Marcelli et al., 2024).

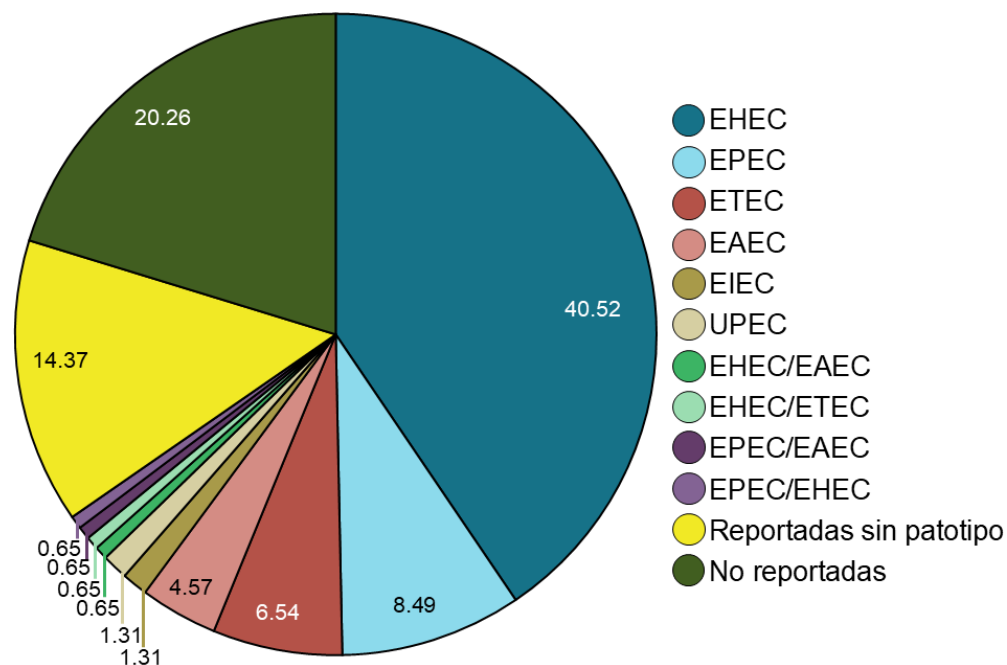


Figura 9. Porcentajes de los serotipos reportados dentro de los patotipos de *E. coli*, de las muestras de carne molida comercializadas en el Valle del Mezquital. EHEC: *E. coli* enterohemorrágica. EPEC: *E. coli* enteropatogénica. ETEC: *E. coli* enterotoxigénica. EAEC: *E. coli* enteroagregativa. EIEC: *E. coli* enteroinvasiva. UPEC: *E. coli* uropatogénica.

Complementando la información del agrupamiento en los patotipos de los serotipos identificados en la carne de res, se obtuvo que el mayor porcentaje, 26.78% (41/153) de los serotipos fueron identificados en aislados humanos asociados a enfermedades gastrointestinales principalmente, seguido del 21.79% (34/153) de serotipos asociados a la carne, en este porcentaje están incluidos los 31 serotipos sin reportes previos a la presente investigación, y el 21.79% (34/153) de los serotipos estuvieron asociados a bovinos (Figura 10), situación que cobra relevancia ya que los bovinos son considerados los reservorios principales de EHEC, en especial de O157:H7, esto por ser portadores asintomáticos, lo que está relacionado a la ausencia de receptores Gb3 en el tracto gastrointestinal de los bovinos, pero también, se encuentra asociado a la presencia de diferentes isomorfos de Gb3 distribuidas en la membrana y en balsas lipídicas, lo que propicia a la degradación de las toxinas Stx por los lisosomas, al no tener un receptor apropiado y volviendo a las células epiteliales intestinales de los bovinos resistentes a la citotoxicidad de las toxinas Stx (Menge, 2020; Wang et al., 2024). Los bovinos son catalogados como super-propagadores de EHEC al ambiente, excretan 10^4 CFU g^{-1} de heces, situación que incrementa el riesgo de que alimentos derivados de este ganado se contaminen con *E. coli*, enfatizando procesos como la evisceración, donde existe el riesgo de diseminación del contenido intestinal a la canal, si no se siguen los protocolos pertinentes (Kempf et al., 2022; Meagher, 2022; Sabyrbekova & Ilgekbayeva, 2024).

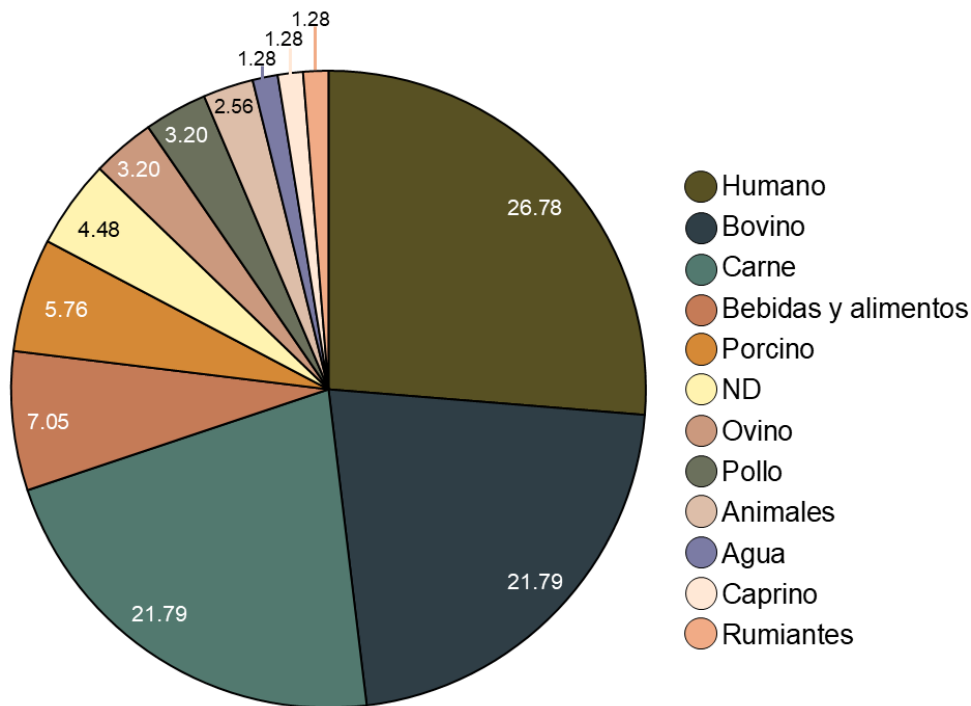


Figura 10. Porcentajes del origen de las muestras donde se han identificado los serotipos de *E. coli*, con base en la literatura.

Finalmente, se determinó una alta diversidad de serotipos que puede albergar la carne a través del cálculo de 4 índices (Tabla 5). El índice de Simpson, se asocia fuertemente a la dominancia de un serotipo porque otorga mayor peso a los serotipos comunes que a los raros, el valor de este índice va de 0 a 1, donde 0 es nula diversidad y 1 es alta diversidad (Daly et al., 2018; Moreno, 2001), en el presente estudio se obtuvo $D = 0.99$, confirmando que hay una alta diversidad de serotipos. Complementando con el índice de Berger-Parker, que es inversamente proporcional al índice de Simpson, el cual indica el grado de dominancia, su valor también va de 0 a 1, donde 1 implica la dominancia de un serotipo en la carne y 0 indica una comunidad diversa y equitativa (Daly et al., 2018; Moreno, 2001), en este trabajo se encontró un valor de $d = 0.04$, confirmando que no hay un serotipo que domine dentro de los 153 identificados. Para confirmar la diversidad de los serotipos, también se calculó el índice de Shannon-Wiener, este índice se encuentra ligado a la equidad y proporciona una estimación más equilibrada de la diversidad, ya que expresa la uniformidad de una comunidad, para este índice valores < 2

indican una diversidad baja, mientras que valores entre 2 - 3.5 reflejan una diversidad media, y valores >3.5 indican una diversidad alta (Daly et al., 2018; Medrano et al., 2017; Moreno, 2001), en el presente estudio se obtuvo un valor de $H' = 4.82$ confirmando una alta diversidad de serotipos asociada a la carne analizada. Finalmente, se calculó el índice de Pielou, el cual es un índice útil para determinar la uniformidad o equidad de una comunidad, mide la proporción de la diversidad observada en relación a la máxima diversidad esperada, su valor va de 0 a 1, donde 1 corresponde a que todos los serotipos son igualmente abundantes (Daly et al., 2018; Moreno, 2001), en el presente estudio se obtuvo un valor de $J' = 0.95$, reflejando una uniformidad en la abundancia de los serotipos identificados en la carne molida de res. Lo que en conjunto indican que los diferentes serotipos de *E. coli* se encuentran coexistiendo en la carne, lo que puede implicar la presencia tanto de cepas patógenas como comensales en el mismo ambiente, que se traduce a que existe un equilibrio ecológico de la comunidad de *E. coli*, que en este caso utilizan como nicho la carne molida de res. Dicho equilibrio también está asociado a factores propios de la especie, pues ha evolucionado para adaptarse y sobrevivir a entornos variables que incluyen el tracto gastrointestinal, así como suelo, agua, plantas y alimentos (Blount, 2015).

Tabla 5. Índices ecológicos determinados sobre la diversidad de serotipos *E. coli* identificados en la carne de res.

Índice	Resultado
Simpson	0.99
Shannon-Wiener	4.82
Berger-Parker	0.04
Pielou	0.95

Perfil de resistencia antimicrobiana

Se evaluó la resistencia antimicrobiana a los 231 aislados de *E. coli*, el porcentaje de aislados con resistencia y sensibilidad en términos de familia se observa en la Figura 11. Los compuestos β -lactámicos presentaron mayor porcentaje de aislados con resistencia, con el

74.03%, seguido de los fenicoles con el 52.81% y las sulfonamidas potencializadas 47.19%. En cambio, la familia que presentó mayor porcentaje de aislados con sensibilidad fue la de nitrofuranos con 90.91%, asimismo, familias como las sulfonamidas potencializadas y los aminoglucósidos presentaron poco más del 50.00% de aislados con sensibilidad. Sin embargo, es importante mencionar que hubo porcentajes altos de aislados que presentaron sensibilidad intermedia a las familias de las fluoroquinolonas, aminoglucósidos y fenicoles con 42.43%, 33.62% y 25.97% respectivamente (Figura 11), lo que supone una problemática ya que, en la práctica clínica, se debe incrementar la concentración del antibiótico para su uso como tratamiento, para aumentar la posibilidad de éxito terapéutico (Cantón, 2010; EUCAST, 2024).

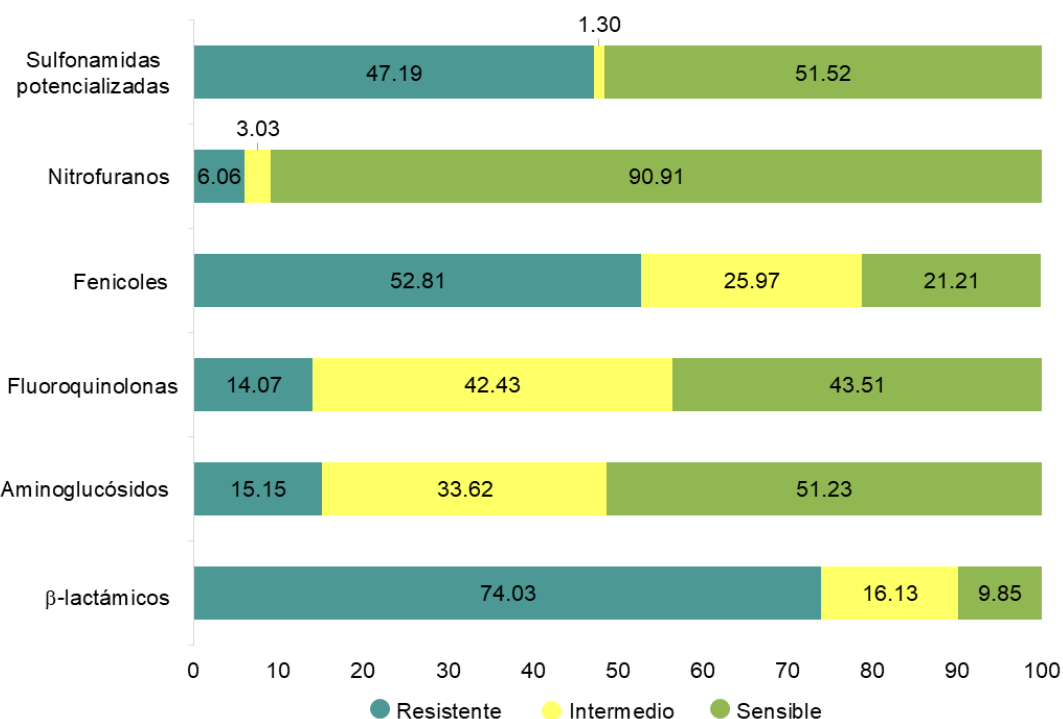


Figura 11. Porcentajes de aislados de *E. coli* con resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad por familia de antibióticos.

Los altos porcentajes de resistencia y sensibilidad intermedia determinados en los 231 aislados de *E. coli*, sin duda resalta la problemática entorno al uso de antibióticos, donde la producción animal desempeña un papel importante, como el principal consumidor de antibióticos, pues se

estima que el 73.00% del total de antibióticos utilizados a nivel mundial, son aplicados en la producción animal, con fines terapéuticos, profilaxis o como promotores del crecimiento (Mulchandani et al., 2023; Oliveira et al., 2020). A pesar de las regulaciones entorno al uso de antibióticos en la producción animal por la EU y la FDA, en los que quedó prohibido su uso como promotores de crecimiento y para profilaxis su uso es muy restringido (Beber et al., 2025; Centner, 2016). En cambio, en México las regulaciones entorno al uso de antibióticos en la producción animal, se rige bajo la Ley Federal de Sanidad Animal y la NOM-064-ZOO-2000, Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos (DOF, 2003, 2007), que restringen su uso en la alimentación animal y regula la venta de antibióticos solo con prescripción de un médico veterinario, no obstante se han reportado fallas en esta regulación en el país (Galarde-López et al., 2024), además, se proyecta que para el 2030, el país se encontrará dentro de los 5 países con mayor consumo de antibióticos dentro de la producción animal (Boeckel et al., 2015), por lo que es necesario mejorar la vigilancia y regulación entorno a esta problemática. En este contexto, los β -lactámicos y las tetraciclinas son las principales familias utilizadas en animales de producción (Oliveira et al., 2020), sin bien, en el presente estudio no se determinó la resistencia a las tetraciclinas, si se confirmó una alta resistencia a compuestos β -lactámicos, evidenciando la problemática por el uso excesivo de estos compuestos. Asimismo, existen otras familias utilizadas en la producción animal, como las sulfonamidas, aminoglucósidos, lincosamidas, quinolonas, fluoroquinolonas, polipéptidos, fenicoles y los macrólidos (Hosain et al., 2021) que, en conjunto, brindan un entorno que favorece el desarrollo de mecanismos de resistencia de *E. coli*, que se ve reflejado en los altos porcentajes de resistencia y sensibilidad intermedia en prácticamente todas las familias evaluadas en la presente investigación.

Por otro lado, el porcentaje de aislados con resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad por cada antibiótico se ilustra en la Figura 12. Los antibióticos que presentaron mayor porcentaje de resistencia fueron carbenicilina, ampicilina y cefalotina con 99.13% (228/231), 98.27% (227/231) y 81.39% (188/231) respectivamente, los tres antibióticos pertenecen a los β -lactámicos. También se encontró el 52.81% (122/231) de aislados con resistencia a cloranfenicol y el 47.19% (109/231) a sulfametoxazol con trimetoprim. Asimismo, hubo porcentajes elevados de sensibilidad intermedia, como cefotaxima (45.02% 104/231), amikacina (43.29% 100/231), gentamicina (46.75% 108/231), ciprofloxacino (47.62% 110/231) y norfloxacino (37.23% 86/231). Contrario a los antibióticos de nitrofurantoína y netilmicina quienes presentaron mayor porcentaje de aislados con sensibilidad con el 90.91% (210/231) y 88.31% (204/231) respectivamente (Figura 12).

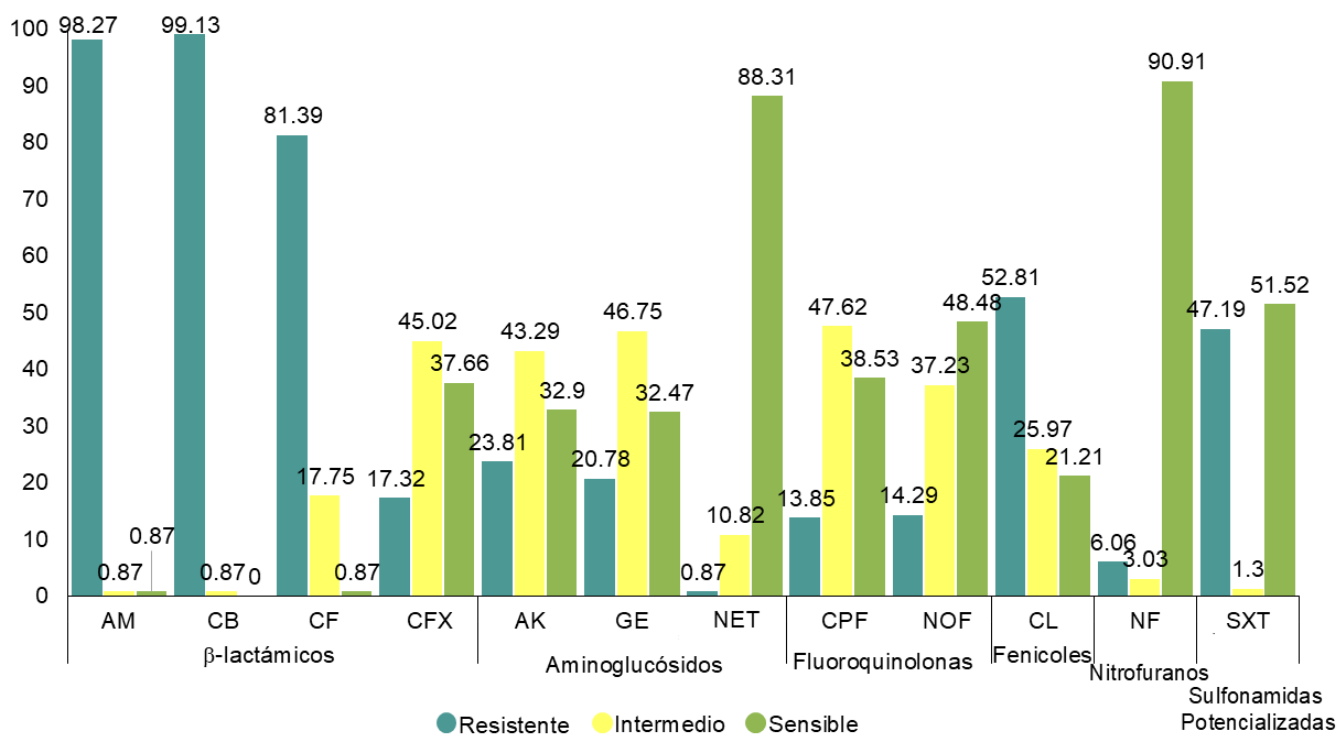


Figura 12. Porcentajes de aislados de *E. coli* con resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad por antibiótico evaluado. AM: ampicilina, CB: carbenicilina, CF: cefalotina, CFX: cefotaxima, AK: amikacina, GE: gentamicina, NET: netilmicina, CPF: ciprofloxacino, NOF: norfloxacino, CL: cloranfenicol, NF: nitrofurantoína, SXT: sulfametoxazol/trimetoprim.

En otras regiones como en la ciudad de El Mansura, Egipto se reportó resistencia en *E. coli* aislada de carne de res, en el 44.40% a sulfametoxazol/trimetoprim, 40.70% a cloranfenicol, y 11.10% a ciprofloxacino y gentamicina, porcentajes similares al presente estudio, contrario a lo reportado para ampicilina con el 37.00%, (Ramadan et al., 2020) porcentaje muy por debajo del encontrado en esta investigación. En la ciudad de Tamale, Ghana, también se reportó un porcentaje de resistencia elevado para ampicilina (71.67%), sin embargo, y contrario a lo encontrado en esta investigación, reportaron porcentajes altos de sensibilidad a compuestos como ciprofloxacino y sulfametoxazol/trimetoprim con el 85.00%, así como a cloranfenicol y gentamicina con el 83.33% (Adzitey et al., 2020), esto en varios tipos de carne incluida la carne de res. Contrario a lo reportado en California, Estados Unidos, donde se reportó 0.00% de resistencia a 13 antibióticos evaluados (Lee et al., 2023). Si bien es difícil encontrar las mismas tendencias de resistencia en *E. coli* en las distintas regiones del mundo, en países en vías de desarrollo se reportan tasas de RAM más altas que en países desarrollados, lo que se encuentra asociado a diferentes factores como ambientales, sociales y económicos que impactan directamente en la diseminación de la RAM, esto está relacionado al cumplimiento de un marco legal regulatorio para uso y desecho de los antibióticos, además de procesos de saneamiento efectuados correctamente, que disminuyen la propagación de bacterias con RAM (Collignon et al., 2018; Vikesland et al., 2019). Con los datos obtenidos de la RAM en esta investigación, se posiciona a la carne como un vector importante para la diseminación de *E. coli* MDR a otros entornos como agua, suelo o inclusive otros alimentos, y por consecuencia, su posible ingreso al ser humano por la ingesta de éstos. Además de favorecer la transferencia de genes de resistencia a otras bacterias patógenas representando una amenaza constante para la salud pública (Bengtsson-Palme et al., 2018; Tate et al., 2021).

Adicionalmente, se identificaron 103 perfiles de resistencia dentro de los 231 aislados de *E. coli* (Figura 13). De éstos 103 perfiles, 59 presentaron frecuencia de únicamente de 1 aislado, 18 perfiles presentaron frecuencia de 2 aislados, 7 perfiles presentaron frecuencia de 3 aislados, 10 perfiles presentaron frecuencia de 4 aislados, 3 perfiles de 5 aislados, 2 perfiles de 6 aislados, 1 perfil con 7 aislados, 1 perfil con 10 aislados, 1 con 12 aislados y 1 con 19 aislados (Figura 13). Por otro lado, se calculó un MARI general fue de 0.63, además los valores de este índice oscilaron de 0.25 a 1.00 en los 103 perfiles (Figura 13). Este índice es una herramienta ampliamente utilizada para determinar la relación entre el total de antibióticos evaluados y el número de antibióticos a los que se presentó resistencia, es decir, mide el grado de resistencia a los antibióticos y el potencial riesgo para la salud en bacterias indicadoras como *E. coli*. Un valor >0.2 indica una fuente de contaminación de alto riesgo (Joseph et al., 2017; Woh et al., 2023), lo que indica que los 231 aislados de *E. coli* son de alto riesgo para la salud y han estado en ambientes contaminados con antibióticos, lo que posiciona a la carne de res de la zona de estudio como una fuente de contaminación de alto riesgo. Este riesgo ha sido reportado por otros autores como Ahmed y colaboradores (2023) quienes reportaron un MARI general de 0.80, con valores que oscilaron entre 0.52 – 0.94 en Zaqaziq, Egipto, al igual que Adzitey (2015), con un MARI de 0.34 (0.11 - 0.56) en Techiman, Ghana, en *E. coli* aislada de carne de res. Además, Elabbasy y colaboradores (2021) reportaron valores de MARI de 0.07 - 1.00 con un promedio de 0.53, en *E. coli* aislada de canales de res en Hail, Arabia Saudita. Por otro lado, 228 (98.70%) de los aislamientos de este estudio se clasificaron con multirresistencia, en específico, de éstos, hubo 1 (0.43%) aislado que presentó PDR (P1, Figura13), 116 (50.22%) presentaron XDR y 111 (48.05%) aislados presentaron MDR. Únicamente 3 aislados (1.30%) no se agruparon dentro de alguna clasificación de MDR, éstos corresponden a los perfiles P45 y P103 (Figura 13).

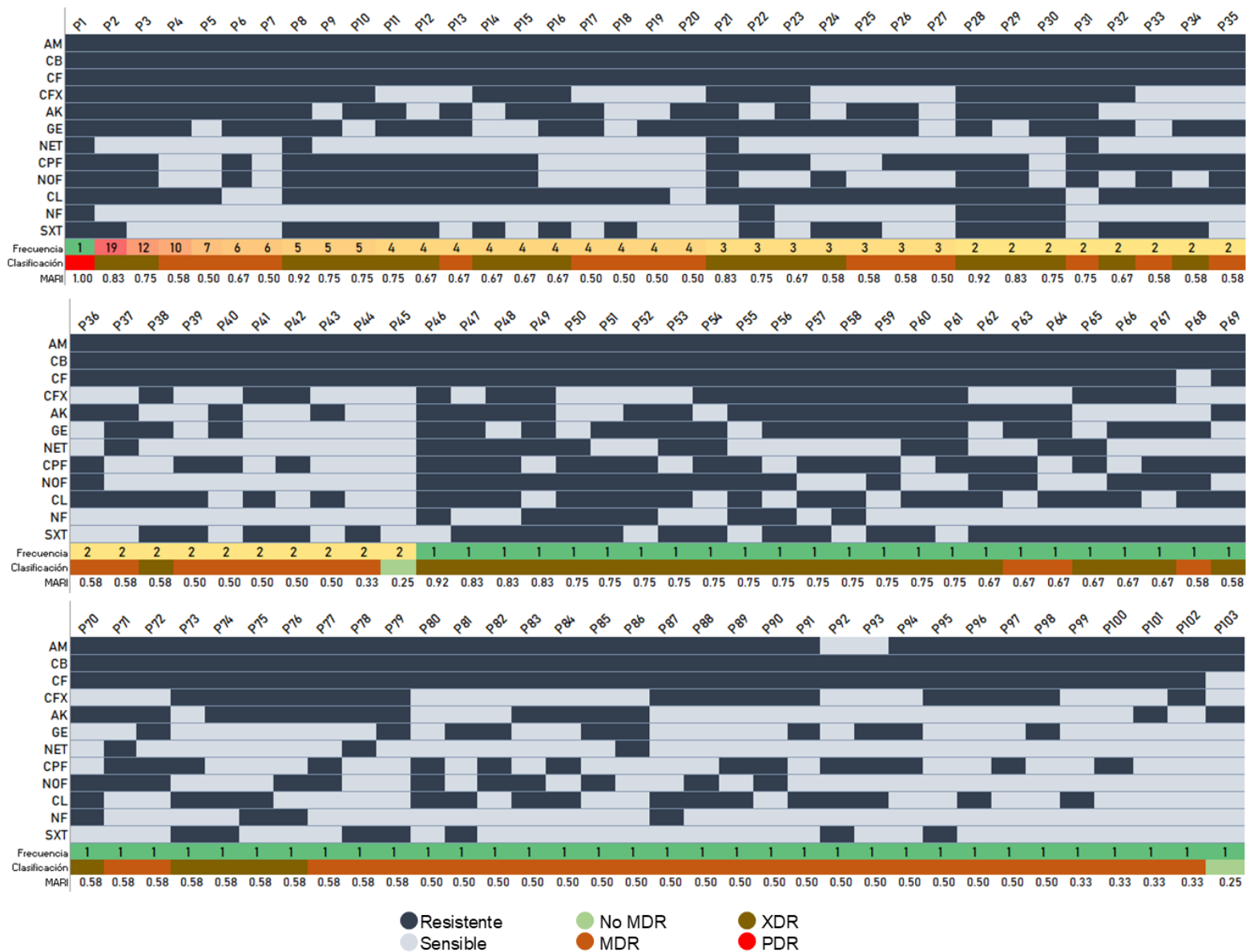


Figura 13. Perfiles de resistencia de los aislados de *E. coli* en carne de res. Se observa el número de perfil, la frecuencia de cada perfil, la clasificación de multirresistencia del perfil y el cálculo de MARI. AM: ampicilina, CB: carbenicilina, CF: cefalotina, CFX: cefotaxima, AK: amikacina, GE: gentamicina, NET: netilmicina, CPF: ciprofloxacino, NOF: norfloxacino, CL: cloranfenicol, NF: nitrofurantoína, SXT: sulfametoxazol/trimetoprim. MDR: multirresistencia. XDR: resistencia extendida. PDR: panresistencia.

Sin duda el porcentaje de MDR en la presente investigación es muy alto, contrastando con otros estudios, por ejemplo, en Estados Unidos se reportó 51.00% de *E. coli* MDR en muestras de carne de ternero (Tate et al., 2021). Al igual, Ramadan y colaboradores (2020) reportaron el 44.40% de *E. coli* MDR en El Mansura, Egipto, asimismo, en Beirut, Líbano y en Lima, Perú se

reportó entre el 35.00% - 28.00% de *E. coli* MDR en muestras de carne cruda de res (Kassem et al., 2020; Ruiz-Roldán et al., 2018). En particular, en el municipio de Huasca de Ocampo, que pertenece al estado de Hidalgo, se reportó 100.00% de *E. coli* MDR en la carne comercializada en ese municipio (Cordero-López et al., 2025) lo que sugiere problemáticas importantes en el uso de antibióticos y alerta de ambientes altamente contaminados con antibióticos en diferentes regiones del Estado de Hidalgo. Situación que se ve favorecida por las fallas y malas práctica de manufactura durante toda la cadena de producción primaria y comercialización de la carne, propiciando la transmisión de la RAM asociada principalmente a contaminación cruzada durante la manipulación y por bajos estándares higiénicos por los operarios, favoreciendo así la transmisión de *E. coli* con RAM, al ser humano por el consumo de carne contaminada o en su defecto transmitiéndose a otros alimentos y o al medio ambiente, contribuyendo a una propagación más amplia de la RAM, repercutiendo directamente en la seguridad alimentaria y salud pública (Binh et al., 2017; Ifedinezi et al., 2024).

Adicionalmente, en la Figura 14 se ilustra el porcentaje de aislados que presentaron resistencia a al menos un compuesto de las 6 familias evaluadas, divididos por municipio muestreado. Resaltando que el 100.00% (231) de los aislados de cada municipio presentó resistencia a al menos un compuesto de la familia de los β -lactámicos. Por otro lado, en el municipio D se concentraron los porcentajes más altos de *E. coli* con resistencia a las familias de los aminoglucósidos (91.86% 79/86), fenicoles (87.20% 75/86) y fluoroquinolonas (75.58% 65/86). En cambio, los porcentajes más altos para las familias de las sulfonamidas potencializadas (62.06% 18/29) y nitrofuranos (17.24% 5/29) se encontraron en aislamientos de *E. coli* del municipio A (Figura 14). Contrario a lo anterior, los porcentajes más altos de sensibilidad por familia destaca para las sulfonamidas potencializadas (71.88% 18/64), nitrofuranos (96.88% 62/64), fenicoles (31.25% 20/64) y fluoroquinolonas (42.19% 27/64) en *E. coli* proveniente del municipio B, en cambio, para los aminoglucósidos (34.49% 10/29) se encontró en aislamientos de *E. coli* del municipio A (Figura 14).

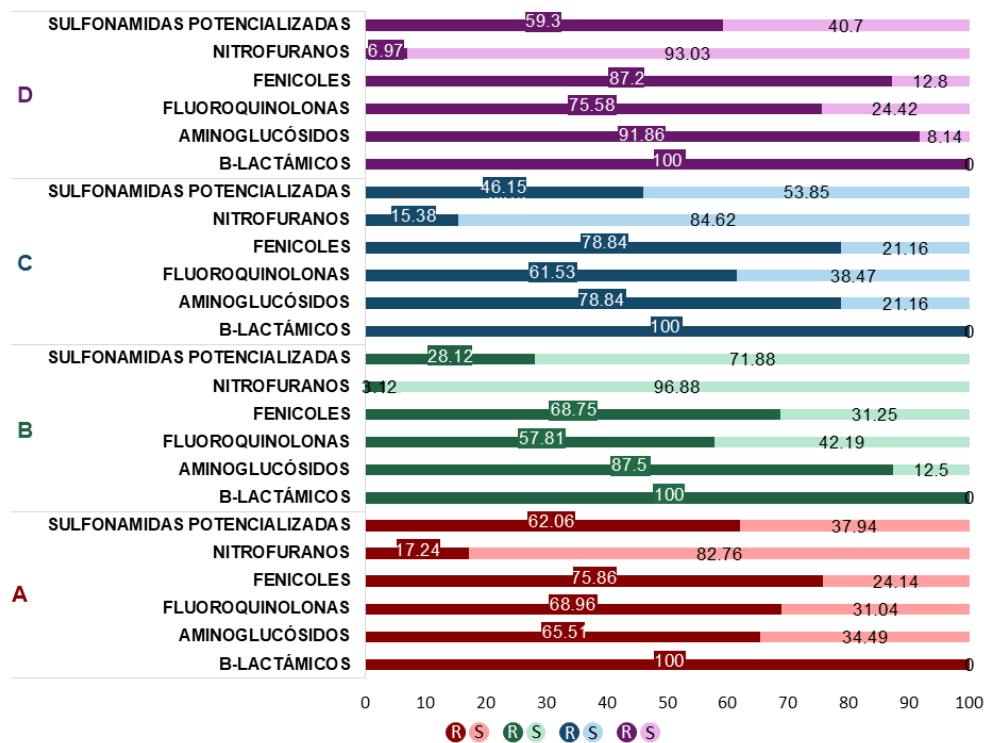


Figura 14. Porcentajes de los aislados de *E. coli* con resistencia a al menos un antibiótico evaluado de cada familia de antibiótico por municipio muestreado. R: resistente. S: sensible.

Genes de resistencia antimicrobiana

Se determinaron 7 genes que confieren resistencia antimicrobiana (Figura 15), éstos fueron: *gyrA* y *parC* que confieren resistencia a las fluoroquinolonas, *bla_{TEM-1}*, *bla_Z* y *bla_{PSE-1}* que confieren resistencia a los β -lactámicos, *acc(6')le-aph(2'')-la* que confiere resistencia a los aminoglucósidos y *floR* asociado a resistencia contra los fenicoles. En el caso de las familias de los nitrofuranos y las sulfonamidas potencializadas no se determinó algún gen de resistencia asociado a estas familias.

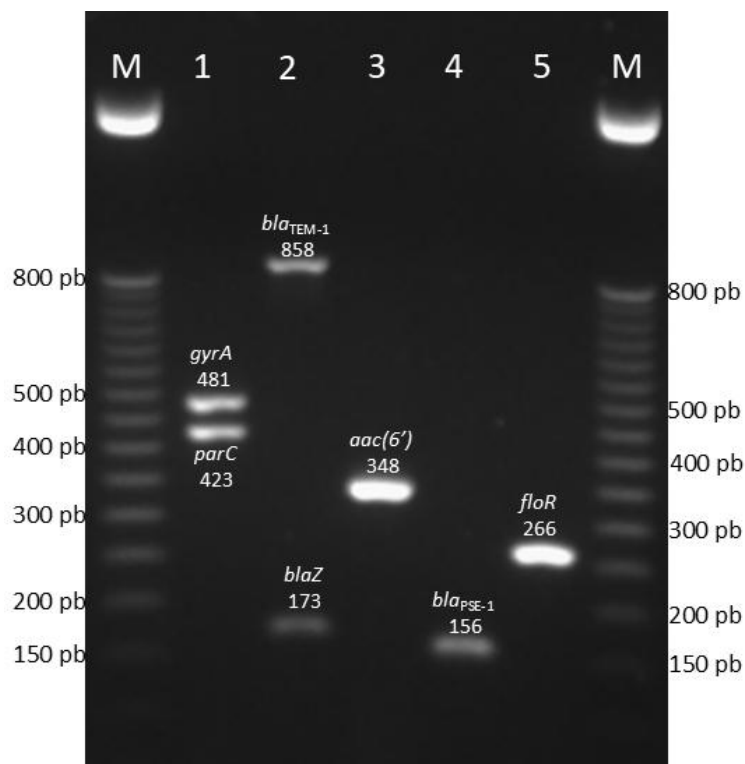


Figura 15. Revelado de la electroforesis en gel de agarosa al 2.00%. M: marcador de peso molecular. Pozos 1 – 5 controles positivos de los 7 genes de resistencia evaluados en los aislados de *E. coli*.

La frecuencia de los 7 genes de resistencia evaluados en los 231 aislados de *E. coli* se ilustra en la Figura 16. El gen de resistencia con mayor prevalencia fue el gen *floR*, que amplificó en 125 (54.11%) aislados de *E. coli*. El segundo gen con mayor prevalencia fue el gen *bla*_{TEM-1} que amplificó en 77 (33.33%) aislados. En cambio, los genes que presentaron menor prevalencia fueron, *bla*_Z presente en 16 (6.92%) aislados, *bla*_{PSE-1} presente en 10 (4.23%) aislados y finalmente *parC* presente en únicamente 4 (1.73%) aislados de *E. coli*. Por otro lado, los genes *gyrA* y *acc(6')/le-aph(2'')-Ia* no se encontraron en ninguno de los 231 aislados (Figura 16).

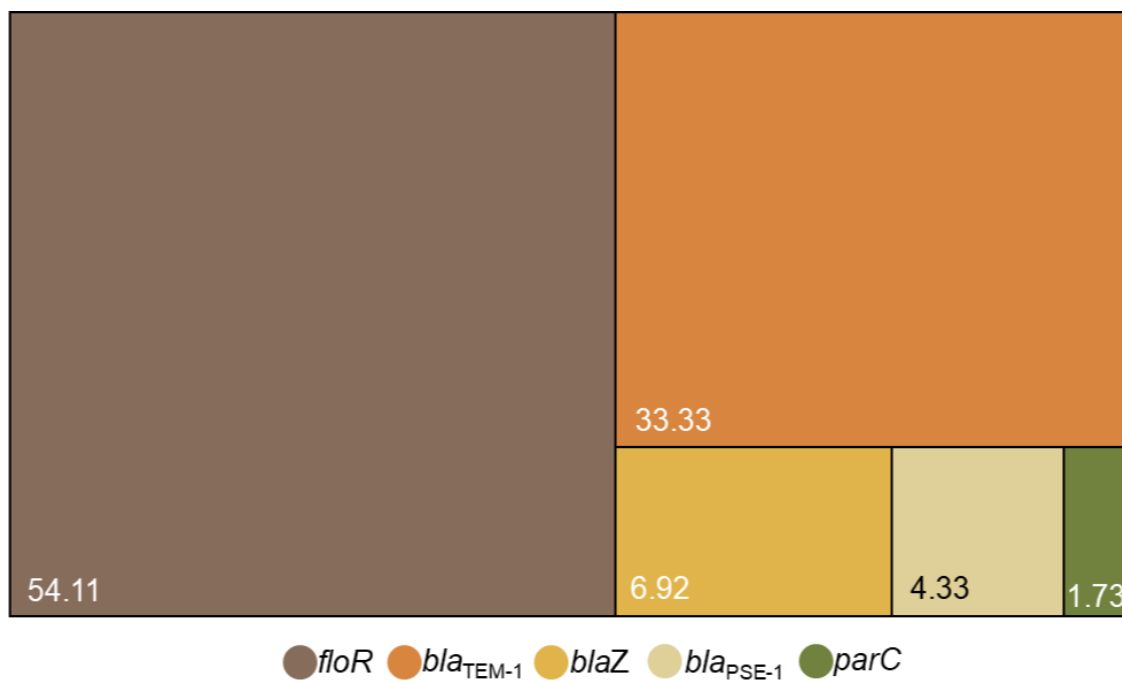


Figura 16. Porcentajes de aislados de *E. coli* que amplificaron para cada uno de los 7 genes de resistencia evaluados. Los genes *gyrA* y *aac(6')Ie-aph(2'')-Ia* no amplificaron en ninguno de los 231 aislados evaluados.

La evaluación de genes que confieren resistencia antimicrobiana en *E. coli* es basta y diversa, por ejemplo, S. Zhang y colaboradores (2022) al igual que en el presente estudio reportaron alta prevalencia (75.00%) de los genes *floR* y *bla_{TEM}* en *E. coli*, en este estudio también se reportó 100.00% de prevalencia de otros genes como *aadA*, *tetA*, y *oqxA*. Por otro lado, Ramadan y colaboradores (2020), reportaron prevalencia del 33.33% para los genes *bla_{TEM}*, *floR*, porcentajes similares al presente estudio, sin embargo, los genes predominantes fueron *sul1* y *tetA* con 51.90% y 40.70% de prevalencia respectivamente. Al igual, Masood y colaboradores (2024) reportaron la presencia del gen *bla_{TEM}* en el 40.00% de aislados de *E. coli* en carne de origen bovino, porcentaje similar al obtenido en la presente investigación, pero también, se reportó la presencia en el 100.00% de aislados los genes *bla_{CTX}* y *bla_{SHV}*. En otro ejemplo, Badi y colaboradores (2018) no encontraron la presencia de los genes *bla_{TEM}* y *aac(6')-Ib* en ningún aislado, sin embargo, reportaron la presencia de los genes *strA/B* y *tetA* en el 15.00% y 10.00% respectivamente.

Asimismo, en la Figura 17 se expresa la frecuencia de los genes de resistencia antimicrobiana por municipio, se obtuvo que el municipio A presentó los porcentajes más altos para los genes *floR*, *bla*_{TEM-1} y *blaZ* con 68.97% (20/29), 65.52% (19/29) y 31.03% (9/29) respectivamente. El municipio B fue el municipio con mayor diversidad de genes de resistencia, pues fue el único en el que hubo la presencia del gen *parC* en el 6.25% (4/64) de aislados, mientras que el gen predominante fue *floR* con 40.63% (26/64) seguido de *bla*_{TEM-1} con 20.31% (13/64), *blaZ* con 10.94% (7/64) y *bla*_{PSE-1} con 4.69% (3/64). Contrario a D, en el que no hubo la presencia del gen *blaZ*, siendo el municipio con menor diversidad genética, al igual, el gen más frecuente fue *floR* en 62.79% (54/86), seguido de *bla*_{TEM-1} en 32.56% (28/86) y *bla*_{PSE-1} en 4.65% (4/86) de aislados. Finalmente, C también presentó mayor frecuencia del gen *floR* en 51.92% (27/52), seguido de *bla*_{TEM-1} en 34.60% (18/52) y *blaZ* y *bla*_{PSE-1} en 3.85% (2/52) en ambos casos (Figura 17).

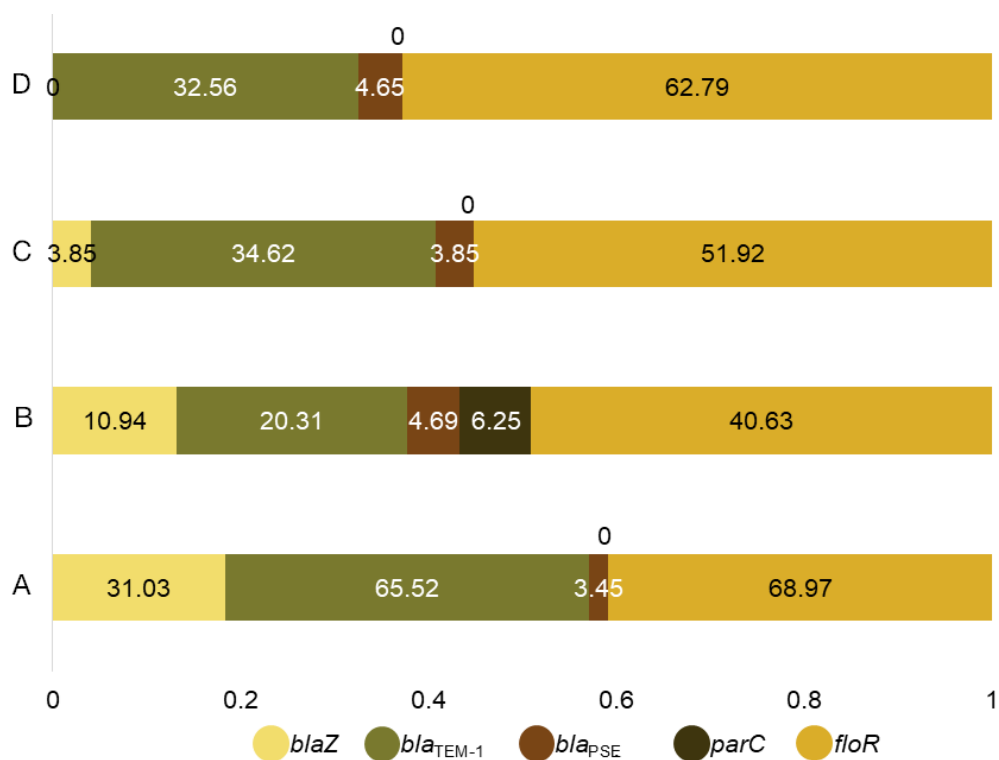


Figura 17. Porcentaje de aislados de *E. coli* de cada municipio evaluado que amplificaron para los genes de resistencia antimicrobiana.

Adicionalmente, se determinó la asociación entre la resistencia antimicrobiana fenotípica y la resistencia antimicrobiana genotípica, dicha asociación se expresa en la Figura 18. Se obtuvo un valor de $p = 2.2 \times 10^{16}$ del test de χ^2 en la evaluación de las dos variables categóricas, lo que indica que existe una asociación entre la resistencia fenotípica y la genotípica. Adicionalmente se obtuvo el valor del índice *V de Cramer* = 0.733 (Figura 18), para determinar el grado de esta asociación, el valor de este índice oscila entre 0 y 1, donde 0 indica que no hay asociación y 1 indica la mayor asociación posible, además a partir de valores $>0,25$ indican una asociación fuerte entre dos variables categóricas (Akoglu, 2018), lo que indica que en la presente investigación la asociación entre la resistencia fenotípica y la genotípica evaluada resultó fuerte. También, en la Figura 18 se observa la asociación entre la resistencia a al menos un compuesto de la familia de antibióticos evaluada (expresada con el nombre de la familia y el signo +) o la sensibilidad a todos los compuestos evaluados de cada familia (expresada con el nombre de la familia y el signo -) con la presencia a al menos un gen (gen y signo +) o ausencia de todos los genes (gen y signo -) de resistencia evaluados para cada familia de antibióticos, en este contexto el largo y ancho de los rectángulos expresan la proporción del número de aislados de *E. coli* que presentaron estas variables relacionadas a la resistencia fenotípica y genotípica. Para robustecer la evaluación de esta asociación, también se obtuvo el valor de los residuales estandarizados, esto para cada familia de antibiótico y para el conjunto de genes o gen asociado a la resistencia de esa familia, donde valores altos (>4) indican una asociación fuerte entre las variables evaluadas con un valor de $p < 0.0001$ (Bewick et al., 2004; Friendly, 1999). En la Figura 18 también se observa que la asociación entre las familias de antibióticos y sus respectivos genes fue fuerte (residuales estandarizados >4) en prácticamente todas las variables.

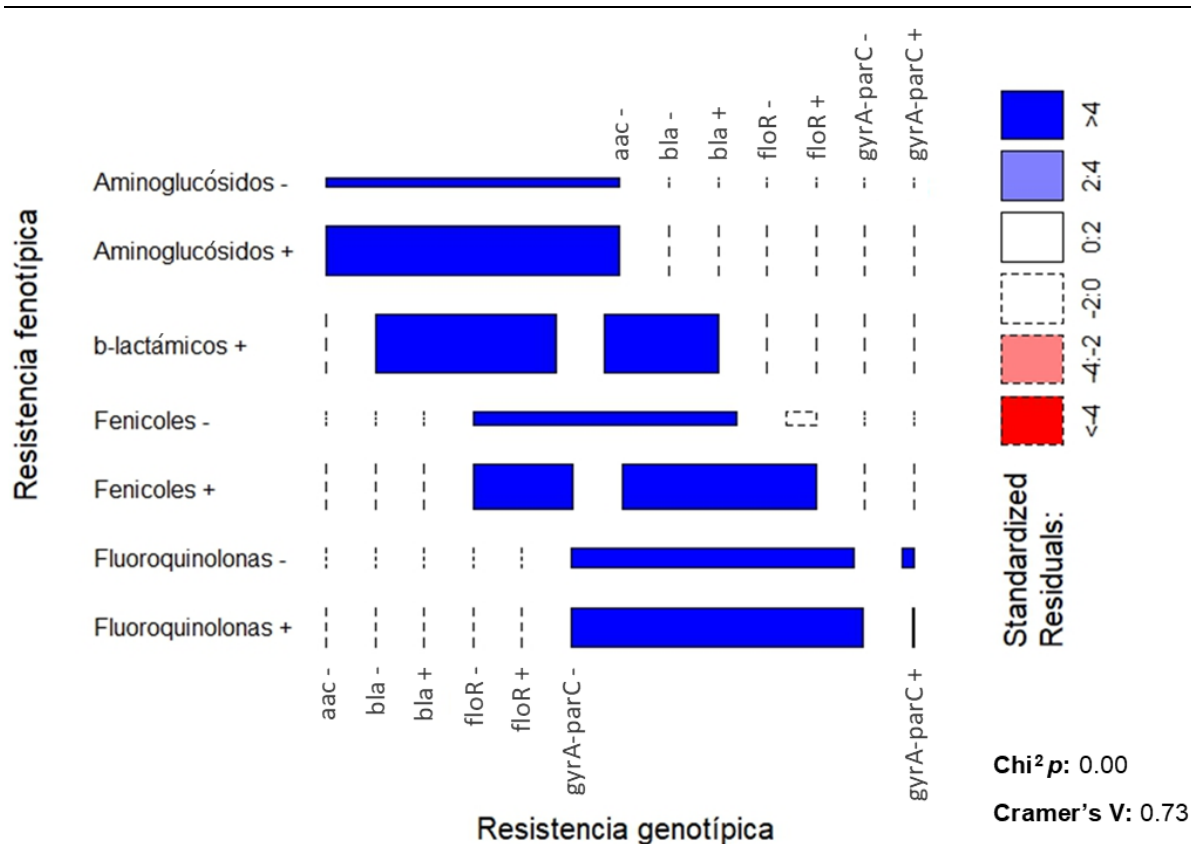


Figura 18. Asociación entre la resistencia fenotípica y la resistencia genotípica evaluada en los 231 aislados de *E. coli*. En la resistencia fenotípica el signo – indica sensibilidad a todos los antibióticos evaluados de la familia, el signo + indica resistencia a al menos un compuesto de cada familia evaluada. En la resistencia genotípica el signo – indica la ausencia del gen(s) de resistencia, el signo + indica la presencia del gen(s) de resistencia. El ancho y largo de los rectángulos exhiben la proporción de aislados que presentaron cada variable de resistencia o sensibilidad respecto a la presencia o ausencia de los genes de resistencia.

Por ejemplo, el 100.00% (231/231) de los aislados presentaron resistencia a los β -lactámicos (b-lactámicos +) y presentó una asociación fuerte tanto en la presencia (*bla* +) como en la ausencia (*bla* -) de los genes *bla*, sin embargo, fueron más los aislados que no presentaron ningún gen (61.47% 142/231) que los que sí presentaron, (38.53% 89/231). Por otro lado, ningún (0.00% 0/231) asilado amplificó para el gen *aac(6')/e-aph(2'')-la*, (*aac* -), en este caso, fueron más los aislados que presentaron resistencia, aminoglucósidos + (84.42% 195/231) respecto a los que presentaron sensibilidad, aminoglucósidos - (15.58% 36/231), en ambos casos la asociación fue fuerte. Para las fluoroquinolonas, fue mayor el porcentaje (66.23%

153/231) de aislados que presentaron resistencia, pero no presentaron la amplificación de alguno de los genes (fluoroquinolonas +, *gyrA-parC* -), solo 1 aislado (0.43%) presentó resistencia y también genes (fluoroquinolonas +, *gyrA-parC* +), en caso contrario, 3 aislados (1.29%) presentaron genes, pero fueron sensibles (fluoroquinolonas -, *gyrA-parC* +) y 74 aislados (32.05%) no presentaron genes y presentaron sensibilidad (fluoroquinolonas -, *gyrA-parC* -), en la mayoría de estos casos, la determinación de la asociación según el valor de los residuales estandarizados fue fuerte. Finalmente, el 51.95% (120/231) de aislados presentaron resistencia a los fenicoles y genes (fenicoles +, *floR* +), y el 26.84% (62/231) presentó resistencia pero ausencia de genes (fenicoles +, *floR* -), además, el 19.05% (44/231) presentó sensibilidad y ausencia de genes (fenicoles -, *floR* -), en todas estas variantes hubo asociación fuerte, por el contrario, el 2.16% (5/231) de aislados presentó sensibilidad y genes (fenicoles -, *floR* +), siendo la única combinación de estas variables que no presentaron una asociación fuerte (Figura 18). La evaluación de la asociación entre la resistencia fenotípica y genotípica indican que el gen *floR* es adecuado para evaluar la resistencia ante los fenicoles en *E. coli*, este gen codifica para una bomba de eflujo no enzimática de la superfamilia de facilitadores mayores (MFS por sus siglas en inglés “Major Facilitator Superfamily”) y aunque es específica para florfenicol, también puede expulsar a cloranfenicol (Andersen et al., 2015; Wang et al., 2018; Zack et al., 2024). Sin embargo, la presencia de resistencia y ausencia del gen *floR*, también sugiere la evaluación de otros genes específicos para cloranfenicol, al ser el antibiótico evaluado en la presente investigación, ya que, en la resistencia a este compuesto también se ven implicadas la producción de las enzimas acetiltransferasas de cloranfenicol (CAT) y bombas de eflujo específicas para el cloranfenicol, codificadas por los genes *cat* y *cmIA* respectivamente (Huang et al., 2017). Por otro lado, la alta presencia de resistencia a las fluoroquinolonas y baja presencia de los genes *gyrA* y *parC*, también son un indicio de que estos genes no describen de la mejor forma este fenómeno. Los antibióticos evaluados de esta familia fueron ciprofloxacino y norfloxacino, estos compuestos solo presentan una diferencia estructural en el grupo alquilo N-1, teniendo, el ciprofloxacino un anillo de ciclopropino y el norfloxacino un anillo

de etilo, no obstante, presentan el mismo sitio diana, ambos inhiben a la DNA girasa y/o topoisomerasa IV, enzimas implicadas en la topología del DNA, en específico en el superenrollamiento negativo, proceso implicado en la replicación y transcripción (Khanna et al., 2024; van der Putten et al., 2019). La resistencia a estos compuestos se encuentra ligada a mutaciones de los genes que codifican para estas enzimas (*gyrA* y *parC*), al ser genes constitutivos, se ubican dentro del cromosoma, para su evaluación se requiere de la amplificación de estas secuencias, su posterior secuenciación y comparativa con otras secuencias reportadas en bibliotecas como GenBank, con la finalidad de conocer específicamente el tipo de mutación asociada a la resistencia. No obstante, los primers utilizados para estos genes (*gyrA* y *parC*), en la presente investigación son específicos para *Streptococcus suis*, según lo reportado por Uruén y colaboradores (2024), lo que se corroboró con la búsqueda de los iniciadores en la herramienta de Primer-BLAST, se obtuvo que los primers para *gyrA* se asocian a *S. suis*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus salivarius*; mientras que los primers de *parC* se asocian a *Streptococcus* spp., lo que explica la casi nula amplificación para estos genes en los aislados de *E. coli* de la presente investigación. No obstante, se ha sugerido que las mutaciones puntuales en estos genes pueden obtenerse por transferencia horizontal (Uruén et al., 2024), considerando las mutaciones S83L y D87N las más reportadas para *gyrA*, y para *parC* las mutaciones son S80I y E84V en *E. coli* (Lashkenari et al., 2025; Mirzaii et al., 2018), por lo que se sugiere el uso de iniciadores específicos para estos genes en *E. coli* y su posterior secuenciación y comparativa, para corroborar las mutaciones antes mencionadas. Adicionalmente, se sugiere el uso de otros genes que confieren resistencia a las fluoroquinolonas ubicados en plásmidos como: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC* y *qnrS* que codifican para las proteínas de resistencia a las quinolonas (Qnr), protegen a las enzimas DNA girasa y topoisomerasa IV, impidiendo la unión del antibiótico, también son consideradas el principal mecanismo de resistencia a estos compuestos; al igual, el gen *oqxAB* que codifica para bombas de eflujo, el gen *aac(6')-Ib-cr* implicado en la producción de enzimas N-acetiltransferasas que bloquean la acción de estos compuestos, o el gen *crpP* que produce una enzima modificadora

de ciprofloxacina con la capacidad de fosforilar a estos compuestos (Khan et al., 2020; Poirel et al., 2018; van der Putten et al., 2019). Para la resistencia genotípica de los aminoglucósidos no hubo la presencia del gen *aac(6')/le-aph(2'')-Ia*, que codifica para la enzima híbrida acetiltransferasa AAC(6')-le/fosfotransferasa APH(2'')-Ia, si bien esta enzima confiere resistencia a prácticamente todos los aminoglucósidos disponibles (excepto a estreptomicina) y se encuentra en el transposón Tn4001, se distribuye principalmente en *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. (Mlynarczyk-Bonikowska et al., 2022; Sparo et al., 2018), lo que sugiere que este gen aún no se ha transferido a *E. coli*, razón por la que, es necesario la determinación de genes de resistencia a aminoglucósidos específicos en *E. coli*, sin embargo, esta familia presenta una diversidad basta de genes de resistencia, en la que se ven involucradas las enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME por sus siglas en inglés “Aminoglycoside Modifying Enzymes”), que incluyen a las N-acetiltransferasas (AAC), O-nucleotidiltransferasas (AAD/ANT) y O-fosfotransferasas (APH), que a su vez se clasifican y nombran de acuerdo a la posición del aminoglucósido que modifican, seguido de un número romano y una letra si existen más enzimas que modifican la misma posición, esto derivado de la diversidad de enzimas reportadas para los genes *aac*, *aad* y *aph*, que codifican para dichas enzimas (Cameron et al., 2018; Foudraine et al., 2021; Krause et al., 2016). Siendo, los genes más comunes en *E. coli*, para las acetiltransferasas los genes *aac(3)-II/IV* (asociado a la resistencia de gentamicina, tobramicina y netilmicina) y *aac(6)-Ib* (que confiere resistencia a amikacina, netilmicina y tobramicina), en el caso de las nucleotidiltransferasas ANT(2'') codificada por *aadA* (actúa sobre gentamicina y tobramicina) y ANT(3'') codificada por *aadB* (actúa sobre estreptomicina y espectiomicina), y para las fosfotransferasas los genes *srtA* o *aph(3'')-Ib*, *strB* o *aph(6)-Id* (ambos confieren resistencia a la estreptomicina principalmente) y *aph(3'')-I/II* (asociada a resistencia de neomicina, kanamicina, amikacina y gentamicina) (Hirsch et al., 2014; Krause et al., 2016; Okubo et al., 2019; Poirel et al., 2018; Urban-Chmiel et al., 2022; Zeng & Jin, 2003). También, en esta especie bacteriana se han reportado los genes *armA*, *rmtB*, *rmtD*, *rmtE* y *nmpA* que codifican para enzimas de 16S rRNA metiltransferasa (RMTs), que impiden la unión

de una gama amplia de compuestos de aminoglucósidos al sitio diana que es la porción 16S rRNA, y finalmente el gen *acrD*, que codifica para el transportador de eflujo AcrD implicado en la resistencia de los aminoglucósidos, ácidos biliares, novobiocina y ácido fusídico (Elkins & Nikaido, 2002; Krause et al., 2016; Urban-Chmiel et al., 2022; Wellner et al., 2024). Por otro lado, en los compuestos β -lactámicos los genes *bla* evaluados no fueron suficientes para explicar la resistencia fenotípica, se sugiere la evaluación de enzimas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) por ser el principal mecanismo de resistencia contra los β -lactámicos en especies de *Enterobacteriaceae* (Abayneh et al., 2019). Las BLEE de la familia de las CTX-M (hidrolizante de cefotaxima) son las enzimas dominantes en *E. coli*, codificada por el gen *bla*_{CTX-M}, sin embargo, cuenta con 230 subtipos. Otras enzimas BLEE frecuentes de albergar *E. coli* destacan las familias de SHV (variante del reactivo sulfhidrilo) y TEM (nombrada así en honor al paciente Temoneira), codificadas por *bla*_{SHV} y *bla*_{TEM} respectivamente, estas familias cuentan con 228 y 243 subtipos respectivamente (Castanheira et al., 2021; De Angelis et al., 2020). Estas enzimas se encuentran relacionadas a la MDR ya que su espectro de actividad es diverso, inhiben desde penicilinas, monobactamas y cefalosporinas de primera, segunda e inclusive de tercera generación (Zhong et al., 2021). El gen *bla*_{TEM-1} evaluado en esta investigación, codifica para una β -lactamasa de tipo serina, pero presentan una actividad limitada respecto a otras BLEE, incluso de la misma familia como TEM-2 o TEM-3 ya que actúan únicamente sobre penicilinas y cefalosporinas de primera generación (Rastuti et al., 2023), lo que limita la determinación de los genes responsables de la resistencia de nuestros aislados a cefotaxima (cefalosporina de tercera generación). Los otros genes evaluados fueron *bla*_Z y *bla*_{PSE-1}, ambos codifican para β -lactamasas, por un lado, *bla*_Z codifica para una penicilinasas y se encuentra altamente asociado a la resistencia de las penicilinas en *Staphylococcus* spp. (Ferreira et al., 2017), a pesar de que este gen se encontró en el 6.20% de aislados, demostrando la transferencia de este gen de una especie a otra, todavía no es común encontrarlo en *E. coli*, lo que podría limitar la caracterización genotípica de la resistencia a

penicilinas. Por otro lado, el gen *bla*_{PSE-1}, codifica para la enzima específica de *Pseudomonas* spp., se trata de una β -lactamasa del tipo de carbenicilinas, se asocia a resistencia contra carbenicilina principalmente, pero también a otros compuestos dentro de las carboxipenicilinas y ureidopenicilinas, así como a ampicilina, amoxicilina y cefsulodina (Adelowo et al., 2018; Aljanaby & Medhat, 2017; Bush & Jacoby, 2010; Frye & Jackson, 2013; Rocha et al., 2019). Este gen se ubica en un integrón clase I, es más frecuente encontrarlo en *Salmonella* spp. y *Pseudomonas aeruginosa* sin embargo, también se ha reportado en otras especies como *Gallibacterium anatis*, *Pseudomonas putida*, incluyendo a *E. coli* (Abtcha et al., 2018; Adelowo et al., 2018; C.A. Alonso et al., 2016; Chen et al., 2019; Z.-F. Peng et al., 2019). A pesar de ello, fue poco frecuente (4.33%) en el presente estudio, lo que limita la explicación de la resistencia encontrada a carbenicilina, reiterando la evaluación de genes más específicos o frecuentes en *E. coli*. No obstante, existen otros mecanismos asociados a la RAM, como la formación de biofilms, esta matriz polimérica extracelular se compone de polisacáridos, proteínas, DNA extracelular y lípidos, que en conjunto actúa como una barrera de protección ante presiones ambientales como la presencia de antibióticos en su entorno, limitando su ingreso a las células bacterianas (Almatroudi, 2025). Al igual que, la persistencia de antibióticos, fenómeno denominado como la capacidad de una subpoblación bacteriana a sobrevivir a dosis letales de antibióticos, sin la necesidad de presentar genes de resistencia, en este fenómeno está implicado el estado de latencia, porque las células bacterianas dejan de multiplicarse ante la exposición del antibiótico (Eisenreich et al., 2022). Otro fenómeno es la tolerancia, en este proceso una población bacteriana sobrevive ante un tratamiento por encima de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) sin la necesidad de mecanismos de resistencia genéticos (Balaban et al., 2019). Por lo que, la determinación de presencia de genes de resistencia ya no es suficiente para explicar el fenómeno de la RAM.

Factores de virulencia

Se determinó la presencia de 4 genes de virulencia, *stx1*, *stx2*, *eaeA* y *hlyA* a 180 aislados de *E. coli* (Figura 19), que correspondieron a los aislados clasificados dentro de EHEC e híbridos con base en la búsqueda de los serotipos en la bibliografía, al igual se incluyeron los reportados sin patotipo específico (RSP) y los no reportados (SR).

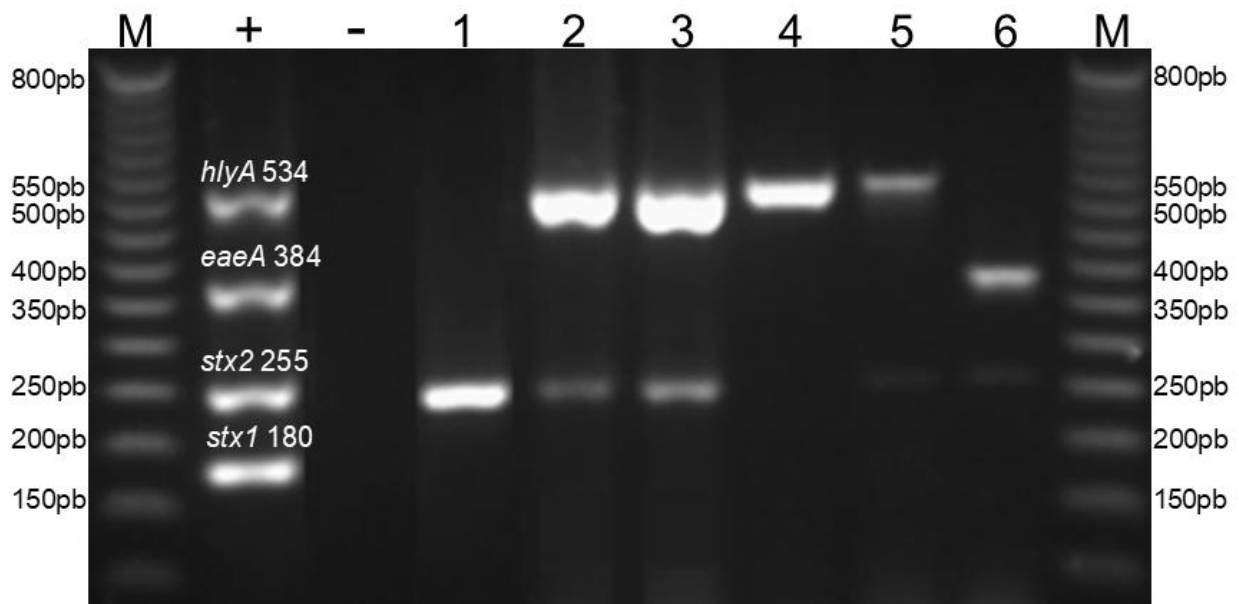


Figura 19. Revelado de la electroforesis en gel de agarosa al 2.00%. M: marcador de peso molecular. +: control positivo. -: control negativo. Pozos 1 – 6 aislados de *E. coli* que amplificaron para uno o más genes de virulencia.

De los 180 aislados de *E. coli* evaluados, 115 (63.88) no amplificaron para ninguno de los 4 genes de virulencia. La frecuencia de los genes de virulencia se expresa en la Figura 20. El gen predominante fue *stx2*, el cual, amplificó en el 32.22% (58/180) de aislados, seguido del gen *hlyA*, presente en el 8.33% (15/180) y *eaeA* (5.00% 9/180), finalmente el gen *sxt1* no amplificó en ninguno de los 180 aislados. En otras investigaciones se han reportado diferentes prevalencias de estos genes de virulencia, por ejemplo, en Jordania se reportó la presencia únicamente de *stx2* en el 5.00% de *E. coli* aislada de carne de res, y al igual que el presente estudio, no hubo la presencia de *stx1* (Tarazi et al., 2021).

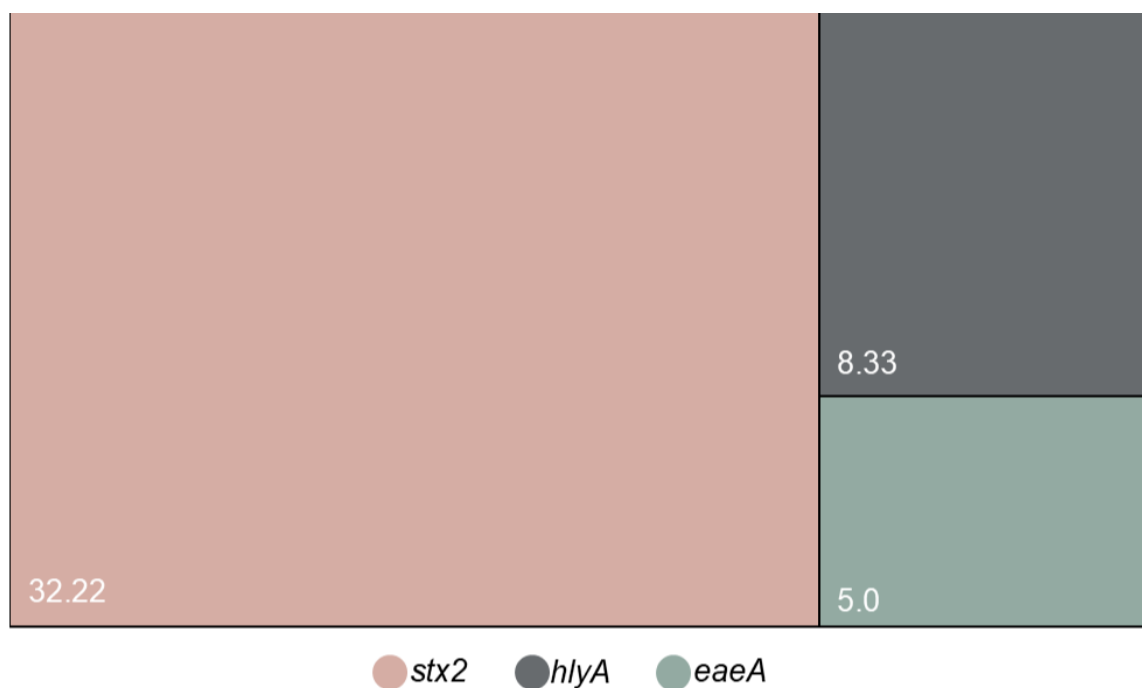


Figura 20. Porcentajes de aislados de *E. coli* que amplificaron para cada uno de los 4 genes de virulencia evaluados. El gen *stx1* no amplificó en ninguno de los 180 aislados.

Contrario a lo reportado en Túnez, donde se determinó la presencia de únicamente el 3.00% para los genes *stx1* y *stx2*, 4.60% para *eaeA*, y 0.00% para *hlyA*, en cambio, los genes predominantes fueron, *fimH* (96.90%), *astA* (38.40%), y *fyuA* (32.30%) en aislados de *E. coli* de diferente origen, incluyendo animales y alimentos de origen animal (Badi et al., 2018). Contrastante a lo reportado en China, en *E. coli* de diferentes tipos de carne (res, cerdo, pollo y pato) y verduras (lechuga y pepinos), ninguno portaba los genes *stx1*, *stx2* y *hlyA*, sin embargo, el 80.00% de los aislados amplificaron para el gen *astA* y el 28.26% presentaron los genes *eaeA*, *espA* y *tir* (S. Zhang et al., 2022). Otra investigación realizada en Korea, reportó 17.70% de *eaeA*, 4.45% para *hlyA*, y 3.50% para *stx1* y *stx2*, con la predominancia de los genes *astA* y *escV*, con 28.30% y 18.60% respectivamente, en *E. coli* aislada de diferentes matrices cárnicas (res, pollo y cerdo) (Cho et al., 2020). La diversidad genética en cuanto a la virulencia que presenta *E. coli* es basta, por lo que, para tener una tipificación más robusta, es necesario la evaluación de otros genes de virulencia característicos de más patotipos de *E. coli*. Esta

diversidad está relacionada a la plasticidad genética que presenta esta especie bacteriana, pues cuenta con entre 1000 - 2000 genes diferentes entre patotipos asociados en su mayoría a factores de colonización y de virulencia, que da como resulta una diversidad genética basta entre cepas comensales o avirulentas de *E. coli*, así como las cepas patógenas e incluso, la aparición de cepas híbridas, las cuales, son de importancia en salud pública por compartir genes de virulencia tanto de DEC como de ExPEC, que potencian su virulencia y son capaces de provocar sintomatología más grave (Braz et al., 2020; Poirel et al., 2018; A. C. Santos et al., 2020).

La Figura 21 expresa la relación proporcional entre el origen (municipio), la clasificación en EHEC, híbridos, RSP y SR, y la presencia (+) o ausencia (-) de los genes de virulencia en los 180 aislados de *E. coli*. Siendo D, el municipio de origen de la mayoría de los aislados, con 34.44% (62/180), de éstos el 53.22% (33/62) se clasificaron dentro de EHEC, el 27.42% (17/62) fueron RSP, el 17.74% (11/62) SR y 1.61% (1/62) fue híbrido de EHEC/ETEC, el cual, amplificó para el gen *stx2*; por otro lado, de los 17 aislados clasificados como EHEC 10 amplificaron para *stx2* y sólo 1 para *hlyA*; y de los 17 aislados RSP 8 amplificaron *stx2* y 1 *hlyA*; mientras que, de los 11 SR, 2 amplificaron para *stx2* y 1 para *eaeA*. El municipio B fue el 2.º, con mayor número de aislados con el 26.67% (48/180), de éstos, 52.08% (25/48) pertenecen a EHEC, 20.83% (10/48) a RSP y 27.08% (13/48) a SR; a su vez, de los 25 de EHEC, 17 amplificaron *stx2* y 1 *hlyA*; de los 10 aislados RSP, 3 amplificaron *stx2* y 1 *eaeA*; finalmente, de los 13 de SR, 6 amplificaron *stx2* y 1 *eaeA*. Por otro lado, el 24.44% (44/180) de los aislados pertenecieron a C, de los cuales, 56.82 (25/44) pertenecen a EHEC, 22.72% (10/44) a RSP y 20.45% (9/44) a SR; que, a su vez, de los 25 de EHEC, 6 amplificaron *hlyA*, 3 *stx2* y 1 *eaeA*; de los 10 de RSP, 1 amplificó *hlyA* y 1 *stx2*; y de los 9 de SR, 2 amplificaron *stx2*, 1 *hlyA* y 1 *eaeA*. Finalmente, el 14.44% (26/180) de aislados fueron del municipio A, de éstos, el 50.00% (13/26) pertenecen a EHEC, 26.92% (7/26) a RSP, 19.23% (5/26) a SR y el 3.84% (1/26) como híbrido de EHEC/EAEC, el cual no amplificó para ningún gen de virulencia; por el contrario, de los 13 de

EHEC, 3 amplificaron para *stx2*, 2 para *hlyA* y 2 para *eaeA*; de los 7 de RSP, 2 amplificaron *hlyA* y 1 *stx2*; en cambio, de los 5 de SR, 1 amplificó para *stx2* y 1 *eaeA*.

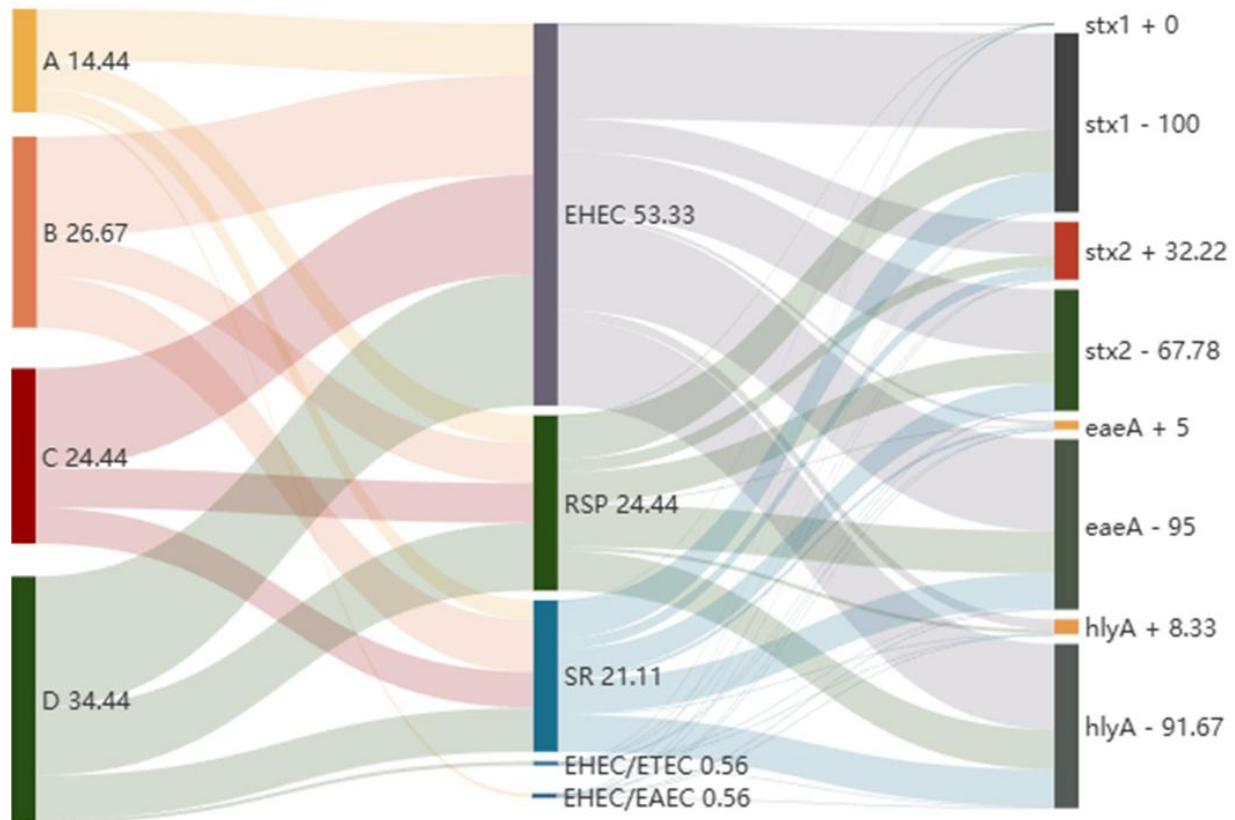


Figura 21. Relación expresada en proporción entre el municipio de origen de los aislados de *E. coli*. La clasificación asignada dentro del patotipo de EHEC o híbridos, RSP: reportada sin patotipo y SR: sin reporte, con base en la revisión de los serotipos. También se observan los genes de virulencia, +: positivo, -: negativo.

Por otro lado, los serotipos O98:H26, O111ab:H5, O120:H8, O149:H51, O162:H51 y O187:H25, que fueron clasificados como SR, y los serotipos O4:H32, O44:H30, O108:H34, O120:H32, O129:H30, O173:H51 y OUT:HNM clasificados como RSP amplificaron para el gen *stx2* (Tabla 6), por lo que, pueden clasificarse dentro de *E. coli* productora de la toxina Shiga (STEC), al tener la capacidad de producir la toxina Shiga (Vélez et al., 2023). Además, hubo 8 (4.44%) aislados que amplificaron la combinación de genes de virulencia *eaeA-stx2*, y 9 (5.00%) aislados que presentaron la combinación *hlyA-stx2* (Tabla 6). Hablar de la combinación de estos genes, es de gran relevancia ya que se asocian a enfermedades más graves, en especial la combinación *eaeA-stx2*, relacionado por una parte a las lesiones A/E de los enterocitos y en otra, porque la toxina Stx2 se encuentra relacionada a mayor probabilidad de desarrollar SUH, esto relacionado a que Stx2 presenta mayor afinidad por los ribosomas de la célula huésped, mayor actividad catalítica así como mayor toxicidad, en específico los subtipos *stx2a*, *stx2b*, *stx2c* y *stx2d*, son los que presentan mayor frecuencia en enfermedades humanas (Nobili et al., 2017; Wang et al., 2024).

Tabla 6. Serotipos de *E. coli* sin reporte, reportados sin patotipo específico y EHEC que amplificaron para 1 o 2 genes de virulencia.

Municipio	Aislado	Serotipo	Patotipo reportado	Perfil de genes de virulencia
A	1	OUT:HNM	RSP	<i>hlyA</i>
	11	OUT:H2	EHEC	<i>eaeA, stx2</i>
	16	O70:H7	SR	<i>eaeA, stx2</i>
	17	O188:H2	EHEC	<i>hlyA, stx2</i>
	18			
	22	OUT:HNM	RSP	<i>hlyA, stx2</i>
B	30	O120:H32	RSP	<i>stx2</i>
	40	O149:H51	SR	<i>stx2</i>
	49	O23:H25	EHEC	<i>eaeA, stx2</i>
	52	O187:H25	SR	<i>stx2</i>
	58	O111ab:H5	SR	<i>stx2</i>
	60	O98:H26	SR	<i>stx2</i>
	69	O49766:H8	SR	<i>eaeA, stx2</i>
	70	O84:H51	RSP	<i>eaeA, stx2</i>
	73	OUT:H2	EHEC	<i>hlyA, stx2</i>
	76	OUT:HNM	RSP	<i>stx2</i>
	89	O120:H8	SR	<i>stx2</i>
C	183	O18ab:H25	SR	<i>eaeA, stx2</i>
	216	OUT:HNM	RSP	<i>hlyA, stx2</i>
	221	O8:HNM	EHEC	<i>hlyA, stx2</i>
	224			<i>eaeA, stx2</i>
	231	O162:H41	SR	<i>hlyA, stx2</i>
D	94	OUT:HNM	RSP	<i>hlyA, stx2</i>
	103	O128ac:HNM	EHEC	<i>hlyA, stx2</i>
	106	OUT:HNM	RSP	<i>stx2</i>
	110	O108:H34	RSP	<i>stx2</i>
	113	O129:H30	RSP	<i>stx2</i>
	114			
	118	O173:H51	RSP	<i>stx2</i>
	128	O162:H2	SR	<i>eaeA, stx2</i>
	135	O44:H30	RSP	<i>stx2</i>
	171	O162:H51	SR	<i>stx2</i>
173	O4:H32	RSP	<i>stx2</i>	

CONCLUSIONES

La carne molida de res comercializada en la zona del Valle del Mezquital, en el Estado Hidalgo, presentó una mala calidad microbiológica con cargas elevadas de *E. coli* y coliformes totales. Más del 80% de las muestras se encontraron fuera de los LMP para *E. coli* establecidos por la normatividad mexicana, así como de la USDA y la EU. Adicionalmente, prácticamente todas las muestras, superaron el LMP para coliformes totales gestionado por la USDA, considerado únicamente este LMP ante la falta de uno de carácter nacional, lo que sugiere áreas de oportunidad legislativas en el monitoreo de la calidad microbiológica de la carne en el país. La elevada carga microbiana evidenció deficiencias sanitarias y de higiene en los puntos de venta. Dichas deficiencias pudieron ser comprobadas a través de la lista de verificación sanitaria y el cálculo del OR, enfatizando las malas prácticas higiénicas durante la manipulación, la falta de limpieza y desinfección de las superficies y utensilios en contacto directo con la carne, incorrecto almacenamiento y presencia de plagas como factores de exposición de riesgo. Lo que sugiere el establecimiento de mejoras en la aplicación de programas nacionales de calidad microbiológica en alimentos como la carne. En complemento, se identificó una diversidad elevada de serotipos de *E. coli*, algunos de ellos asociados a infecciones gastrointestinales y urinarias en humanos, posicionando a la carne como un reservorio potencial de *E. coli* patógena, lo que lo que implica una problemática en un contexto de salud pública. Problemática que se incrementa con la presencia de MDR en prácticamente todos los aislados de *E. coli*, enfatizando los altos porcentajes de resistencia a compuestos β -lactámicos, fenicoles y sulfonamidas potencializadas, que por un lado enmarca deficiencias terapéuticas ante posibles brotes por este agente etiológico y por otro lado, subraya deficiencias en uso y manejo de los antibióticos en el ganado bovino, que se asocian a la propagación de la RAM entre cepas patógenas y comensales de *E. coli*. En complemento, la presencia de genes RAM como *floR* y *bla*_{TEM-1}, *blaZ*, *bla*_{PSE-1} y *parC*, ayudan a entender los mecanismos de resistencia que presenta

E. coli en la región de estudio, aunque, no fueron suficientes para explicar el total de la resistencia fenotípica, por lo que es necesario incrementar la gama de genes de resistencia a evaluar, y que éstos sean específicos para *E. coli*. No obstante, los datos obtenidos posicionan a la carne como un reservorio importante de genes RAM, y que favorece la transferencia a otras bacterias. Por otro lado, la presencia de los genes de virulencia *stx2*, *hlyA* y *eaeA*, esclarecen el potencial patogénico de algunos aislados de *E. coli*, representando una amenaza importante para la salud de la población de la zona de estudio. No obstante, es importante sugerir la determinación de otros genes de virulencia que incluyan a más patotipos de DEC y de ExPEC con la finalidad de hacer una subtipificación más robusta y poder determinar cepas híbridas, al ser cepas con mayor relevancia clínica, por ocasionar enfermedades más graves. En conjunto, los datos obtenidos en la presente investigación, que incluye a los conteos bacterianos, la evaluación sanitaria, el análisis de factores de riesgo, los perfiles de resistencia antimicrobiana, la presencia de genes RAM y factores de virulencia, denotan una amenaza potencial para la salud de la población mexicana. Esta amenaza, resalta la importancia del establecimiento de regulaciones normativas más estrictas, con el único objetivo de garantizar la obtención de carne inocua en la zona de estudio, y apoyar en el logro de la seguridad alimentaria en el país.

REFERENCIAS

- Abayneh, M., Tesfaw, G., Woldemichael, K., Yohannis, M., & Abdissa, A. (2019). Assessment of extended-spectrum β -lactamase (ESBLs) – producing *Escherichia coli* from minced meat of cattle and swab samples and hygienic status of meat retailer shops in Jimma town, Southwest Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 19(897), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12879-019-4554-6>
- Abdel-Hamied, M. R., Salha, G. D., & Mohamed, D. (2018). Isolation, characterization and antibiotics susceptibility of β -glucuronidase producing *Escherichia coli* and other enteric bacteria from ground beef. *African Journal of Biotechnology*, 17(2), 29–36. <https://doi.org/10.5897/ajb2017.16175>
- Abdlla, Y. A., & Al-Sanjary, R. A. (2023). The molecular identification of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) isolated from meat and meat products. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(1), 9–15. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.133244.2192>
- Abdolshahi, A., & Shokrollahi, B. (2020). Food contamination. In S. Sabuncuoglu (Ed.), *Mycotoxins and Food Safety* (Vol. 34, Issue 8, pp. 57–67). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.77743>
- Abdul, M. H. F., Liakopoulos, A., Bean, D. C., Phee, L. M., & Wareham, D. W. (2019). A novel plasmid-mediated polymyxin resistance determinant (*mcr-1.8*) in *Escherichia coli* recovered from broiler chickens in Brunei Darussalam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(11), 3392–3394. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz352>
- Abdulmawjood, A., Bülte, M., Roth, S., Schönenbrücher, H., Cook, N., Heuvelink, A. E., & Hoorfar, J. (2004). Development, validation, and standardization of polymerase chain reaction-based detection of *E. coli* O157. *Journal of AOAC International*, 87(3), 596–603. <https://doi.org/10.1093/jaoac/87.3.596>
- Abtcha, M. G., Effarizah, M. E., & Rusul, G. Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of *Salmonella* serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets. *Food Control*, 91, 170–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.039>
- Abuelnaga, A. S. M., El-Razik, K. A. E. H. A., Soliman, M. M. H., Ibrahim, H. S., Abd-Elaziz, M. M. M., Elgohary, A. H., Hedia, R. H., & Elgabry, E. A. E. (2021). Microbial contamination and adulteration detection of meat products in Egypt. *World's Veterinary Journal*, 11(4), 735–744. <https://doi.org/10.54203/scil.2021.wvj94>

-
- Abushaheen, M. A., Muzaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>
- Acosta-Dibarrat, J., Enriquez-Gómez, E., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Navarro, A., & Morales-Espinosa, R. (2021). Characterization of commensal *Escherichia coli* isolates from slaughtered sheep in Mexico. *Journal of Infection in Developing Countries*, 15(11), 1755–1760. <https://doi.org/10.3855/JIDC.14001>
- Adelowo, O. O., Vollmers, J., Mäusezahl, I., Kaster, A., & Müller, J. A. (2018). Detection of the carbapenemase gene *bla*_{VIM-5} in members of the *Pseudomonas putida* group isolated from polluted Nigerian wetlands. *Scientific Reports*, 8(15116), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33535-3>
- Aditya, A., Tabashsum, Z., Martinez, Z. A., Tung, C. W., Suh, G., Nguyen, P., & Biswas, D. (2023). Diarrheagenic *Escherichia coli* and their antibiotic resistance patterns in dairy farms and their microbial ecosystems. *Journal of Food Protection*, 26(3), 100051. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100051>
- Adzitey, F. (2015). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from beef and its related samples in techiman municipality of Ghana. *Asian Journal of Animal Sciences*, 9(5), 233–240. <https://doi.org/10.3923/ajas.2015.233.240>
- Adzitey, F., Assoah-Peprah, P., Teye, G. A., Somboro, A. M., Kumalo, H. M., & Amoako, D. G. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from various meat types in the Tamale Metropolis of Ghana. *International Journal of Food Science*, 2020(8877196), 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/8877196>
- Afshan, N., Tayyab-un-Nissa, Fatima, R., & Khan, S. (2021). Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms. *18th International Bhurban Conference on Applied Sciences & Technology (IBCAST) Slamabad, Pakistan*, 471–480. <https://doi.org/10.1109/IBCAST51254.2021.9393267>
- Ahmed, H. A., Elsohaby, I., Elamin, A. M., El-Ghafar, A. E. A., Elsaid, G. A., Elbarbary, M., Mohsen, R. A., El Feky, T. M., & El Bayomi, R. M. (2023). Extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* from retail meat and workers: genetic diversity, virulotyping, pathotyping and the antimicrobial effect of silver nanoparticles. *BMC Microbiology*, 23(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02948-0>
- Ahmed, S. K., Hussein, S., Qurbani, K., Ibrahim, R. H., Fareeq, A., Mahmood, K. A., & Mohamed, M. G. (2024). Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future

-
- prospects. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health*, 2(100081), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>
- Ahmed, S., Olsen, J. E., & Herrero-Fresno, A. (2017). The genetic diversity of commensal *Escherichia coli* strains isolated from nonantimicrobial treated pigs varies according to age group. *PLoS ONE*, 12(5), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178623>
- Aidar-Ugrinovich, L., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J. E., Leomil, L., Dahbi, G., Mora, A., Onuma, D. L., Silveira, W. D., & Pestana de Castro, A. F. (2007). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from calves in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 115(3), 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.046>
- Akiyama, Y., Futai, H., Saito, E., Ogita, K., Sakae, H., Fukunaga, M., Tsuji, H., Chikahira, M., & Iguchi, A. (2017). Shiga toxin subtypes and virulence genes in *Escherichia coli* isolated from cattle. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 70(2), 181–185. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2016.100>
- Akoglu, H. (2018). User's guide to correlation coefficients. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 18(3), 91–93. <https://doi.org/10.1016/j.tjem.2018.08.001>
- Akomoneh, E. A., Esemu, S. N., Kfusi, A. J., Ndip, R. N., & Ndip, L. M. (2020). Prevalence and virulence gene profiles of *Escherichia coli* O157 from cattle slaughtered in Buea, Cameroon. *PLoS ONE*, 15(12 December), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235583>
- Al-Chalaby, A. Y. H. (2020). Detection of *Escherichia coli* from imported and local beef meat in mosul detection of *Escherichia coli* from imported and local beef meat in Mosul City. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1), 383–388. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.1.39>
- Aljanaby, A. A. J., & Medhat, A. R. (2017). Prevalence of some antimicrobials resistance associated-genes in *Salmonella typhi* isolated from patients infected with typhoid fever. *Journal of Biological Sciences*, 17, 171–184. <https://doi.org/10.3923/jbs.2017.171.184>
- Allen, M. E. (2005). MacConkey agar plates protocols. *American Society for Microbiology*, September 2005, 1–4. <https://asm.org/Protocols/MacConkey-Agar-Plates-Protocols>
- Almatroudi, A. (2025). Biofilm resilience: molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts. *Biology*, 14(165), 1–46. <https://doi.org/10.3390/biology14020165>
- Alonso, C. A., González-Barrio, D., Tenorio, C., Ruiz-Fons, F., & Torres, C. (2016). Antimicrobial resistance in faecal *Escherichia coli* isolates from farmed red deer and wild small

-
- mammals. Detection of a multiresistant *E. coli* producing extended-spectrum beta-lactamase. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 45, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.02.003>
- Alonso, M. Z., Sanz, M. E., Irino, K., Krüger, A., Lucchesi, P. M. A., & Padola, N. L. (2016). Isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* from chicken and chicken-derived products. *British Poultry Science*, 57(2), 161–164. <https://doi.org/10.1080/00071668.2015.1135502>
- Alonso, M. Z., Sanz, M. E., Padola, N. L., & Lucchesi, P. M. A. (2014). Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteropatogénico (EPEC) aisladas durante el proceso de faena de pollos. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(2), 122–125. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70060-4](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70060-4)
- Amaya, J., & Salas, J. (2021). Contribución de la ganadería mexicana a la seguridad alimentaria nacional, a tres sexenios del TLCAN. *EDUCATECONCIENCIA*, 29(32), 179–195. <https://doi.org/10.58299/6av1kt27>
- Amin, M. A., Hashem, H. R., El-Mahallawy, H. S., Abdelrahman, A. A., Zaki, H. M., & Azab, M. M. (2022). Characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* from diarrhoeic patients with particular reference to production of Shiga-like toxin. *Microbial Pathogenesis*, 166(105538), 1–11 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105538>
- Andersen, J. L., He, G.-X., Kakarla, P., Ranjana, K. C., Kumar, S., Lakra, W. S., Mukherjee, M. M., Ranaweera, I., Shrestha, U., Tran, T., & Varela, M. F. (2015). Multidrug efflux pumps from *Enterobacteriaceae*, *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus* bacterial food pathogens. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(2), 1487–1547. <https://doi.org/10.3390/ijerph120201487>
- Anduro-Jordan, J., Maldonado-Mendoza, I., Figueroa-López, A., Torres-Vitela, M., Campas-Baypoli, O., Sánchez-Machado, D., & Cantú-Soto, E. (2022). STEC non-0157 strains in meat from Southern Sonora, Mexico and their antibiotic resistance. *Veterinaria México OA*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2022.811>
- Arciniegas-Torres, S. P., & Flórez-Delgado, D. F. (2018). Estudio de los sistemas silvopastoriles como alternativa para el manejo sostenible de la ganadería. *Ciencia y Agricultura*, 15(2), 107–116. <http://doi.org/10.19053/01228420.v15.n2.2018.8687>
- Arnold, B. J., Huang, I.-T., & Hanage, W. P. (2022). Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 20, 206–218. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00650-4>
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A.,

-
- Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Farooq, M. K., & Baloch, Z. (2023). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis antibiotic. *Infection and Drug Resistance*, 2018(11), 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Atlabachew, T., & Mamo, J. (2021). Microbiological quality of meat and swabs from contact surface in butcher shops in Debre Berhan, Ethiopia. *Journal of Food Quality*, 2021(7520882), 1–11. <https://doi.org/10.1155/2021/7520882>
- Ayala, C. (2018). Importancia nutricional de la carne. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria de Recursos Naturales*, 5(ESPECIAL), 54–61. http://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v5nEspecial/v5_a08.pdf
- Ayala, C. de O., Ramos Moreno, A. C., Martinez, M. B., Burgos, Y. K., Pestana de Castro, A. F., & Bando, S. Y. (2012). Determination of flagellar types by PCR-RFLP analysis of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) strains isolated from animals in São Paulo, Brazil. *Research in Veterinary Science*, 92(1), 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.025>
- Badi, S., Cremonesi, P., Abbassi, M. S., Ibrahim, C., Snoussi, M., Bignoli, G., Luini, M., Castiglioni, B., & Hassen, A. (2018). Antibiotic resistance phenotypes and virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolated from animals and animal food products in Tunisia. *FEMS Microbiology Letters*, 365(10), 1–7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny088/4961136>
- Bahgat, O. T., Rizk, D. E., Kenawy, H. I., & Barwa, R. (2023). Prevalence of *E. coli* pathotypes: a comparative study between clinical and environmental isolates. *Egyptian Journal of Medical Microbiology (Egypt)*, 32(3), 59–69. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2023.304581>
- Balaban, N. Q., Helaine, S., Lewis, K., Ackermann, M., Bree, A., Andersson, D. I., Brynildsen, M. P., Bumann, D., Andrew, C., Collins, J. J., Dehio, C., Fortune, S., Ghigo, J.-M., Hardt, W.-D., Harms, A., Heinemann, M., Hung, D. T., Jenal, U., Levin, B. R., ... Zinkernagel, A. (2019). Definitions and guidelines for research on antibiotic persistence. *Nature Reviews Microbiology*, 17(7), 441–448. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0196-3>
- Ballesteros-Monrreal, M. G., Arenas-Hernández, M. M. P., Enciso-Martínez, Y., Martínez-De la Peña, C. F., Rocha-Gracia, R. D. C., Lozano-Zaraín, P., Navarro-Ocaña, A., Martínez-Laguna, Y., & de la Rosa-López, R. (2020). Virulence and resistance determinants of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from pregnant and non-pregnant women from two states in Mexico. *Infection and Drug Resistance*, 13, 295–310. <https://doi.org/10.2147/IDR.S226215>
- Bamidele, O., Jiang, Z., & Dupont, H. (2019). Microbial pathogenesis occurrence of putative

-
- virulence-related genes, *aatA*, *aggR* and *aaiC*, of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) among adults with travelers' diarrhea acquired in Guatemala and Mexico. *Microbial Pathogenesis*, 128, 97–99. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.12.030>
- Barth, S. A., Menge, C., Eichhorn, I., Semmler, T., Wieler, L. H., Pickard, D., Belka, A., Berens, C., & Geue, L. (2016). The accessory genome of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* defines a persistent colonization type in cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(17), 5455–5464. <https://doi.org/10.1128/AEM.00909-16>
- Beber, C. L., Aragrande, M., & Canali, M. (2025). Policies and strategies to control antimicrobial resistance in livestock production: a comparative analysis of national action plans in European Union Member States. *Health Policy*, 152(105238), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2024.105238>
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(1), 68–80. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
- Bettelheim, K. A. (1978). The sources of “OH” serotypes of *Escherichia coli*. *Journal of Hygiene*, 80(1), 83–113. <https://doi.org/10.1017/S0022172400053420>
- Bettelheim, K. A., Chang, B. J., Elliott, S. J., Gunzburg, S. T., & Pearce, J. L. (1995). Virulence factors associated with strains of *Escherichia coli* from cases of sudden infant death syndrome (SIDS). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 18(3), 179–188. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(94\)00026-Q](https://doi.org/10.1016/0147-9571(94)00026-Q)
- Bettelheim, K. A., Kuzevski, A., Gilbert, R. A., Krause, D. O., & Mcsweeney, C. S. (2005). The diversity of *Escherichia coli* serotypes and biotypes in cattle faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 699–709. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02501.x>
- Beutin, L., Geier, D., Steinruck, H., Zimmermann, S., & Scheutz, F. (1993). Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(9), 2483–2488. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.9.2483-2488.1993>
- Beutin, L., Gleier, K., Kontny, I., Echeverria, P., & Scheutz, F. (1997). Origin and characteristics of enteroinvasive strains of *Escherichia coli* (EIEC) isolated in Germany. *Epidemiol. Infect.*, 118, 199–205. <https://doi.org/10.1017/S0950268897007413>
- Beutin, L., Krause, G., Zimmermann, S., Kaulfuss, S., & Gleier, K. (2004). Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1099–1108. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1099-1108.2004>

-
- Beutin, L., Zimmermann, S., & Gleier, K. (1996). Rapid detection and isolation of Shiga-like toxin (Verocytotoxin)- producing *Escherichia coli* by direct testing of individual enterohemolytic colonies from washed sheep blood agar plates in the VTEC-RPLA assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2812–2814. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.11.2812-2814.1996>
- Bewick, V., Cheek, L., & Ball, J. (2004). Statistics review 8: qualitative data - tests of association. *Critical Care*, 8(1), 46–53. <https://doi.org/10.1186/cc2428>
- Binh, D. X., Minh, N. N., & Nguyet, D. T. (2017). Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* bacteria contamination on meat at public market in the North of Vietnam. *SOJ Microbiology and Infectious Diseases*, 5(5), 1–22. <https://doi.org/10.15226/sojmid/5/5/00184>
- Blanco, J., Blanco, M., González, E. A., Blanco, J. E., Alonso, M. P., Garabal, J. I., & Jansen, W. H. (1993). Serotypes and colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated in various countries. *European Journal of Epidemiology*, 9(5), 489–496. <https://doi.org/10.1007/BF00209526>
- Blanco, M., Blanco, J. E., Dahbi, G., Alonso, M. P., Mora, A., Coira, M. A., Madrid, C., Juárez, A., Bernárdez, M. I., González, E. A., & Blanco, J. (2006). Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *International Microbiology*, 9(2), 103–110. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16835840/>
- Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Dahbi, G., Alonso, M. P., González, E. A., Bernárdez, M. I., & Blanco, J. (2004). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* Isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-ξ). *Journal of Clinical Microbiology*, 42(2), 645–651. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.2.645-651.2004>
- Blanco, M., Padola, N. L., Krüger, A., Sanz, M. E., Blanco, J. E., González, E. A., Dahbi, G., Mora, A., Bernárdez, M. I., Etcheverría, A. I., Arroyo, G. H., Lucchesi, P. M. A., Parma, A. E., & Blanco, J. (2004). Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *International Microbiology*, 7(4), 269–276. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15666247/>
- Blount, Z. D. (2015). The unexhausted potential of *E. coli*. *ELIFE*, 4(e05826), 1–12. <https://doi.org/10.7554/eLife.05826>
- BNADN (2020). *Programa de control de calidad de muestras de ADN y ARN*. Banco Nacional de ADN, Carlos III. Universidad de Salamanca. www.bancoadn.org
- Bobay, L.-M., & Ochman, H. (2017). The evolution of bacterial genome architecture. *Frontiers in*

Genetics, 8(72), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00072>

- Boeckel, T., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science*, 365(aaw1944), 1–5. <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>
- Boeckel, T. P. V., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *PNAS*, 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Boerlin, P., McEwen, S. A., Boerlin-Petzold, F., Wilson, J. B., Johnson, R. P., & Gyles, C. L. (1999). Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(3), 497–503. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.3.497-503.1999>
- Bonner, K. E., Carter, M., Zielinski, C., Morey, K., McLitus, L., DeBess, E., Hatch, J., & Leman, R. (2022). Enteropathogenic *Escherichia coli* outbreak in a child care center — oregon, august 2021. *Morbidity and Mortality Weekly Report Enteropathogenic*, 71(14), 527. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7114a3>
- Bourdin, G., Navarro, A., Sarker, S. A., Pittet, A. C., Qadri, F., Sultana, S., Cravioto, A., Talukder, K. A., Reuteler, G., & Brüssow, H. (2014). Coverage of diarrhoea-associated *Escherichia coli* isolates from different origins with two types of phage cocktails. *Microbial Biotechnology*, 7(2), 165–176. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12113>
- Bowser, S., Melton-Celsa, A., Chapartegui-González, I., & Torres, A. G. (2024). Further evaluation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* gold nanoparticle vaccines utilizing *Citrobacter rodentium* as the model organism. *Vaccines*, 12(5), 1–20. <https://doi.org/10.3390/vaccines12050508>
- Braz, S. V., Melchior, K., & Moreira, C. G. (2020). *Escherichia coli* as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(548492), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.548492>
- Brito, I. L. (2021). Examining horizontal gene transfer. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 442–453. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00534-7>
- Brzuszkiewicz, E., Thürmer, A., Schuldes, J., Leimbach, A., Liesegang, H., Meyer, F.-D., Boelter, J., Petersen, H., Gottschalk, G., & Daniel, R. (2011). Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: entero-aggregative-haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Archives of Microbiology*, 193, 883–891. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0725-6>

-
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Buvens, G., De Gheldre, Y., Dediste, A., De Moreau, A. I., Mascart, G., Simon, A., Allemeersch, D., Scheutz, F., Lauwers, S., & Piérard, D. (2012). Incidence and virulence determinants of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infections in the Brussels-capital region, Belgium, in 2008-2010. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(4), 1336–1345. <https://doi.org/10.1128/JCM.05317-11>
- Cabrera, E., Ascencio, I. A., Segura, E. L., Pérez, O. B., Orozco, G. A., Varela, J. J., & González, G. (2020). Impacto de fallas en las buenas prácticas de manufactura en la producción de carne molida de res en carnicerías de tres municipios de la zona metropolitana de Guadalajara. *E-CUCBA*, *14*(7), 55–67. <https://doi.org/10.32870/e-cucba.v0i14.170>
- Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2014). An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. *Meat Science*, *98*(3), 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.033>
- Cameron, A., Klima, C. L., Ha, R., Gruninger, R. J., Zaheer, R., & McAllister, T. A. (2018). A novel *aadA* aminoglycoside resistance gene in bovine and porcine pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, *3*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00568-17>
- Cantón, R. (2010). Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *28*(6), 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.01.001>
- Cardona-López, M. A., Padilla-Frausto, J. J., Madriz-Elisondo, A. L., Hinojosa-Dávalos, J., Navarro-Villarruel, C. L., Valera-Hernández, J. J., & Ibarra Velázquez, L. M. (2020). Identification of *Escherichia coli* pathotypes in ground beef from butcher shops of Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, *7*(e924), 1–12. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e924>
- Carhuapoma, V., Valencia, N., Huamán, T., Paucar, R., Hilario, E., & Huere, J. (2020). Resistencia antibiótica de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* aisladas de alpacas (*Vicugna pacus*) con y sin diarrea. *La Granja: Revista de Ciencias de La Vida*, *31*(1), 98–107. <http://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.08>
- Carrillo-Del Valle, M. D., De la Garza-García, J. A., Díaz-Aparicio, E., Valdivia-Flores, A. G., Cisneros-Guzmán, L. F., Rosario, C., Manjarrez-Hernández, Á. H., Navarro, A., Xicohtencatl-Cortes, J., Maravilla, P., & Hernández-Castro, R. (2016). Characterization of

-
- Escherichia coli* strains from red deer (*Cervus elaphus*) faeces in a Mexican protected natural area. *European Journal of Wildlife Research*, 62(4), 415–421. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1015-z>
- Carrillo, L., Audisio, C., Bejarano, N., Gómez, S., Ancasi, G., & Benítez, M. (2007). *Manual de microbiología de los alimentos*. Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy.
- Carvajal, E., Hernández, W., Torres, M., López, D., Rueda, E., & Vásquez, M. (2019). Resistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* aisladas de contenidos de bursa de Fabricio de aves para engorde. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 430–437. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/5661>
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), 1–21. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Catford, A., Kouamé, V., Martínez-Perez, A., Gill, A., Buenaventura, E., Couture, H., & Farber, J. M. (2014). Risk profile on non-O157 Verotoxin-producing *Escherichia Coli* in produce, beef, milk and dairy products in Canada. *International Food Risk Analysis Journal*, 4(21), 1–25. <https://www.researchgate.net/publication/266385481>
- CCMPH. (2005). Código de prácticas de higiene para la carne (CXC 58-2005). *Codex Alimentarius*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/es/>
- CDC. (2025). *Foodborne Ills Source Estimates*. Food Safety. Centers of Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/food-safety/php/data-research/foodborne-illness-sources/index.html>
- Centner, T. J. (2016). Recent government regulations in the United States seek to ensure the effectiveness of antibiotics by limiting their agricultural use. *Environment International*, 94, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.04.018>
- Cerda, J., Vera, C., & Rada, G. (2013). *Odds ratio*: aspectos teóricos y prácticos. *Revista Médica de Chile*, 141(10), 1329–1335. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872013001000014>
- Chan, Y. S., & Ng, T. B. (2016). Shiga toxins: from structure and mechanism to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(4), 1597–1610. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7236-3>
- Chang, Z., Zhang, J., Ran, L., Sun, J., Liu, F., Luo, L., Zeng, L., Wang, L., Li, Z., Yu, H., & Liao, Q. (2016). The changing epidemiology of bacillary dysentery and characteristics of antimicrobial resistance of *Shigella* isolated in China from 2004–2014. *BMC Infectious*

-
- Diseases*, 16(685), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1977-1>
- Chart, H., Perry, N. T., & Jenkins, C. (2004). The expression of an R3 lipopolysaccharide-core by pathotypes of *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 96(5), 982–986. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02233.x>
- Chen, J., Su, Z., Dai, T., Huang, B., Mu, Q., Zhang, Y., & Wen, D. (2019). Occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in the sediments of the East China Sea Bays. *Journal of Environmental Sciences*, 81, 156–167. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.01.016>
- Chien, S., Sheen, S., Sommers, C., & Sheen, L. (2016). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and uropathogenic *E. coli* in ground beef by high pressure processing and citral. *Food Control*, 73, 672–680. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.017>
- Chiu, C.-H., Su, L.-H., Chu, C.-H., Wang, M.-H., Yeh, C.-M., Weill, F.-X., & Chu, C. (2006). Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium phage types DT102, DT104, and U302 by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(7), 2354–2358. <https://doi.org/10.1128/JCM.00171-06>
- Chiueh, L. C., Liu, F. M., & Shih, D. Y. C. (2002). Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in feces and raw milk of domestic cattle and sheep. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(1), 39–46. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2769>
- Cho, Y. S., Koo, M. S., & Jang, H. J. (2020). Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, pork, and chicken meat in Korean markets. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48(2), 121–128. <https://doi.org/10.4014/mbi.1912.12005>
- CLSI. (2020). *M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (30th ed.). CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Collignon, P., Beggs, J. J., Walsh, T. R., Gandra, S., & Laxminarayan, R. (2018). Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: a univariate and multivariable analysis. *The Lancet Planetary Health*, 2(9), e398–e405. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(18\)30186-4](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30186-4)
- COMECARNE. (2025). *Compendio Estadístico 2025*. Consejo Mexicano de la Carne. <https://compendio2025.comecarne.org/>
- Cookson, A. L., Taylor, S. C. S., Bennett, J., Thomson-Carter, F., & Attwood, G. T. (2006). Serotypes and analysis of distribution of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from cattle and sheep in the lower North Island, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 54(2), 78–84. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36616>
- Cordero-López, A. P., Vega-Sánchez, V., Martínez-Juárez, V. M., Olave-Leyva, J. I., Gómez-De Anda, F. R., & Reyes-Rodríguez, N. E. (2025). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli*

-
- isolated from ground beef in Huasca de Ocampo, Hidalgo, Mexico. *Tropical Animal Science Journal*, 48(1), 75–82. <https://doi.org/10.5398/tasj.2025.48.1.75>
- Cortimiglia, C., Borney, M. F., Bassi, D., & Coconcelli, P. S. (2021). Genomic investigation of virulence potential in Shiga toxin *Escherichia coli* (STEC) strains from a semi-hard raw milk cheese. *Frontiers in Microbiology*, 11(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.629189>
- Curiale, M. S., Sons, T., McIver, D., McAllister, J. S., Halsey, B., Roblee, D., & Fox, T. L. (1991). Dry rehydratable film for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in foods: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 74(4), 635–648. <https://doi.org/10.1093/jaoac/74.4.635>
- da Cruz, A. G., Cenci, S. A., & Maia, M. C. A. (2006). Quality assurance requirements in produce processing. *Trends in Food Science and Technology*, 17(8), 406–411. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.03.003>
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3903–3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>
- Daly, A. J., Baetens, J. M., & De Baets, B. (2018). Ecological diversity: measuring the unmeasurable. *Mathematics*, 6(7), 1–28. <https://doi.org/10.3390/math6070119>
- Davis, H., Magistrali, A., Butler, G., & Stergiadis, S. (2022). Nutritional benefits from fatty acids in organic and grass-fed beef. *Foods*, 11(646), 1–19. <https://doi.org/10.3390/foods11050646>
- De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in *Enterobacteriaceae*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5090), 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms21145090>
- De la Maza, L., Pezzlo, M., Shigei, J., & Peterson, E. (2004). *Color atlas of medical bacteriology*. ASM Press.
- de Lira, D. R. P., Cavalcanti, A. M. F., Pinheiro, S. R. S., Orsi, H., dos Santos, L. F., & Hernandez, R. T. (2021). Identification of a hybrid atypical enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* (aEPEC/EAEC) clone of serotype O3:H2 associated with a diarrheal outbreak in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(4), 2075–2079. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00580-6>
- Tavares, R. de M., Sereno, M. J., Nunes da Cruz, A., Pereira, J. G., Bersot, L. dos S., Yamatogi, R. S., Call, D. R., & Nero, L. A. (2024). Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from different cattle production systems in Brazil. *Food Microbiology*, 121(104508), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104508>

-
- DeBoy, J. M., Thorne, G. M., Deneke, C. F., & Wachsmuth, I. K. (1981). Colonization factors and *Escherichia coli* belonging to enterotoxin-associated serotypes. *Current Microbiology*, 6(1), 49–53. <https://doi.org/10.1007/BF01566726>
- Debroy, C., Fratamico, P. M., & Roberts, E. (2018). Molecular serogrouping of *Escherichia coli*. *Animal Health Research Reviews*, 19(1), 1–16. <https://doi.org/10.1017/S1466252317000093>
- DENUE. (2024). *Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas*. Sistemas de consulta. Instituto Nacional de Estadística y Geografía <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/denue/default.aspx>
- Desvaux, M., Dalmaso, G., Beyrouthy, R., Barnich, N., Delmas, J., & Bonnet, R. (2020). Pathogenicity factors of genomic islands in intestinal and extraintestinal *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 11(2065), 1–35. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02065>
- DGSIAP. (2026). *Anuario Estadístico de la Producción Ganadera*. Dirección General del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_pecuario/
- Di Pillo, F., & Sotomayor, G. (2018). *Escherichia coli* productoras de toxinas Shiga O157 y no O157 en carne bovina, Chile. *Perfil de Riesgo Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria*, 3(1) 1–77. <https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2024/09/Perfil-de-Riesgo-E-coli-STEC-en-carne-bovina-v1-2018-1.pdf>
- Dias, Â. M. G., Irino, K., Kano, E., Kato, M. A. M. F., Gomes, T., Tardeli, A., & Trabulsi, L. R. (2008). Virulence-associated genes diversity in *Escherichia coli* O128 strains isolated in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 67(2), 156–162. <https://www.researchgate.net/profile/Tania-Gomes-5/publication/277029741>
- Dias, R. C. B., Tanabe, R. H. S., Vieira, M. A., CergoleNovella, M. C., dos Santos, L. F., Gomes, T. A. T., Elias, W. P., & Hernandez, R. T. (2020). Analysis of the virulence profile and phenotypic features of typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) isolated from diarrheal patients in Brazil. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(144), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00144>
- Díaz, T. (2014). Contribución de la producción pecuaria a la seguridad alimentaria y nutricional y a la reducción de la pobreza en América Latina y el Caribe. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1), 3–4. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193030122002>
- Dionisio, F., Domingues, C. P. F., Rebelo, S., Monteiro, F., & Nogueira, T. (2023). The impact of non-pathogenic bacteria on the spread of virulence and resistance genes. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms24031967>

-
- Diyantoro, & Wardhana, D. K. (2019). Risk factors for bacterial contamination of bovine meat during slaughter in ten Indonesian abattoirs. *Veterinary Medicine International*, 2019(2707064), 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/2707064>
- DOF. (2003). NORMA Oficial Mexicana NOM-064-ZOO-2000, Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos. *Diario Oficial de la Federación*. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-064-zoo-2000?state=published>
- DOF. (2004). NORMA Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=661587&fecha=18/09/2004#gsc.tab=0
- DOF. (2007). Ley federal de sanidad animal. *Diario Oficial de la Federación*, 1–65. <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LFSA.pdf>
- DOF. (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5133449&fecha=01/03/2010#gsc.tab=0
- DOF. (2018). NORMA Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5556645&fecha=03/04/2019#gsc.tab=0
- Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. (2011). Virulence factors and antibiotic susceptibility among verotoxic non O157: H7 *Escherichia coli* isolates obtained from water and wastewater samples in Cape Town, South Africa. *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14160–14168. <https://doi.org/10.5897/ajb11.1534>
- Doza, S., Rahman, M. J., Islam, M. A., Kwong, L. H., Unicomb, L., Ercumen, A., Pickering, A. J., Parvez, S. M., Naser, A. M., Ashraf, S., Das, K. K., & Luby, S. P. (2018). Prevalence and association of *Escherichia coli* and diarrheagenic *Escherichia coli* in stored foods for young children and flies caught in the same households in rural Bangladesh. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(4), 1031–1038. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0408>
- Dubreuil, J. D., Isaacson, R. E., & Schifferli, D. M. (2016). Animal enterotoxigenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*, 7(1), 1–47. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2016>
- Duran, N., Ozer, B., Duran, G. G., Onlen, Y., & Demir, C. (2012). Antibiotic resistance genes &

-
- susceptibility patterns in staphylococci. *Indian Journal of Medical Research*, 135(3), 389–396. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3361877/>
- Echeverria, P., Blacklow, N. R., Zipkin, C., Vollet, J. J., Olson, J. A., Dupont, H. L., & Cross, J. H. (1979). Etiology of gastroenteritis among americans living in the philippines. *American Journal of Epidemiology*, 109(4), 493–501. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112706>
- EFSA, (2011). Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 outbreaks in Europe: taking stock. *European Food Safety Authority Journal*, 9(10), 1–22. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2390>
- Eisenreich, W., Rudel, T., Heesemann, J., & Goebel, W. (2022). Link between antibiotic persistence and antibiotic resistance in bacterial pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12(900848), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.900848>
- Elabbasy, M. T., Hussein, M. A., Algahtani, F. D., Abd El-Rahman, G., Morshdy, A. E., Elkafrawy, I. A., & Adeboye, A. A. (2021). MALDI-TOF MS based typing for rapid screening of multiple antibiotic resistance *E. coli* and virulent non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* isolated from the slaughterhouse settings and beef carcasses. *Foods*, 10(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods10040820>
- Elkins, C. A., & Nikaido, H. (2002). Substrate specificity of the RND-type multidrug efflux pumps AcrB and AcrD of *Escherichia coli* is determined predominately by two large periplasmic loops. *Journal of Bacteriology*, 184(23), 6490–6498. <https://doi.org/10.1128/JB.184.23.6490-6499.2002>
- Emamalipour, M., Seidi, K., Vahed, S. Z., Jahanban-Esfahlan, A., Jaymand, M., Majdi, H., Amoozgar, Z., Chitkushev, L. T., Javaheri, T., Jahanban-Esfahlan, R., & Zare, P. (2020). Horizontal gene transfer: from evolutionary flexibility to disease progression. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8(229), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00229>
- Enany, M., Wahdan, A., El-Metwaly, M., Hassan, W., & Abo Hashem, M. (2021). Bacterial causes of hemorrhagic gastroenteritis in dogs and cats with detection of some virulence and β -lactamase resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* by multiplex PCR. *Suez Canal Veterinary Medical Journal. SCVMJ*, 26(1), 39–59. <https://www.researchgate.net/publication/349983320>
- Escher, M., Scavia, G., Morabito, S., Tozzoli, R., Maugliani, A., Cantoni, S., Fracchia, S., Bettati, A., Casa, R., Gesu, G. P., Torresani, E., & Caprioli, A. (2014). A severe foodborne outbreak of diarrhoea linked to a canteen in Italy caused by enteroinvasive *Escherichia coli*, an uncommon agent. *Epidemiology and Infection*, 142(12), 2559–2566.

<https://doi.org/10.1017/S0950268814000181>

- EUCAST. (2024). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, valid from 2024-01-01. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. <http://www.eucast.org>
- European Council. (2007). Commission Regulation (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs (text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*, 50, 12–29. <http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1441/oj>
- Eyi, A., & Arslan, S. (2012). Prevalence of *Escherichia coli* in retail poultry meat, ground beef and beef. *Medycyna Weterynaryjna*, 68(4), 237–240. <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2012/042012/201204237240.pdf>
- FAO/OPS. (2017). *Manual manipuladores de alimentos*. Gobierno de Cantabria. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. <https://www.fao.org/3/i7321s/i7321s.pdf>
- FAO/WHO. (2011). *Enterohaemorrhagic Escherichia coli in raw beef and beef products: approaches for the provision of scientific advice*. Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. Microbiological Risk Assessment Series No. 18. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241548243>
- FAO/WHO. (2018). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. Microbiological Risk Assessment Series No 31. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/CA0032EN/>
- FAO. (2023a). *Introduction and control of food hazards – Section 1*. FAO Good Hygiene Practices (GHP) and Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Toolbox for Food Safety. Food and Agriculture Organization of the United Nations <https://doi.org/10.4060/cc6226en>
- FAO. (2023b). *Introduction to Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)*. FAO Good Hygiene Practices (GHP) and Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Toolbox for Food Safety. Food and Agriculture Organization of the United Nations <https://doi.org/10.4060/cc6246en>
- FAO. (2025). *Statistical Yearbook World Food and Agriculture 2025*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cd4313en>
- Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-cárdenas, F. A., & Várgas-Remolina, L. V. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista Chilena de*

Infectología, 33(4), 438–450. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>

- Feng, P., Fields, P. I., Swaminathan, B., & Whittam, T. S. (1996). Characterization of nonmotile variants of *Escherichia coli* O157 and other serotypes by using an antFLAGELLIN monoclonal antibody. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2856–2859. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.11.2856-2859.1996>
- FERG. (2015). *Global burden foodborne diseases - from data to action*. FERG-symposium 2015. Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. <https://www.rivm.nl/en/food-safety/foodborne-diseases/ferg-symposium-2015>
- Fernández, D., Irino, K., Sanz, M. E., Padola, N. L., & Parma, A. E. (2010). Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from dairy cows in Argentina. *Letters in Applied Microbiology*, 51(4), 377–382. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02904.x>
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Valera, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (ETAs); una alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284–2298. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433
- Ferreira, A. M., Martins, K. B., da Silva, V. R., Mondelli, A. L., & Ribeiro de Souza da Cunha, M. de L. (2017). Correlation of phenotypic tests with the presence of the *blaZ* gene for detection of beta-lactamase. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(1), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.011>
- Fiallos-López, J. D., Enriquez, M. D. L., & Navarro-Ocaña, A. (2018a). Caracterización serológica de *Escherichia coli* en cepas de origen humano. *Portal de La Ciencia*, 14, 41–52. <https://doi.org/10.5377/pc.v0i14.6637>
- Fiallos-López, J. D., Enriquez, M. D. L., Montoya, B. D., & Navarro-Ocaña, A. (2018b). Caracterización molecular y serológica de *Escherichia coli* en Quesos artesanales de seis departamentos de Honduras. *Portal de La Ciencia*, 14, 23–40. <https://doi.org/10.5377/pc.v0i14.6636>
- Fleckenstein, J. M., & Kuhlmann, F. M. (2019). Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections. *Current Infectious Disease Reports*, 21(9), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11908-019-0665-x>
- Fleckenstein, J. M., & Sheikh, A. (2021). Emerging themes in the molecular pathogenesis of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases*, 224(S7), S813-820. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab359>
- Flores-Oropeza, M. A., Ochoa, S. A., Cruz-Córdova, A., Chavez-Tepecano, R., Martínez-Peñañiel, E., Rembao-bojórquez, D., Zavala-Vega, S., Flores-Encarnacion, M., Arellano-Galindo, J., Vélez, D., & Xicohtencatl-Cortes, J. (2024). Comparative genomic analysis of

-
- uropathogenic *Escherichia coli* strains from women with recurrent urinary tract infection. *Frontiers in Microbiology*, 14(1340427), 1–22. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1340427>
- Focker, M., Asselt, E. D. Van, Berendsen, B. J. A., Schans, M. G. M. Van De, Leeuwen, S. P. J. Van, Visser, S. M., & Fels-Klerx, H. J. Van Der. (2022). Review of food safety hazards in circular food systems in Europe. *Food Research International*, 158(111505), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111505>
- Foudraine, D. E., Strepis, N., Stingl, C., Kate, M. T., Verbon, A., Klaassen, C. H. W., Goessens, W. H. F., Luider, T. M., & Dekker, L. J. M. (2021). Exploring antimicrobial resistance to beta-lactams, aminoglycosides and fluoroquinolones in *E. coli* and *K. pneumoniae* using proteogenomics. *Scientific Reports*, 11(12472), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91905-w>
- Fratamico, P. M., Bagi, L. K., Bush, E. J., & Solow, B. T. (2004). Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine feces recovered in the national animal health monitoring system's swine 2000 study. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 7173–7178. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7173-7178.2004>
- Friedrich, A. W., Bielaszewska, M., Zhang, W. L., Pulz, M., Kuczius, T., Ammon, A., & Karch, H. (2002). *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *Journal of Infectious Diseases*, 185(1), 74–84. <https://doi.org/10.1086/338115>
- Friendly, M. (1999). Extending mosaic displays: arginal, partial, and conditional views of categorical data. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 8(3), 373–395. <https://doi.org/10.1080/10618600.1999.10474820>
- Frye, J. G., & Jackson, C. R. (2013). Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from U.S. food animals. *Frontiers in Microbiology*, 4(135), 1–22. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00135>
- FSANZ. (2017). Imported food risk statement Fresh raw beef and beef products and Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Food Standards Australia New Zealand Department of Agriculture and Water Resources*. <https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/2023-11/Beef%20and%20STEC.pdf>
- Fu, Y., Nawrocki, E. M., M'ikanatha, Nkuchia, M., & Dudley, E. G. (2024). Host species shapes genotype, antimicrobial resistance, and virulence profiles of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) from livestock in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(8), 1–19. <https://doi.org/10.1128/aem.00749-24>
- Fukushima, H., Hoshina, K., & Gomyoda, M. (2000). Selective isolation of *eae*-positive strains of

-
- Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(4), 1684–1687. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.4.1684-1687.2000>
- Galarde-López, M., Cruz-Monsalvo, B. Y., Carranza-Velázquez, J. A., Zumaya-Estrada, F. A., Carrillo-Quiroz, B. A., Herrera-García, S. C., & Alpuche-Aranda, C. M. (2024). Use of antibiotics among small-scale cattle farmers in rural areas in Queretaro, Mexico. *Veterianria Mexico OA*, 11, 1–15. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2024.1292>
- Galli, L., Miliwebsky, E., Irino, K., Leotta, G., & Rivas, M. (2010). Virulence profile comparison between LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from cattle and humans. *Veterinary Microbiology*, 143(2–4), 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.028>
- Galué, A., & Cáceres, K. (2018). Análisis microbiológico de carne molida de diferentes puntos de venta ubicados en Santa Bárbara de Zulia – Estado Zulia – Venezuela. *Conocimiento Libre y Licenciamiento (CLIC)*, 17(9), 66–76. <https://convite.cenditel.gob.ve/revistacliv/index.php/revistacliv/article/view/925>
- García, N. M. & Salazar, G. R. (2001). Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1249–1251. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.8.1249>
- García-Meniño, I., Díaz-Jiménez, D., García, V., de Toro, M., Flament-Simon, S. C., Blanco, J., & Mora, A. (2019). Genomic characterization of prevalent *mcr-1*, *mcr-4*, and *mcr-5* *Escherichia coli* within swine enteric colibacillosis in Spain. *Frontiers in Microbiology*, 10(2469), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02469>
- George, A., Stead, T. S., & Ganti, L. (2020). What's the risk: differentiating risk ratios, odds ratios, and hazard ratios? *Cureus*, 12(8), 6–13. <https://doi.org/10.7759/cureus.10047>
- Giammanco, A., Maggio, M., Giammanco, G., Morelli, R., Minelli, F., Scheutz, F., & Caprioli, A. (1996). Characteristics of *Escherichia coli* strains belonging to enteropathogenic *E. coli* serogroups isolated in Italy from children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(3), 689–694. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.3.689-694.1996>
- Gizaw, Z. (2019). Public health risks related to food safety issues in the food market: a systematic literature review. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 24(68), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12199-019-0825-5>
- Goldhar, J., Peri, R., Zilberberg, R., & Lahav, M. (1980). Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) isolated in the Tel-Aviv (Israel) area. *Medical Microbiology and Immunology*, 169, 53–61. <https://doi.org/10.1007/BF02123712>
- Gomes, T., Elias, W., Scaletsky, I., Guth, B., Rodrigues, J., Piazza, R., Ferreira, L., & Martinez,

-
- M. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(S1), 3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
- Gómez-Aldapa, C. A., Díaz-Cruz, C. A., Cerna-Cortes, J. F., Torres-Vitela, M. D. R., Villarruel-López, A., Rangel-Vargas, E., & Castro-Rosas, J. (2013). *Escherichia coli* O157 in ground beef from local retail markets in Pachuca, Mexico. *Journal of Food Protection*, 76(4), 680–684. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-348>
- Govindarajan, K. D., Viswalingam, N., Meganathan, Y., & Kandaswamy, K. (2020). Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis. *Medicine in Microecology*, 5(100025), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2020.100025>
- Grace, K.-L., & Sandoval, A. (2020). Sanitation Standard Operating Procedures (SSOPs). In A. Demirci, H. Feng, & K. Krishnamurthy (Eds.), *Food Engineering Series* (pp. 175–190). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_7
- Greenwood, P. L. (2021). Review: an overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. *Animal*, 15(S1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100295>
- Gutiérrez-Torres, J. A., Pinto-Ruiz, R., Crosby-Galván, M. M., Pérez-Olvera, M. A., & Hernández-Sánchez, D. (2023). Marco regulatorio de la carne de bovino en México: normativa para un estándar de certificación de calidad e inocuidad. *Nacameh*, 17(2), 85–100. https://cbs.izt.uam.mx/nacameh/volumenes/v17n2/Nacameh_v17n2p85_Gutierrez-et al.pdf
- Haassan, A. O., Ojo, B. O., & Abdulrahman, A. O. (2021). *Escherichia coli* as a global pathogen. *Achievers Journal of Scientific Research*, 3(1), 239–260. <https://achieverssciencejournal.org/ajosrojs/index.php/ajosr/article/view/20>
- Halagarda, M., & Wójciak, K. M. (2022). Health and safety aspects of traditional European meat products. A review. *Meat Science*, 184(108623), 1–26. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108623>
- Hassanien, F. S., Shaltout, F. A., Fahmey, M. Z., & Elsukkary, H. F. (2020). Bacteriological quality guides in local and imported beef and their relation to public health. *Benha Veterinary Medical Journal*, 39(1), 125–129. https://www.researchgate.net/publication/346069242_
- Hassanzadeh, P., Nouri Gharajalar, S., & Mohammadzadeh, S. (2022). Antimicrobial effects of different synbiotic compounds against pathogenic bacteria isolated from beef, mutton, and chicken. *Archives of Razi Institute*, 77(6), 2105–2113. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37274910/>

-
- Heiman, K. E., Mody, R. K., Johnson, S. D., Griffin, P. M., & Hannah Gould, L. (2015). *Escherichia coli* O157 Outbreaks in the United States, 2003–2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21(8), 1293–1301. <https://doi.org/10.3201/eid2108.141364>
- Heredia, N., Dávila-Aviña, J., Solís, L., & García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8(Extra 1), 20–42. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6032880.pdf>
- Hernández-Chiñas, U., Chávez-Berrocal, M. E., Ahumada-Cota, R. E., Navarro-Ocaña, A., Rocha-Ramírez, L. M., Pérez-Del Mazo, Y., Alvarado-Cabello, M., Pérez-Soto, G., León-Alamilla, L. A., Acevedo-Monroy, S. E., Esquiliano, D., Raya-Rivera, A. M., & Eslava, C. A. (2021). Prospective study in children with complicated urinary tract infection treated with autologous bacterial lysates. *Microorganisms*, 9(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091811>
- Hidalgo-Cumbicos, M. R., Vargas-González, O. N., & Vite-Cevallos, H. A. (2020). Análisis situacional de la actividad ganadera en la parroquia Palmales del cantón Arenillas. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 124–130. <https://doi.org/10.62452/bve9t651>
- Hinenoya, A., Shima, K., Asakura, M., Nishimura, K., Tsukamoto, T., Ooka, T., Hayashi, T., Ramamurthy, T., Faruque, S. M., & Yamasaki, S. (2014). Molecular characterization of cytotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle and swine in Nara, Japan. *BMC Microbiology*, 14(97), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-97>
- Hirsch, D. R., Cox, G., D'Erasmus, M. P., Shakya, T., Meck, C., Mohd, N., Wright, G. D., & Murelli, R. P. (2014). Inhibition of the ANT(2^{III})-Ia resistance enzyme and rescue of aminoglycoside antibiotic activity by synthetic α -hydroxytropolones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(21), 4943–4947. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.09.037>
- Holst, M. M., Wittry, B. C., Crisp, C., Torres, J., Irving, D. J., & Nicholas, D. (2025). Contributing Factors of Foodborne Illness Outbreaks — National Outbreak Reporting System, United States, 2014–2022. *MMWR Surveillance Summaries*, 74(1), 1–12. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss7401a1>
- Hornitzky, M. A., Vanselow, B. A., Walker, K., Bettelheim, K. A., Corney, B., Gill, P., Bailey, G., & Djordjevic, S. P. (2002). Virulence properties and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from healthy Australian cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), 6439–6445. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6439-6445.2002>
- Hosain, Z., Kabir, L., & Kamal, M. (2021). Antimicrobial uses for livestock production in developing countries. *Veterinary World*, 14, 23–25. <https://www.veterinaryworld.org/Vol.14/January-2021/27.pdf>

-
- Hovdey, R., Sargeant, J. M., Fisman, D. N., & Greer, A. L. (2022). Examining the role of person-to-person transmission during a verocytotoxigenic *Escherichia coli* outbreak in Ontario, Canada. *BMC Research Notes*, *15*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-022-06075-3>
- Hu, J., & Torres, A. G. (2015). Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander? *Clinical Microbiology and Infection*, *21*(8), 729–734. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.01.015>
- Hua, Y., Zhang, J., Jernberg, C., Chromek, M., Hansson, S., Frykman, A., Xiong, Y., Wan, C., Matussek, A., & Bai, X. (2021). Clinical Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates. *Toxins*, *71*(13), 1–11. <https://doi.org/10.3390/toxins13010071>
- Huang, L., Yuan, H., Liu, M.-F., Zhao, X.-X., Wang, M.-S., Jia, R.-Y., Chen, S., Sun, K.-F., Yang, Q., Wu, Y., Chen, X.-Y., Cheng, A.-C., & Zhu, D.-K. (2017). Type B chloramphenicol acetyltransferases are responsible for chloramphenicol resistance in *Riemerella anatipestifer*, China. *Frontiers in Microbiology*, *8*(297), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00297>
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, December 8 2009, 1–13. <https://asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
- Ibrahim, E. M. A., Elbarbary, H. A., Shawky, N. A., & El-Sebay, I. (2019). Incidence and molecular characterization of *Escherichia coli* in some dairy products. *Benha Veterinary Medical Journal*, *37*(1), 102–106. <https://www.researchgate.net/publication/341604836>
- Ifedinezi, O. V., Nnaji, N. D., Anumudu, C. K., Ekwueme, C. T., Uhegwu, C. C., Ihenetu, F. C., Obioha, P., Simon, B. O., Ezechukwu, P. S., & Onyeaka, H. (2024). Environmental antimicrobial resistance: implications for food safety and public health. *Antibiotics*, *13*(1087), 1–40. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111087>
- INEGI. (2020). *Censo de Población y Vivienda (CPV)*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/#Microdatos>
- Irino, K., Kato, M. A. M. F., Vaz, T. M. I., Ramos, I. I., Souza, M. A. C., Cruz, A. S., Gomes, T. A. T., Vieira, M. A. M., & Guth, B. E. C. (2005). Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in São Paulo State, Brazil. *Veterinary Microbiology*, *105*(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.08.007>
- Islam, M. A., Mondol, A. S., De Boer, E., Beumer, R. R., Zwietering, M. H., Talukder, K. A., & Heuvelink, A. E. (2008). Prevalence and genetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(17), 5414–5421. <https://doi.org/10.1128/AEM.00854-08>

-
- Ismail, A. M., Deeb, A. M. M., Alhawary, I. I., Elkassas, W. M., & Hegazy, Y. M. (2022). Influence of lysozyme utilization with lactic acid bacteria in yoghurt on some foodborne pathogens. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(3), 4535–4544. <https://doi.org/10.12681/jhvms.27796>
- Itoh, Y., Nagano, I., Kunishima, M., & Ezaki, T. (1997). Laboratory investigation of enteroaggregative *Escherichia coli* O untypeable:H10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(10), 2546–2550. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.10.2546-2550.1997>
- Jacques, B. J., Bourret, T. J., & Shaffer, J. J. (2017). Role of fly cleaning behavior on carriage of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Entomology*, 54(6), 1712–1717. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx124>
- Jain, P., Bepari, A. K., Sen, P. K., Rafe, T., Imtiaz, R., Hossain, M., & Reza, H. M. (2021). High prevalence of multiple antibiotic resistance in clinical *E. coli* isolates from Bangladesh and prediction of molecular resistance determinants using WGS of an XDR isolate. *Scientific Reports*, 11(22859), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02251-w>
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Jardine, C. M., Janecko, N., Allan, M., Boerlin, P., Chalmers, G., Kozak, G., McEwen, S. A., & Reid-Smith, R. J. (2012). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from raccoons (*Procyon lotor*) in Southern Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(11), 3873–3879. <https://doi.org/10.1128/AEM.00705-12>
- Javadi, K., Mohebi, S., Motamedifar, M., & Hadi, N. (2020). Characterization and antibiotic resistance pattern of diffusely adherent *Escherichia coli* (DAEC), isolated from paediatric diarrhoea in Shiraz, southern Iran. *New Microbe and New Infect*, 38(100780), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100780>
- Jenkins, C., Chattaway, M. A., & Ready, D. (2025). Hybrid pathotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 136(10), 1–10. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxaf250>
- Jensen, C., Ethelberg, S., Olesen, B., Schiellerup, P., Olsen, K. E. P., Scheutz, F., Nielsen, E. M., Neimann, J., Høgh, B., Gerner-Smidt, P., Mølbak, K., & Krogfelt, K. A. (2007). Attaching and effacing *Escherichia coli* isolates from Danish children: clinical significance and microbiological characteristics. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(9), 863–872. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01773.x>

-
- Jesser, K. J., & Levy, K. (2020). Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 33(5), 372–380. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000665>
- Jiménez, C., de Niz, F. S., Toscano, B. J., Reynaga, D., & Rodríguez, G. (2022). Evaluación de buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de carnes rojas en el Mercado Juárez de Autlán. *Acta de Ciencias En Salud*, 20(7): Enero-Abril 2023 Memorias XXIV Congreso Internacional Inocuidad de Alimentos. <https://actadecienciaensalud.cutonala.udg.mx/index.php/ACS/article/view/166>
- Jiménez, M. A., Galas, M., Corso, A., Hormazábal, J. C., Duarte, C., Salgado, N., Ramón-Pardo, P., & Melano, R. (2019). Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 43, 1–8. <https://doi.org/10.26633/rpsp.2019.65>
- Jiménez, M., Chaidez, C., & León, J. (2012). Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. *Veterinaria México*, 43(4), 273–284. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDREVISTA=39&IDARTICULO=42730&IDPUBLICACION=4451>
- Jiménez, R., Gudiño, L., Aguilar, J., & Loeza, P. (2017). Caracterización molecular de *Escherichia coli* resistente a antibióticos aislada de mastitis bovina en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(4), 387–396. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i4.4251>
- Joseph, A. A., Odimayo, M. S., Olokoba, L., AB, O., & Popoola, G. (2017). Multiple antibiotic resistance index of *Escherichia Coli* isolates in a tertiary hospital in South-West Nigeria. *Medical Journal of Zambia*, 44(4), 225–232. <https://doi.org/10.55320/mjz.44.4.284>
- Juan, R. L. L., Cauti, S. M., Jiménez, E. P. S., Campos, C. E., & Alvarado, D. E. (2016). Contaminación por *Escherichia coli* Shigatoxigénica en puestos de expendio de carne de pollo en un Distrito de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 27(3), 618–625. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i3.12000>
- Kanayama, A., Yahata, Y., Arima, Y., Takahashi, T., Saitoh, T., Kanou, K., Kawabata, K., Sunagawa, T., Matsui, T., & Oishi, K. (2015). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* outbreaks related to childcare facilities in Japan, 2010-2013. *BMC Infectious Diseases*, 15(539), 1-8 <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1259-3>
- Kassem, I. I., Nasser, N. A., & Salibi, J. (2020). Prevalence and loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods*, 9(11), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods9111543>

-
- Kaur, P., & Dudeja, P. K. (2023). Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli*-induced Diarrhea. *Newborn (Clarksville)*, 2(1), 102–113. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-11002-0056>
- Kempf, F., La Ragione, R., Chirullo, B., Schouler, C., & Velge, P. (2022). Super shedding in enteric pathogens: a review. *Microorganisms*, 10(2101), 1–22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112101>
- Khalil, I. A., Troeger, C., Blacker, B. F., Rao, P. C., Brown, A., Atherly, D. E., Brewer, T. G., Engmann, C. M., Houpt, E. R., Kang, G., Kotloff, K. L., Levine, M. M., Luby, S. P., MacLennan, C. A., Pan, W. K., Pavlinac, P. B., Platts-Mills, J. A., Qadri, F., Riddle, M. S., ... Reiner, R. C. (2018). Morbidity and mortality due to *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. *Lancet Infect Dis*, 18(11), 1229–1240. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30475-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30475-4)
- Khalil, I., Walker, R., Porter, C. K., Muhib, F., Chilengi, R., Cravioto, A., Guerrant, R., Svennerholm, A.-M., Qadri, F., Baqar, S., Kosek, M., Kang, G., Lanata, C., Armah, G., Wierzbica, T., Hasso-Agopsowicz, M., Giersing, B., & Bourgeois, A. L. (2021). Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccines: priority activities to enable product development, licensure, and global access. *Vaccine*, 39(31), 4266–4277. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.04.018>
- Khan, A. B., Naim, A., Orth, D., Grif, K., Mohsin, M., Prager, R., Dierich, M. P., & Würzner, R. (2009). Serine protease espP subtype α , but not β or γ , of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* is associated with highly pathogenic serogroups. *International Journal of Medical Microbiology*, 299(4), 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.08.006>
- Khan, M., Summers, S., Rice, S. A., Stapleton, F., Willcox, M. D. P., & Subedi, D. (2020). Acquired fluoroquinolone resistance genes in corneal isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection, Genetics and Evolution*, 85(104574), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104574>
- Khanna, A., Kumar, N., Rana, R., Jyoti, Sharma, A., Kaur, M. H., Mohinder, P., & Bedi, P. M. S. (2024). Fluoroquinolones tackling antimicrobial resistance: rational design, mechanistic insights and comparative analysis of norfloxacin vs ciprofloxacin derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 153(107773). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107773>
- Kim, J. S., Lee, M. S., & Kim, J. H. (2020). Recent updates on outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and its potential reservoirs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(273), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00273>
- Kim, J. S., Park, J., Shin, E., Kim, S., Oh, S. S., Yang, H.-J., Kim, D.-W., Oh, K.-H., Kim, Y., Kim,

-
- M., Kwon, M. J., Na, K., Lee, J., Cho, E., Kang, B.-H., Kwak, H.-S., Seong, W. K., & Kim, J. (2017). Outbreak of CTX-M-15-Producing Enterotoxigenic *Escherichia coli* O159:H20 in the Republic of Korea in 2016. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(9), 1–5. <https://doi.org/10.1128/AAC.00339-17>
- Kimata, K., Lee, K., Watahiki, M., Isobe, J., Ohnishi, M., & Iyoda, S. (2020). Global distribution of epidemic-related Shiga toxin 2 encoding phages among enteroaggregative *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68462-9>
- Klein, G., & Bülte, M. (2003). Antibiotic susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains with verocytotoxic *E. coli*-associated virulence factors from food and animal faeces. *Food Microbiology*, *20*(1), 27–33. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00106-5](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00106-5)
- Koch, C., Hertwig, S., Lurz, R., Appel, B., & Beutin, L. (2001). Isolation of a lysogenic bacteriophage carrying the *stx1_{OX3}* gene, which is closely associated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from sheep and humans. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(11), 3992–3998. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.3992-3998.2001>
- Krause, G., Zimmermann, S., & Beutin, L. (2005). Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin- (*eae*) gene positive *Escherichia coli* types. *Veterinary Microbiology*, *106*(1–2), 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.012>
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harb Perspective in Medicine*, *6*(a027029), 1–19. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>
- Kudva, I. T., Hatfield, P. G., & Hovde, C. J. (1997). Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* serotypes isolated from sheep. *Journal of Clinical Microbiology*, *35*(4), 892–899. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.4.892-899.1997>
- Laban, S. E., Mashaly, M. M., Aly, A. M., Maher, N. E., & Zaki, M. M. (2021). Evaluation of different hygienic practices applied in slaughterhouses and its effect on beef quality. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *9*(3), 429–437. https://www.researcherslinks.com/nexus_uploads/files/AAVS_9_3_429-437.pdf
- Lacher, D. W., Gangiredla, J., Jackson, S. A., Elkins, C. A., & Feng, P. C. H. (2014). Novel microarray design for molecular serotyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from fresh produce. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(15), 4677–4682. <https://doi.org/10.1128/AEM.01049-14>
- Lagerqvist, N., Löf, E., Enkirch, T., Nilsson, P., Roth, A., & Jernberg, C. (2020). Outbreak of gastroenteritis highlighting the diagnostic and epidemiological challenges of enteroinvasive *Escherichia coli*, County of Halland, Sweden, November 2017. *Euro Surveill*, *25*(9), 1–8.

<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.1900466>

- Lal, A., & Cheeptham, N. (2015). Decarboxylase broth protocol. *American Society for Microbiology*, September 1 2015, 1–10. <https://asm.org/protocols/decarboxylase-broth-protocol>
- Lashkenari, E. G., Mir, M. S., Mohammadi, M., Javadi, K., & Halaji, M. (2025). Investigating the relationship between mutations in *gyrA* and *parC* genes and resistance to fluoroquinolones in uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Microbial Drug Resistance*, 31(10), 317–322. <https://doi.org/10.1177/10766294251377378>
- Lee, D-W., Gwack, J., & Youn, S.-K. (2012). Enteropathogenic *Escherichia coli* outbreak and its incubation period: is it short or long? *Osong Public Health and Research Perspectives*, 3(1), 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2012.01.007>
- Lee, H., & Yoon, Y. (2021). Etiological agents implicated in foodborne illness world wide. *Food Science of Animal Resources*, 41(1), 1–7. <https://doi.org/10.5851/KOSFA.2020.E75>
- Lee, J. B., Kim, S. K., & Yoon, J. W. (2022). Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli* during a host infection. *Journal of Veterinary Science*, 23(2), 1–18. <https://doi.org/10.4142/jvs.21160>
- Lee, K. Y., Lavelle, K., Huang, A., Atwill, E. R., Pitesky, M., & Li, X. (2023). Assessment of prevalence and diversity of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from retail meats in Southern California. *Antibiotics*, 12(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040782>
- Lehman, D. (2005). Triple Sugar Iron Agar. *American Society for Microbiology*, September 30, 2005, 1–7. <https://asm.org/Protocols/Triple-Sugar-Iron-Agar-Protocols>
- Leibiger, K., Schweers, J. M., & Schütz, M. (2019). Biogenesis and function of the autotransporter adhesins YadA, intimin and invasins. *International Journal of Medical Microbiology*, 309(5), 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2019.05.009>
- León, M., Orduz, A., & Velandia, M. (2017). Composición fisicoquímica de la carne de ovejo, pollo, res y cerdo. *@Limentech Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 15(2), 62–75. <https://doi.org/10.24054/16927125.v2.n2.2017.2969>
- Lienemann, T., Pitkänen, T., Antikainen, J., Mölsä, E., Miettinen, I., Haukka, K., Vaara, M., & Siitonen, A. (2011). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O100:H-: *stx*_{2e} in drinking water contaminated by waste water in Finland. *Current Microbiology*, 62(4), 1239–1244. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9832-x>
- Lindeberg, Y. L., Egedal, K., Hossain, Z. Z., Phelps, M., Tulsiani, S., & Farhana, I. (2018). Can *Escherichia coli* fly? The role of flies as transmitters of *E. coli* to food in an urban slum in Bangladesh. *Tropical Medicine and International Health*, 23(1), 2–9.

<https://doi.org/10.1111/tmi.13003>

- Lopes, L. M., Fabbricotti, S. H., Ferreira, A. J. P., Kato, M. A. M. F., Michalski, J., & Scaletsky, I. C. A. (2005). Heterogeneity among strains of diffusely adherent *Escherichia coli* isolated in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4), 1968–1972. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1968-1972.2005>
- MacDonald, E., Møller, K. E., Wester, A. L., Dahle, U. R., Hermansen, N. O., Jenum, P. A., Thoresen, L., & Vold, L. (2015). An outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* (EPEC) infection in Norway, 2012: a reminder to consider uncommon pathogens in outbreaks involving imported products. *Epidemiology and Infection*, 143(3), 486–493. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001058>
- MacWilliams, M. P. (2009a). Citrate Test. *American Society for Microbiology*, December 1 2009, 1–7. <https://asm.org/Protocols/Citrate-Test-Protocol#:~:text=The%20citrate%20test%20screens%20a,change%20of%20a%20pH%20indicator>
- MacWilliams, M. P. (2009b). Indole Test Protocol. *American Society for Microbiology*, August 12 2019, 1–9. <https://asm.org/Protocols/Indole-Test-Protocol>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Magossi, G., Holman, D. B., Schmidt, K. N., Hoselton, S. A., & Amat, S. (2023). Genome sequences of 11 *Alkalihalobacillus clausii*, *Bacillus safensis*, and *Escherichia coli* bacteriophages isolated from bovine rumen and vagina. *Microbiology Resource Announcements*, 12(9), 1–3. <https://doi.org/10.1128/MRA.00427-23>
- Макарова, М. А., & Кафтырева, Л. А. (2020). Генетическое разнообразие штаммов энтероагрегативных. *Клиническая Лабораторная Диагностика*, 65(11), 707–711. <https://cyberleninka.ru/article/n/geneticheskoe-raznoobrazie-shtammov-enteroagregativnyh-escherichia-coli>
- Malahlela, M. N., Cenci-Goga, B. T., Marufu, M. C., Fonkui, T. Y., Grispoldi, L., Etter, E., Kalake, A., & Karama, M. (2022). Occurrence, serotypes and virulence characteristics of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolates from goats on communal rangeland in South

-
- Africa. *Toxins*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/toxins14050353>
- Mallhi, Y. I., Sohaib, M., Khan, A. U., Nawaz, M., & Abdullah. (2018). Evaluating food safety knowledge, practices, and microbial profile of meat in abattoirs and butchery shops in Lahore, Pakistan. *Journal of Food Safety*, 2018(e12612), 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfs.12612>
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. *Pathogens*, 10(10), 1310. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
- Mansan-Almeida, R., Pereira, A. L., & Giugliano, L. G. (2013). Diffusely adherent *Escherichia coli* strains isolated from children and adults constitute two different populations. *BMC Microbiology*, 13(22), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-22>
- Marcelli, V., Osimani, A., & Aquilanti, L. (2024). Research progress in the use of lactic acid bacteria as natural biopreservatives against *Pseudomonas* spp. in meat and meat products: a review. *Food Research International*, 196(115129), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115129>
- Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., Decean, L., & Toma, F. (2021). Enteropathogenic *Escherichia coli* - a summary of the literature. *Gastroenterology Insights*, 12(1), 28–40. <https://doi.org/10.3390/GASTROENT12010004>
- Martin, N. H., Trmčić, A., Hsieh, T.-H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(1548), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>
- Martínez-Martínez, L., & Calvo, J. (2010). Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.*, 28(Supl 4), 4–9. [http://doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70035-5](http://doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70035-5)
- Martínez-Vázquez, A. V., Rivera-Sánchez, G., Lira-Méndez, K., Reyes-López, M. Á., & Bocanegra-García, V. (2018). Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from retail meat in Tamaulipas, Mexico. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 266–272. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.02.016>
- Masood, E., Hassanin, F., El-Roos, N. A., & Sabeq, I. I. (2024). Multidrug-resistant *E. coli* and *Salmonella* isolated from raw and ready-to-eat meat products, raising the potential of future foodborne illness and treatment challenges. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 56(3), 587–603. <https://www.researchgate.net/publication/380570379>
- McConnell, M. M., Thomas, L. V., Scotland, S. M., & Rowe, B. (1986). The possession of coli surface antigen CS6 by enterotoxigenic *Escherichia coli* of serogroups O25, O27, O148,

-
- and O159: a possible colonization factor? *Current Microbiology*, 14(1), 51–54. <https://doi.org/10.1007/BF01568102>
- Mcdevitt, S. (2009). Methyl Red and Voges-Proskauer Test Protocols. *American Society for Microbiology*, December 8 2009, 1–9. <https://asm.org/Protocols/Methyl-Red-and-Voges-Proskauer-Test-Protocols>
- Mead, P. S., & Griffin, P. M. (1998). *Escherichia coli* O157:H7. *The LancetLancet*, 352(9135), 1207–1212. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)01267-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)01267-7)
- Meagher, K. D. (2022). Policy responses to foodborne disease outbreaks in the United States and Germany. *Agriculture and Human Values*, 39(1), 233–248. <https://doi.org/10.1007/s10460-021-10243-9>
- Medrano, M. de J., Hernández, F. J., Corral, S., & Nájera, J. A. (2017). Diversidad arbórea a diferentes niveles de altitud en la región de El Salto, Durango. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(40), 57–68. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11322017000200057&script=sci_abstract
- Mejías, A., Stuart, J. R., & Chongo, B. (2021). Sistema de apoyo a la toma de decisiones en la producción de carne vacuna. *Revista de Producción Animal*, 33(1), 1–5. <https://www.researchgate.net/publication/355939919>
- Melton-Celsa, A. (2014). Shiga Toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology Spectrum*, 2(3), 1–13. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0024-2013>
- Menge, C. (2020). The role of *Escherichia coli* Shiga toxins in STEC colonization of cattle. *Toxins*, 12(9), 1–37. <https://doi.org/10.3390/toxins12090607>
- Meza-Segura, M., Zaidi, M. B., Vera-Ponce de León, A., Moran-Garcia, N., Martinez-Romero, E., Nataro, J. P., & Estrada-Garcia, T. (2020). New insights into DAEC and EAEC pathogenesis and phylogeny. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(572951), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572951>
- Miranda-Valdés, J. R., Pedraza-Pérez, Y., García-Díaz, L. E., Carreño-López, R., Fuentes-Ramírez, L. E., Rocha-Gracia, R. D. C., Cuautle-García, L. M., & Marín-Cevada, V. (2023). Resistance to antibiotics by enteric bacteria associated with the swine industry: in silico exploration of the distribution of resistance genes. *Acta Veterinaria*, 73(2), 249–261. <https://doi.org/10.2478/acve-2023-0019>
- Mirhoseini, A., Amani, J., & Nazarian, S. (2018). Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it. *Microbial Pathogenesis*, 117, 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.032>
- Mirzaii, M., Jamshidi, S., Zamanzadeh, M., Marashifard, M., Hosseini, S. A. A. M., Haeili, M.,

-
- Jahanbin, F., Mansouri, F., Darban-Sarokhalil, D., & Khoramrooz, S. S. (2018). Determination of *gyrA* and *parC* mutations and prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infection in Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 13, 197–200. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.04.017>
- Mladenović, K. G., Grujović, M. Ž., Kiš, M., Furmeg, S., Tkalec, V. J., Stefanović, O. D., & Kocić-Tanackov, S. D. (2021). *Enterobacteriaceae* in food safety with an emphasis on raw milk and meat. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 8615–8627. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11655-7>
- Mlynarczyk-Bonikowska, B., Kowalewski, C., Krolak-Ulinska, A., & Marusza, W. (2022). Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 1–33. <https://doi.org/10.3390/ijms23158088>
- Mocanu, G. D., & Constantin, O. E. (2024). Microbial contamination of food products. In *Food Packaging and Preservation Antimicrobial Materials and Technologies*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90044-7.00001-X>
- Morales-Cauti, S., Salazar, E., Ampuero-Riega, L., & Navarro, A. (2020). Serotipificación de *Escherichia coli* aislados a partir de superficies vivas e inertes en un mercado de carne de pollo (Lima, Perú). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(4), 1–8. https://www.researchgate.net/publication/348317349_
- Morales, S., Siu, E., Ramírez, P., & Navarro, A. (2017). Determinación de Serotipos de *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con y sin diarrea en Huancavelica. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18(9), 1–14. <https://www.researchgate.net/publication/319558048>
- Moran, R. A., Anantham, S., Holt, K. E., & Hall, R. M. (2017). Prediction of antibiotic resistance from antibiotic resistance genes detected in antibiotic-resistant commensal *Escherichia coli* using PCR or WGS. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 700–704. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw511>
- Moreno, C. E. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad* (M&T–Manual). M&T–Manuales y Tesis SEA. https://scholar.google.com.mx/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=-pyqx1wAAAAJ&citation_for_view=-pyqx1wAAAAJ:u_35RYKgDIwC
- Morrison, L., & Zembower, T. R. (2020). Antimicrobial resistance. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 30(4), 619–635. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2020.06.004>
- Mulchandani, R., Wang, Y., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2023). Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health*,

3(2), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001305>

- Müller, D., Greune, L., Heusipp, G., Karch, H., Fruth, A., Tschäpe, H., & Schmidt, M. A. (2007). Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(10), 3380–3390. <https://doi.org/10.1128/AEM.02855-06>
- Naidoo, N., & Zishiri, O. T. (2025). Presence, pathogenicity, antibiotic resistance, and virulence factors of *Escherichia coli*: a review. *bacteria*, 4(16), 1–23. <https://doi.org/10.3390/bacteria4010016>
- Narváez-Bravo, C., Echeverry, A., Miller, M. F., Rodas-González, A., Brashears, T., Aslam, M., & Brashears, M. M. (2015). Virulence characterization and molecular subtyping of typical and atypical *Escherichia coli* O157:H7 and O157:H(2) isolated from fecal samples and beef carcasses in Mexico. *Journal of Food Protection*, 78(2), 264–272. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-348>
- Navarro, A., van der Ploeg, C., Rogé, A., Licona-Moreno, D., Delgado, G., Morales-Espinosa, R., Cravioto, A., & Eslava, C. (2021). Diversity of potentially pathogenic *Escherichia coli* O104 and O9 serogroups isolated before 2011 from fecal samples from children from different geographic regions. *Microorganisms*, 9(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112227>
- Newitt, S., Macgregor, V., Robbins, V., Bayliss, L., Chattaway, M. A., Dallman, T., Ready, D., Aird, H., Puleston, R., & Hawker, J. (2016). Two linked enteroinvasive *Escherichia coli* outbreaks, nottingham, UK, June 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7). <https://doi.org/10.3201/eid2207.152080>
- Niyonzima, E., Ongol, M. P., Kimonyo, A., & Sindic, M. (2015). Risk factors and control measures for bacterial contamination in the bovine meat chain: a review on *Salmonella* and pathogenic *E. coli*. *Journal of Food Research*, 4(5), 98–121. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n5p98>
- Nkandi, J. (2017). *Bacteriological quality and safety of raw beef from selected outlets in Windhoek (Namibia)* [Thesis of master, The University of Namibia]. Repositorio institucional de la UNAM. <https://repository.unam.edu.na/server/api/core/bitstreams/40843532-3297-45e6-884a-db27cd2f8775/content>
- Nobili, G., Franconieri, I., La Bella, G., Basanisi, M. G., & La Salandra, G. (2017). Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from raw beef in southern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 201–205.

-
- <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.022>
- Nüesch-Inderbinen, M., Stevens, M. J. A., Cernela, N., Müller, A., Biggel, M., & Stephan, R. (2021). Distribution of virulence factors, antimicrobial resistance genes and phylogenetic relatedness among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O91 from human infections. *International Journal of Medical Microbiology*, 311(8), 151541. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2021.151541>
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*. Review on Antimicrobial Resistance. https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf
- Okada, K., Roobthaisong, A., Nakkarach, A., Hearn, S. M., Saenharn, A., Naksen, L., Doung-Ngern, P., Okada, P. A., & Iida, T. (2025). First recorded food-borne outbreak of gastroenteritis caused by enteroinvasive *Escherichia coli* serotype O8:H19 in Thailand. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 44, 733–737. <https://doi.org/10.1007/s10096-024-05024-1>
- Okubo, T., Ae, R., Noda, J., Iizuka, Y., Usui, M., & Tamura, Y. (2019). Detection of the *sul2 – strA–strB* gene cluster in an ice core from Dome Fuji Station, East Antarctica. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 17, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.11.005>
- Oliveira, M. G., Feitosa Brito, J. R., Carvalho, R. R., Guth, B. E. C., Gomes, T. A. T., Vieira, M. A. M., Kato, M. A. M. F., Ramos, I. I., Vaz, T. M. I., & Irino, K. (2007). Water buffaloes (*Bubalus bubalis*) identified as an important reservoir of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(18), 5945–5948. <https://doi.org/10.1128/AEM.00929-07>
- Oliveira, N. A., Gonçalves, B. L., Lee, S. H., Oliveira, C. A. F., & Corassin, C. H. (2020). Use of antibiotics in animal production and its impact on human health. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 6(1), 40–47. <https://doi.org/10.17756/jfcn.2020-082>
- OMS. (2015). *Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria*. Comunicado de Prensa GINEBRA. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
- OPS. (2021). *Evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos. Guía para implementación en los países*. Organización Panamericana de la Salud. <https://doi.org/10.37774/9789275323250>

-
- Ørskov, F., & Ørskov, I. (1984). Serotyping of *Escherichia coli*. In *Methods in Microbiology* (Vol. 14, Issue C, pp. 43–112). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70447-1](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70447-1)
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. A. (2021). Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- Paletta, A. C. C., Castro, V. S., & Conte-Junior, C. A. (2020). Shiga toxin-producing and enteroaggregative *Escherichia coli* in animal, foods, and humans: pathogenicity mechanisms, detection methods, and epidemiology. *Current Microbiology*, 77(4), 612–620. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01842-1>
- Palomino-Camargo, C., González-Muñoz, Y., Pérez-Sira, E., & Aguilar, V. (2018). Metodología Delphi en la gestión de la inocuidad alimentaria y prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(3), 483–490. <https://www.researchgate.net/publication/328890238>
- Parma, A. E., Sanz, M. E., Blanco, J. E., Blanco, J., Viñas, M. R., Blanco, M., Padola, N. L., & Etcheverría, A. I. (2000). Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina: importance in public health. *European Journal of Epidemiology*, 16(8), 757–762. <https://doi.org/10.1023/A:1026746016896>
- Pasqua, M., Michelacci, V., Di Martino, L. M., Tozzoli, R., Grossi, M., Colonna, B., Morabito, S., & Prosseda, G. (2017). The intriguing evolutionary journey of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward pathogenicity. *Frontiers in Microbiology*, 8(2390), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02390>
- Patil, S., Chen, H., Chen, Y., Dong, S., Mai, H., Lopes, B. S., Liu, S., & Wen, F. (2023). Trends in antibiotic resistance patterns and burden of *Escherichia Coli* infections in young children: a retrospective cross-sectional study in Shenzhen, China from 2014–2018. *Infection and Drug Resistance*, 2023(16), 5501–5510. <https://doi.org/10.2147/IDR.S425728>
- Paton, A. W., & Paton, J. C. (1998). Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb*_{O111}, and *rfb*_{O157}. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(2), 598–602. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.2.598-602.1998>
- Paton, A. W., & Paton, J. C. (2002). Direct detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(1), 271–274. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.1.271-274.2002>
- Pearson, J. S., Giogha, C., Lung, T. W. F., & Hartland, E. L. (2016). The genetics of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence. *Annual Review of Genetics*, 50, 493–513.

<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035138>

- Pellisery, A. J., Vinayamohan, P. G., Amalaradjou, M. A. R., & Venkitanarayanan, K. (2020). Spoilage bacteria and meat quality. In *Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies* (pp. 307–334). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00017-3>
- Peng, Z.-F., Gao, D.-S., Yang, X., Liu, H.-Y., Huangfu, H.-P., & Wang, C.-Q. (2019). *Bla*_{OXA-10} and *PSE-1* genes located on class 1 integrons in *Gallibacterium anatis*. *Current Microbiology*, 76(8), 959–961. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1477-1>
- Peng, Z., Li, X., Hu, Z., Li, Z., Lv, Y., Lei, M., Wu, B., Chen, H., & Wang, X. (2019). Characteristics of carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-1 and MCR-1 from pig farms in China. *Microorganisms*, 7(11), 1–14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110482>
- Pereira, P. M. de C. C. & Vicente, A. F. dos R. B. (2013) Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93(3), 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018>
- Peresi, J. T. M., de Almeida, I. A. Z. C., Vaz, T. M. I., Hernandez, R. T., de Carvalho Teixeira, I. S., de Lima e Silva, S. I., Graciano, R. A. S., Pinheiro, S. R., & dos Santos, L. F. (2016). Search for diarrheagenic *Escherichia coli* in raw kibbe samples reveals the presence of Shiga toxin-producing strains. *Food Control*, 63, 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.018>
- Peruski, L. F., Kay, B. A., El-Yazeed, R. A., El-Etr, S. H., Cravioto, A., Wierzbza, T. F., Roa, M., El-Ghorab, N., Shaheen, H., Khalil, S. B., Kamal, K., Wasfy, M. O., Svennerholm, A. M., Clemens, J. D., & Savarino, S. J. (1999). Phenotypic diversity of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains from a community-based study of pediatric diarrhea in periurban Egypt. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2974–2978. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.9.2974-2978.1999>
- Pichel, M., Binsztein, N., & Viboud, G. (2000). CS22, a novel human enterotoxigenic *Escherichia coli* adhesin, is related to CS15. *Infection and Immunity*, 68(6), 3280–3285. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.6.3280-3285.2000>
- Pighin, D., Pazos, A., Chamorro, V., Paschetta, F., Cunuzolo, S., Godoy, F., Messina, V., Pordomingo, A., & Grigioni, G. (2016). A contribution of beef to human health: a review of the role of the animal production systems. *Scientific World Journal*, 2016(1), 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/8681491>
- Piva, I. C., Pereira, A. L., Ferraz, L. R., Silva, R. S. N., Vieira, A. C., Blanco, J. E., Blanco, M.,

-
- Blanco, J., & Giugliano, L. G. (2003). Virulence markers of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from children and adults with diarrhea in Brasilia, Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(5), 1827–1832. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.1827-1832.2003>
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 1–27. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
- Pond, A., Miller, M. F., Echeverry, A., Huerta, N., Calle, A., Rubio, M. S., Chavez, A., Brashears, T., & Brashears, M. M. (2016). *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 prevalence and generic *E. coli* and coliform quantitative baseline in raw pork and beef in retail channels in Mexico. *Food Protection Trends*, 36(1), 8–17. <https://www.foodprotection.org/files/food-protection-trends/jan-feb-16-pond.pdf>
- Pradel, N., Livrelli, V., De Champs, C., Palcoux, J. B., Reynaud, A., Scheutz, F., Sirot, J., Joly, B., & Forestier, C. (2000). Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1023–1031. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.3.1023-1031.2000>
- Prager, R., Reissbrodt, R., Holler, H., Gericke, B., Aleksic, S., Claus, H., Wagner, H., & Tschäpe, H. (1998). Isolierung und charakterisierung von Shigatoxin-produzierenden *E. coli*-Stämmen aus Stuhlproben: Ergebnisse einer Sentinel-Studie. *Bundesgesundheitsblatt*, 41(S1), 6–13. <https://doi.org/10.1007/bf03042115>
- Púa, A., & Navas, N. (2014). Calidad higiénica y determinación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en carne de cerdo en expendios de Barranquilla. *@Limentech Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 12(1), 15–22. <https://www.researchgate.net/publication/327558078>
- Radilla, C., Gutiérrez, R., Vega, S., Del Muro, R., Ruiz, J., Arnau, N., García, M., San Martín, U., Safdie, M., Radilla, M., & Garduño, G. (2019). *Manual de Inocuidad*. Secretaría de Salud, Sistema Nacional Para el Desarrollo Integral de la Familia. https://sitios1.dif.gob.mx/alimentacion/docs/manual_inocuidad.pdf
- Ramadan, H., Jackson, C. R., Frye, J. G., Hiott, L. M., Samir, M., Awad, A., & Woodley, T. A. (2020). Antimicrobial resistance, genetic diversity and multilocus sequence Typing of *Escherichia coli* from humans, retail chicken and ground beef in Egypt. *Pathogens*, 9(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050357>
- Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P. M., & Swerdlow, D. L. (2005). Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerging Infectious Diseases*, 11(4), 603–609. <https://doi.org/10.3201/eid1104.040739>

-
- Rani, Z. T., Mhlongo, L. C., & Hugo, A. (2023). Microbial profiles of meat at different stages of the distribution chain from the abattoir to retail outlets. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph20031986>
- Rastuti, M. R., Budayanti, N. N. S., Bagus, I., & Dwija, I. B. N. P. (2023). Various types of extended spectrum β -lactamases: a literature review. *Journal of Clinical and Infectious Diseases*, 3(2), 29–34. <https://doi.org/10.51559/jcmid.v3i2.52>
- Reiner, K. (2010). Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology*, November 11 2010. 1–9. <https://asm.org/protocols/catalase-test-protocol>
- Reischl, U., Youssef, M. T., Wolf, H., Hyytia-Trees, E., & Strockbine, N. A. (2002). Real-time fluorescence PCR assays for detection and characterization of heat-labile I and heat-stable I enterotoxin genes from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(9), 4092–4100. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.4092-4100.2004>
- Resistance Collaborators Antimicrobial, R. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399, 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Reyes-Rodríguez, N. E., Barba-León, J., Navarro-Ocaña, A., Vega-Sánchez, V., Gómez, F. R., Talavera-González, J. M., & Talavera-Rojas, M. (2020). Serotypes and Stx2 subtyping of Shiga toxin producing *Escherichia coli* isolates from cattle carcasses and feces. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11(4), 1030–1044. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11i4.5049>
- Reyes-Rodríguez, N. E., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Navarro, A., Talavera-Rojas, M., Sanso, A. M., & Bustamante, A. V. (2015). Genetic characterization of *Escherichia coli* isolated from cattle carcasses and feces in Mexico State. *Journal of Food Protection*, 78(4), 796–801. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-425>
- Ribeiro, J. C., Silva, F. F., Lima, J. B. A., Ossugui, E. H., Teider Junior, P. I., Campos, A. C. L. P., Navarro, A., Tamanini, R., Ribeiro, J., Alfieri, A. A., & Beloti, V. (2019). Short communication: Molecular characterization and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* isolated from raw milk and Minas Frescal cheeses in Brazil. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 10850–10854. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16732>
- Ribeiro, J. C., Tamanini, R., Soares, B. F., De Oliveira, A. M., De Godoi Silva, F., Da Silva, F. F., Augusto, N. A., & Beloti, V. (2016). Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3069–3078. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3069>

-
- Ríos, E. A., Santos, J., García-Meniño, I., Flament-Simon, S. C., Blanco, J., García-López, M. L., Otero, A., & Rodríguez-Calleja, J. M. (2019). Characterisation, antimicrobial resistance and diversity of atypical EPEC and STEC isolated from cow's milk, cheese and dairy cattle farm environments. *Lwt*, *108*, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.062>
- Rípodas-Navarro, A., Fernández-Moreira, D., & Macho-Martínez, M. (2017). Investigación de *Escherichia coli* productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. *Sanidad Mil*, *73*(3), 147–152. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1887-85712017000300147
- Rivera-Betancourt, M., & Keen, J. E. (2001). Murine monoclonal antibodies against *Escherichia coli* O4 lipopolysaccharide and H5 flagellin. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(9), 3409–3413. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3409-3413.2001>
- Riveros, M., García, W., García, C., Durand, D., Mercado, E., Ruiz, J., & Ochoa, T. J. (2017). Molecular and phenotypic characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from bacteremic children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*(5), 1329–1336. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0066>
- Robins-Browne, R. M., & Hartland, E. L. (2002). *Escherichia coli* as a cause of diarrhea. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *17*(4), 497–475. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2002.02769.x>
- Rocha, A. J., de Oliveira Barsottini, M. R., Rocha, R. R., Laurindo, M. V., Laurindo de Moraes, F. L., & da Rocha, S. L. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: virulence factors and antibiotic resistance genes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *62*(e1918503), 1–15. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180503>
- Rodas, C., Mamani, R., Blanco, J., Blanco, J. E., Wiklund, G., Svennerholm, A. M., Sjöling, Å., & Iniguez, V. (2011). Enterotoxins, colonization factors, serotypes and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains isolated from hospitalized children with diarrhea in Bolivia. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *15*(2), 132–137. [https://doi.org/10.1016/S1413-8670\(11\)70158-1](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(11)70158-1)
- Rojas-Juárez, L. A., Jaramillo-Villanueva, J. L., Vargas-López, S., Bustamante-González, A., & Guerrero-Rodríguez, J. de D. (2022). Transmisión vertical y horizontal de precios en el sub-sector ganado carne de bovino en México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, *9*(3), 1–11. <https://doi.org/10.19136/era.a9n3.3307>
- Romão, F. T., Santos, A. C. M., Puño-Sarmiento, J. J., Sperandio, V., Hernandes, R. T., Gomes, T. A. T., Romão, F. T., Santos, A. C. M., Puño-sarmiento, J. J., Sperandio, V., Hernandes, R. T., & Gomes, T. A. T. (2024). Expression of the locus of enterocyte effacement genes

-
- during the invasion process of the atypical enteropathogenic *Escherichia coli* 1711-4 strain of serotype O51:H40. *Microbiology Spectrum*, 12(10), 1–16. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00304-24>
- Roxas, J. L., Ramamurthy, S., Cocchi, K., Rutins, I., Harishankar, A., Agellon, A., Wilbur, J. S., Sylejmani, G., Vedantam, G., & Viswanathan, V. K. (2022). Enteropathogenic *Escherichia coli* regulates host-cell mitochondrial morphology. *Gut Microbes*, 14(1), 1–22. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2143224>
- Ruiz-Roldán, L., Martínez-Puchol, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T., Ruiz, J., & Pons, M. (2018). Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos e carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(3), 425–432. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3737>
- Sabyrbekova, S. K., & Ilgekbayeva, G. D. (2024). Meat quality control in beef production. *Herald of Science of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University: Veterinary Sciences.*, 4(008), 16–33. [https://doi.org/10.51452/kazatuvc.2024.4\(008\).1800](https://doi.org/10.51452/kazatuvc.2024.4(008).1800)
- SADER/SENASICA. (2022). *Listado Rastros Públicos México*. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural / Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/736767/LISTADO_RASTROS_P_BLICO_220622.pdf
- Sainz, T., Wacher, C., Espinoza, J., Centurión, D., Navarro, A., Molina, J., Inzunza, A., Cravioto, A., & Eslava, C. (2001). Survival and characterization of *Escherichia coli* strains in a typical Mexican acid-fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2–3), 169–176. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00617-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00617-1)
- Saito, E., Ogita, K., Harada, T., Wakabayashi, Y., Yagi, T., Yamaguchi, T., Oshibe, T., & Kawai, T. (2025). A foodborne outbreak caused by atypical enteropathogenic *Escherichia coli* O45:H15 in the Kinki region of Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 91(6), 1–14. <https://doi.org/10.1128/aem.00123-25>
- Salleh, M. Z., Nik Zuraina, N. M. N., Hajissa, K., Ilias, M. I., & Deris, Z. Z. (2022). Prevalence of multidrug-resistant diarrheagenic *Escherichia coli* in Asia: a systematic review and meta-analysis. *Antibiotics*, 11(10), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101333>
- Santos, A. C., Fernandes, F., Silva, M., & Tardelli, T. (2020). Diversity of hybrid- and heteropathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(339), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00339>

-
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathogens*, *11*(10), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
- Sato, R., Yahata, Y., Taira, H., Saito, T., Ishii, T., Yamazaki, S., Yamamoto, K., Kikuchi, R., Izumiya, H., Iyoda, S., Ohnishi, M., & Takahashi, Y. (2022). Multijurisdictional outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 caused by consumption of ready-to-eat grilled skewered meat in Niigata, Japan. *Foodborne Pathogens and Disease*, *19*(6), 400–407. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0083>
- Scavia, G., Staffolani, M., Fisichella, S., Striano, G., Colletta, S., Ferri, G., Escher, M., Minelli, F., & Caprioli, A. (2008). Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with a foodborne outbreak of gastroenteritis. *Journal of Medical Microbiology*, *57*(9), 1141–1146. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/001362-0>
- Scheinberg, J. A., Dudley, E. G., Campbell, J., Roberts, B., DiMarzio, M., DebRoy, C., & Cutter, C. N. (2017). Prevalence and phylogenetic characterization of *Escherichia coli* and hygiene indicator bacteria isolated from leafy green produce, beef, and pork obtained from farmers' markets in Pennsylvania. *Journal of Food Protection*, *80*(2), 237–244. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-282>
- Shaltout, F. (2024). Ways of food contamination, its impact and prevention. *Food Science & Nutrition Technology*, *9*(1), 1–8. <https://doi.org/10.23880/fsnt-16000326>
- Shao, L., Chen, S., Wang, H., Zhang, J., Xu, X., & Wang, H. (2021). Advances in understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage. *Trends in Food Science and Technology*, *118*(Part B), 822–832. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.007>
- Sharif, M. K., Javed, K., & Nasir, A. (2018). Foodborne Illness: Threats and Control. In A. Holban & A. Grumezescu (Eds.), *Foodborne Diseases* (pp. 501–523). Academic Press, Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811444-5.00015-4>
- Sheng, H., Davis, M. A., Knecht, H. J., Hancock, D. D., Van Donkersgoed, J., & Hovde, C. J. (2005). Characterization of a Shiga toxin-, intimin-, and enterotoxin hemolysin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strain commonly isolated from healthy cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(7), 3213–3220. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3213-3220.2005>
- Shin, J., Yoon, K.-B., Jeon, D.-Y., Oh, S.-S., Oh, K.-H., Chung, G. T., Kim, S. W., & Cho, S.-H. (2016). Consecutive outbreaks of enterotoxigenic *Escherichia coli* O6 in schools in South Korea caused by contamination of fermented vegetable kimchi. *Foodborne Pathogens and*

-
- Disease*, 13(10), 1–9. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2147>
- Shtuhin-Rahav, R., Olender, A., Zlotkin-Rivkin, E., Bouman, E. A., Danieli, T., Nir-Keren, Y., Weiss, Aryeh, M., Nandi, I., & Aroeti, B. (2023). Enteropathogenic *E. coli* infection co-elicits lysosomal exocytosis and lytic host cell death. *Molecular and Cellular Biology*, 14(6), 1–19. <https://doi.org/10.1128/mbio.01979-23>
- Soepranionondo, K., Wardhana, D. K., Budiarto, & Diyantoro. (2019). Analysis of bacterial contamination and antibiotic residue of beef meat from city slaughterhouses in East Java Province, Indonesia. *Veterinary World*, 12(2), 243–248. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.243-248>
- Soto-Varela, Z., Pérez-Lavalle, L., & Estrada-Alvarado, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en colombia. *Salud Uninorte*, 32(1), 105–122. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81745985010>
- Sparo, M., Delpech, G., & García, N. A. (2018). Impact on Public Health of the Spread of High-Level Resistance to Gentamicin and Vancomycin in Enterococci. *Frontiers in Microbiology*, 9(3073), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03073>
- SS. (2015). Pasos para lavarte las manos. Cartel con recomendaciones para el lavado de manos. *Secretaría de Salud*. <https://www.gob.mx/salud/documentos/pasos-para-lavarte-las-manos>
- Stellato, G., La Storia, A., De Filippis, F., Borriello, G., Villani, F., & Ercolini, D. (2016). Overlap of spoilage-associated microbiota between meat and the meat processing environment in small-scale and large-scale retail distributions. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 4045–4054. <https://doi.org/10.1128/AEM.00793-16>
- Stephan, R., Schumacher, S., Corti, S., Krause, G., Danuser, J., & Beutin, L. (2008). Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Swiss raw milk cheeses collected at producer level. *Journal of Dairy Science*, 91(7), 2561–2565. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1055>
- Stone, W. A., Whisenant, S. J., Gale, A., Tillman, G. E., Hardy, A., Schroeder, C. M., & Doerscher, D. R. (2025). Microbiological testing results of boneless and ground beef purchased for the national school lunch program, school years 2019 – 2022. *Journal of Food Protection*, 88(4), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2025.100469>
- Suman, U., Dev, M., & Manoj, V. (2022). The socio biological need of rapid, specific and sensitive tests for detection of coliforms in food and drinking water. *International Journal of Creative Research Thoughts*, 10(3), 454–466. http://ijcrt.org/viewfull.php?&p_id=IJCRT2203285

-
- Suzuki, S., Shibata, N., Yamane, K., Wachino, J., Ito, K., & Arakawa, Y. (2009). Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *63*, 72–79. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn463>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavalieri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., ... Zorzet, A. (2017). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, *18*(3) 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Tack, D. M., Kisselburgh, H. M., Richardson, L. C., Geissler, A., Griffin, P. M., Payne, D. C., & Gleason, B. L. (2021). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreaks in the United States, 2010–2017. *Microorganisms*, *9*(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071529>
- Tanabe, R. H. S., Vieira, M. A., Mariano, N. A. B., Dias, R. C. B., da Silva, R. V., Castro, C. M., dos Santos, L. F., Camargo, C. H., Yamatogi, R. S., Rall, V. L. M., & Hernandez, R. T. (2019). Identification and characterization of atypical enteropathogenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ground beef and poultry breast purchased in Botucatu, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *50*(4), 1099–1103. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00101-6>
- Tapia-Pastrana, G., Rojas-Bautista, M., Hernández-Pérez, P., Santiago-Martínez, O., Gómez-Rodríguez, L. C., Terrazas-Luna, V. M., Montes-Yedra, J., Bautista-Avenidaño, A. A., García-López, E. S., Leon-Sicairos, N., Angulo-Zamudio, U. A., & Canizalez-Roman, A. (2024). Virulence genes, antimicrobial resistance profile, phylotyping and pathotyping of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children in Southwest Mexico. *PLoS ONE*, *19*(3), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300304>
- Tarazi, Y. H., El-Sukhon, S. N., Ismail, Z. B., & Almestarehieh, A. A. (2021). Molecular characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated from diarrhea samples from human, livestock, and ground beef in North Jordan. *Veterinary World*, *14*(10), 2827–2832. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2827-2832>
- Tate, H., Li, C., Nyirabahizi, E., Tyson, G. H., Zhao, S., Rice-Trujillo, C., Jones, S. B., Ayers, S., M'ikanatha, N. M., Hanna, S., Ruesch, L., Cavanaugh, M. E., Laksanalamai, P., Mingle, L., Matzinger, S. R., & McDermott, P. F. (2021). A national antimicrobial resistance monitoring system survey of antimicrobial-resistant foodborne bacteria isolated from retail veal in the

-
- United States. *Journal of Food Protection*, 84(10), 1749–1759. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-005>
- Timm, C. D., Irino, K., Gomes, T. A. T., Vieira, M. M., Guth, B. E. C., Vaz, T. M. I., Moreira, C. N., & Aleixo, J. A. G. (2007). Virulence markers and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, isolated from cattle in Rio Grande do Sul, Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 44(4), 419–425. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02085.x>
- Tofteland, S., Haldorsen, B., Dahl, K. H., Simonsen, G. S., Steinbakk, M., Walsh, T. R., & Sundsfjord, A. (2007). Effects of phenotype and genotype on methods for detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Norway. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(1), 199–205. <https://doi.org/10.1128/JCM.01319-06>
- Torres, A. G., Blanco, M., Valenzuela, P., Slater, T. M., Patel, S. D., Dahbi, G., López, C., Barriga, X. F., Blanco, J. E., Gomes, T. A. T., Vidal, R., & Blanco, J. (2009). Genes related to long polar fimbriae of pathogenic *Escherichia coli* strains as reliable markers to identify virulent isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(8), 2442–2451. <https://doi.org/10.1128/JCM.00566-09>
- Torso, L. M., Voorhees, R. E., Forest, S. A., Gordon, A. Z., Silvestri, S. A., Kissler, B., Schlackman, J., Sandt, C. H., Toma, P., Bachert, J., Mertz, K. J., & Harrison, L. H. (2015). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with restaurant beef grinding. *Journal of Food Protection*, 78(7), 1272–1279. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-545>
- Tseng, M., Fratamico, P. M., Bagi, L., Delannoy, S., Fach, P., Manning, S. D., & Funk, J. A. (2014). Diverse virulence gene content of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from finishing swine. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(20), 6395–6402. <https://doi.org/10.1128/AEM.01761-14>
- Tula, M. Y., Filgona, J., & Pukuma, M. S. (2022). A systematic review on the status of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) pathotypes in Nigeria; the year 2000-2022. *Cellular, Molecular and Biomedical Reports*, 2(4), 213–229. <https://doi.org/10.55705/cmbr.2022.357758.1061>
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wiczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. (2022). Antibiotic resistance in bacteria — a review. *Antibiotics*, 11(8), 1–40. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081079>
- Uruén, C., Gimeno, J., Sanz, M., Fraile, L., Marín, C. M., & Arenas, J. (2024). Invasive *Streptococcus suis* isolated in Spain contain a highly promiscuous and dynamic resistome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13(1329632), 1–18.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1329632>

- USDA/AMS. (2015). *Supplement 211 to the AMS master solicitation for the purchase of frozen ground beef products for distribution to federal food and nutrition assistance programs*. United States Department of Agriculture / Agricultural Marketing Service. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Final%20-%20Supplement%20211%20Ground%20Beef%20Items%20-%20May%202025.pdf>
- USDA/FSIS. (2012). *USDA Targeting Six Additional Strains of E.coli in Raw Beef Trim Starting Monday*. U.S. Department of Agriculture / Food Safety and Inspection Service. <https://www.usda.gov/about-usda/news/press-releases/2012/05/31/usda-targeting-six-additional-strains-ecoli-raw-beef-trim-starting-monday>
- USDA. (2025). *Cattle & Beef - Statistics & Information*. Economic Research Service U.S. Department of Agriculture. <https://www.ers.usda.gov/topics/animal-products/cattle-beef/statistics-information>
- Vakulenko, S. B., Donabedian, S. M., Voskresenskiy, A. M., Zervos, M. J., Lerner, S. A., & Chow, J. W. (2003). Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(4), 1423–1426. <https://doi.org/10.1128/aac.47.4.1423-1426.2003>
- Valdez, C. G., Guzmán, M. A., Valdés, A., Forougbakhch, R., Alvarado, M. A., & Rocha, A. (2018). Estructura y diversidad de la vegetación del matorral espinoso tamaulipeco con condiciones prístinas en el noreste de México. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1674–1682. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i4.32135>
- van der Putten, B. C. L., Remondini, D., Pasquini, G., Janes, V. A., Matamoros, S., & Schultz, C. (2019). Quantifying the contribution of four resistance mechanisms to ciprofloxacin MIC in *Escherichia coli*: a systematic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(2), 298–310. <https://doi.org/10.1093/jac/dky417>
- Vélez, M. V., Colello, R., Etcheverría, A. I., & Padola, N. L. (2023). Shiga toxin producing *Escherichia coli*: the challenge of adherence to survive. *Revista Argentina de Microbiología*, 55(1), 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.04.001>
- Velle, K. B., & Campellone, K. G. (2018). Enteropathogenic *E. coli* relies on collaboration between the formin mDia1 and the Arp2/3 complex for actin pedestal biogenesis and maintenance. *PLoS Pathogens*, 14(12), 1–30. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007485>
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis part 1: causes and threats. *P&T*, 40(4), 277–283. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
- Vernozy-Rozand, C., Montet, M. P., Berardin, M., Bavai, C., & Beutin, L. (2005). Isolation and

-
- characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. *Letters in Applied Microbiology*, 41(3), 235–241. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01756.x>
- Vial, S. L., Doerscher, D. R., Hedberg, C. W., Stone, W. A., Whisenant, S. J., & Schroeder, C. M. (2019). Microbiological testing results of boneless and ground beef purchased for the U.S. national school lunch program, school years 2015 to 2018. *Journal of Food Protection*, 82(10), 1761–1768. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-241>
- Vidal, P. O., Vieira, R. de C., Larroza, I., & da Silva, W. K. (2022). Quality and Safety of Fresh Beef in Retail: A Review. *Journal of Food Protection*, 85(3), 435–447. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-294>
- Vikesland, P., Garner, E., Gupta, S., Kang, S., Maile-Moskowitz, A., & Zhu, N. (2019). Differential drivers of antimicrobial resistance across the world. *Accounts of Chemical Research*, 52(4), 916–924. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00643>
- Vu-Khac, H., Holoda, E., Pilipcinec, E., Blanco, M., Blanco, J. E., Dahbi, G., Mora, A., López, C., González, E. A., & Blanco, J. (2007). Serotypes, virulence genes, intimin types and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhoea in Slovakia. *Veterinary Journal*, 174(1), 176–187. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.019>
- Wang, L., Liu, N., Gao, Y., Liu, J., Huang, X., Zhang, Q., & Li, Y. (2021). Surveillance and reduction control of *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* during the pig slaughtering process in China. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(735076), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.735076>
- Wang, L., Nakamura, H., Kage-Nakadai, E., Hara-Kudo, Y., & Nishikawa, Y. (2017). Prevalence, antimicrobial resistance and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from different retail foods. *International Journal of Food Microbiology*, 249, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.003>
- Wang, X., Yu, D., Chui, L., Zhou, T., Feng, Y., Cao, Y., & Zhi, S. (2024). A comprehensive review on Shiga toxin subtypes and their niche-related distribution characteristics in Shiga-toxin-producing *E. coli* and other bacterial hosts. *Microorganisms*, 12(4), 1–26. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040687>
- Wang, Y.-H., Li, X.-N., Chen, C., Zhang, J., & Wang, G.-Q. (2018). Detection of *floR* gene and active efflux mechanism of *Escherichia coli* in Ningxia, China. *Microbial Pathogenesis*, 117, 310–314. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.042>
- Wellner, S. M., Alobaidallah, M. S. A., Fei, X., Herrero-Fresno, A., & Olsen, J. E. (2024). Genome-wide identification of fitness-genes in aminoglycoside-resistant *Escherichia coli*

-
- during antibiotic stress. *Scientific Reports*, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54169-8>
- WHO. (2009). *WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge clean care is safer care*. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906>
- WHO. (2015). *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*. World Health Organization. <https://www.emro.who.int/health-topics/drug-resistance/global-action-plan.html>
- WHO.(1998) *Zoonotic non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC)*. Report of a WHO Scientific Working Group Meeting. World Health Organization. <https://www.researchgate.net/publication/299489540>
- Wilson, J. B., Clarke, R. C., Renwick, S. A., Rahn, K., Johnson, R. P., Karmali, M. A., Lior, H., Alves, D., Gyles, C. L., Sandhu, K. S., McEwen, S. A., & Spika, J. S. (1996). Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* infection in dairy farm families. *Journal of Infectious Diseases*, 174(5), 1021–1027. <https://doi.org/10.1093/infdis/174.5.1021>
- Wilson, J. B., McEwen, S. A., Leslie, K. E., Waltner-Toews, D., Clarke, R. C., Wilson, R. A., & Gyles, C. L. (1992). Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. *Epidemiology and Infection*, 108(3), 423–439. <https://doi.org/10.1017/S0950268800049931>
- Wispriyono, B., Arsyina, L., Ardiansyah, I., Pratiwi, L. D., Arminsih, R., Hartono, B., Nurmalasari, N., & Novirsa, R. (2021). The Role of Hygiene and Sanitation to the *Escherichia coli* Contamination in Drinking Water in Depok City, Indonesia. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(E), 641–644. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.6152>
- Woh, P. Y., Yeung, M. P. S., & Goggins, W. B. (2023). Multiple antibiotic resistance index (MARI) of human-isolated *Salmonella* species: a practical bacterial antibiotic surveillance tool. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(5), 1295–1299. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad092>
- Wolf, M. K., Taylor, D. N., Boedeker, E. C., Hyams, K. C., Maneval, D. R., Levine, M. M., Tamura, K., Wilson, R. A., & Echeverria, P. (1993). Characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from U.S. troops deployed to the Middle East. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(4), 851–856. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.4.851-856.1993>
- Wyness, L. (2015). The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 227–232. <https://doi.org/10.1017/S0029665115004267>
- Yang, S., Lin, C., Aljuffali, I. A., & Fang, J. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, 199(6), 811–825.

<https://doi.org/10.1007/s00203-017-1393-y>

- Yang, X., Liu, Q., Sun, H., Xiong, Y., Matussek, A., & Bai, X. (2022). Genomic Characterization of *Escherichia coli* O8 Strains Producing Shiga Toxin 2I Subtype. *Microorganisms*, 10(6), 1–8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061245>
- Yildirim, Y., Onmaz, N. E., Gönülalan, Z., Hizlisoy, H., Al, S., Karadal, F., Kum, E., & Akçay, A. (2020). Knowledge and attitudes in food safety and the occurrence of indicator bacteria on hands of food handlers at the point of pastrami sale. *Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67(2), 153–160. <https://doi.org/10.33988/auvfd.591296>
- Yu, Z., Jung, D., Park, S., Hu, Y., Huang, K., Barbara, A., Wang, S., Ronholm, J., Lu, X., & Chen, J. (2020). Smart traceability for food safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(4), 905–916. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1830262>
- Zack, K. M., Sorenson, T., & Joshi, S. G. (2024). Types and mechanisms of efflux pump systems and the potential of efflux pump inhibitors in the restoration of antimicrobial susceptibility, with a special reference to *Acinetobacter baumannii*. *Pathogens*, 13(3), 1–32. <https://doi.org/10.3390/pathogens13030197>
- Zeng, L., & Jin, S. (2003). *aph(3')-IIb*, a gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, is under the positive control of surrogate regulator HpaA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(12), 3867–3876. <https://doi.org/10.1128/aac.47.12.3867-3876.2003>
- Zerabruk, K., Retta, N., Muleta, D., & Tefera, A. T. (2019). Assessment of microbiological safety and quality of minced meat and meat contact surfaces in selected butcher shops of Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of Food Quality*, 2019(1), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/3902690>
- Zhang, R., Li, Y., Chen, J., Liu, C., Sun, Q., Shu, L., Chen, G., Wang, Z., Wang, S., & Li, R. (2023). Population genomic analysis reveals the emergence of high-risk carbapenem-resistant *Escherichia coli* among ICU patients in China. *Journal of Infection*, 86(4), 316–328. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2023.02.004>
- Zhang, S., Huang, Y., Chen, M., Yang, G., Zhang, J., Wu, Q., Wang, J., Ding, Y., Ye, Q., Lei, T., Su, Y., Pang, R., Yang, R., & Zhang, Y. (2022). Characterization of *Escherichia coli* O157:non-H7 isolated from retail food in China and first report of *mcr-1*/*Incl2*-carrying colistin-resistant *E. coli* O157:H26 and *E. coli* O157:H4. *International Journal of Food Microbiology*, 378(109805), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109805>
- Zhang, Y., Tan, P., Zhao, Y., & Ma, X. (2022). Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota. *Gut Microbes*, 14(1), 1–22. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2055943>

-
- Zhong, Y., Guo, S., Seow, K. L. G., Ming, G. O. H., & Schlundt, J. (2021). Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from Jurong Lake, Singapore with Whole-Genome-Sequencing. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph18030937>
- Zhou, A. K., Luo, Q., Wang, Q., Huang, C., Lu, H., John, W. A., Xiao, Y., & Li, L. (2018). Silent transmission of an IS 1294b-deactivated *mcr-1* gene with inducible colistin resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(6), 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.01.004>
- Zimbardo, M. J., Power, D. A., Miller, S. M., Wilson, G. E., & Johnson, J. A. (2009). Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media (2da ed.). Becton, Dickinson and Company. https://fsl.nmsu.edu/documents/difcobbblmanual_2nded_lowres.pdf
- Zúñiga, I. R., & Caro, J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 37(3), 95-104. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=86155>

ANEXO 1. Lista de verificación sanitaria de las prácticas de higiene en establecimientos de venta de carne roja, en el Valle del Mezquital y las palabras clave utilizadas para los ítems de la lista de verificación sanitaria.

Categoría	Palabras clave	Ítem
Instalaciones y áreas	Instalaciones que evitan la contaminación	Las instalaciones del establecimiento, incluidos techos, puertas, paredes, pisos, baños, cisternas, tinacos (u otros depósitos de agua); y mobiliario están limpios.
	Buen mantenimiento	Las instalaciones generales del establecimiento se encuentran en buenas condiciones de mantenimiento.
	Uniones no continuas	Los pisos, paredes, techos y/o las uniones en las superficies de pisos o paredes recubiertas con materiales no continuos en las áreas de producción o elaboración son de fácil limpieza.
	No protección puertas y ventanas	Las puertas y ventanas de las áreas de producción o elaboración están provistas de protección para evitar la entrada de lluvia y fauna nociva.
	Conductos cruzan área de producción	Las tuberías, ductos, rieles, vigas, cables, etc., no pasan por encima de tanques y áreas de producción y/o elaboración donde el producto sin envasar se encuentra expuesto.
Equipos y utensilios	Equipos separados	Los equipos están instalados en forma tal que el espacio entre estos, la pared, el techo y el piso permiten su limpieza y desinfección.
	Equipos no aptos	El equipo, utensilios y materiales en contacto con materias primas y productos, son lisos, lavables, sin roturas y permiten su desinfección.
	Equipos inocuos	El equipo, utensilios y materiales que se emplean en la producción o elaboración, son inocuos y resistentes a la corrosión.
	Acumulación de agua	En los equipos de refrigeración y congelación se evita la acumulación de agua.
	Termómetros	Los equipos de refrigeración y/o congelación están provistos de termómetros o dispositivos para el registro de temperatura funcionando correctamente y en un lugar accesible para su monitoreo.
Servicios	Agua potable	Cuenta con abastecimiento de agua potable e

		instalaciones apropiadas para su almacenamiento y distribución.
	Drenaje	El drenaje cuenta con trampa contra olores, coladeras y canaletas con rejillas, libres de basura, sin estancamiento y en buen estado; y en su caso trampas para grasa.
	Sanitarios	Los sanitarios cuentan con separación física completa, no tienen comunicación ni ventilación directa hacia el área de producción o elaboración.
	Ventilación	La ventilación evita el calor y condensación de vapor excesivo y acumulación de humo y polvo.
	Tuberías expuestas	Las instalaciones de aire acondicionado (tuberías y techos) no presentan goteos sobre las áreas donde las materias primas y productos están expuestos.
	Iluminación	La iluminación permite llevar a cabo la realización de las operaciones de manera higiénica.
	Protección focos	En áreas donde los productos se encuentran sin envasar, los focos y lámparas están protegidos o son de material que impide su astillamiento.
Almacenamiento	Almacenamiento	Las condiciones de almacenamiento son adecuadas al tipo de materia prima y/o productos que se manejan.
	Superficies limpias	Las materias primas y/o productos se colocan en mesas, estibas, tarimas, anaqueles, entrepaños, estructura o cualquier superficie limpia que evite su contaminación.
	Circulación de aire	La colocación de materias primas y productos permite la circulación del aire.
	Protección en recipientes	Los envases y recipientes en contacto directo con la materia prima y productos se almacenan protegidos de polvo, lluvia, fauna nociva y materia extraña.
Control de operaciones	4° C	Los equipos de refrigeración se mantienen a una temperatura máxima de 4° C
	Congelador	Los equipos de congelación mantienen una temperatura que permite la congelación del producto.
	Retiro de productos	Son retirado del establecimiento los productos, materiales inútiles, obsoletos o fuera de especificaciones.
Materias primas	Clasificación	Se inspeccionan o clasifican las materias primas e insumos antes de la producción o elaboración.
	Ausencia de materias primas	Ausencia de materias primas que puedan representar un riesgo a la salud al utilizarse en la elaboración del producto.
Agua en contacto	Agua en contacto	El agua que está en contacto con materias primas,

con los alimentos	Tratamiento agua	productos, superficies, envases y la de fabricación de hielo es potable. Se practica alguna medida y/o método que garantice la potabilidad del agua.
Mantenimiento y limpieza	Equipo funcional	El equipo y utensilios se encuentran en buenas condiciones de funcionamiento.
	Área sucia	La limpieza y desinfección se realiza de acuerdo al proceso y producto que se trate.
	Limpieza equipo y utensilios	La limpieza de equipos y utensilios se realiza de acuerdo al tipo de producto y proceso.
Control de plagas	Drenaje cubierto	Los drenajes cuentan con cubierta para evitar la entrada de plagas provenientes del alcantarillado o áreas externas.
	Plagas	En las áreas de proceso no hay evidencia de plagas o faunas nociva.
	Animales	En las áreas de producción o elaboración de los productos no se observan animales domésticos o mascotas.
Manejo de residuos	No acumulación basura	Se evita la acumulación de basura, desechos y desperdicios en la zona destinada para este fin.
	Retiro de basura	Los residuos (basura, desechos o desperdicios) generados durante la producción o elaboración son retirados de las áreas cada vez que es necesario o por lo menos una vez al día.
	Botes de basura	Los recipientes para los residuos (basura, desechos o desperdicios) están identificados y con tapa.
Salud e higiene del personal	Personal aseado	El personal se presenta aseado al área de trabajo, con ropa y calzado limpios e íntegros.
	Personal con signos	El personal que trabaja en producción o elaboración no presenta signos como: tos frecuente, secreción nasal, vómito, fiebre, ictericia o heridas en áreas corporales que entren en contacto directo con las materias primas o productos.
	No comer	En las áreas en donde se entre en contacto directo con materias primas, productos y envases primarios no existe evidencia de que come, bebe, fuma, masca, escupe, tose y/o estornuda.
Prácticas del personal	No desagüe	Los mostradores para exhibición y venta donde se utiliza hielo para conservar los productos, cuentan con un sistema de drenaje para el agua de deshielo.

ANEXO 2. Perfil bioquímico de los aislados de *E. coli*

Muestra*	Aislado	Catalasa	Motilidad	Indol	H ₂ S	RM	VP	Ornitina descarboxilasa	Citrato	TSI**
A1	1	+***	+	+	-****	+	-	+	-	A/AG
A3	2	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	3	-	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A4	4	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	5	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	6	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	7	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A7	8	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	9	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A8	10	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A11	11	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	12	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
A10	13	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	14	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	15	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A12	16	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	17	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	18	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A13	19	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	20	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	21	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A14	22	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	23	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	24	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
A15	25	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	26	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	27	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	28	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	29	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B1	30	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	31	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	32	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B2	33	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	34	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	35	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	36	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	37	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	38	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG

B3	39	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	40	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B4	41	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B5	42	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	43	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	44	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	45	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B6	46	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	47	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	48	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
B7	49	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	50	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B8	51	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	52	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B9	53	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	54	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	55	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	56	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B10	57	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	58	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	59	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	60	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B11	61	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	62	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	63	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	64	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	65	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	66	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	67	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B12	68	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	69	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	70	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B13	71	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	72	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	73	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B14	74	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	75	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	76	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B15	77	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	78	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	79	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	80	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B16	81	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG

	82	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
B17	83	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B18	84	-	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	85	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	86	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	87	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	88	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	89	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B20	90	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	91	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
B21	92	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	93	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D1	94	+	+	+	-	+	-	+	-	A/ALK
	95	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	96	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D2	97	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	98	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	99	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D3	100	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	101	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	102	+	-	+	-	+	-	+	-	A/ALK
	103	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	104	+	+	+	-	+	-	+	-	A/ALK
D4	105	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D5	106	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	107	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	108	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	109	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D6	110	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D7	111	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	112	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	113	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	114	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D8	115	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	116	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	117	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	118	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D9	119	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	120	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	121	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
D10	122	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	123	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	124	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG

	125	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
D11	126	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	127	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	128	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	129	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D12	130	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	131	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	132	+	+	+	-	+	-	+	-	A/ALK
	133	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D13	134	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	135	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	136	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	137	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
D14	138	+	-	+	-	+	-	+	-	A/A
	139	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	140	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D15	141	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	142	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	143	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D16	144	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	145	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	146	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	147	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	148	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D17	149	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	150	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	151	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D18	152	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	153	-	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	154	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D19	155	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	156	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D20	157	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	158	+	+	+	-	+	-	+	-	A/ALK
	159	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	160	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D21	161	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	162	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	163	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	164	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	165	+	-	+	-	+	-	+	-	A/ALK
D22	166	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
D23	167	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG

	168	+	+	+	-	+	-	+	-	A/ALK
	169	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D24	170	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	171	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	172	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	173	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
D25	174	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	175	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	176	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	177	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
D26	178	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	179	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C1	180	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	181	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
	182	+	+	+	-	+	-	+	-	A/A
C2	183	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	184	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C3	185	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	186	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C5	187	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	188	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	189	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	190	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C6	191	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	192	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C7	193	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	194	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C8	195	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	196	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	197	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C10	198	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	199	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	200	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	201	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C11	202	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	203	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	204	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	205	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C13	206	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	207	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	208	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C14	209	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	210	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG

	211	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C15	212	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	213	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	214	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
	215	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	216	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C16	217	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	218	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C18	219	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C19	220	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	221	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	222	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	223	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	224	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C20	225	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C21	226	+	-	+	-	+	-	+	-	A/AG
C23	227	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	228	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
	229	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C24	230	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG
C25	231	+	+	+	-	+	-	+	-	A/AG

*A: A; B: B; D: D; C: C. **A: ácido; ALK: alcalino; G: producción de gas. ***Reacción positiva: +.

****Reacción negativa: -.