



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

“CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE CEPAS DE *Escherichia coli* DE DOS LÍNEAS GENÉTICAS EN POLLITAS DE REEMPLAZO DE LOS ALTOS DE JALISCO”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

MARGARITA FERNANDA GÓMEZ MEZA

ASESORES:

Dra. Cecilia Rosario Cortés

Dr. Armando Navarro Ocaña





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres Mary y Gabriel por darme todo para poder cumplir mis metas, su confianza, su cariño, dedicación y enseñanzas. Gracias por superar todas las adversidades y demostrarme que con paciencia, amor y trabajo duro todo se puede solucionar. Gracias por siempre luchar por darme la mejor familia. Los amo infinitamente. A mis hermanas por ser las mejores cómplices de la vida, siempre ser mi pilar y mi salvavidas. No podría haber llegado tan lejos sin ustedes, gracias por siempre creer en mí y darme su apoyo incondicionalmente. Las amo.

A mi patita, te extraño profundamente y daría lo que fuera porque estuvieras aquí compartiendo este momento, más sé que siempre estás conmigo porque eres parte de mí, gracias por cuidar siempre de mí y amarme tanto. A mis tíos Rosy y Cuauhte por compartir tantas historias y experiencias que me han dejado muchos aprendizajes y estar en una etapa muy difícil para toda la familia.

A las sopitas de perro, Mariana, Mani, Ameyalli y Pio desde primer semestre de la carrera recorrimos este camino juntos y hasta el momento seguimos conociéndonos en las nuevas etapas que empezamos. A Sam y a Allan por apoyarme, cuando todo se ve oscuro son mi rayito de sol; mis amigos son mi segunda familia y sin ustedes la carrera no hubiera sido tan disfrutable como lo fue, los amo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, desde el CCH me acogió y me ha dado las herramientas para cumplir el sueño de culminar la carrera que siempre había querido.

A todos los integrantes del Departamento de Medicina y Zootecnia Avícola por abrirme las puertas de todos sus espacios de enseñanza, las buenas charlas en los pasillos, los infinitos aprendizajes, los consejos sinceros y demostrarme lo importante de la capacitación continua no importando la edad o experiencia que se tiene. A la doctora Cecilia Rosario, gracias por ser mi maestra desde antes de iniciar la carrera en aquella estancia y enseñarme el increíble mundo de la bacteriología, por ser paciente y comprensiva conmigo, por siempre estar dispuesta a enseñarme algo nuevo, es emocionante trabajar a su lado y poder aprender de usted. A Mary, mi querida Mary sin ti el tiempo en el laboratorio no sería el mismo, gracias por todas las risas, los regaños, los consejos y los momentos que compartimos.

Al Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina. Al Dr. Armando Navarro por permitirme hacer este trabajo en su laboratorio y supervisarlo; gracias a todo el personal del laboratorio Delia, Gabriel, Luis León "el Muerto" por ser pacientes, atentos, brindarme sus conocimientos.

A mis sinodales por cuestionar y hacer mejoras al presente trabajo buscando siempre enriquecerlo y hacerme crecer.

Al Departamento de Genética y Bioestadística por formarme e inculcarme trabajo en equipo, en especial a la Dra. Alma Delia, Noé Juárez, José María Berruecos, Guadalupe Sánchez por darme la oportunidad de ser su ayudante y aprender tanto de ustedes.

A los maestros que tuve a lo largo de la carrera por ser ejemplos por seguir, agradezco todo el empeño y la pasión que tienen al enseñar.

CONTENIDO

RESUMEN	1
GLOSARIO	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 IMPORTANCIA DE LA AVICULTURA EN MÉXICO	3
1.2 RETOS PARA LA INDUSTRIA AVÍCOLA EN MÉXICO	4
1.3 COLIBACILOSIS AVIAR	4
1.4 <i>Escherichia coli</i>	5
1.5 PATOGENIA	7
1.6 MEDIDAS DE PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO DE LA COLIBACILOSIS	8
1.7 IDENTIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DE <i>E. coli</i>	10
2. HIPÓTESIS	12
3. OBJETIVO GENERAL	12
3.1 OBJETIVOS PARTICULARES	12
4. MATERIAL Y MÉTODOS	13
4.1 CEPAS DE ESTUDIO	13
4.2 ANTÍGENO SOMÁTICO (O)	14
4.3 ANTÍGENO FLAGELAR (H)	15
4.4 COMPARACIÓN DE RESULTADOS	15
5. RESULTADOS	16
5.1 ANTÍGENO O	16
5.2 ANTÍGENO H	16
5.3 SEROTIPOS	16
6. DISCUSIÓN	17
7. CONCLUSIONES	23
8. PERSPECTIVAS	24
9. REFERENCIAS	25
10. CUADROS	37
11. GRÁFICAS	42

RESUMEN

MARGARITA FERNANDA GÓMEZ MEZA. Caracterización serológica de cepas de *E. coli* de dos líneas genéticas en pollitas de reemplazo de los Altos de Jalisco. (bajo la dirección de: Cecilia Rosario Cortés y Armando Navarro Ocaña)

Actualmente la avicultura representa el 63.8% de la actividad pecuaria de México, la parvada nacional está conformada por 163.3 millones de gallinas ponedoras, 310 millones de pollos de engorda al ciclo y 459 mil pavos al ciclo. Sin embargo, el crecimiento de la industria se ve amenazado por diversas enfermedades, como la colibacilosis que es responsable de generar pérdidas multimillonarias en la industria. El control de esta enfermedad se encuentra restringido por el limitado conocimiento de los mecanismos de virulencia y cepas involucradas en las diferentes patologías causadas por *Escherichia coli*, entre ellas la Infección del saco vitelino (ISV). El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los serotipos de *E. coli* provenientes de muestras de diferentes órganos de pollitas de reemplazo con ISV de una granja ubicada en los Altos de Jalisco, para ello, se aislaron 66 cepas de *E. coli* que pertenecían a dos líneas genéticas, 40 pertenecían a la línea A y 26 a la línea B, en las cuales, se realizó la identificación bioquímica y serológica de las muestras. Los resultados de esta caracterización mostraron que los serogrupos más frecuentes fueron el O166 y O20 en el 15% de las muestras, el O25 en el 12% de los casos y el O187 y O18 en el 7.6%. El serogrupo O103 se identificó en el 3% (n=2), pertenece al grupo "big six", del patotipo STEC capaces de producir toxinas y causantes de importantes afectaciones a la salud humana. Los serotipos más frecuentes fueron el O166:H25 presentes en el 12.1% de las cepas, el O20:H9 y O18:H49 en el 7.6%, el serotipo O20:H- y O25:H4 se identificaron en el 6.1% de las muestras, el último serotipo pertenece al grupo UPEC y se deben mantener bajo vigilancia por el reciente aumento de casos reportados. Los serotipos encontrados en comparación con los reportados anteriormente varían ampliamente y confirman la gran variabilidad que existe entre las cepas involucradas en problemas de colibacilosis en México, por lo que es de sumo interés realizar estudios complementarios para tener un panorama completo de las cepas que se presentan en el campo y poder plantear una solución eficaz contra la colibacilosis en esta producción.

GLOSARIO

aEPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena atípica
APEC	Avian pathogenic <i>E. coli</i>
DAEC	<i>Escherichia coli</i> con adherencia difusa
DEC	<i>Escherichia coli</i> diarreogénica
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
EHEC/Vtec/	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica/ verotoxigénica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena
ERCC	Enfermedad respiratoria crónica complicada
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica
exPEC	<i>Escherichia coli</i> patógenas extraintestinales
HGT	Transferencia horizontal de genes
ISV	Infección del saco vitelino
LPS	Lipopolisacárido
McC	MacConkey
OND	Serogrupo O no determinado
SEPEC	<i>Escherichia coli</i> causantes de sepsis
SPF	Libre de microorganismos patógenos específicos
STEC	<i>Escherichia coli</i> productora de toxina Shiga
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatógena
v ENC	Virus de la Enfermedad de Newcastle

Caracterización serológica de cepas de *Escherichia coli* de dos líneas genéticas en pollitas de reemplazo de los Altos de Jalisco.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA DE LA AVICULTURA EN MÉXICO

Uno de los objetivos más importantes de la avicultura es proveer a la población de proteína de calidad; esta industria presenta la mayor tasa de crecimiento dentro del rubro de actividades agrícolas, pecuarias y pesqueras. México es el país que más consume huevo a nivel mundial, y se estima que el consumo *per capita* equivale a 23 kg (1); nuestra nación se ubica como el cuarto productor mundial con 125 millones de cajas de huevo después de China (1,090 millones de cajas), EUA (243 millones de cajas) e India (215 millones de cajas). La tendencia del consumo de huevo en México de las últimas tres décadas ha mostrado una tasa de crecimiento continua del 2.4% y de seguir a este ritmo, se estima que para el año 2030 el consumo *per capita* alcanzará los 32.92 kg por año (2); esto implica un reto para el sector avícola que deberá aumentar su producción de 3 millones de toneladas (mt) de huevo para plato obtenidas en 2018 a 3.7 mt para el 2025; con el fin de atender la demanda y lograr así la autosuficiencia alimentaria de este producto. En 2019, la industria avícola aportó el 63.8% de la producción pecuaria en México, y aportó el 36.6% del total del PIB pecuario del país; para el cierre de 2020, se estima que la avicultura generó 1 millón 288 mil empleos, de ellos 1 millón 73 mil indirectos y 215 mil directos; en este mismo año se determinó que la parvada nacional está conformada por 163.3 millones de gallinas ponedoras, 310 millones de pollos de engorda al ciclo y 459 mil pavos al ciclo; lo que da un total de 541 millones de aves que conforman el inventario nacional. (1)

Con una producción de 1.71 millones de toneladas de huevo hasta el primer semestre del 2020 nuestro país aloja a 5 de las 10 principales empresas productoras de huevo en la región, tres de ellas ubicadas en la región de los Altos de Jalisco, este estado se destaca como el primer estado productor de huevo en el país, ya que aporta el 51% de la producción. Al hacer una comparación internacional, el estado sobrepasa por su inventario de gallinas ponedoras a la mayoría de los países de Latinoamérica,

con un total aproximado de 87.2 millones de aves, solamente superado por Brasil, que cuenta con 118 millones de aves. (3)

1.2 RETOS PARA LA INDUSTRIA AVÍCOLA EN MÉXICO

El crecimiento de la industria avícola se ve amenazado por las enfermedades que afectan al sector avícola al generar importantes pérdidas por la mortalidad animal, retrasos del crecimiento, costos de tratamientos, descensos en la producción por disminuciones del porcentaje de puesta o por alteraciones en la calidad del huevo lo que da como resultado un producto no apto para su comercialización (4); en algunos casos se ha visto que un solo agente etiológico no es suficiente para generar enfermedad debido a que éstas se presentan por complejos multifactoriales, por lo cual, en la producción diaria se deben de cuidar aspectos como: bioseguridad, alimentación, control de fauna nociva etc.

1.3 COLIBACILOSIS AVIAR

La colibacilosis se encuentra entre las enfermedades bacterianas más comunes que puede afectar a las aves en cualquier momento de la producción (5), y provoca enormes pérdidas económicas que solo en Estados Unidos ascienden a cien millones de dólares cada año (6); es una enfermedad de distribución mundial. A pesar de la importancia de la enfermedad, se desconocen muchos de los mecanismos de virulencia de las cepas aviarias de *Escherichia coli* (7). Las cepas APEC (Avian pathogenic *E. coli* por sus siglas en inglés), se presentan al encontrarse disminuidas las defensas del huésped debido a coinfecciones ocasionadas por agentes como los virus de la enfermedad de Newcastle, Bronquitis infecciosa o Micoplasmosis, entre otros (8,9); también cuando las aves sufren lesiones en las células epiteliales del tracto respiratorio superior por alojamientos inadecuados, condiciones climatológicas adversas, exposición al amoníaco o polvo etc.(6)

Desde la década de los 90's autores como Nakamura, Barnes y Vandekerckhove (10–12) describen la colibacilosis aviar como una entidad propia, por

lo que consideran a *E. coli* como un agente patógeno primario que puede generar una enfermedad septicémica caracterizada por una mortalidad aguda y presencia de poliserositis, sin afectación en la producción y calidad de los huevos. Vandekerchove logró reproducir experimentalmente la enfermedad en aves libres de microorganismos patógenos específicos (SPF) mediante inoculación por aerosol de *E. coli* en sacos aéreos, y también oralmente, con ello lograron demostrar que los brotes causantes de elevada mortalidad no se encuentran relacionados necesariamente con otras enfermedades predisponentes.(13)

1.4 Escherichia coli

Escherichia coli ha sido una de las bacterias más estudiadas gracias a su fácil reproducción en condiciones apropiadas. En 1885, Theodor Escherich consiguió aislar *E. coli* en muestras clínicas humanas, denominándose inicialmente como *Bacterium coli commune* (14,15). En 1894, Lignieres describió una enfermedad en gallinas causada por *E. coli* y se confirmó, mediante estudios *in vivo*, su patogenicidad en las aves. Claussen, en 1907, concluyó que en determinadas condiciones *E. coli* podría atravesar la pared intestinal y adquirir factores que le confieren virulencia y causar septicemias en gallinas. (16)

E. coli que se encuentra dentro del *Phylum* Proteobacteria, Clase Gammaproteobacteria, Orden Enterobacteriales y Familia Enterobacteriaceae (17); es un bacilo Gram negativo que no forma esporas, anaerobio facultativo y crece a un rango de temperaturas de 18 a 44°C y un pH entre 4.5 a 9. Las colonias características se desarrollan a las 24 horas en agar MacConkey (McC) (8), dichas colonias poseen típicamente una apariencia brillante, circular, con consistencia mucóide y de color rosado (18). Los resultados de las pruebas bioquímicas presentan reacciones tales como: catalasa positivos, oxidasa negativos, pueden ser inmóviles o móviles gracias a flagelos peritricos y formar ácido y gas a partir de lactosa.

Dentro de las cepas de *E. coli* se incluyen cepas comensales y patógenas, muchos estudios demuestran que las cepas patógenas de *E. coli* han derivado de cepas comensales por la adquisición de loci extra e intra cromosómicos, mutaciones, deleciones genómicas o por la evolución de un antecesor común que evolucionó

debido a la adquisición de elementos génicos móviles (plásmidos o islas de patogenicidad), así como la integración de bacteriófagos y transposones que integran la expresión de diversos factores de virulencia (19) como toxinas, adhesinas, mecanismos de adquisición de hierro, entre otros, éstos, al ser específicos pueden utilizarse junto al tipo de enfermedad que generan para clasificar dichos organismos en patotipos (8); los cuales se definen como las diferentes combinaciones de genes dentro de una especie bacteriana, éstos pueden incluir distintos serogrupos de la misma especie (20) dando así diferencias patogénicas importantes.

El esquema de Clermont clasifica las cepas de *E. coli* basados en la presencia de ciertos genes en dos grandes grupos, extraintestinales: las cepas virulentas extraintestinales se encuentran en los filogrupos B2 y en menor medida al grupo D; e intestinales: filogrupos B1 y la mayoría de las cepas comensales de baja virulencia pertenecen al grupo A. Estudios previos mostraron que las cepas que pertenecen a distintos filogrupos no se distribuyen al azar, sino que están asociadas a la fuente de aislamiento. Por estos motivos, la caracterización filogenética es una herramienta importante para mejorar el conocimiento sobre la estructura poblacional de *E. coli* y sobre la relación entre cepas y enfermedad. (21,22)

De acuerdo a su mecanismo de patogenicidad y cuadros clínicos, las cepas asociadas a las infecciones gastrointestinales, son denominadas *E. coli* diarreogénicas (DEC) o intestinales y se clasifican en los siguientes grupos por sus mecanismos de patogenicidad en cultivos celulares, modelos animales etc.: *E. coli* enteropatógena (EPEC), enteropatógena atípica (aEPEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), enteroinvasiva (EIEC), con adherencia difusa (DAEC) (23,24) y enterohemorrágica, verotoxigénica o productora de toxinas Shiga (EHEC/VTEC/STEC), mientras que las asociadas a infecciones en otros sitios son denominadas *E. coli* Patogénicas Extraintestinales (ExPEC), causantes de infecciones en tejidos blandos, causantes de neumonía, osteomielitis o meningitis, *E. coli* causantes de sepsis (SEPEC) infecciones urinarias *E. coli* uropatógenas (UPEC) y *E. coli* patógena aviar (APEC). (25,26)

1.5 PATOGENIA

E. coli forma parte de la biota intestinal de diferentes especies animales, principalmente mamíferos, aves y animales de sangre fría. Durante el proceso evolutivo han surgido clonas patógenas para humanos y animales; éste es el caso de las cepas APEC (27,28) que afectan a las aves y son las responsables de generar un gran número de infecciones localizadas y sistémicas.

Las cepas patógenas pueden diseminarse ampliamente por la formación de aerosoles a partir de las heces contaminadas y adherirse a las células del epitelio del tracto respiratorio superior mediante fimbrias F1, y así iniciar la colonización bacteriana (29,30). En las aves, los sacos aéreos y los pulmones son dos puntos altamente susceptibles a la colonización e invasión bacteriana debido a la inexistencia de macrófagos pulmonares que puedan contener la infección a este nivel y a que la barrera existente entre la región capilar aérea y la sangre es extremadamente fina (31,32). Posteriormente, se produce la diseminación de *E. coli* por el torrente circulatorio y la colonización de órganos internos, gracias a la capacidad de adhesión mediada por fimbrias P (que se expresan en el tracto respiratorio inferior y en los órganos internos), es decir, en fases más avanzadas de la infección (11,31), y generar colisepticemia que afecta a numerosos órganos internos como el corazón, hígado, bazo, ovario; también se puede presentar septicemia hemorrágica, coligranulomas (nódulos de tamaño considerable en el hígado, ciego, duodeno y mesenterio) (14), enfermedad respiratoria crónica complicada (ERCC), síndrome de cabeza hinchada, celulitis coliforme, peritonitis, salpingitis, orquitis, osteomielitis/sinovitis, panoftalmitis, onfalitis e infección del saco vitelino (ISV) (6). Todas estas manifestaciones de la enfermedad pueden generar pérdidas económicas para las producciones avícolas debido a:

- Aumento de decomisos en el rastro al presentarse poliserositis como consecuencia de la bacteriemia.
- Disminución progresiva hasta nula en la producción de huevo debido a salpingitis generada por APEC.
- Mortalidad sin presentación de signos clínicos a causa de peritonitis aguda (12). En México, se estima que más del 90% de la mortalidad que se presenta en

parvadas de postura comercial son consecuencia de infecciones bacterianas que producen peritonitis (33). La mayor parte de los brotes de colibacilosis suelen ocurrir en el periodo de pico de puesta en la cual la mortalidad acumulada puede llegar a superar valores al 10%. (13,33,34)

Por otro lado, si existen pollitas que sobreviven a la ISV generada por *E. coli* presentan retraso en el crecimiento y son mucho más susceptibles a infecciones secundarias por lo que nunca llegan a cumplir los parámetros productivos deseados y representan un riesgo para la parvada al ser diseminadoras de esta bacteria. (6,35)

1.6 MEDIDAS DE PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO DE LA COLIBACILOSIS

Para prevenir la colibacilosis es imprescindible conocer y eliminar las fuentes de contaminación, así como evitar factores predisponentes que contribuyen a la aparición de la enfermedad (11,36). Los siguientes puntos son vitales para el control de la enfermedad por lo que siempre se debe llevar una vigilancia estricta:

- Manejo: densidad de animales correcta, ventilación eficaz, ausencia de suciedad y polvo, retirada periódica de gallinaza, intensidad lumínica y temperaturas adecuadas, suministro de agua y alimento, programas de desinfección y control de fauna nociva (37). El polvo se considera una de las principales vías de infección y diseminación de la enfermedad.
- Profilaxis y estatus sanitario: debe minimizarse la incidencia de enfermedades consideradas como predisponentes para la colibacilosis.
- Programas de alimentación, así como la aplicación de fórmulas nutricionales correctas para cada fase de producción ya que un suministro incorrecto de estas podría provocar estrés en los animales y favorecer la aparición de enfermedades. (30)

Cuando estos parámetros no son adecuados tienen una gran repercusión en el bienestar animal e influyen negativamente en la producción, lo que incrementa la susceptibilidad a las infecciones por *E. coli*. (31,36,38)

Para controlar la colibacilosis se ha utilizado una gran variedad de vacunas y métodos de vacunación, tales como la inmunización activa y pasiva; para ello, se han usado productos vivos o inactivados (bacterinas), vacunas recombinantes y la inmunización contra factores de virulencia específicos. Sin embargo, todos los inmunógenos que han sido efectivos contra varios serotipos de *E. coli* proveen protección solo a serogrupos homólogos y no una protección cruzada significativa contra los heterólogos (39). Esto denota la importancia de estudios de serotipificación como herramienta epidemiológica para conocer el comportamiento de éstos en cada región donde se busque lograr una vacunación satisfactoria inmunizando a las aves con las cepas bacterianas específicas de un brote o utilizando las que se presenten con mayor frecuencia de aislamiento.

También existen factores capaces de disminuir la susceptibilidad a infecciones por *E. coli* como factores inmunológicos (inmunidad activa y pasiva, adición de inmunoestimulantes), fisiológicos (genética, aves adultas, hembras, estrés moderado, etc.) y nutricionales (aporte de proteínas, vitamina A, D, C y E, carotenos, selenio, etc.).

Actualmente, la manera de controlar infecciones causadas por *E. coli* es mediante el empleo de antimicrobianos como ampicilina, tetraciclina, sulfonamida y enrofloxacin; ésta última, es una de las quinolonas más usada en la industria mexicana de pollo de engorda (40). Sin embargo, estos tratamientos representan un costo muy elevado en la producción avícola y tienen repercusiones importantes en la selección de bacterias resistentes, por lo tanto, el uso de antibióticos solo se debe realizar después de conocer el estatus de resistencia o sensibilidad hacia los quimioterapéuticos. En México no se tienen estudios sobre el impacto económico de esta enfermedad, se estima que son cuantiosos al considerar únicamente los costos por la aplicación de antimicrobianos, ya que en ocasiones se pueden llegar a administrar hasta tres tratamientos (31,37,41,42). Sin embargo, esta es una práctica que se debe evitar al igual que la utilización masiva de antimicrobianos junto con la práctica habitual de utilizarlos a concentraciones sub-inhibitorias con fines profilácticos; prácticas que han incrementado considerablemente las resistencias bacterianas (11,31,36,37). Es decir, el empleo inadecuado de antibióticos podría

considerarse como una importante fuente de emergencia, selección y diseminación de bacterias resistentes. (7,43)

1.7 IDENTIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DE *E. coli*

El diagnóstico presuntivo de la colibacilosis puede realizarse en función de la signología y aunque las lesiones clínicas son bastante significativas, es conveniente realizar la confirmación mediante el análisis microbiológico de las muestras (44) y realizar el diagnóstico diferencial ya que muchos agentes como *Aerobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Bacillus spp.*, han sido aislados a partir de lesiones compatibles con colibacilosis, por ejemplo, la pericarditis puede producirse en infecciones por *Chlamydia spp.*, y en determinadas condiciones, por *Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.*, *M. gallisepticum* han sido aislados a partir de lesiones de aerosaculitis. (11)

En 1947, Kauffmann propuso una forma de diferenciar las cepas de *E. coli* en base a la determinación de los antígenos de superficie. Esta forma de clasificación resultó muy útil en los estudios epidemiológicos y de patogénesis de *E. coli*, estudios realizados por Gross (45) y Sojka (16) pusieron de manifiesto la importancia de determinados serotipos (O1, O2 y O78) en la virulencia de las cepas aviares.

Los sistemas de identificación y tipificación de las cepas de *E. coli* aviares son muy variados y tienen como objetivo fundamental distinguir entre cepas patógenas y no patógenas, gracias a la determinación de características de virulencia, así como el establecimiento de las relaciones epidemiológicas entre las cepas.

Para la serotipificación de *E. coli*, se utiliza como fundamento el reconocimiento de tres antígenos: el somático (O) el cual es un oligosacárido de repetición unido al lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa de la bacteria, formalmente los serogrupos son numerados de O1 a O187 (pero hay que tener en cuenta que O31, O47, O67, O72, O94 y O122 ya no se reconocen) y debido a que existen subgrupos (OX3,OX7 entre otros), hay aproximadamente 200 antígenos O diferentes descritos

hasta la fecha (6,46,47) el antígeno flagelar (H) es un compuesto proteico codificado por el gen *fliC* (flagelina) que constituye el órgano de locomoción de la bacteria del cual se han identificado 53 formas diferentes la mayoría de estos antígenos son específicos y muestran poca o ninguna reactividad cruzada significativa; el antígeno capsular (K), compuesto por glucopolisacáridos que brindan envoltura a la bacteria y le confiere resistencia hacia el suero sanguíneo y la fagocitosis. El antígeno "O" es el responsable del serogrupo, mientras que la determinación del antígeno somático y flagelar (O:H) indican el serotipo, el cual en ocasiones se asocia con un cuadro clínico en particular. La combinación de estos antígenos muestra la gran diversidad presente de *E. coli* en la naturaleza. La importancia de conocer los serotipos de APEC radica en que la respuesta inmune del organismo se dirige principalmente contra el antígeno O. (6)

A pesar de que existen nuevos métodos para clasificar e identificar a los géneros bacterianos, la serotipificación de los antígenos O y H es considerada la prueba de oro para las cepas de *E. coli* ya que sigue siendo una herramienta útil y efectiva para conocer la diversidad específica de antígenos en cada cepa (23,41,48), orientando así la búsqueda de factores de virulencia apoyados del diagnóstico molecular para clasificar a las cepas en los distintos grupos patógenos.

Los serogrupos pueden tener variaciones lisas o rugosas (S y R por su sigla en inglés respectivamente), por mutaciones en los genes que codifican para la síntesis de las cadenas de polisacáridos O específicos o en el núcleo basal; las cepas denominadas OR (cepas rugosas que han perdido su especificidad antigénica) no cuentan con las cadenas laterales propias del antígeno por lo que no se puede realizar la determinación del serogrupo característico en estas cepas y se les conocen como cepas OND (no determinado), mientras que en las lisas no sucede así, esto se debe a diferencias en la cadena lateral de carbohidratos del polisacárido O; en el caso de las cepas S, si presentan tal polisacárido O específico, por lo que se les puede determinar un serogrupo característico. (49–51)

Algunos autores indican que los serogrupos más relevantes en cuadros de colibacilosis aviar que representan más del 50% del total de aislados clínicos en diversas publicaciones son O1, O2, O36 y O78 (52–55) actualmente también se han reportado que las bacterias con antígeno somático O35 están asociadas con

colibacilosis aviar (56). Existen estudios en los que se indica que del 10 al 15% de la población de bacterias coliformes intestinales pertenecen a serotipos patógenos (6); en investigaciones realizadas en México los serogrupos más importantes fueron O8, O19, O78 y O84 (57); también se han identificaron los serogrupos O8, O178, O7 y O44 en aves de traspatio (58). Sin embargo, la serotipificación puede acompañarse de pruebas que indiquen el grado de virulencia de las cepas, mediante la determinación de la presencia de genes de virulencia característicos (59), ya que la virulencia designa el carácter patogénico de un microorganismo, es decir, su capacidad de causar enfermedad. Hay que tomar en cuenta que los factores de virulencia se encuentran en plásmidos o en bacteriófagos por lo que pueden surgir nuevas cepas de *E. coli* con diferentes patrones de la enfermedad haciéndolos difíciles de clasificar.

2.HIPÓTESIS

Los serotipos de las cepas de *E. coli* aisladas a partir de dos estirpes de pollas de reemplazo serán diferentes entre sí y a aquéllos identificados anteriormente en aves comerciales en México.

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar los serotipos de *E. coli* provenientes de muestras de diferentes órganos de pollitas de reemplazo con ISV provenientes de dos líneas genéticas de una granja ubicada en los Altos de Jalisco.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Recuperar cepas de *E. coli* de dos líneas de postura de los altos de Jalisco del medio de conservación Dorset y realizar las pruebas bioquímicas necesarias para su identificación.

1. Realizar la caracterización serológica de las cepas de *E. coli* de dos líneas genéticas de aves de postura ligeras.
2. Observar el comportamiento de los antígenos H y O en cepas de *E. coli* aisladas en una granja de los altos de Jalisco a partir de dos estirpes de pollitas de reemplazo.
3. Comparar los serotipos encontrados para generar recomendaciones de las medidas a realizar en cuanto a programas de inmunización o medidas preventivas ante el patógeno en esta granja.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 CEPAS DE ESTUDIO

Se utilizaron 66 cepas de *E. coli* conservadas en viales con medio de cultivo Dorset, los aislamientos provenían de una empresa ubicada en el estado de Jalisco, a partir de la mortalidad de pollitas de reemplazo con ISV de una semana de edad de diferentes órganos como: hígado, pulmón, médula ósea y saco vitelino. Las pollitas pertenecían a dos líneas genéticas de gallina de postura ligera, 40 de las cepas pertenecían a la línea A y las 26 restantes a la línea B. La relación del número de muestras analizadas con su sitio de aislamiento se reporta en el Cuadro 1.

Para la purificación de las colonias de *E. coli* se realizó el sembrado por estría cruzada en agar McC y se incubaron a 37 °C de 18-24 horas, posteriormente se utilizaron los medios TSI, Urea, SIM, Citrato y LIA (60) inoculados con las colonias previamente obtenidas para la caracterización bioquímica de las bacterias, estos medios se incubaron bajo las condiciones antes mencionadas. Una vez identificadas las bacterias se empleó el procedimiento del laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la UNAM de acuerdo con Orskov y Orskov (61), mediante la utilización de sueros específicos (SERUNAM) obtenidos de conejos Nueva Zelanda

blanco; se emplearon 188 sueros específicos anti – O y 53 sueros específicos anti–H. Para ello, se utilizaron microplacas de 96 pozos de fondo redondo, en las que se evidenciaron las reacciones de aglutinación.

4.2 ANTÍGENO SOMÁTICO (O)

Cada cepa se sembró por estría cruzada en tubos con 10 ml de agar Casoy con pH de 7.2, se incubaron de 18-24 horas a 37 °C. El crecimiento obtenido se cosechó en 10 ml de solución salina 0.85%, se cubrió este tubo con parafilm y se homogeneizó hasta desprender todo el crecimiento para obtener una suspensión bacteriana que se transfirió a otro tubo, se inactivó por esterilización con vapor fluente a 110°C con 3-5 libras de presión durante una hora. Una vez enfriado el antígeno se conservó a temperatura ambiente al agregarle 10 ml de formalina al 0.6%.

En cada pozo de la microplaca se colocaron 50 µl del suero anti-O (O1-O188) diluido 1:100 correspondiente al pozo, y posteriormente se colocaron 50 µl del antígeno somático preparado anteriormente; las placas se envolvieron con papel adherente para evitar que la muestra se evaporara durante la incubación que se realizó en la estufa de 50 °C por 18-24 horas. Terminado este tiempo se realizó la lectura de resultados, se consideró como positivo cuando se presentó una reacción antígeno-anticuerpo y se observó un precipitado en el fondo del pocillo. Una vez identificados los sueros anti-O que reconocieron al antígeno bacteriano se realizaron diluciones seriadas al doble de cada antisuero, iniciando con una dilución 1:100 hasta la dilución 1:12800; a cada dilución se agregaron 50 µL del antígeno O, para determinar el serogrupo al que pertenecían, las placas se incubaron de 18-24 horas a 50°C. En el caso que los sueros presentaron títulos similares se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero empleando antisueros específicos adsorbidos y diluidos desde 1:50 hasta 1:6400. El serogrupo se definió al determinar el mayor grado de aglutinación con la mayor dilución del suero y de igual manera se consideró una aglutinación positiva al presentarse un precipitado en el fondo del pozo.

4.3 ANTÍGENO FLAGELAR (H)

Las cepas se sembraron en tubos de 15 x 150 mm con tapón de rosca que con medio semisólido con pH 6.9, en su interior tiene un tubo Craigie con el fin de evaluar la movilidad de bacteria (expresión del antígeno H), estos tubos se incubaron a 30 °C durante 15 días hasta observar la movilidad del cultivo. Cuando la muestra se presenta como móvil se observa crecimiento en el interior y el exterior del tubo.

En las placas se colocaron 50 µl de cada uno de los sueros anti-H (1:100) y se agregaron 50 µl del antígeno flagelar de cada cepa, se incubaron a 50°C por 2 horas; una vez terminado el tiempo se realizó la lectura de las aglutinaciones presentes; siendo positivos los que presentaron un precipitado en el fondo del pozo; en otras placas se seleccionan los sueros anti-H en los cuales el resultado fue positivo y se realizaron diluciones seriadas al doble 1:100 hasta 1:12800 y se agrega 50 µl del antígeno H, se incuba a 50°C por 2 horas. Se registraron los títulos hasta los cuales existe reacción positiva con el antígeno flagelar de las cepas, para establecer el serotipo. Si los antisueros mostraron títulos similares, se realizó el mismo procedimiento de diluciones seriadas al doble descrito previamente, pero con los antisueros específico H, desde la dilución 1:50 hasta 1:6400, en la placa se observa la reacción positiva y se determina el mayor grado de aglutinación con la mayor dilución de suero, se considera éste el determinante para definirlo como el antígeno H de la cepa. Para aquellas cepas que no presentaron movilidad en el medio semisólido se registraron como inmóviles (H-).

4.4 COMPARACIÓN DE RESULTADOS

Los serotipos encontrados en las cepas de la granja se compararon con los reportados en la literatura nacional e internacional, para observar diferencias o similitudes entre ellas.

5. RESULTADOS

5.1 ANTÍGENO O

Se realizó la identificación serológica de 66 muestras de *E. coli*; éstas se distribuyeron en 20 serogrupos diferentes, los más frecuentes fueron el O166 y el O20 que representaron el 15% (n=10) cada uno del total de los aislados del estudio, seguidos por el O25 con el 12% (n=8) de incidencia mientras que el O187 y el O18 representaron el 7.6% cada uno, el serogrupo no pudo ser identificado (OND) en el 4.5% de los aislamientos (Cuadro 2).

Se identificaron diferencias entre los aislamientos dependiendo de la línea genética de procedencia: en la línea A se logró la identificación de los serogrupos O153 y O125 en el 6.1% (n=4) de las muestras mientras que los serogrupos O73, O102, O17, O15, O66, O147, O148 y O81 en un 1.5% (n=1) pero solo en esta línea; por otro lado algunos serogrupos específicos de la línea B fueron el O65, O71, O149 con una frecuencia del 1.5% de aislamiento cada uno. En el caso de los serogrupos aislados en ambas líneas el O25 y el O18 se aislaron con mayor frecuencia en la línea B y los serogrupos O20 y O166 se presentaron más en la línea A. En ambas líneas genéticas se lograron identificar los serogrupos O103, OND, O70, O18, O187, O25, O166 y O20.

5.2 ANTÍGENO H

Durante la identificación de los antígenos flagelares, las cepas inmóviles que se identificaron representan el 13.6% (n=9) de las muestras. Las cuales no varían considerablemente dependiendo de la línea genética. (Cuadro 3.)

5.3 SEROTIPOS

La caracterización de las cepas con la fórmula antigénica completa (Cuadro 4) mostró que se identificaron 33 combinaciones diferentes, aquella con mayor frecuencia fue O166:H25, se presentó en el 12.1% (n=8) de las muestras, los serotipos

O20:H9 y O18:H49 se identificaron en el 7.6% (n=5) y en tercer lugar con el 6,1% (n=4) se identificaron los serotipos O20:H- y O25:H4.

Al comparar los resultados por líneas genéticas observamos que algunos serotipos como el O25:H4 se aisló en el 6.1% y el O187:H- aislado en el 3% de las muestras totales solo provenía de la línea genética B, mientras que otros serotipos como el O125:H10, el O153:H49 y el O153:H25 tuvieron una frecuencia de aislamiento del 3% (n=2) cada uno y solo se presentaron en cepas de la línea A.

Ningún serotipo se identificó en todos los órganos, y no hay un serotipo que se presente con mayor frecuencia en un solo órgano, en cuanto a los serotipos con mayor frecuencia de aislamiento se observaron diferencias claras entre un órgano y otro como se puede observar en la Gráfica 1, la mitad de los aislados del serotipo O166:H25 provenían de la médula ósea, el serotipo O20:H9 se aisló en dos de las muestras en hígado y en médula ósea y en una muestra de pulmón.

6. DISCUSIÓN

Anualmente, la colibacilosis es responsable por pérdidas multimillonarias en la industria avícola (62–65), es muy difícil estimar las pérdidas asociadas con esta enfermedad debido a las diferentes presentaciones e interacciones con otros patógenos y factores medioambientales (66) en la granja de estudio esta enfermedad representa pérdidas económicas debido a la mortalidad de las pollitas en la etapa de crianza y desarrollo y por consiguiente la pérdida de hasta 476-480 huevos en su primer ciclo productivo (67,68), en Estados Unidos se han reportado pérdidas que ascienden a 100 millones de dólares cada año (57,69).

El control de esta enfermedad se encuentra restringido por el limitado conocimiento de los mecanismos de virulencia utilizados por las cepas patógenas aviares de *E. coli* (7,70).

Al comparar los serotipos de *E. coli* del presente trabajo con los resultados reportados en México por diversos autores tales como Rosario *et al.* 2004 (57), Ramírez *et al.* 2009 (71) y Molina *et al.* 2012 (42) en los que se identificaron con mayor frecuencia los serogrupos O19, O84 , O8 , O78, así como O2, O20, O100, O8, O131, O84, O25 y O78 y por último O8, O19, OR, O11, O102,O2 respectivamente, se observa que los resultados

varían ampliamente, como lo mencionan Ike *et al.* y Phukan *et al.* (72,73) quienes encontraron que la presencia de ciertos serotipos depende del área geográfica, país o periodo de aislamiento; esto puede explicar que los serotipos más comunes encontrados en este trabajo no coincidan con los reportados por otros autores a pesar de que todos estos trabajos fueron realizados en México, aunque algunos varían en el estado del país y el fin zootécnico de las aves, por ejemplo, en el trabajo de Rosario *et al.* (57) las muestras procedían de huevos fértiles e infértiles, embriones muertos en cáscara y aves con ISV de una empresa en el estado de Guanajuato; las muestras de Ramírez *et al.* (71) de reproductoras, incubadoras y granjas de pollo de engorda en Querétaro, por lo que no se pueden determinar que los serogrupos encontrados en estos estudios son los predominantes en México para toda la industria avícola.

El serogrupo O8 había sido reportado anteriormente en diferentes tipos de producciones y zonas geográficas, por lo que en algunos trabajos ha sido considerado como candidato para la elaboración de inmunógenos (44); si por ejemplo, se empleara este serotipo para inmunizar en la granja de estudio sin realizar estudios como el presente, se estaría introduciendo un serotipo diferente a los que circulan a la granja y que por lo tanto, no generaría protección contra los serogrupos aislados.

Otros serogrupos como el O1, O2, y O78 han sido aislados con frecuencia a partir de aves enfermas, y de ellos se han encontrado algunas clonas que pueden ser altamente patógenas (74,75), sin embargo, tampoco fueron identificadas en este trabajo, lo que concuerda con los estudios realizados por Rosario *et al.* (57) y Ramírez *et al.* (71) en donde no se encontraron ninguna cepa con los serogrupo O1 y O78.

Rosario *et al.* (57) identificaron el serogrupo O125 como frecuente en granjas de reproductoras, al igual que en este estudio el 6.1% (n=4) de las muestras de las pollitas de reposición presentaron este serogrupo. Por otro lado, el serogrupo O88, reportado por autores como Dho-Moulin *et al.* y Gomis *et al.* (76,77) no se encontró en este estudio a pesar de que ellos lo consideran como uno de los más frecuentes entre los aislados clínicos aviares, esto coincide con la idea de que aquellos serogrupos considerados como los más frecuentes, se han visto desplazados en mayor o menor grado por otros. (55)

Diversos autores (14,73,78,79) mencionan que el hallazgo de un gran porcentaje de cepas no tipificables es una característica de los aislamientos de *E. coli* en las aves, en sus publicaciones Blanco, Parveen, Ramírez y Phukan (14,65,71,76) obtuvieron

porcentajes del 19%, 22%, 20.37% y 22.33% respectivamente de aislados en los que no se pudo determinar el serogrupo (ND). Sin embargo, en el presente estudio solo se encontró que el 4.5% (n=3) de los aislamientos no se pudieron identificar, esto se puede deber al pequeño número de muestra obtenido en este trabajo o porque algunas cepas de *E. coli* producidas por el uso de medios sintéticos que proveen todos los nutrientes para el crecimiento de las bacterias no sólo producen colonias de aspecto "rugoso" en medios sólidos, sino que también impiden determinar mediante la serotipificación estándar su antigenicidad específica. Estas cepas no tipificables se han aislado de casos clínicos de colisepticemia aviar y los estudios sobre sus propiedades patógenas han demostrado que algunas de ellas son altamente patógenas para los pollos de engorde de un día.

Existen pocos estudios en los que se analicen los aislamientos de *E. coli* en función de los órganos procesados. En general, en la bibliografía se hace referencia a la colibacilosis como una enfermedad que cursa con septicemia, sin especificar a partir de qué órganos se toman las muestras. Se describen simplemente lesiones de pericarditis, lesiones septicémicas en bazo, perihepatitis, aerosaculitis, traqueitis, etc. (10,77,80). En el presente estudio se analizaron muestras de hígado (H), médula ósea (MO), pulmón (P) y saco vitelino (SV) y presentaron diferencias en la frecuencia de antígenos O y H identificados, gracias a la toma de muestras a partir de diferentes órganos, ha sido posible observar la distribución de los aislados de *E. coli* en función de éstos, el único serogrupo que se aisló en todos los órganos es el O25, en cada órgano observamos que se aisló con mayor frecuencia un serogrupo, en el hígado fue el serogrupo O20 (n=3), el O166 se encontró tanto en SV (n=4) como en MO (n=5) con la mayor frecuencia de aislamiento, aunque el serotipo O25 también se encontró en cuatro muestras en el SV, en el pulmón encontramos mayormente los serogrupos O18 y O20 (n=3).

Al hacer la comparación con investigaciones internacionales los resultados del presente estudio discrepan de lo encontrado por otros autores (59,81–83) quienes afirman que ciertos serogrupos como O1, O2 y O78 han sido considerados como los más frecuentemente aislados en casos de colibacilosis aviar; sin embargo, ninguno de ellos se aisló en el presente estudio.

En el trabajo de Ruiz (84) se analizaron las mismas muestras de *E. coli* del presente estudio, y se logró la identificación por PCR de seis genes de virulencia; *iroN* (Gen del receptor de la salmoquelina), *ompT* (Gen de la proteasa de membrana externa), *hlyF* (Gen de la hemolisina F), *iss* (Gen de resistencia aumentada en suero) y *iutA* (Gen receptor de

la aerobactina férrica), como observamos en el Cuadro 5. de las 66 cepas analizadas se encontró que el 66% (n=44) de las cepas fueron clasificadas como virulentas al poseer 3 o más genes de “virulencia” y fueron consideradas cepas APEC (85), de ellas, 25 se aislaron de la línea A y 19 de la línea B, al conjuntar los resultados de dicho estudio y el presente observamos que las cepas virulentas presentan los serotipos O166:H25 en el 16% (n=7) de las cepas, el O18:H49 en el 9% (n=4) y con el 6.8% (n=3) se presentaron los serotipos O25:H4 y O25:H9, los serogrupos más frecuentes fueron el O166 con el 20.45% de prevalencia, el O20 y el O25 con el 11.3% y el O153 y O187 con el 9%; el 39% de las muestras virulentas se aislaron del saco vitelino, mientras que del pulmón y la médula ósea se aislaron el 22.5%. En el trabajo de Ruiz se identificaron diferentes patotipos (combinación de genes contenidos en una cepa) (86) en uno de ellos no se presentó ningún gen de virulencia este representó 15% (n=10) de las muestras, seis se presentaron en la línea B y las cuatro restantes en la línea A; el serogrupo O20 se identificó en dos de las 10 muestras, de este patotipo.

Por otro lado, el serotipo O20 y el O166 se identificaron en el 22.2% (n=2) de las cepas que presentaron todos los genes de virulencia, el 89% (n=8/9) de estas muestras pertenecían a la línea genética B.

El 66.6% de las muestras no tipificables (dos de tres muestras) se identificaron como virulentas, lo que concuerda con análisis realizados desde la década de los 80's en los que estas cepas presentan altas propiedades patógenas. (87)

Autores como Nataro (88), asocian diversos serogrupos con ciertos patotipos como, en el caso de ETEC son O6, O8, O11, O15, O20, O25, O27, O78, O128, O149, O159, O173, de los cuales en este estudio se identificaron O15, asociada a la diarrea del viajero en adultos, el O20, O25 y O149, en particular, el serotipo O25:H- encontrado en una muestra del presente estudio se ha asociado tanto a grupos STEC y ETEC. Por otro lado, para el grupo EPEC los principales representantes son O55, O86, O111, O125, O126, O127, O128, O142; solo el serogrupo O125 se identificó en este estudio, en otros estudios el serogrupo O18 también se ha asociado con el patotipo EPEC (89). De cualquier modo, se sugiere realizar la identificación de genes de virulencia descritos para los diversos patotipos y analizar las presentaciones particulares de cada cepa en el organismo para determinar el potencial patogénico de las cepas aisladas.

El serogrupo O103 que se identificó con una frecuencia del 3% (n=2) en este trabajo, pertenece al grupo “big six”, en este grupo también se incluyen los serogrupos O26, O45, O111, O121 y O145, a pesar de que el serogrupo O157:H7 es el responsable de los brotes más graves causados por el patotipo *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC), los doscientos serotipos integrantes del grupo STEC no-O157 han sido considerados como patógenos emergentes a nivel mundial (90,91). Las manifestaciones en humanos van desde diarreas acuosas leves hasta diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) en niños, y púrpura trombocitopénica trombótica en personas de la tercera edad (92,93). Los serotipos de *E. coli* STEC, son capaces de producir citotoxinas similares a la toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1, por lo que también se les conocen como Shiga-like (Stxs), en las cepas STEC, se han encontrado las variantes de la toxina de Shiga, Stx1 (Shiga-like toxin I) que a su vez se divide en tres subtipos y Stx2 (Shiga-like toxin II) que se divide en siete subtipos (24); la producción de estas toxinas se puede presentar individual o en conjunto en una misma bacteria, por lo que son consideradas el principal mecanismo de patogenicidad de *E. coli* enterohemorrágica.

La normativa nacional e internacional se ha enfocado principalmente al grupo “big six” en carne bovina, en Estados Unidos se ha declarado a estos seis serogrupos como adulterantes de alimentos (94). Sin embargo, la carne de pollo y huevo no cuentan con regulaciones de la presencia e identificación de estos microorganismos; además de las técnicas de aglutinación para la identificación de los antígenos O y H se reportado el uso de métodos moleculares basados en la técnica de PCR para la detección de diversos serogrupos de STEC, con ventajas de alta especificidad y sensibilidad que brindan un procesamiento más rápido para un mayor número de muestras. (95)

Las cepas de UPEC generan el 80% de las infecciones del tracto urinario reportadas y pertenecen a un limitado número de serogrupos O1, O2, O4, O6, O7, O8, O16, O17, O18, O25, O62 y O75 (89) en este trabajo se identificaron cepas O25 (12.1%) y O17 (1.5%), cabe resaltar que de las 8 muestras que presentaron el serogrupo O25, en este trabajo 4 presentaron el serotipo O25:H4 (6.1% de las cepas analizadas y todas se presentaron en la línea genética B y 3 de 4 se identificaron como virulentas, este serotipo ha sido reportado mundialmente y se debe mantener bajo vigilancia epidemiológica tanto su frecuencia de aislamiento en el campo como el papel que tienen las aves como posible vehículo de transmisión, este serotipo ha generado importantes problema de salud clínica que causa infecciones multirresistentes en todo el mundo (96,97), por diversos

mecanismos, uno de ellos es la producción de β -lactamasas, estas enzimas bacterianas hidrolizan, como su nombre indica a los betalactámicos, por lo que el uso terapéutico de estos resulta inefectivo, las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) incluyen tres tipos principales TEM, SHV y CTX(93)-M (98) , estas últimas son las β -lactamasas de mayor reporte mundial, en estudios realizados en distintos países (Francia, Portugal, España, Suiza, Líbano, India, Corea y Canadá) la CTX-M-15 se identificó como la enzima de tipo CTX-M más común en *E. coli*, se ha demostrado que su amplia distribución se debe principalmente de forma clonal. Otro problema que se presenta con las BLEE son los reservorios bacterianos y la facilidad con que se diseminan estos y otros genes de resistencia entre las enterobacterias (99). Estas BLEE se reportan en algunos casos hasta en el 90% de los aislados de cepas con serotipo O25:H4-ST131 y también suelen estar relacionados con altos índices de virulencia (100). La aparición de un nuevo patógeno extraintestinal multirresistente que puede estar extendiéndose rápidamente por la población mientras sigue evolucionando parece suponer una importante amenaza para la salud pública que requiere una atención urgente. Por lo que es pertinente realizar en las cepas serotipo O25:H4 la identificación de estos factores, así como determinar el grupo filogenético para determinar su origen y observar su diseminación.

Se puede deducir que las diferencias entre los resultados reportados con los obtenidos en este trabajo demuestran la versatilidad de *E. coli*, se ha demostrado que el 17% de su genoma (es decir 800 kb) ha sido adquirido por transferencia horizontal de genes (HGT), dentro de la familia de las enterobacterias, *E. coli* actúa como donador y receptor de genes de resistencia a antimicrobianos, virulencia etc. (86,101) actualmente se conocen 234 eventos de HGT detectables en este microorganismo pero estos solo representan la punta del iceberg de las recombinaciones genéticas que ha sufrido dicha bacteria, faltan por conocer detalles de cómo se llevan a cabo los procesos de HGT, pero está claro que la bacteria los realiza para asegurar su sobrevivencia en medios adversos. (102)

La HGT aumenta la variación entre especies e inclusive puede dar lugar a nuevas especies bacterianas por diferentes mecanismos: cuando una bacteria sufre un daño irreparable su ADN es expulsado al citoplasma donde es captado e integrado en los cromosomas de bacterias aledañas, por los mecanismos de conjugación, transformación y transducción; por otro lado los plásmidos representan una gran fuerza de adaptación y

diversificación bacteriana, funcionan como fuentes de determinantes de patogenicidad dando así cambios fenotípicos tan drásticos que también pueden generar nuevas especies bacterianas (103–105), tanto en los plásmidos como en el cromosoma bacteriano podemos encontrar islas de patogenicidad que aportan genes para incrementar dicha característica bacteriana; en la escala evolutiva, la adquisición de islas de patogenicidad se produce a un ritmo mucho más lento que la de los plásmidos, y obviamente también son capaces de crear nuevas subespecies bacterianas, toda esta fascinante maquinaria bacteriana no está descrita completamente y estudios como el presente ayudan a conocer que un serotipo que había sido aislado en varios trabajos anteriores ahora ya no se encuentra en la misma zona geográfica (106,107), cuáles son los serotipos aislados por órganos para hacernos preguntas como ¿Qué factores contribuyen a que un determinado serotipo pueda colonizar un órgano en particular? o, ¿De acuerdo con los genes que presenta y su sitio de aislamiento podría ser un factor de riesgo para la salud pública?, etc.

7. CONCLUSIONES

Se obtuvieron 20 serogrupos diferentes, de los cuales los que se identificaron con mayor frecuencia fueron el O166 y O20 en el 15.2% de las muestras cada uno, el O25 en el 12.1% de las muestras y el O187 y O18 en el 7.6%. El porcentaje de cepas OND fue del 4.5%.

El serogrupo O103 se identificó en el 3% (n=2) de las muestras, dicho serogrupo ha sido reportado dentro del grupo “big six”, del patotipo STEC.

Se identificaron 9 cepas inmóviles y 13 diferentes antígenos H, en tres de las cepas el antígeno H no pudo ser determinado.

Los serotipos más frecuentes fueron el O166:H25 presente en el 12.1% de las cepas, el O20:H9 y O18:H49 en el 7.6%, el serotipo O25:H4 se identificó en el 6.1%, estas últimas son cepas UPEC se debe mantener bajo vigilancia por el reciente aumento de casos reportados y las nuevas clonas de este patógeno que se encuentran día con día y que presentan factores de virulencia que representan nuevos retos para su control.

Al compararlos con los resultados reportados en la literatura, los encontrados aquí varían ampliamente incluso en los trabajos realizados antes en la misma zona geográfica

a lo largo de los años. Por este motivo es necesario realizar un estudio con más muestras y más frecuentemente para conocer los serotipos que se encuentran en el campo.

8. PERSPECTIVAS

Debido a la baja protección cruzada de las bacterinas, vacunas subunitarias o con antígenos vivos atenuados, generados hasta el momento se sugieren elaborar vacunas que contenga los serogrupos más comunes asociados a la colibacilosis lo cual implica un arduo trabajo para el sector avícola, esto involucra realizar monitoreos completos de serotipificación, pruebas de sensibilidad antimicrobiana, identificación de genes de virulencia por PCR, identificación de grupos filogenéticos etc. para observar el comportamiento de las poblaciones bacterianas en el campo y tener un control epidemiológico de este microorganismo.

En comparación a otros países y aunque el uso de las técnicas moleculares ha aumentado considerablemente para la identificación de genes de virulencia, resistencia antimicrobiana etc., en México la información sobre estos hallazgos es mucho menor, lo cual debe cambiar para permitirnos conocer la distribución de este tipo de microorganismos en otras zonas del país y establecer el papel que juegan dentro de las parvadas al ocasionar cuadros clínicos y fuera de ellas como contaminantes externos en productos avícolas a tomar en cuenta para la salud pública de los consumidores y trabajadores que estén en contacto; con la finalidad de encaminar correctamente los esfuerzos en la prevención de la colibacilosis y, de este modo reducir los costos generados por dicha enfermedad.

Es importante revisar periódicamente la nueva información generada no solo a nivel nacional ya que las variaciones y nuevas presentaciones de genes de virulencia o resistencia a antimicrobianos en cepas de *E. coli* día con día nos brindan nuevas herramientas para entender un poco más a este patógeno para estar preparados contra los nuevos retos que se presenten y sobrellevarlo de la mejor manera posible.

9. REFERENCIAS

1. Indicadores Económicos – Unión Nacional de Avicultores [Internet]. [citado el 5 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://una.org.mx/indicadores-economicos/>
2. Rodríguez YYM, Paz J de JB, Coronado JJA, Jarquín DMS, Gómez JNM. El mercado de huevo en México: tendencia hacia la diferenciación en su consumo. el 14 de agosto de 2016;7(6):1455–66.
3. Avicultura Mx. Si Jalisco fuera un país, sería el tercer principal productor de huevo en América Latina [Internet]. Avicultura.mx. 2020 [citado el 9 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.avicultura.mx/destacado/Si-Jalisco-fuera-un-pais,-seria-el-tercer-principal-productor-de-huevo-en-America-Latina>
4. Marina MCT. El huevo: mitos, realidades y beneficios. el 1 de septiembre de 2004;87–100.
5. Hy Line International. Colibacilosis en ponedoras: un resumen [Internet]. Boletín Técnico. 2016 [citado el 5 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.hyline.com/ViewFile?id=bdd07e42-6f4c-44ef-b2e0-be18a00409f8>
6. Nolan LK, Vaillancourt J, Barbieri NL, Logue CM. Colibacillosis. En: Swayne DE, Boulianne M, Logue CM, McDougald LR, Nair V, Suarez DL, et al., editores. Diseases of Poultry. 1a ed. John Wiley & Sons, Inc; 2020. p. 770–830.
7. Johnson TJ, Skyberg J, Nolan LK. Multiple antimicrobial resistance region of a putative virulence plasmid from an *Escherichia coli* isolate incriminated in avian colibacillosis. Avian Diseases. abril de 2004;48(2):351–60.
8. Burgeré- Picoux J, Vaillancourt JP, Shivaprasad H, Venne D, Bouzouaia M. Colibacilosis. En: Manual de Patología Aviar. París, Francia; p. 301–15.
9. Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). Veterinary Research, BioMed Central. 1999;(2-3):19.

10. Nakamura K, Cook JKA, Frazier JA, Narita M. *Escherichia coli* Multiplication and Lesions in the Respiratory Tract of Chickens Inoculated with Infectious Bronchitis Virus and/or *E. coli*. *Avian Diseases*. octubre de 1992;36(4):881–90.
11. Nolan LK, Barnes HJ, Vaillancourt J-P, Abdul-Aziz T, Logue CM. Colibacillosis. En: Swayne DE, editor. *Diseases of Poultry* [Internet]. 1a ed. John Wiley & Sons, Inc; 2013. p. 751–805. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119421481.ch18>
12. Vandekerchove D, De Herdt P, Laevens H, Pasmans F. Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent. *Avian Pathology*. abril de 2004;33(2):117–25.
13. Vandekerchove D, Herdt PD, Laevens H, Butaye P, Meulemans G, Pasmans F. Significance of interactions between *Escherichia coli* and respiratory pathogens in layer hen flocks suffering from colibacillosis-associated mortality. *Avian Pathology*. el 1 de junio de 2004;33(3):298–302.
14. Blanco M, Blanco J, Mora A. *Escherichia coli* septicémicos aviares: serotipos, factores de virulencia, resistencia a antibióticos y desarrollo de vacunas. Universidad de Santiago de Compostela (LUGO); 1996.
15. Todar K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology* [Internet]. University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology. 2020 [citado el 10 de enero de 2021]. Disponible en: <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>
16. Sojka WJ, Carnaghan RBA. *Escherichia coli* Infection in Poultry. *Res vet Sci*. 1961; 2:340–3.
17. ITIS - Report: *Escherichia coli* [Internet]. Integrated taxonomic information system. [citado el 5 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null
18. Instrucciones de uso medios en placa listos para usar BD MacConkey II Agar. Becton Dickinson GmbH; 14/07.

19. Donnenberg MS, editor. Introduction. En: *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of Pathogenesis [Internet]. Boston: Academic Press; 2013. p. xvii–xxi. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123970480020027>
20. Delicato ER, de Brito BG, Gaziri LCJ, Vidotto MC. Virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis. *Veterinary Microbiology*. julio de 2003;94(2):97–103.
21. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. *Appl Environ Microbiol*. octubre de 2000;66(10):4555–8.
22. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups: A new *E. coli* phylo-typing method. *Environmental Microbiology Reports*. febrero de 2013;5(1):58–65.
23. Fialho OB, de Souza EM, de Borba Dallagassa C, de Oliveira Pedrosa F, Klassen G, Irino K, et al. Detection of Diarrheagenic *Escherichia coli* Using a Two-System Multiplex-PCR Protocol: DEC Detection by Multiplex-PCR. *J Clin Lab Anal*. marzo de 2013;27(2):155–61.
24. Feng PCH, Jinneman K, Scheutz F, Monday SR. Specificity of PCR and Serological Assays in the Detection of *Escherichia coli* Shiga Toxin Subtypes. *Appl Environ Microbiol*. el 15 de septiembre de 2011;77(18):6699–702.
25. Pitout JDD. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* A Combination of Virulence with Antibiotic Resistance. *Front Microbio* [Internet]. 2012;3. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00009/abstract>
26. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogens and Disease*. junio de 2007;4(2):134–63.
27. Leitner G, Heller ED. Colonization of *Escherichia coli* in Young Turkeys and Chickens. *Avian Diseases*. abril de 1992;36(2):211.

28. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. febrero de 2004;2(2):123–40.
29. Dozois CM, Chanteloup N, Dho-Moulin M, Brée A, Desautels C, Fairbrother JM, et al. Bacterial Colonization and in vivo Expression of F1 (Type 1) Fimbrial Antigens in Chickens Experimentally Infected with Pathogenic *Escherichia coli*. Avian Diseases. abril de 1994;38(2):231.
30. Mcpeake S, Smyth J, Ball H. Characterisation of avian pathogenic APEC associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds. Veterinary Microbiology. el 31 de octubre de 2005;110(3–4):245–53.
31. Blanco M. *Escherichia coli* septicémicos aviarios: problemática en España. Medicina Veterinaria. 13(1):680–6.
32. Mellata M, Dho-Moulin M, Dozois CM, Curtiss R, Brown PK, Arné P, et al. Role of Virulence Factors in Resistance of Avian Pathogenic *Escherichia coli* to Serum and in Pathogenicity. Infect Immun. enero de 2003;71(1):536–40.
33. Monroy MAR, Knöbl T, Bottino JA, Ferreira CSA, Ferreira AJP. Virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates obtained from broiler breeders with salpingitis. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. enero de 2005;28(1):1–15.
34. Kabir SML. Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. IJERPH. el 12 de enero de 2010;7(1):89–114.
35. Vandekerchove D, De Herdt P, Laevens H, Pasmans F. Risk factors associated with colibacillosis outbreaks in caged layer flocks. Avian Pathology. el 1 de junio de 2004;33(3):337–42.
36. Biarnés M. Micoplasmosis, Coriza y Colibacillosis. En: Higiene y patología aviar: Capítulo 5. Real Escuela de Avicultura; 2006.

37. Schroeder CM, Meng J, Zhao S, DebRoy C, Torcolini J, Zhao C, et al. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from Animals and Humans. *Emerg Infect Dis.* diciembre de 2002;8(12):1409–14.
38. La Ragione RM, Woodward MJ. Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia. *Research in Veterinary Science.* agosto de 2002;73(1):27–35.
39. Peighambari SM, Hunter DB, Shewen PE, Gyles CL. Safety, Immunogenicity, and Efficacy of Two *Escherichia coli* *cya crp* Mutants as Vaccines for Broilers. *Avian Diseases.* abril de 2002;46(2):287–97.
40. Rosario CC, Puente JL, Verdugo-Rodríguez A, Anderson RC, Eslava CC. Phenotypic Characterization of *ipaH*+ *Escherichia coli* Strains Associated with Yolk Sac Infection. *Avian Diseases.* septiembre de 2005;49(3):409–17.
41. Abdelkader A, Zakia Z, Bouzoubaa K. Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Veterinary Microbiology.* 1995;43:325–30.
42. Molina CR, Navarro AO, Cortes CR. Panorama General de la Colibacillosis Aviar en los Altos Jalisco. En 2012 [citado el 10 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/panorama-general-colibacillosis-aviar-t29846.htm>
43. van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* el 1 de junio de 2001;47(6):763–71.
44. Landman WJM, Cornelissen RA. *Escherichia coli* salpingitis and peritonitis in layer chickens: an overview. *Tijdschr Diergeneeskd.* el 15 de noviembre de 2006;131(22):814–22.
45. Gross WB. Symposium on chronic respiratory diseases of poultry. II. The role of *Escherichia coli* in the cause of chronic respiratory disease and certain other respiratory diseases. *Am J Vet Res.* abril de 1958;19(71):448–52.

46. Furevi A, Stähle J, Muheim C, Gkotzis S, Udekwu KI, Daley DO, et al. Structural analysis of the O-antigen polysaccharide from *Escherichia coli* O188. *Carbohydrate Research*. diciembre de 2020; 498:108051.
47. Scheutz F, Cheasty T, Woodward D, Smith HR. Designation of O174 and O175 to temporary O groups OX3 and OX7, and six new *E. coli* O groups that include Verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC): O176, O177, O178, O179, O180 and O181. *Apmis*. septiembre de 2004;112(9):569–84.
48. Fratamico PM, DebRoy C, Liu Y, Needleman DS, Baranzoni GM, Feng P. Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli*. *Front Microbiol*. el 3 de mayo de 2016; 7:644.
49. Tiba MR, de Moura C, Carazzolle MF, Leite D da S. Identification of putative new *Escherichia coli* flagellar antigens from human origin using serology, PCR-RFLP and DNA sequencing methods. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. marzo de 2011;15(2):144–50.
50. Stenutz R, Weintraub A, Widmalm G. The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev*. mayo de 2006;30(3):382–403.
51. Ewing W. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 36:581–2.
52. Kahn CM, Line S, Merck & Co. *The Merck veterinary manual*. 2010.
53. Watanabe M, Hatanaka R, Takae K, Nakase Y, Tamura K, Sakazaki R. Serological O grouping and drug susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from chicken affected with colibacillosis. *Kitasato Arch Exp Med*. septiembre de 1983;56(3):73–9.
54. Thangapandian E, Vijayarani K, Ramadass P, Nainar AM. Distribution of virulence associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from Tamil Nadu. *Indian Journal of Animal Sciences (India)* [Internet]. 2006; Disponible en: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Distribution+of+virulence+associated+genes+in+avian+pathogenic+Escherichia+coli+isolates+from+Tamil+Nadu&author=Thangapandian%2C+E.&publication_year=2006

55. Perelló MG. Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2010.
56. Lorenzoni G. Colibacilosis Aviar [Internet]. Penn State Extension. 2021 [citado el 10 de enero de 2022]. Disponible en: <https://extension.psu.edu/colibacilosis-aviar>
57. Rosario CC, López CC, Téllez IG, Navarro OA, Anderson RC, Eslava CC. Serotyping and Virulence Genes Detection in *Escherichia coli* Isolated from Fertile and Infertile Eggs, Dead-in-Shell Embryos, and Chickens with Yolk Sac Infection. *Avian Diseases*. diciembre de 2004;48(4):791–802.
58. Cepas diarreogénicas de *E. coli* y *Salmonella* en aves de traspatio [Internet]. Elsitio Avicola. [citado el 21 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.elsitioavicola.com/articles/2085/cepas-diarreogonicas-de-eme-coli-em-y-emsalmonella-em-en-aves-de-traspatio/>
59. Ewers C, Janßen T, Kießling S, Philipp H-C, Wieler LH. Rapid Detection of Virulence-Associated Genes in Avian Pathogenic *Escherichia coli* by Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Avian Diseases*. junio de 2005;49(2):269–73.
60. Barrow GI, Feltham RKA, editores. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria* [Internet]. 3a ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1993. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/books/cowan-and-steels-manual-for-the-identification-of-medical-bacteria/FE9C5458059E3A483219FBD38CBE28C9>
61. Orskov F, Orskov I. Serotyping of *Escherichia coli*. *Center for Reference and Research on Escherichia and Klebsiella*. :70.
62. Gibbs PS, Wooley RE. Comparison of the Intravenous Chicken Challenge Method with the Embryo Lethality Assay for Studies in Avian Colibacillosis. *Avian Diseases*. julio de 2003;47(3):672–80.

63. Skyberg JA, Horne SM, Giddings CW, Wooley RE, Gibbs PS, Nolan LK. Characterizing Avian *Escherichia coli* Isolates with Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Avian Diseases*. octubre de 2003;47(4):1441–7.
64. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J Clin Microbiol*. agosto de 1997;35(8):2184–5.
65. Kariyawasam S, Johnson TJ, DebRoy C, Nolan LK. Occurrence of Pathogenicity Island I_{APEC-O1} Genes Among *Escherichia coli* Implicated in Avian Colibacillosis. *Avian Diseases*. septiembre de 2006;50(3):405–10.
66. Ordóñez GO. Infección por *Escherichia coli* responsable de importantes pérdidas económicas en el sector avícola a nivel mundial. [Internet]. Dossier Técnico 25. 2010 [citado el 15 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_DT/DT_2007_25_7_10.pdf
67. Bovans. Bovans Guía del producto, sistema de producción en jaulas. [Internet]. The Netherlands- EU: Hendrix genetics; [citado el 25 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://www.bovans.com/documents/1000/Bovans_White_CS_cage_Spanish_gui_de_2.pdf
68. Guía de Manejo Hy-line. Ponedoras comerciales [Internet]. 2019 [citado el 25 de diciembre de 2021]. (Boletín técnico). Disponible en: <https://www.hyline.com/filesimages/Hy-Line-Products/Hy-Line-Product-PDFs/Brown/BRN%20COM%20SPN.pdf>
69. Nolan LK. Emergence of avian pathogenic *Escherichia coli* with enhanced resistance and disease-causing capacity. En 2007. p. 13–4.
70. Lynne AM, Foley SL, Nolan LK. Characterization of Monoclonal Antibodies to Avian *Escherichia coli* I_{ss}. *Avian Diseases*. septiembre de 2006;50(3):445–9.

71. Barrera GAR. Serotipificación y detección de genes de virulencia en cepas de *Escherichia coli* aisladas de diferentes muestras obtenidas en una empresa avícola integrada. [México]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2007.
72. Kazonori I, Kazuyoshi K, Hirofumi D. Serotyping of O and pillus antigens of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with coli-septicemia. J Vet Sci. el 20 de marzo de 1990;52(5):1023–7.
73. Phukan A, Kalita CC, Dutta GN. Isolation, identification and serotyping of *Escherichia coli* from poultry. Indian Journal of Animal Sciences. 1990;60(5):556–7.
74. Álvarez JL. *Escherichia coli*: Mecanismos de Patogenicidad. UNAM Departamento de bacteriología Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 1976.
75. Landaverde L. Aislamiento y tipificación de *Escherichia coli* del interior y exterior del huevo de gallina. UNAM Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 1962.
76. Moulin-Schouleur M, Répérant M, Laurent S, Brée A, Mignon-Grasteau S, Germon P, et al. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains of Avian and Human Origin: Link between Phylogenetic Relationships and Common Virulence Patterns. J Clin Microbiol. octubre de 2007;45(10):3366–76.
77. Gomis SM, Riddell C, Potter AA, Allan BJ. Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens with simultaneous occurrence of cellulitis and other colibacillosis lesions. :6.
78. Parveen S, Hodge NC, Stall RE, Farrah SR, Tamplin ML. Phenotypic and genotypic characterization of human and nonhuman *Escherichia coli*. Water Research. febrero de 2001;35(2):379–86.
79. Cloud SS, Rosenberger JK, Fries PA, Wilson RA, Odor EM. In vitro and in vivo Characterization of Avian *Escherichia coli*. Serotypes, Metabolic Activity, and Antibiotic Sensitivity. Avian Diseases. octubre de 1985;29(4):1084.

80. Fisher ME, Trampel DW, Griffith RW. Postmortem Detection of Acute Septicemia in Broilers. *Avian Diseases*. julio de 1998;42(3):452.
81. Cheville NF, Arp LH. Comparative pathologic findings of *Escherichia coli* infection in birds. *J Am Vet Med Assoc*. el 1 de septiembre de 1978;173(5 Pt 2):584–7.
82. Ewers C, Janßen T, Kießling S, Philipp H-C, Wieler LH. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Veterinary Microbiology*. noviembre de 2004;104(1–2):91–101.
83. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology*. el 1 de junio de 2005;151(6):2097–110.
84. Ruiz FJ. Identificación de seis genes de virulencia en cepas de *Escherichia coli* aisladas de dos líneas genéticas de aves de postura. [México]: UNAM Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2018.
85. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, Johnson SJ. Identification of Minimal Predictors of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Virulence for Use as a Rapid Diagnostic Tool. *Journal of Clinical Microbiology*. el 12 de diciembre de 2008;46(12):3987–396.
86. Salyers AA, Whitt DD. *Bacterial Pathogenesis: a molecular approach* [Internet]. 2a ed. Vol. 1. USA University of Sheffield; 2001 [citado el 17 de febrero de 2022]. Disponible en: https://socgenmicrobiol.org.uk/pubs/micro_today/book_reviews/MTAUG02/MTA02_22.cfm
87. Rosenberger JK. Controlling *Escherichia coli*. 43. 1984;1:6–12.
88. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. el 1 de enero de 1998 [citado el 17 de febrero de 2022]; Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.11.1.142>

89. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud pública Méx [Internet]. septiembre de 2002;44(5). Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
90. Friedrich AW, Zhang W, Bielaszewska M, Mellmann A, Kock R, Fruth A, et al. Prevalence, Virulence Profiles, and Clinical Significance of Shiga Toxin-Negative Variants of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Infection in Humans. Clinical Infectious Diseases. el 1 de julio de 2007;45(1):39–45.
91. Furlan JPR, Gallo IFL, de Campos ACLP, Navarro A, Kobayashi RKT, Nakazato G, et al. Characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) obtained from feces of sheep in Brazil. World J Microbiol Biotechnol. septiembre de 2019;35(9):134.
92. Welinder-Olsson C, Kaijser B. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Scandinavian Journal of Infectious Diseases. enero de 2005;37(6–7):405–16.
93. Beutin L, Miko A, Krause G, Pries K, Haby S, Steege K, et al. Identification of Human-Pathogenic Strains of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Food by a Combination of Serotyping and Molecular Typing of Shiga Toxin Genes. Appl Environ Microbiol. agosto de 2007;73(15):4769–75.
94. American Type Culture Collection. “Big Six” Non-0157 Shiga Toxin producing *Escherichia coli* (STEC) research materials. [Internet]. Centers for disease control and prevention. 2014 [citado el 19 de septiembre de 2021]. Disponible en: https://live-biotherapeutic.creative-biolabs.com/shigatoxin1132.htm?gclid=Cj0KCQjwqpLBhDQARIsAO0a6aJ2bruVLCMvJzcnlqLks_I_pXtlm38uJ-K1TgmjlljkPuuByblSJaYaAvnWEALw_wcB
95. Monday SR, Beisaw A, Feng PCH. Identification of Shiga toxigenic *Escherichia coli* seropathotypes A and B by multiplex PCR. Molecular and Cellular Probes. agosto de 2007;21(4):308–11.
96. Sánchez S, Llorente MT, Echeita MA, Herrera-León S. Development of Three Multiplex PCR Assays Targeting the 21 Most Clinically Relevant Serogroups

- Associated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection in Humans. Fratamico P, editor. PLoS ONE. el 28 de enero de 2015;10(1):e0117660.
97. Den Reijer PM, van Burgh S, Burggraaf A, Ossewaarde JM, van der Zee A. The Widespread Presence of a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* ST131 Clade among Community-Associated and Hospitalized Patients. Mokrousov I, editor. PLoS ONE. el 1 de marzo de 2016;11(3):e0150420.
 98. Rivera A, Larrosa N, Mirelis B, Navarro F. Importancia de los controles de calidad para la detección de la resistencia a antibióticos β -lactámicos en enterobacterias.pdf. Enferm Infecc Clin. 2014;32(1):30–6.
 99. Kassakian SZ, Mermel LA. Changing epidemiology of infections due to extended spectrum beta-lactamase producing bacteria. Antimicrob Resist Infect Control. diciembre de 2014;3(1):9.
 100. Mora A, Dahbi G, López C, Mamani R, Marzoa J, Dion S, et al. Virulence Patterns in a Murine Sepsis Model of ST131 *Escherichia coli* Clinical Isolates Belonging to Serotypes O25b:H4 and O16:H5 Are Associated to Specific Virotypes. Rasko DA, editor. PLoS ONE. el 30 de enero de 2014;9(1):e87025.
 101. Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. Aarestrup FM, Schwarz S, Shen J, Cavaco L, editores. Microbiol Spectr [Internet]. el 27 de julio de 2018 [citado el 18 de febrero de 2022];6(4). Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
 102. Lawrence JG, Ochman H. Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome. PNAS. el 4 de agosto de 1998;95(16):9413–7.
 103. Grillot-Courvalin C, Huetz F, Ojcius DM, Courvalin P. Functional gene transfer from intracellular bacteria to mammalian cells. Nature Publishing Group Nature Biotechnology. 1998;18.
 104. Dietrich G, Bubert A, Gentschev I, Sokolovic Z, Simm A, Catic A. Delivery of antigen-encoding plasmid DNA into the cytosol of macrophages by attenuated

suicide *Listeria monocytogenes*. Nature Publishing Group Nature Biotechnology. 16:11 1997.

105. De la Cruz F, Davies J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. Trends in Microbiology. marzo de 2000;8(3):128–33.
106. Hacker J, Blum-Oehler G, Muhldorfer I, Tschape H. Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function, and impact on microbial evolution. Mol Microbiol. marzo de 1997;23(6):1089–97.
107. Heuer H, Abdo Z, Smalla K. Patchy distribution of flexible genetic elements in bacterial populations mediates robustness to environmental uncertainty: Population-level robustness through genome flexibility. FEMS Microbiology Ecology. septiembre de 2008;65(3):361–71.

10. CUADROS

Cuadro 1. Procedencia de las muestras analizadas por línea genética A o B y órgano de aislamiento

Órgano de aislamiento	Número de muestras		Total de muestras
	Línea A	Línea B	
Hígado (H)	3	5	8
Médula ósea (MO)	15	4	19
Pulmón (P)	9	8	17
Saco vitelino	13	9	22
Total	40	26	66

*De cada muestra obtenida se asiló una cepa de *E. coli*

Cuadro 2. Frecuencia de serogrupos identificados en líneas A y B por órgano de aislamiento

Serogrupo	Número de cepas (%)	Línea A N (%)	Órgano de aislamiento	Línea B N (%)	Órgano de aislamiento
O166	10 (15.2)	7 (17,5)	SV (3), Mo (4)	3 (11,5)	H(1), SV(1), Mo(1)
O20	10 (15.2)	7 (17,5)	H (2), P (2), Mo (3)	3 (11,5)	H(1), P(1), Mo(1)
O25	8 (12.1)	2 (5)	SV(1), Mo(1)	6 (23,1)	H(1), SV (3), P (2)
O187	5 (7.6)	2 (5)	SV(1), Mo(1)	3 (11,5)	SV(1), Mo(1), P(1)
O18	5 (7.6)	1 (2,5)	Mo(1)	4 (15,4)	SV(1), P (3)
O125	4 (6.1)	4 (10)	Mo (2), H(1), SV(1)		
O153	4 (6.1)	4 (10)	SV (2), Mo(1), P(1)		
O70	4 (6.1)	2 (5)	P(1), Mo(1)	2 (7,7)	H(1), P(1)
OND	3 (4.5)	2 (5)	SV(2)	1 (3,8)	SV(1)
O103	2 (3)	1 (2,5)	P(1)	1 (3,8)	Mo(1)
O81	1 (1.5)	1 (2,5)	Mo(1)		
O65	1 (1.5)			1 (3,8)	H(1)
O71, O149*	1 (1.5)			1 (3,8)	SV(1)
O73, O102, O15, O66 *	1 (1.5)	1 (2,5)	P(1)		
O17, O147, O148 *	1 (1.5)	1 (2,5)	SV(1)		

H: Hígado; Mo: Médula ósea; P: Pulmón; SV: Saco vitelino.

*Cada serogrupo presenta el mismo comportamiento en cuanto a número de cepas identificadas, línea genética y sitio de aislamiento.

OND= Serogrupo no determinado

Cuadro 3. Frecuencia de antígenos H en líneas A y B por órgano de aislamiento

Antígeno H	Núm. de cepas	Línea A N (%)	Órgano de aislamiento	Línea B N (%)	Órgano de aislamiento
H25	13	10 (25)	SV (6), Mo (3), P(1)	3 (11,5)	H(1), SV(1), Mo(1)
H-	9	4 (10)	H(1), P (2), Mo (1)	5 (19,2)	SV (3), P(1), Mo(1)
H49	8	3 (7,5)	SV (1), Mo (2)	5 (19,2)	H (1), SV (1), P (3)
H4	7	2 (5)	Mo (2)	5 (19,2)	SV (3), H (1), P(1)
H20	7	4 (10)	SV (1), P (2), Mo (1)	3 (11,5)	H (1), P (2)
H9	5	3 (7,5)	H (1), Mo (2)	2 (7,7)	H (1), P (1)
H10	5	4 (10)	H (1), SV (1), Mo (2)	1 (3,8)	Mo (1)
H?	3	2 (5)	SV (2)	1 (3,8)	SV (1)
H31	2	2 (5)	SV (1), Mo (1)		
H7	2	1 (2,5)	P(1)	1 (3,8)	Mo (1)
H45, H51, H6 *	1*	1 (2,5)	P(1)		
H18	1	1 (2,5)	Mo(1)		
H34	1	1 (2,5)	SV(1)		

H: Hígado; Mo: Médula ósea; P: Pulmón; SV: Saco vitelino.

H-: cepas inmóviles

* Los antígenos H en dicho grupo presentan el mismo comportamiento de número de cepas identificadas, línea genética y órgano de aislamiento.

H-: Cepas inmóviles.

Cuadro 4. Fórmula antigénica completa de cepas de *E. coli* en líneas A y B.

SEROTIPO	N TOTAL (%)	LÍNEA A (%)	LÍNEA B (%)
O166:H25	8 (12,1)	6 (15)	2 (7,7)
O20:H9	5 (7,6)	3 (7,5)	2 (7,7)
O18:H49	5 (7,6)	1 (2,5)	4 (15,4)
O20:H-	4 (6,1)	3 (7,5)	1 (3,7)
O25:H4	4 (6,1)		4 (15,4)
O70:H20, O187:H10, OND:H? *	3 (3,4)*	2 (5)	1 (3,8)
O25:H20, O103:H7 *	2 (3)*	1 (2,5)	1 (3,8)
O125:H10, O153:H49, O153:H25 *	2 (3)*	2(5)	
O187:H-	2 (3)		2(7,7)
O102:H51, O125:H25, O125:H4, O147:H34, O148:H25, O15:H6, O166:H4, O17:H31, O25:H18, O20:H45, O66:H20, O73:H-, O81:H31 *	1 (1,5)*	1 (2,5)	
O70:H49, O71:H4, O25:H-, O149:H25, O65:H20, O166:H- *	1 (1,5)*		1 (3,8)

* Los serotipos en dicho grupo presentan el mismo comportamiento de número de cepas identificadas y línea genética.

H-: Cepas inmóviles.

Cuadro 5. Virulencia en serotipos de *E. coli* aisladas de pollitas de reemplazo de acuerdo con la clasificación de Johnson¹ tras la identificación de seis genes de virulencia ²

SEROTIPO	Cepas identificadas del serotipo	Cepas virulentas	Cepas no virulentas
O166:H25	8	7	1
O18:H49	5	4	1
O20:H9	5	3	2
O25:H4	4	3	1
O20:H-	4	1	3
O70:H20, O187:H10, OND:H? *	3*	2	1
O25:H20, O125:H10, O153:H49, O153:H25, O187:H- *	2*	2	
O103:H7	2		2
O102:H51, O125:H4 O147:H34, O15:H6, O17:H31, O25:H18, O20:O145H45, O73:H-, O71:H4 *	1*		1
O125:H25, O148:H25, O166:H4, O66:H20, O81:H31, O70:H49, O25:H-, O149:H25, O65:H20, O166:H- *	1*	1	
TOTAL		44	22

1. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, Johnson SJ. Identification of Minimal Predictors of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Virulence for Use as a Rapid Diagnostic Tool. *Journal of Clinical Microbiology*. el 12 de diciembre de 2008;46(12):3987–3996

2. Resultados de identificación de genes de virulencia (iroN, iss, hlyF, iutA, ompT, tsh) obtenidos de Tesina de Ruiz (76).

* Todos los serotipos presentan el mismo comportamiento; número de cepas identificadas con el serotipo y virulencia.

H-: cepas inmóviles

11.GRÁFICAS

