

UNIVERSIDAD DE CÓRDOVA, MONTERÍA, COLOMBIA  
UNIVERSIDAD DEL SINÚ, MONTERÍA, COLOMBIA

**PRESENCIA DEL GEN DE INVASIVIDAD *invA* EN CEPAS DE *SALMONELLA*  
SPP. AISLADAS DE ALIMENTOS DEL CARIBE COLOMBIANO**  
**Presence of the invasive gene *invA* in *Salmonella* spp. strains isolated from food in several cities  
of the Colombian Caribbean area**

Paula Espinal Marin,<sup>1</sup> Edgar Prieto Suárez,<sup>2</sup> Vanessa Otero Jiménez<sup>3</sup> y Salim Máttar Velilla<sup>4</sup>

## RESUMEN

Objetivo: establecer la presencia del gen de invasividad *invA* en aislamientos de *Salmonella* spp. obtenidos de alimentos en la región Caribe Colombiana. Métodos: se realizó un estudio microbiológico de control de alimentos en 4 ciudades de la región Caribe entre enero de 2002 y marzo de 2003. Se analizaron 1 300 muestras de alimentos provenientes de mercados y ventas callejeras. Resultados: se recuperaron 74 aislamientos de *Salmonella* spp. , en carne de res 30 (40,5 %), embutidos 13 (17,6 %), pollo 12 (16,2 %), queso 9 (12,2 %), cerdo 6 (8,1 %) y otros 4 (5,5 %). Los serotipos más

## SUMMARY

Objective: to establish the presence of invasive gene *invA* in *Salmonella* spp. strains obtained from food in several cities of the Colombian Caribbean area. Methods: from January 2002 to March 2003, a microbiological study of quality control of food was carried out in four cities of the Colombian Caribbean area. One thousand and three hundred food samples were analyzed in fast food outlets located in city squares or markets. Results: seventy four isolates of *Salmonella* were recovered: 30 (40.5) in meat; 13 (17.6 %) in sausage; 12 (16.2 %) in chicken; 9 (12.2 %) in cheese;

<sup>1</sup> Bacterióloga MSc. Profesora-investigadora.

<sup>2</sup> Médico Infecciones y Salud en el Trópico MSc. Profesor-investigador.

<sup>3</sup> Bacterióloga. Profesora-investigador.

<sup>4</sup> Microbiólogo PhD. Profesor-investigador.

frecuentes fueron: *S. anatum* 14 (18,9 %), *S. uganda* 13 (17,6 %), *S. newport* 9 (12,2 %) y *S. typhimurium* 7 (9,5 %). El cebador *invA* amplificó un fragmento de 378 pb, el gen *invA* se detectó en 72 (97,3 %) aislamientos de *Salmonella*. Conclusiones: se detectó la presencia del gen *invA* en los serotipos de *Salmonella* circulantes en alimentos en la región Caribe Colombiana. Las implicaciones epidemiológicas de estos resultados permiten sugerir a las autoridades sanitarias tomar medidas estrictas en el control, prevención y diagnóstico de la infección por *Salmonella* en esta región.

**Palabras clave:** *Salmonella* spp., gen *invA*, alimentos, Colombia, Caribe.

6 (8.1 %) in pork and 4 (5.5 %) in other types of food. The most frequently isolated serotypes were *S. anatum* in 14 (18.9 %), *S. uganda* in 13 (17.6 %), *S. newport* in 9 (12.2 %) and *S. typhimurium* in 7 (9.5 %). The *invA* primer amplified 378 pb fragment, *invA* gene was detected in 72 (97.3 %) *Salmonella* isolates. Conclusions: it was possible to detect the *invA* gene in circulating serotypes of *Salmonella* isolates obtained from food in the Colombian Caribbean area, the epidemiological implications allow the health authorities to take measure for the prevention, control and diagnosis of *Salmonella* infection in the Colombian Caribbean area.

**Key words:** *Salmonella* spp., *invA* gene, food, Colombia, Caribbean.

## INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una de las principales causas de gastroenteritis en humanos y animales.<sup>1</sup> Los reservorios de *Salmonella* de potencial transmisibilidad para el humano los constituyen principalmente personas y animales domésticos infectados, aguas y alimentos contaminados como carnes, huevos y productos lácteos no pasteurizados.<sup>2-4</sup> Las infecciones por *Salmonella* enterica serovar Typhimurium y serovar Enteritidis son una causa importante de morbilidad y mortalidad especialmente en niños y personas inmunocomprometidas.<sup>5,6</sup> En los Estados Unidos estos serotipos afectan aproximadamente 2 a 3 millones de personas y causan entre 500 a 2 000 muertes cada año.<sup>5,7</sup> En Colombia existe un subregistro acerca del verdadero problema de *Salmonella*, tanto en identificación de reservorios, como en infecciones, morbilidad y mortalidad asociada.<sup>7</sup> En Colombia el estudio más reciente sobre *Salmonella* aisladas de alimentos se realizó en la Costa Atlántica y demostró la presencia de diversos serotipos circulantes.<sup>8</sup>

El proceso de adaptación al huésped *Salmonella* spp. ha generado una variedad de mecanismos para colonizar, invadir, replicar y sobrevivir dentro del huésped.<sup>9</sup> La capacidad de *Salmonella* spp. para adherirse y entrar a las células del epitelio intestinal es un paso esencial en el ciclo de vida

de estos microorganismos, esta propiedad determina la virulencia en *Salmonella*, y está localizada en un grupo de genes adquiridos posiblemente por transferencia horizontal,<sup>10,11</sup> y que pueden no estar presentes en las muestras ambientales.<sup>12</sup> Estos genes se codifican en la denominada isla de patogenicidad I (SPI-1), que a su vez, codifica para un sistema de secreción tipo III requerido para la estimulación de la respuesta celular que conduce a la penetración de la bacteria en las células epiteliales, iniciación de apoptosis en macrófagos y producción de citoquinas proinflamatorias por células epiteliales.<sup>13-18</sup> Estas islas con sus respectivos sistemas de secreción y sus genes pueden sufrir delecciones o perderse en las muestras ambientales.<sup>12</sup>

La importancia de esta región cromosomal en diferentes serotipos de *Salmonella* radica en la presencia y funcionalidad del gen *invA*, que codifica un componente esencial del aparato de secreción de proteínas asociadas con la invasión.<sup>2,10</sup> El gen *invA* es un blanco ideal para la aplicación de métodos moleculares basados en la PCR, que permiten detectarlo en aguas y alimentos y distinguir entre aislamientos bacterianos patogénicos y no patogénicos.<sup>19,20</sup> Este gen se encuentra en serotipos de *Salmonella* y puede estar ausente en muestras ambientales con una virulencia reducida que no está asociada con enfermedad.<sup>21</sup>

En Colombia no se conocen estudios que demuestren la presencia del gen *invA* en los serotipos de *Salmonella* circulantes tanto en alimentos como en especímenes clínicos. Por ello la detección temprana del gen *invA* en las fuentes de infección por *Salmonella* spp. es de gran importancia en salud pública porque permite desarrollar acciones de control, saneamiento y prevención.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia del gen de invasividad *invA* en aislamientos de *Salmonella* spp. obtenidos de alimentos en varias ciudades de la región Caribe Colombiana.

## MÉTODOS

### Aislamientos bacterianos

Se realizó un estudio microbiológico de calidad de alimentos en cuatro ciudades de la región Caribe: Barranquilla (Departamento del Atlántico), Cartagena (Departamento de Bolívar), Montería (Departamento de Córdoba) y Sincelejo (Departamento de Sucre), entre enero de 2002 y marzo de 2003. Se analizaron 1 300 muestras de alimentos provenientes de mercados y ventas callejeras seleccionadas aleatoriamente.

Las muestras de alimentos tomadas de los sitios de expendio, se trasladaron refrigeradas al laboratorio del Instituto de Investigaciones Biológicas

cas del Trópico (IIBT) de la universidad de Córdoba para ser procesadas antes de 24 h. El aislamiento de *Salmonella* se realizó por el método convencional de la *Federal and Drug Administration* ( Food and Drug Administration / AOAC BAM 2003. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-toc.htm>

Se pesaron 25 g de cada muestra de alimento que fueron inoculados en 225 mL de medios de preenriquecimiento, agua peptonada y caldo infusión cerebro corazón y se incubaron a 37 °C durante 18-24 h. Se inoculó 1 mL de cada muestra anterior en 9 mL de medio Rappaport y se incubaron a 43 °C entre 18-24 h. Se inoculó 1 mL de cada muestra en 9 mL de Tetración líquido y se incubaron a 37 °C durante 18-24 h. Cada muestra fue subcultivada tomando una asada de los tubos de enriquecimiento y su siembra por agotamiento en agar base XLT4 (Difco Detroit, Mi USA), XLD, SMID (Biomeriux, etoia, France), SS, Hektoen y Sulfito Bismuto; estas placas se incubaron a 37 °C por 18-24 h. A las colonias sospechosas de *Salmonella* se les realizaron pruebas bioquímicas convencionales (Urea, LIA y TSI) incubándolas a 37 °C durante 18-24 h para ser identificadas. Se confirmaron con antiseros polivalentes para *Salmonella* (Difco, Detroit, Mi, EE.UU.). Cada cepa se conservó por triplicado en tubos de Skin Milk a -70 °C.

Los 74 aislamientos de *Salmonella* se clasificaron taxonómicamente hasta especie y serovariedad, en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS) según esquemas

serológicos convencionales,<sup>22</sup> en una segunda fase, se analizaron mediante PCR para la detección del gen *invA*. Como control positivo para PCR se utilizó la cepa de *Salmonella enterica* serotipo Enteritidis portadora del gen *invA* y como control negativo la cepa ATCC 700603 de *Klebsiella pneumoniae*.

### Amplificación del gen *invA*

Una colonia de *Salmonella* se suspendió en 5 mL de caldo LB (Louria Bertani) y se cultivó a 37 °C en agitación por 24 h. A partir de este cultivo se tomaron 4 mL y se mezclaron con 196 mL de agua destilada. Se llevaron a ebullición por 5 min a 95 °C y se centrifugaron a 12 000 r.p.m por 10 min a 4 °C. La detección del gen *invA* por PCR se llevó a cabo con los iniciadores complementarios 5' (5'GTGA-AATTATCGCCACGTTCTGGGCAA3') y 3' (5'TCATCGCACCGTCAAA-GGAACC3'), los cuales amplifican un fragmento de 378 pb con la secuencia conservada de los genes *inv* de *Salmonella*.<sup>10</sup> Cada 100 mL de la mezcla de PCR contenía buffer PCR 10X, dNTP (2,5 mM de cada uno), 5 unidades de Taq ADN- polimerasa (Takara, Otsu, Shiga, Japón), 2 mL de los iniciadores y 50 mL de la muestra extraída. La amplificación se realizó en el termociclador (MJ Research, PTJ 100, Waltham, Massachussets, EE.UU) con 35 ciclos así: desnaturalización a 94 °C por 1 min, asociación a 55 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 1 min, seguidos

por un paso de extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1 % en buffer TBE 1X. El gel se tiñó con una solución de bromuro de etidio al 1 %. Se utilizó el marcador de peso molecular de 100 pb (Gibco BRL Rockville, Md) para la detección de los pesos moleculares de los productos de PCR.

### RESULTADOS

El análisis de los alimentos en las cuatro ciudades mostró la recuperación de *Salmonella* spp., con mayor frecuencia, en carne de res 30 (40,5 %), seguido por alimentos embutidos 13 (17,6 %) y en pollo 12 (16,2 %) (tabla 1).

Los serotipos de *Salmonella* más frecuentes correspondieron a *S. anatum* 14 (18,9 %), *S. uganda* 13 (17,6 %), *S. newport* 9 (12,2 %) y *S. typhimurium* 7 (9,5 %) (tabla 2).

El cebador *invA* amplificó un fragmento de 378 pb correspondiente a los productos de PCR de *Salmonella* portadoras del gen *invA* (fig.).

De 74 aislamientos de *Salmonella* analizadas, 72 (97,3 %) fueron positivas para la detección del gen *invA*. Los dos aislamientos que no presentaron amplificación correspondieron a *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium y *Salmonella enterica* serotipo Sandiego. Los controles positivo y negativo mostraron los resultados esperados. La distribución del gen en los serotipos de *Salmonella* se resume en la tabla 3.

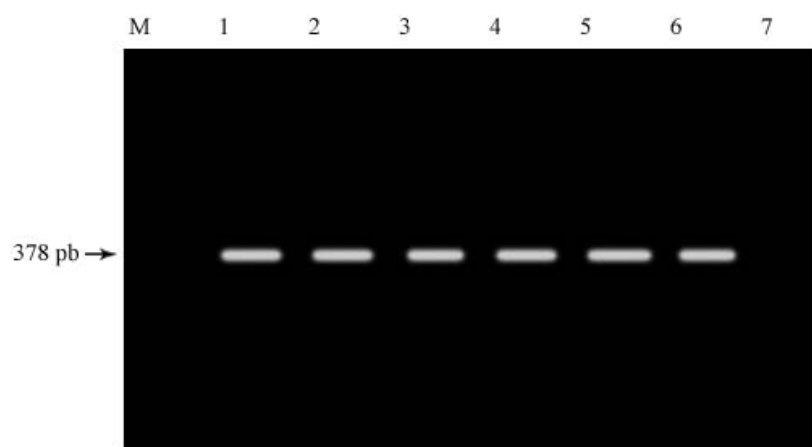
**Tabla 1.** Aislamiento de *Salmonella* spp. según tipo de alimento y lugar de origen

Ciudad de origen	Alimentos muestreados No. (%)	Agua	Tipo de alimento, No. y (%) de aislamiento de <i>Salmonella</i> , por ciudad							Total
			Arepa huevo	Carne de res	Cerdo	Embutido	Pollo	Queso	Vísceras	
Barranquilla	293 (22,54)	1(3,8)	1(3,8)	13 (50)	1(3,8)	2 (7,7)	3 (11,5)	4 (15,4)	1(3,8)	26 (100)
Cartagena	266 (20,46)	0 (0)	1(6,3)	6 (37,5)	1(6,3)	2 (12,5)	5 (31,3)	1 (6,3)	0 (0)	16 (100)
Montería	417 (32,08)	0 (0)	0 (0)	8 (34,8)	3 (13)	9 (39,1)	0 (0)	3 (13)	0 (0)	23 (100)
Sincelejo	324 (24,92)	0 (0)	0 (0)	3 (33,3)	1(11,1)	0 (0)	4 (44,4)	1 (11,1)	0 (0)	9 (100)
Total	1300 (100)	1(1,4)	2 (2,7)	30 (40,5)	6 (8,1)	13 (17,6)	12 (16,2)	9 (12,2)	1(1,4)	74 (100)

**Tabla 2.** Serotipos de *Salmonella* y lugar de origen

Serotipo	No. (%)				
	Barranquilla	Cartagena	Montería	Sincelejo	Total
<i>S. anatum</i>	7 (26,9)	5 (31,3)	2 (8,7)	0 (0)	14 (18,9)
<i>S. brandenburg</i>	0 (0)	0 (0)	2 (8,7)	0 (0)	2 (2,7)
<i>S. derby</i>	2 (7,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2,7)
<i>S. gaminara</i>	0 (0)	0 (0)	4 (17,4)	0 (0)	4 (5)
<i>S. isangi</i>	3 (11,5)	1 (6,3)	0 (0)	0 (0)	4 (5,4)
<i>S. muenchen</i>	0 (0)	2 (12,5)	0 (0)	1 (11,1)	3 (4,1)
<i>S. newport</i>	0 (0)	1 (6,3)	7 (30,4)	1 (11,1)	9 (12,2)
<i>S. rubislaw</i>	1 (3,8)	1 (6,3)	0 (0)	0 (0)	2 (2,7)
<i>S. sandiego</i>	1 (3,8)	0 (0)	0 (0)	2 (22,2)	3 (4,1)
<i>S. typhimurium</i>	2 (7,7)	0 (0)	5 (21,7)	0 (0)	7 (9,5)
<i>S. uganda</i>	5 (19,2)	4 (25)	1 (4,3)	3 (33,3)	13 (17,6)
Otras*	5 (19,2)	2 (12,5)	2 (8,7)	2 (22,2)	11 (14,9)
Total	26 (100)	16 (100)	23 (100)	9 (100)	74 (100)

\* *Salmonella* spp, *S. tennessee*, *S. sinstorff*, *S. senftenberg*, *S. saintpaul*, *S. kapemba*, *S. gine*, *S. galiema*, *S. duesseldorf*, *S. bredeny*, *S. agona*.



**Fig.** PCR para detección del gen *invA*. Carriles: 1. *S. anatum*, 2. *S. uganda*, 3. *S. derby*, 4. *S. gaminara*, 5. *S. muenchen*. 6. Control positivo *Salmonella enterica* serotipo Enteritidis portadora del gen *invA*, 7. Control negativo cepa ATCC 700603 de *Klebsiella pneumoniae*. M. Marcador de peso molecular de 100 pb.

## DISCUSIÓN

El presente trabajo es un estudio pionero en Colombia en la detección del gen *invA* en *Salmonella* aislada de alimentos.

El número de personas con salmonelosis se ha incrementado en las últimas décadas, es una de las causas principales de enfermedad entérica bacteriana, en humanos y en animales, con una tasa elevada de morbilidad y mortalidad, tiene, además, una alta repercusión económica en el sentido negativo. Lo anterior ha obligado a la

formulación de nuevas medidas preventivas, de control y de diagnóstico adecuadas para detectar el microorganismo de manera rápida y oportuna tanto en alimentos contaminados, en reservorios, así como en las personas infectadas.

En relación con los reportes de pacientes en Colombia, para el año 2002 se notificaron 6 556 enfermos de intoxicación alimentaria en todo el país, de ellos el 22 % (1 442) correspondió al distrito capital de Bogotá, el 27,8 % a las entidades territoriales de Santa Marta y Cesar en la costa Atlántica

(1 822 pacientes) y para la zona de influencia del presente estudio (Atlántico, Córdoba, Cartagena y Sucre) se notificaron 375 lo que representa el 5,7 %. También se registraron 256 enfermos de fiebre tifoidea y paratifoidea, de los cuales el Departamento de Sucre representa el 23 % y el del Atlántico el 5,9 % del total de los enfermos. Llama la atención que no se registraron datos de Sucre (Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública SIVIGILA 2002, Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud). No se registraron enfermos en Cartagena para los años 2001 y 2002, tampoco en Córdoba para el año 2002 (tabla 4).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, y los reportes de enfermos de intoxicación alimentaria, fiebre tifoidea y paratifoidea, es claro que se deben realizar programas de control sanitario, de vigilancia epidemiológica, fortalecer los servicios de salud en la determinación de los diagnósticos etiológicos e implantar sistemas de registro de información que sirvan de base para los programas de vigilancia (Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública SIVIGILA 2002, Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud).

Recientemente el análisis genético de los factores de virulencia en bacterias patógenas ha mostrado gran utilidad ya que muchos de los genes asociados como los de invasividad están estrechamente relacionados y se encuentran codificados en regiones especiales como la isla de patogenicidad 1 (SPI1), que confiere a *Salmonella* la capacidad para invadir las células epiteliales.<sup>2,18</sup> Es importante establecer si las cepas contienen sistemas de secreción tipo III específicos de SPI1, ya que los genes presentes en estos sistemas codifican componentes particulares que son altamente conservados.<sup>3,12</sup> Con la PCR se puede detectar en *Salmonella* genes que median la invasividad *invA*, *agfA*, *iagAB*, *invF*, *invH*<sup>2,3,23</sup> a partir de heces y alimentos, además, permite diagnosticar la infección y la contaminación en menor tiempo comparado con los métodos de

**Tabla 3.** Distribución del gen *invA* por serotipos de *Salmonella*

No.	Serotipo	Tipo de muestra	Lugar de origen	PCRgen <i>invA</i>	No.	Serotipo	Tipo de muestra	Lugar de origen	PCR gen <i>invA</i>
10	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Montería	+	4	<i>S. typhimurium</i>	Chorizo	Montería	+
17	<i>S. anatum</i>	Cerdo	Montería	+	23	<i>S. typhimurium</i>	Cerdo	Montería	+
24	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Barranquilla	+	55	<i>S. typhimurium</i>	Pollo	Barranquilla	+
27	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Barranquilla	+	56	<i>S. typhimurium</i>	Queso	Barranquilla	+
28	<i>S. anatum</i>	Queso	Barranquilla	+	93	<i>S. typhimurium</i>	Carne molida	Montería+	+
31	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Barranquilla	+	96	<i>S. typhimurium</i>	Carne molida	Montería	+
32	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Barranquilla	+	9	<i>S. gaminara</i>	Chorizo	Montería	+
34	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Barranquilla	+	11	<i>S. gaminara</i>	Albóndiga	Montería	+
60	<i>S. anatum</i>	Salchicha	Cartagena	+	12	<i>S. gaminara</i>	Queso	Montería	+
65	<i>S. anatum</i>	Pollo	Cartagena	+	13	<i>S. gaminara</i>	Chorizo	Montería	+
68	<i>S. anatum</i>	Carne	Barranquilla	+	45	<i>S. isangi</i>	Pollo	Cartagena	+
76	<i>S. anatum</i>	Pollo	Cartagena	+	69	<i>S. isangi</i>	Mondongo	Barranquilla	+
77	<i>S. anatum</i>	Pollo	Cartagena	+	73	<i>S. isangi</i>	Pollo	Barranquilla	+
78	<i>S. anatum</i>	Carne molida	Cartagena	+	74	<i>S. isangi</i>	Queso	Barranquilla	+
1	<i>S. uganda</i>	Chorizo	Montería	+	41	<i>S. muenchen</i>	Carne molida	Cartagena	+
26	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Barranquilla	+	44	<i>S. muenchen</i>	Carne	Cartagena	+
35	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Barranquilla	+	82	<i>S. muenchen</i>	Carne molida	Sincelejo	+
43	<i>S. uganda</i>	Cerdo	Cartagena	+	36	<i>S. sandiego</i>	Carne molida	Barranquilla	+
48	<i>S. uganda</i>	Pollo	Sincelejo	+	83	<i>S. sandiego</i>	Pollo	Sincelejo	+
54	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Cartagena	+	84	<i>S. sandiego</i>	Pollo	Sincelejo	-
58	<i>S. uganda</i>	Pollo	Barranquilla	+	30	<i>S. derby</i>	Arepa huevo	Barranquilla	+
59	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Barranquilla	+	61	<i>S. derby</i>	Morcilla	Barranquilla	+
66	<i>S. uganda</i>	Chorizo	Cartagena	+	20	<i>S. brandenburg</i>	Carne	Montería	+
67	<i>S. uganda</i>	Pollo	Cartagena	+	79	<i>S. brandenburg</i>	Carne	Montería	+
72	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Barranquilla	+	40	<i>S. rubislaw</i>	Queso	Cartagena	+
85	<i>S. uganda</i>	Carne molida	Sincelejo	+	81	<i>S. rubislaw</i>	Agua	Barranquilla	+
88	<i>S. uganda</i>	Pollo	Sincelejo	+	70	<i>S. gine</i>	Queso	Barranquilla	+
5	<i>S. newport</i>	Chorizo	Montería	+	71	<i>S. brenedy</i>	Chinchurria	Barranquilla	+
6	<i>S. newport</i>	Queso	Montería	+	38	<i>S. duesseldorf</i>	Carne	Cartagena	+
7	<i>S. newport</i>	Carne	Montería	+	25	<i>S. senftenberg</i>	Chorizo	Barranquilla	+

Aislamientos positivos gen *invA* 72 (97,3 %), negativos 2 (2,7 %).

**Tabla 4.** Enfermos notificados en el Caribe Colombiano de intoxicación alimentaria, fiebre tifoidea y paratifoidea

Departamento	Intoxicación alimentaria (año)		Fiebre tifoidea y paratifoidea (año)	
	2001	2002	2001	2002
Atlántico	43	24	11	15
Cartagena	41	5	*	*
Córdoba	11	346	1	*
Sucre	*	*	2	59
<b>Total</b>	<b>95**</b>	<b>375**</b>	<b>14***</b>	<b>74***</b>

\*Sin dato.

\*\* Corresponden a los enfermos reportados en el área de influencia del estudio. Total de enfermos 6 556 en el país año 2002.

\*\*\* Corresponden a los enfermos reportados en el área de influencia del estudio. Total de enfermos 256 en el país año 2002.

cultivo tradicionales y la confirmación serológica, que pueden tomar de 5 a 7 días.<sup>4</sup>

En el presente estudio se realizó la amplificación del gen *invA*, uno de los genes descritos en todas las cepas invasivas de *Salmonella*.<sup>6,10</sup> Se encontró que 72 de 74 (97,3 %) cepas de *Salmonella* de diferentes serotipos obtenidas de alimentos, fueron positivas para el gen *invA*. Las cepas negativas para la detección del gen correspondieron a *Salmonella enterica* serotipo Sandiego y *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium, en este último serotipo se ha descrito frecuentemente su presencia. Este resultado podría sugerir la pérdida o delección de la isla de patogenicidad SPI1 que puede afectar la expresión del gen debido a una alteración en el sitio de inserción en el

cromosoma y/o por remoción de los genes contenidos en la isla, posiblemente por la transferencia horizontal de estos bloques de genes de virulencia.<sup>12,18</sup>

Por otra parte, de acuerdo con el sistema de vigilancia del Ministerio de Salud en Colombia se ha presentado en los últimos 5 años una tasa para la enfermedad diarreica aguda (EDA) mayor de 1 500 por 100 000 habitantes. El mismo sistema informa que el 50 % de los egresos hospitalarios por EDA se deben a *Salmonella* spp. y a *Shigella*,<sup>7</sup> este panorama podría agravarse cada día con la presencia de brotes en los cuales el diagnóstico preciso y temprano es poco común. Por lo tanto, el uso de la PCR podría incluir sólo un incremento limitado en el costo del procesamiento de la muestra que al realizar el análisis costo-beneficio produciría una mejoría en la salud humana con un diagnóstico rápido y más sensible.<sup>3,4,6</sup> Adicionalmente, debe sumarse la posibilidad de analizar directamente las fuentes de infección como alimentos, aguas y muestras fecales.<sup>6,24</sup>

De otro lado, se deben llevar a cabo estudios epidemiológicos moleculares que permitan comparar y correlacionar las cepas aisladas de los alimentos y las aisladas de los enfermos, lo que permitiría establecer con exactitud la circulación de los serotipos aislados de alimentos con capacidad de invasividad y demostrar su diseminación clonal hacia los humanos. Establecer esta relación puede contribuir al control de la salmonelosis por programas de salud pública.

En conclusión, el trabajo permitió detectar la presencia del gen *invA* en los serotipos de *Salmonella* circulantes en alimentos en la región Caribe Colombiana, los cuales son similares a los encontrados en otras partes del mundo. Las implicaciones epidemiológicas de estos resultados permiten sugerir a las autoridades sanitarias tomar medidas estrictas en el control, prevención y diagnóstico de la infección por *Salmonella* en esta región. Este estudio también propone la detección del gen *invA* directamente en muestras clínicas, reservorios y alimentos como un método posible para el control de las salmonelosis en el país.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brenner F, Villar R, Angulo F, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol. 2000;38:2465-7.
- Guo X, Chen J, Beuchat L, Brackett R. PCR detection of *Salmonella enterica* serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hila*. Appl Environ Microbiol. 2000;66:5248-52.
- Gooding C, Coudary P. Comparison of different primers for rapid detection of *Salmonella* using the polymerase chain reaction. Mol Cell Probes. 1999;13:341-7.
- Ferretti R, Mannazu I, Coccolin L, Comi G, Clementi F. Twelve-hour PCR-based method for detection of *Salmonella* in food. Appl Environ Microbiol. 2001;67:977-8.
- Chiu C, Su L, Chu C. *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. Clin Microbiol Rev. 2004;17:311-22.
- Chiu C, Ou J. Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay. J Clin Microbiol. 1996;34:2619-22.
- Instituto Nacional de Salud. Otros Eventos de notificación obligatoria: segundo semestre 2003: EDA, IRA, ETA, rabia y meningitis. Inf Quinc Epidemiol Nac. 2003;15:241-56.
- Durango J, Arrieta G, Máttar S. Presencia de *Salmonella* en un área del Caribe colombiano. Un riesgo para la salud pública. Biomédica. 2004;24:69-96.
- Hardt W, Galán J. A secreted *Salmonella* protein with homology to an avirulence determinant of plant pathogenic bacteria. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94:9887-92.
- Galán J, Curtiss R III. Distribution of the *invA*, *-B*, *-C*, and *-D* genes of *Salmonella typhimurium* among other *Salmonella* serovars: *invA* mutants *Salmonella typhi* are deficient for entry into mammals. Infect Immun. 1991;59:2901-8.
- Neidhardt F. *Escherichia coli* and *Salmonella*. In: Neidhardt F, Altman E, Roth J, Hessel A, Sandersson K, editors. Transposons currently in use in genetic analysis of *Salmonella* species. 2nd ed. V2. Washington: ASM Press;1996.
- Mecas J, Strauss J. Molecular mechanisms of bacterial virulence: type III secretion and pathogenicity islands. Emerg Infect Dis. 1996;2:271-88.
- Pancetti A, Galán J. Characterization of the *mut S*-proximal region of the *Salmonella typhimurium* SPI-1 identifies a group of pathogenicity island-associated genes. FEMS Microbiol Lett. 2001;197:203-8.
- Amavisit P, Lightfoot D, Browning G, Markham P. Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands. J Bacteriol. 2003;185:3624-35.
- Altier C, Suyemoto M, Lawhon S. Regulation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion genes by *csrA*. Infect Immun. 2000;68:6790-7.
- Galan J, Ginocchio C, Costeas P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: homology of *invA* to members of a new protein family. J Bacteriol. 1992;174:4338-49.
- Sukhan A, Kubori T, Galan J. Synthesis and localization of the *Salmonella* SPI-1 type III secretion needle complex proteins Prg I and Prg J. J Bacteriol. 2003;185:3480-3.
- Hensel M, Shea J, Bäuml A, Gleeson C, Blattner F, Holden D. Analysis of the boundaries of *Salmonella* pathogenicity island 2 and the corresponding chromosomal region of *Escherichia coli* K-12. J Bacteriol. 1997;179:1105-11.
- Boyd E, Li J, Ochman H, Selander R. Comparative genetics of the *inv-spa* invasion gene complex of *Salmonella enterica*. J Bacteriol. 1997;179:1985-91.
- Ziemer C, Steadham S. Evaluation of the specificity of *Salmonella* PCR primers using various intestinal bacterial species. Lett Appl Microbiol. 2003;37:463-9.
- Ginocchio C, Rahn K, Clarke R, Galan J. Naturally occurring deletions in the centisome 63 pathogenicity island of environmental isolates of *Salmonella* spp. Infect Immun. 1997;65:1267-72.
- Pezzlo M. Aerobic bacteriology. In: Isenberg H, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington: ASM Press;2004.
- Gentry-Weeks C. Identification of two phylogenetically related organisms from heces by PCR for detection of *Salmonella*. J Clin Microbiol. 2002;40:1487-92.
- Bäumler A, Heffron F, Reissbrodt R. Rapid detection of *Salmonella enterica* with primers specific for *iroB*. J Clin Microbiol. 1997;35:1124-30.

Recibido: 31 de mayo de 2005. Aprobado: 1 de octubre de 2005.

Salim Máttar Velilla. Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria. Montería, Córdoba, Colombia. Tel/Fax: 57-4-560710, e-mail:mattarsalim@hotmail.com