



## Prevalencia de *Salmonella* spp en diarrea de niños de una zona urbana del Estado de México

Gloria Luz Paniagua-Contreras,\* Eric Monroy-Pérez,\* Sergio Vaca-Pacheco\*

### RESUMEN

En los países en vías de desarrollo, la *Salmonelosis* continúa siendo una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en los infantes. El propósito de este estudio fue estimar la prevalencia de *Salmonella* en diarrea de niños. Las heces de niños con diarrea ( $n = 230$ ) y de un grupo control ( $n = 40$ ) fueron analizadas. El 56.9% ( $n = 131$ ) de las muestras con diarrea fueron positivas para alguna serovariedad de *Salmonella*: *S. ohio* (28.6%), *S. typhimurium* (16.9%), *S. infantis* (10.4%), *S. anatum* (0.43%) y *S. newport* (0.43%). En el grupo de los niños sanos ( $n = 40$ ), *Salmonella* fue identificada en 5%: *S. ohio* y *S. typhimurium* (2.5% en cada caso). La ameba *E. histolytica*/E. *dispar* fue identificada en 56.9% ( $n = 161$ ) y *Giardia intestinalis* en 36% ( $n = 83$ ) de los niños enfermos; mientras que para los niños sanos *E. histolytica*/E. *dispar* se detectó en 52.5% ( $n = 21$ ) y *Giardia intestinalis* en 27.5%. La asociación de *Salmonella* con otros enteropatógenos en los infantes enfermos y en los niños sanos reflejó la importancia de iniciar de inmediato el tratamiento médico correspondiente.

**Palabras clave:** *Salmonella*, serovariedades, PCR.

### ABSTRACT

The salmonellosis in the developing countries continue being one of the most common causes of morbidity and mortality in the children. The purpose of this study was to determine the prevalence of *Salmonella* in children with diarrhea. The stool samples obtained from children patients with diarrhea ( $n = 230$ ) and of a group control ( $n = 40$ ) were analyzed. 56.9% ( $n = 131$ ) of the diarrheal samples were positive for some serovars of *Salmonella*; *S. Ohio* (28.6%), *S. typhimurium* (16.9%), *S. infantis* (10.4%), *S. anatum* (0.43%) and *S. newport* (0.43%). In the group of the healthy children ( $n = 40$ ), *Salmonella* was identified in 5%; *S. ohio* and *S. typhimurium* (2.5% in every case). The amoeba *E. histolytica*/E. *dispar* was identified in 56.9% ( $n = 161$ ) and *Giardia intestinalis* in 36% ( $n = 83$ ) of sick children, whereas for the healthy children *E. histolytica*/E. *dispar* was detected in 52.5% ( $n = 21$ ) and *Giardia intestinalis* in 27.5%. The association of *Salmonella* with other enteropathogens in the sick children and in the healthy, indicate the severity of the infection, for this reason, the medical treatment was initiated immediately.

**Key words:** *Salmonella*, serovars, PCR.

### INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad de distribución mundial transmitida por alimentos que afecta tanto a los países en desarrollo como a los desarrollados y es considerada un serio problema de salud pública debido al gran impacto socioeconómico que ocasiona.<sup>1</sup>

En las naciones del primer mundo, desde la década de los ochenta, la incidencia de salmonelosis aumentó considerablemente, alcanzando proporciones epidémicas en varios países,<sup>2,3</sup> siendo los menores de cinco años y los mayores de 60 años de edad los grupos de edad más vulnerables.<sup>4,5</sup> En México, en 1994 las notificaciones de casos por salmonelosis registraron un incremento de 100,342 casos a 215,155 en 1998 (tasa de 111.21 y 223.53 por 100,000 habitantes, respectivamente), con mayor incidencia en los grupos de 15 a 24 años, de 25 a 44 años y de 45 a 64 años, siendo el segundo el grupo

\* Laboratorio Clínico, Clínica Universitaria de la Salud Integral, Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

más afectado.<sup>6</sup> Las cepas de *Salmonella* se dividen en grupos que se basan en la variabilidad de antígenos superficiales que se detectan mediante serotipificación.<sup>7</sup> Hasta ahora se han identificado alrededor de 2,501 serotipos de *Salmonella*.<sup>8</sup> El género *Salmonella* es único entre los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, debido a que comúnmente posee dos tipos de antígenos flagelares, los cuales son coordinadamente regulados por un mecanismo de variación de fases.<sup>9</sup> Los genes responsables son *FliC* (antígenos flagelares fase 1) y *FljB* (antígenos flagelares fase 2). De esta manera, sólo un antígeno flagelar es expresado en un tiempo. En el mecanismo de variación de fases se encuentra implicado el operón *fljBA*, el cual incluye al gen *hin* que codifica la Hin recombinasa; el gen *fljB* que codifica el flagelo fase 2 y el gen *fljA* que codifica un represor para el gen *fliC*.<sup>9</sup> La Hin recombinasa cataliza la inversión reversible de un segmento de 993 pb del cromosoma que contiene un promotor para el operón *fljBA*. En una orientación, el promotor dirige la transcripción de los genes *fljB* y *fljA*, que inducen la represión del gen *fliC*. En la otra orientación de *hin*, *fljB* y *fljA* no son expresados, por lo que el antígeno flagelar fase 2 es apagado, y *fliC* es expresado nuevamente, seguido por la expresión del antígeno flagelar fase 1.<sup>10,11</sup> Algunos de estos alelos son definidos por un solo factor (antígeno i, d, ó r); otros son definidos por varios subfactores (e.g., antígenos i,v,g,m y e,n,x).<sup>8</sup>

Existen otros microorganismos de transmisión por alimentos que pueden causar infecciones intestinales, como *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Shigella*, entre otros.<sup>12</sup>

Entre los métodos utilizados para el diagnóstico clínico de *Salmonella* se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es una técnica rápida que ofrece resultados confiables, con alta especificidad y elevada sensibilidad.<sup>13</sup> Debido a que en nuestro país la salmonelosis en infantes continúa siendo un problema de salud, el propósito de este trabajo fue determinar los principales serotipos de *Salmonella* que expresan los antígenos flagelares de fase 1 y de fase 2 en diarrea de niños de una zona urbana del Estado de México.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Muestras clínicas.** Se analizaron las muestras diarreicas de 230 niños menores de 12 años de edad atendidos en diferentes centros de salud del Estado de México y un grupo control de 40 niños sin diarrea seleccionados en escuelas de nivel preescolar y pri-

maria. Los niños con diarrea que fueron incluidos en este estudio presentaron diarrea, caracterizada por la ocurrencia de tres o más evacuaciones, suelta, líquida o blanda o al menos una muestra blanda con sangre en un periodo de 24 horas. La información sobre otros factores como desórdenes gastrointestinales, viajes, tratamiento reciente con antibióticos, etcétera, fue obtenida a través de un cuestionario. Para la selección de *Salmonella spp*, las muestras fueron sembradas en el medio de agar MacConkey (DIBICO) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Adicionalmente, las muestras se sembraron en los medios de agar TCBS para *Vibrio* y agar deoxicolato de sodio para *Shigella*. Los distintos parásitos fueron identificados por el método de flotación en faust.

**Cepas bacterianas.** Los serotipos de *Salmonella* utilizadas como control para la PCR fueron: *Salmonella typhimurium* y *Salmonella infantis*.

**ADN templado para PCR.** Después de la incubación de las muestras en agar MacConkey a 37 °C por 24 horas, las bacterias del cultivo primario fueron colectadas y suspendidas en 5 mL de PBS (pH, 7.2) a una densidad aproximada de 10<sup>9</sup> bacterias. El ADN templado fue preparado por ebullición durante 20 minutos, seguido de centrifugación por 10 minutos a 12,000 revoluciones por minuto (rpm). El sobrenadante fue utilizado para PCR.

**Detección mediante PCR multiplex de los serotipos de *Salmonella* que expresan el antígeno flagelar de fase 1.** Los primers (*Cuadro 1*) y el ensayo de PCR multiplex utilizado para detectar los distintos serotipos de *Salmonella* que expresan el antígeno flagelar de fase 1 fue el descrito por Herrera y colaboradores.<sup>9</sup> El volumen final de la mezcla de reacción para PCR fue de 25 µL, la cual contenía 2 µL de ADN templado, 10 µL de nucleasa free water estéril, 1 µL de cada primer (5 pmol); sense 60, antisense-i, antisense-z<sub>10</sub>, antisense-b, antisense-eh, antisense-lv, antisense-r, forward-d, reverse-d, forward G, reverse-G, forward-Sdf-1, reverse-Sdf-1, 1.4 µL (7 pmol) de reverse-eh, reverse-b, forward-d y reverse-d (todos los primers fueron de Sigma-Genosys), 1.5 mmol de MgCl<sub>2</sub>, 0.5 U de ampliAq polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetag™ Ready-To-Go™ PCR beads). La amplificación del ADN fue realizada bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C por cinco minutos, seguido de 30 ciclos de 40 segundos a 95 °C, 20 segundos a 58 °C y 20 segundos a 72 °C. Finalmente, la extensión se prolongó a 72 °C por siete minutos.

**Detección por PCR multiplex de los serotipos de *Salmonella* que expresan el antígeno flagelar**

**de fase 2.** El método de PCR y los primers utilizados (*Cuadro II*) para identificar los serotipos de *Salmonella* que expresan el antígeno flagelar de fase 2 fue el descrito por Echeita y colaboradores.<sup>13</sup> El volumen final por mezcla de reacción para PCR fue de 25  $\mu$ L, la cual contenía 5  $\mu$ L de ADN templado, 10  $\mu$ L de nucleasa free water estéril, 1  $\mu$ L de cada primer (5 pmol); sense-f1mod, antisense-R5mod, antisense-R6, antisense-R7, antisense-R1mod, antisense-Fw, antisense-Rw, sense-Fe, antisense-Rx y antisense-Rz15, 1.5 mmol de  $MgCl_2$ , 0.5 U de ampliTaQ polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetaq™ Ready-To-Go™ PCR beads). La amplificación del ADN fue realizado bajo las mismas condiciones que para la fase 1.

Después de la amplificación, 10  $\mu$ L de cada muestra fue analizada por electroforesis en geles de agarosa al 2.5% para *Salmonella* bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miniampers por 120 minutos. Los

geles fueron teñidos con BrEt y fotografiados bajo luz UV, utilizando el sistema de fotodocumentación modelo GEL LOGIC 100 (KODAK). La PCR fue considerada como positiva cuando una banda o bandas de tamaño igual al de nuestras cepas controles de referencia fueron observadas y no extra bandas. Para los serotipos de *Salmonella* que expresan el antígeno flagelar de fase 1, nosotros identificamos regiones internas variables del gen *fliC* que codifica los antígenos H:i, H:r, H:l,v, H:e,h, H:z<sub>10</sub>, H:b y H:d; mientras que para los serotipos que expresan el antígeno flagelar de fase 2, se identificaron las regiones internas variables del gen *fliB* que expresa los antígenos H:1,2, H:1,5, H:1,6, H:1,7, H:l,w, H:e,n,x y H:e,n,z<sub>15</sub>.

**Análisis de los datos.** Para determinar si existían diferencias estadísticas entre nuestros pacientes y nuestro grupo control los datos se evaluaron por la prueba de  $\chi^2$ .

**Cuadro I.** Primers utilizados en la detección del antígeno flagelar de fase 1 por PCR multiplex.

Primers	Secuencia (5' a 3')	5' posición dentro del gen <i>fliC</i>
Sense 60	GCAGATCAACTCTCAGACCCTGGG	481-504
Antisense-i	ATAGCCATCTTTACCAAGTTCC	714-734
Antisense-z <sub>10</sub>	CGTCGCAGCTTCTGCAACC	911-929
Antisense-b	CGCACCAGTCYWACCTAAGGCGG	628-650
Antisense-eh	AACGAAAGCGTAGCAGACAAG	658-678
Antisense-lv	CCTGTCACTTTCGTGGTTAT	790-809
Antisense-r	AAGTGACTTTTCCATCGGCTG	741-761
Forward-d	CCCAGAAAGAACTGCTGTAACCG	539-561
Reverse-d	TGGATATCAGTATTGCTCTGGGC	625-647
Forward G	GTGATCTGAAATCCAGCTTCAAG	547-569
Reverse-G	AAGTTTCGCACTCTCGTTTTTGG	1055-1078
Forward-Sdf-1	TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG	—
Reverse-Sdf-1	CGTTCTTCTGGTACTTACGATGAC	—

**Cuadro II.** Primers utilizados en la detección del antígeno flagelar de fase 2 por PCR multiplex.

Primers	Secuencia (5' a 3')	5' posición dentro del gen <i>fliB</i>
Sense-f1mod	CTTATGCCRATAATGGTACTACACTG	568-594
Antisense- R5mod	GGTTACAGVAGCCGTACCAG	666-647
Antisense-R6	CTCCTGTACTTCTGTTTTGGTTGTA	858-834
Antisense-R7	TAATCGCCATTTTTGTGCGAG	758-739
Antisense-R1mod	TTTGACCAAYKYMGCSCAT	957-938
Sense-Fw	GTGGGGCAACMCTCAATACTG	569-589
Antisense-Rw	CCTGCCACTTTCGTGGTTGC	809-790
Sense-Fe	GGCAACCCGACAGTAAGTGGCGATAC	631-656
Antisense-Rx	CCATCCTTAAAGGATACGGC	685-667
Antisense-Rz15	ATCAACGGTAAGTTCATATTTG	765-744

## RESULTADOS

**Niños estudiados.** El promedio de edad de los niños con diarrea y de los sanos fue de seis años (rango: 2-12 años). El 53.7% (n = 145) de los infantes correspondió al sexo femenino y el 46.3% al masculino (n = 125). Los niños enfermos que acudieron a los centros de salud del Estado de México habían presentado diarrea en un tiempo promedio de 24 horas, caracterizada por episodios de tres o más evacuaciones sueltas o líquidas. Las heces del 10% de los enfermos fueron sanguinolentas. El 58% de los niños enfermos además de la diarrea habían presentado síntomas de dolor abdominal, vómito, febrícula (38-39 °C) o fiebre (> 39 °C). El 20% de los niños enfermos necesitó de rehidratación.

**Detección por PCR Multiplex de los serotipos de *Salmonella* que expresan los antígenos flagelares de Fase 1 y Fase 2.** Nosotros utilizamos 23 primers (*Cuadros I y II*) complementarios a regiones internas variables de los genes *fliC* y *fljB* (fase flagelar 1 y 2, respectivamente), a fin de detectar amplicones de tamaños característicos que nos permitió identificar los alelos de los antígenos H de los serotipos más frecuentes de *Salmonella*. En el *cuadro III* se aprecia que en 56.9% (n = 131) de los niños con dia-

rra las serovariedades de *Salmonella* identificadas fueron *S. ohio* (28.6%), seguida de *S. typhimurium* (16.9%), *S. infantis* (10.4%), *S. anatum* (0.43%) y *S. newport* (0.43%) (*Figuras 1 y 2*). Para el caso de los niños sanos (n = 40), *Salmonella* se identificó en 5% (*S. ohio* y *S. typhimurium* con el 2.5% en cada caso). La prevalencia de los serotipos de *Salmonella* detectada en ambos grupos fue significativamente diferente (p < 0.001).

**Asociación de *Salmonella* con otros enteropatógenos.** En este estudio, *E. histolytica/E. dispar* fue identificada en 56.9% (n = 161) y *Giardia intestinalis* en 36% (n = 83) de los niños enfermos; mientras que para los niños sanos *E. histolytica/E. dispar* se detectó en 52.5% (n = 21) y *Giardia intestinalis* en 27.5% (n = 11). La asociación de *Salmonella* con otros enteropatógenos se aprecia en el *cuadro IV*.

## DISCUSIÓN

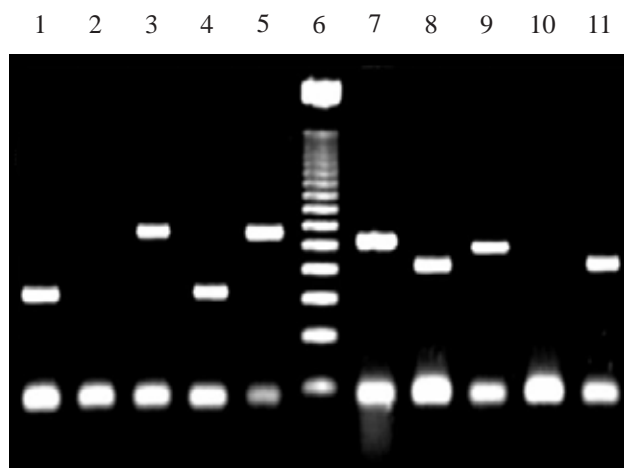
En el presente estudio analizamos los cultivos de las muestras diarreicas de 230 niños enfermos y las heces de 40 niños sanos, para lo cual utilizamos por separado dos reacciones de PCR multiplex que nos permitió amplificar las regiones internas variables de los genes *fliC* y *fljB* de *Salmonella* que codifican

**Cuadro III.** Prevalencia de *Salmonella* en los niños enfermos y sanos.

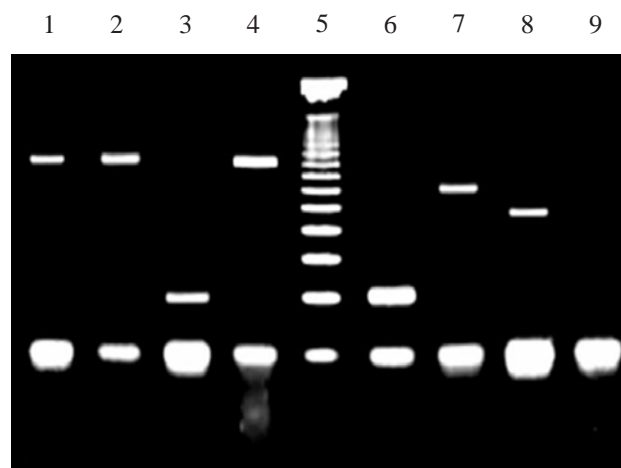
Serotipo	Niños con diarrea (n = 230)		Niños sin diarrea (n = 40)	
	n	%	n	%
<i>Salmonella ohio</i>	66	28.6	1	2.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	39	16.9	1	2.5
<i>Salmonella infantis</i>	24	10.4	0	0.0
<i>Salmonella anatum</i>	1	0.43	0	0.0
<i>Salmonella newport</i>	1	0.43	0	0.0
Total	131	56.9	2	5.0

**Cuadro IV.** Asociación de *Salmonella* con otros patógenos detectados en las muestras fecales de los niños enfermos.

Asociación	n	%
<i>Salmonella</i> spp, <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i> , <i>Giardia intestinalis</i>	14	6.0
<i>Salmonella</i> spp, <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i>	48	20.8
<i>Salmonella</i> spp, <i>Giardia intestinalis</i>	10	4.3
<i>Salmonella</i> spp, <i>Shigella flexneri</i>	1	0.4
<i>Salmonella</i> spp, <i>Shigella sonnei</i>	1	0.4
Total	74	31.9



**Figura 1.** Electroforesis en gel de agarosa al 2.5% de los amplificados de *Salmonella* obtenidos de las muestras diarreas que expresan el antígeno flagelar de fase 1 (condiciones de corrimiento: 120V, 94 mA, 45 minutos). Líneas 1 y 4: *Salmonella ohio* (150 pb, de pacientes). Línea 2: Control negativo (sin ADN templado). Línea 3: *Salmonella typhimurium* (275 pb, de paciente). Línea 5: Control positivo (*Salmonella typhimurium*, 275 pb). Línea 6: MWM 50 pb. Línea 7: Control positivo (*Salmonella infantis*, 250 pb). Línea 8: *Salmonella newport* (200 pb, de paciente). Línea 9: *Salmonella infantis* (250 pb, de paciente). Línea 10: Muestra de paciente negativa. Línea 11: *S. anatum* (200 pb, de paciente).



**Figura 2.** Electroforesis en gel de agarosa al 2.5% de los amplificados de *Salmonella* obtenidos de las muestras diarreas de los infantes que expresan el antígeno flagelar de fase 2 (condiciones de corrimiento: 120V, 94 mA, 45 minutos). Línea 1: *Salmonella newport* (400 pb, de pacientes). Línea 2: Control positivo (*Salmonella typhimurium*, 400 pb). Línea 3: Control positivo (*Salmonella infantis*, 100 pb). Línea 4: *Salmonella typhimurium* (400 pb, de paciente). Línea 5: MWM 50 pb. Línea 6: *Salmonella infantis* (100 pb, de paciente). Línea 7: *Salmonella anatum* (300 pb, de paciente). Línea 8: *S. ohio* (250 pb, de paciente). Línea 9: Control negativo (sin ADN templado).

para los antígenos flagelares 1 y 2, respectivamente (Figuras 1 y 2). La prevalencia de *Salmonella* en las muestras de los niños enfermos ( $n = 230$ ) fue del 56.6% ( $n = 131$ ) (Cuadro III), dentro de las cuales las serovariedades más importantes fueron *S. ohio* (28.6%), *S. typhimurium* (16.9%), *S. infantis* (10.4%), *S. anatum* (0.43%) y *S. newport* (0.43%); mientras que para los niños sanos la prevalencia fue de 5% ( $n = 2$ ) (*S. ohio* y *S. typhimurium*, con 2.5% en cada caso). La detección de estas serovariedades en niños mexicanos coincide con las encontradas en un amplio estudio realizado en el Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III, en Majadahonda Madrid, España, en el que mediante PCR multiplex detectaron el gen *fljB* (codifica para el flagelo 2) de un total de 190 cepas de *Salmonella* spp donadas por el Laboratorio Nacional de Referencia de España,<sup>13</sup> y en el cual se identificaron un total de 49 serovariedades distintas. Nuestras serovariedades identificadas también coinciden con las detectadas en otro estudio realizado dos años más tarde en el mismo Instituto de Salud Carlos III, en el que por PCR multiplex detectaron el gen *fliC* (codifica para el flagelo 1) de un total de 161 cepas de *Salmonella* spp, en donde se identificaron un total de 72 serovariedades diferentes.<sup>9</sup>

En un estudio realizado en 24,934 cepas de *Salmonella* recuperadas de pacientes infectados en diversos centros de salud públicos y privados de la República Mexicana en el periodo de 1972 a 1999, se detectaron un total de 199 serovariedades distintas, predominando *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. derby*, *S. agona*, *S. anatum*, *S. typh*, *S. newport*, *S. infantis* entre otras.<sup>14</sup> En los Estados Unidos de América (EUA) se estima que *Salmonella* causa cada año 1.3 millones de casos clínicos, 15,000 hospitalizaciones y 500 muertes.<sup>15</sup> Aproximadamente 40,000 se confirman con estudios de laboratorio y son serotipificadas por los laboratorios estatales de salud pública, los cuales a su vez informan al Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Georgia.<sup>16</sup>

En nuestro estudio, describimos que en 56.9% ( $n = 131$ ) de los niños con diarrea se identificó al menos alguna serovariedad de *Salmonella* (Cuadro III), en 56.9% ( $n = 161$ ) la ameba *E. histolytica*/*E. dispar*, en 36% ( $n = 83$ ) el protozooario *Giardia intestinalis* y las asociaciones *Salmonella* spp, *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*, *Giardia intestinalis* en 5.4% ( $n = 14$ ) y *Salmonella* spp *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* en 18.4% (Cuadro IV). La elevada fre-



cuencia de enteropatógenos detectada en este estudio, principalmente en los niños con diarrea, refleja que en nuestro país, como en otros en vías de desarrollo, las enfermedades intestinales en infantes son consideradas como un grave problema de salud por resolver, corroborando lo propuesto por Shariff y colaboradores,<sup>17</sup> quienes describieron que la diarrea representa una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en infantes de países subdesarrollados.

En este estudio, las especies *Entamoeba histolytica*/ *E. dispar* fueron los enteropatógenos predominantes para el grupo de niños con diarrea (56.9%) y para el grupo control (52.5%). A nivel mundial, la amibiasis está catalogada como la tercera parasitosis causante de muerte. Alrededor de 10 a 20% de la población mundial se considera infectada y 10% de esta población sufre de enfermedad, con una letalidad que oscila entre 0.1 y 0.25% (en números: 500 millones de infectados, 50 millones de enfermos y entre 40 y 110 mil muertes).<sup>18</sup>

La prevalencia de *Giardia intestinalis* en este estudio para el grupo de niños con diarrea fue de 36% (n = 83) y de 27.5% (n = 11) para el grupo control (n = 40). *G. intestinalis* es un protozooario de distribución cosmopolita que afecta principalmente a la población infantil de los países subdesarrollados. Nuestros porcentajes de prevalencia para este parásito coinciden con la reportada en un estudio previo realizado en 818 individuos, distribuidos en 162 familias ubicadas en asentamientos irregulares de la Delegación Magdalena Contreras en la Ciudad de México, en donde se detectó a *G. intestinalis* en el 29.9% de los individuos<sup>19</sup>.

Es importante mencionar que el grupo de niños sanos (n = 40) no presentó ningún síntoma de enfermedad, aun cuando *E. histolytica*/*E. dispar* fueron detectadas en 52.5% (n = 21) y *Giardia intestinalis* en 27.5% (n = 11).

La prevalencia de *Shigella flexneri* (n = 1) y *Shigella sonnei* (n = 1) detectadas en el grupo de niños con diarrea fue baja en comparación con la reportada en otras partes del mundo.<sup>20,21</sup>

En este estudio describimos que el 58% de los niños enfermos además de la diarrea presentaron síntomas de dolor abdominal, vómito, febrícula (38-39 °C) o fiebre (> 39 °C) y el 20% de los niños enfermos necesitó de rehidratación. Las enfermedades diarreicas agudas continúan hasta hoy representando un problema de salud mundial y, aunque hay variaciones geográficas en su epidemiología, los países en vías de desarrollo, principalmente los de América Latina, continúan reportando altos índices de morbimortalidad.<sup>22</sup> En México, en áreas urbanizadas, se ha informado que un niño presenta de dos a cuatro episodios

de gastroenteritis por año con prevalencia en las edades de 6-11 meses.<sup>23</sup>

En los Estados Unidos, los niños menores de cinco años de edad experimentan de 20 a 35 millones de episodios de diarrea por año, lo cual resulta en un promedio de 220,000 hospitalizaciones, representando el 10.6% de todas las hospitalizaciones en este grupo de edad y entre 325 a 425 eventos de mortalidad, sobre todo en niños menores de un año.<sup>24,25</sup>

La presencia de *Salmonella* en asociación con otros enteropatógenos en nuestros niños demostró que las infecciones intestinales continúan siendo un serio problema de salud por resolver en México. El uso de la PCR multiplex en este estudio se caracterizó como una importante herramienta de biología molecular en el diagnóstico clínico de *Salmonella*.

#### AGRADECIMIENTOS

Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGA-PA, UNAM), Proyecto PAPIME PE200705.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Gutiérrez GL, González BC, Giono CS, Beltrán LG. Principales serotipos de *Salmonella* identificados en 10,703 cepas de *Salmonella* entre 1982-1993. Rev Lat Microbiol 1994; 36: 221-236.
2. Organización Mundial de la Salud. Control de la Salmonelosis: Importancia de la higiene veterinaria y de los productos de origen animal. Informe de un comité de expertos de la OMS. Ginebra: OMS, 1988 (serie de informes técnicos número 74).
3. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis. Programa de Salud Pública Veterinaria. Buenos Aires: Organización Mundial de la Salud; 1998. p. 5-6.
4. Secretaría de Salud. Boletín de Epidemiología. Se. 50. México: Dirección General de Epidemiología, SSA; 1999.
5. Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud. Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica. México: SSA; 1994;92:187,281.
6. Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud. Sistema único de información para la vigilancia epidemiológica. México: SSA; 1995;1:89, 1995;11:72, 1995;111:72, 1996;1:120, 1996;11:69, 1996;1:69, 1997;1:36,232,424, 1998:172,266,454.
7. Hansen. SJ, Jenabian MS. Molecular serotyping of *Salmonella*; identification of the phase 1 H antigen based partial sequencing of the *fliC* gene. AMPIS 2005; 113: 340-348.
8. Popoff MY, Le Minor L. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. 8th ed. Paris, France: Institut Pasteur; 2001.
9. Herrera. S, McQuiston RJ, Usera MA, Fields IP, Garaizar J, Echeita AM. Multiplex PCR for distinguishing the most common phase-1 flagellar antigens of *Salmonella* spp. J Clin Microb 2004; 42: 2581-2586.
10. Lino T. Genetics of structure and function of bacterial flagella. Ann Rev Genet 1977; 11: 161-182.
11. Zieg J, M Silverman, M Hilmen, M Simon. Recombinational switch for gene expression. Science 1977; 196: 170-172.

12. Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: Magnitude, special settings, and etiologies. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 41-50.
13. Echeita MA, Herrera S, Garaizar J, Usera MA. Multiplex PCR based detection and identification of the most common *Salmonella* second-phase flagellar antigens. *Rev Microbiol* 2002; 153: 107-113
14. Gutiérrez LGCS, Escobar GA, Valdespino GJL. Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales. México: INDRE-SSA; 1994. p. 219-234.
15. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mc Caig LF, Bresee JS, Shapiro C. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-625.
16. Hargrett-Bean NT, Pavia AT, Tauxe RV. *Salmonella* isolates from humans in the United States, 1984-1986. *MMWR CDC Surveill Summ* 1988; 37 (SS-2): 25-31.
17. Shariff MMK, Bhan SK, Das BK, Saini S, Kumar R. Evaluation of the fluorescence actin staining test for detection of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 386-389.
18. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 228-237.
19. Sánchez-Vega JT, Zavala JT, Guerrero LR, Cabello RR, Sánchez DR, García CR. Frecuencia de parasitosis intestinales en asentamientos humanos irregulares. *Rev Fac Med* 2000; 3: 80-83.
20. Trung VN, Phung LV, Chinh LH, Khanh NG, Andrej W. Detection and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 755-760.
21. Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, Evengård B, Hedlund KO, Kärrnell A, Löfdahl S, Svensson L, Weintraub A. Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: A 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 770-778.
22. Coria J, Villalpando S, Gómez D, Treviño A. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en niños con gastroenteritis bacteriana aguda. *Rev Mex Ped* 2001; 68 (5): 200-215.
23. Rivas EM, Ibarra JC. Procesos infecciosos y mortalidad en niños mexicanos. En: *Temas de Pediatría, Asociación Mexicana de Pediatría, A.C.(Infectología)*. México: McGraw-Hill; 1996. p. 1-7.
24. Feigin DR. Diarrheal disease (editorial). *Semin Pediatr Infect Dis* 1994; 5 (3): 161.
25. Hoekelman AR. A pediatrician's view: Diarrhea happens, a lot! *Pediatr Ann* 1994; 23 (10): 523-525.

*Correspondencia:*

**María C Gloria Luz Paniagua Contreras**  
 Paris 259  
 Jardines de Bellavista  
 54054 Tlalnepantla  
 Edo. de México  
 Tel/fax: 56 23 13 91.  
 E-mail: mya@servidor.unam.mx