

Zij. 36



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
" Z A R A G O Z A "

" ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS ANTIGENOS  
FEBRILES COMERCIALES QUE SE UTILIZAN  
ACTUALMENTE PARA LA REALIZACION  
DE LAS REACCIONES FEBRILES "

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :  
ELIA RAMOS FRAGOSO

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

México, D. F.

1 9 8 8





## **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 está 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.

## CONTENIDO

	Página
CAP. 1.- INTRODUCCION .....	1
CAP. 2.- MARCO TEORICO	
2.1 REACCIONES FEBRILES .....	3
2.2 FIEBRE TIFOIDEA	
2.2.1 Sinonimia .....	4
2.2.2 Definición .....	4
2.2.3 Datos históricos .....	5
2.2.4 Etiología .....	5
2.2.5 Forma de transmisión .....	11
2.2.6 Período de incubación .....	13
2.2.7 Cuadro clínico .....	13
2.2.8 Patogenia.....	14
2.2.9 Patología .....	14
2.2.10 Diagnóstico .....	16
2.3 FIEBRE PARATIFOIDEA	
2.3.1 Sinonimia .....	21
2.3.2 Datos históricos .....	21
2.3.3 Etiología .....	21
2.3.4 Forma de transmisión .....	21
2.3.5 Cuadro clínico .....	21
2.3.6 Diagnóstico .....	21
2.4 TIPUS EXANTEMÁTICO EPIDÉMICO	
2.4.1 Sinonimia .....	22
2.4.2 Definición .....	22
2.4.3 Datos históricos .....	22
2.4.4 Etiología .....	22
2.4.5 Forma de transmisión .....	23

2.4.6	Cuadro clínico .....	24
2.4.7	Patología .....	28
2.4.8	Patogenia .....	30
2.4.9	Diagnóstico .....	31
2.5	<b>BRUCELOSIS BOVINA</b>	
2.5.1	Sinonimia .....	36
2.5.2	Definición .....	36
2.5.3	Datos históricos .....	36
2.5.4	Etiología .....	38
2.5.5	Forma de transmisión .....	38
2.5.6	Periodo de incubación .....	39
2.5.7	Cuadro clínico .....	41
2.5.8	Patogenia .....	42
2.5.9	Diagnóstico .....	43
2.5.10	Distribución, frecuencia y tendencia	45

### CAP. 3.-

3.1	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	46
3.2	OBJETIVOS .....	47
3.3	HIPOTESIS .....	48

### CAP. 4.- MATERIAL

4.1	MATERIAL BIOLÓGICO .....	49
4.2	MATERIAL DE LABORATORIO .....	49
4.3	EQUIPO .....	49
4.4	REACTIVOS .....	49
4.5	SOLUCIONES .....	49

4.6	METODOLOGIA .....	50
4.6.1	Método de aglutinación rápida en placa..	51
4.6.2	Micrométodo de aglutinación .....	51
CAP. 5.-	RESULTADOS .....	53
5.1	RESULTADOS ESTADÍSTICOS .....	79
CAP. 6.-	DISCUSION DE RESULTADOS .....	82
CAP. 7.-	CONCLUSIONES .....	87
CAP. 8.-	COMENTARIOS .....	88
CAP. 9.-	BIBLIOGRAFIA .....	89

## 1.- INTRODUCCION

Las reacciones febriles son pruebas serológicas de aglutinación, encaminadas a la detección de anticuerpos. (1,6)

Esta detección de anticuerpos sirve como ayuda para confirmar el diagnóstico de la enfermedad.

Aunque la única forma de establecer un diagnóstico preciso de la enfermedad es con el aislamiento del agente etiológico, esto a veces resulta difícil ya que el aislamiento puede ser tardado como es el caso de Brucella abortus, ó puede ser peligroso y difícil como es el caso de Rickettsia prowazekii.

Es por eso que es de gran importancia el diagnóstico serológico.

Las reacciones febriles están basadas en la aglutinación entre los antígenos (Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A y B, Brucella y Proteus OX-19) y los anticuerpos contra estos antígenos presentes en el suero del paciente.

Además de existir estas reacciones de aglutinación tenemos otras pruebas serológicas como son:

Para Salmonella: hemaglutinación indirecta (47,61), coaglutinación y contrainmunolectroforesis (49), microaglutinación (50), aglutinación con látex (51), prueba de aglutinación bacteriana pasiva (52), prueba de anticuerpo fluorescente indirecto (55), análisis inmunolectroforético cruzado (56), contrainmunolectroforesis radial (66), y prueba de ELISA (53,58,60,68).

Para Rickettsia prowazekii, se tiene la prueba de fijación de complemento (26,29,70,71), prueba de microaglutinación (26,29,72), prueba de inmunofluorescencia (73-78), prueba de hemaglutinación indirecta (27), y prueba de ELISA (26).

Y para Brucella abortus se tiene la prueba de aglutinación directa de mercaptoetanol, la prueba de fijación de complemento, la prueba

de antiglobulina humana (35,38). Prueba de radioinmunoensayo (36,38) prueba de hemaglutinación pasiva (37,38) y la prueba de ELISA (38).

Los antígenos febriles utilizados en las reacciones febriles - son fabricados por diferentes marcas comerciales (IFA, S.S., Biolab, y Andre Bigaux) y se ha observado variación de título de un laboratorio a otro, pero no se sabe con exactitud cual es la fuente de error.

Por lo cual en el presente trabajo se hizo un estudio comparativo de los antígenos febriles comerciales.

## 2.- MARCO TEÓRICO

### 2.1 Las Reacciones Febriles.

Las reacciones febriles son pruebas serológicas de aglutinación destinadas a la detección de anticuerpos. Esta detección de anticuerpos puede ser usada como confirmación cuando el agente etiológico ya ha sido aislado. (1,6)

La demostración de los cambios en el título del suero del paciente es de una importancia diagnóstica mayor que la simple detección de anticuerpos. El título es la más alta dilución del suero del paciente que causará aglutinación en presencia del antígeno específico. A no ser que el título sea inusualmente alto, una sola prueba no es demostrativa de la enfermedad. La sangre debe ser examinada durante la fase aguda de la enfermedad y nuevamente algunas semanas más tarde (generalmente alrededor de dos semanas). El examen del suero en forma tardía durante el curso de la enfermedad no tiene significación, ya que no existe punto de comparación al cual referirlo.

Al interpretar los resultados de las pruebas de aglutinación, deben considerarse algunos factores:

- 1.- Una historia de infección previa por el mismo organismo.
- 2.- La vacunación previa.
- 3.- Los anticuerpos naturalmente existentes, si el paciente vive en un área donde la enfermedad es prevalente o endémica.
- 4.- Las reacciones anamnésticas causadas por antígenos heterólogos. Este fenómeno puede encontrarse en personas que han tenido una infección previa o vacunación de un organismo particular que no está relacionado con la enfermedad presente, aunque las condiciones presentes pueden causar un aumento en el título del organismo no relacionado.
- 5.- Reactividad cruzada. Los anticuerpos producidos por una especie -



de organismo reaccionan con frecuencia con otra especie enteramente distinta.

6.- Algunos pacientes no ofrecen ninguna respuesta inmunológica, entre ellos aquellos que padecen agammaglobulinemia, leucemia y carcinoma avanzado.

Hay muchos anticuerpos que pueden ser detectados durante los estados de enfermedad infecciosa. Algunos son específicos y aumentan en respuesta directa al organismo invasor, mientras que otros no parecen tener relación con el agente causal.

La titulación de anticuerpos en el suero del paciente por medio de la aglutinación de suspensiones de células bacterianas muertas conocidas (antígeno) es una ayuda diagnóstica valiosa en las fiebres de origen no determinado. El proceso de aglutinación ocurre en dos etapas: 1) El estadio primario, en el cual el anticuerpo es absorbido en la superficie del antígeno, y 2) el estadio secundario, en el cual las partículas del antígeno cubiertas por el anticuerpo se aglutinan. El estadio secundario depende de la presencia de un electrolito (generalmente solución fisiológica).

Los antígenos bacterianos que se utilizan para la realización de las reacciones febriles son: antígeno O (somático) y antígeno H (flagelar) de Salmonella typhi; antígenos paratíficos A y B; antígeno - Proteus OX-19 y antígeno Brucella abortus, los cuales sirven para la ayuda del diagnóstico de fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, tifo exantemático epidémico y brucelosis respectivamente, descritas a continuación. (1)

## 2.2 FIEBRE TIFOIDEA

### 2.2.1 SINONIMIA:

Fiebre entérica, tifo abdominal, salmonelosis tifoídica. (17)

### 2.2.2 DEFINICION:

Enfermedad infecciosa aguda, septicémica, con manifestaciones

focales en el intestino, hígado, bazo, pulmón, y en grado variable en el cerebro, así como en otros órganos y sistemas. Se presenta - en forma esporádica o en brotes epidémicos. (17)

### 2.2.3 DATOS HISTORICOS:

El bacilo de la tifoidea fue identificado por Eberth en 1880 - en los ganglios mesentéricos y el bazo de personas muertas de fiebre tifoidea; fue cultivado por Gaffky en 1884. (10)

En 1885 Salmon y Smith aíslan del bazo de un cerdo afectado de neumoenteritis infecciosa, un bacilo parecido al de Eberth, y que - denomina bacilo de *Sui Pestifer*.

Años después, en casos de fiebre tifoidea, se aíslan algunos - bacilos que difieren en algunas características del bacilo tífico, razón por la cual se les denomina bacilos paratíficos.

En años posteriores, numerosos investigadores aíslan de proce- sos clínicos bacterémicos con localización intestinal gran número - de gérmenes que presentan caracteres comunes, por lo que Kauffman y White en base a estudios serológicos, crean un nuevo grupo que se - denomina *Salmonella* en honor a Salmon. (79,80)

En 1887 Benner y Peiper realizan las primeras tentativas de in- munización con bacilos vivos, y Widal en 1888 lo consigue con germe - nes muertos. (80)

En 1896, Pfeiffer y Kolle señalan la existencia de anticuerpos en la sangre de los enfermos, y Gruber y Durham estudian particular - mente las aglutininas. En el mismo año Widal propone la reacción de aglutinación para el diagnóstico de la enfermedad. Finalmente Schott - muller en 1960 introduce la técnica del Hemocultivo con el mismo - fin. (80)

### 2.2.4 ETIOLOGIA:

La fiebre tifoidea es una infección producida por *Salmonella typhi*; perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, género *Salmo - nella*, son bacilos gramnegativos, no forman cápsulas, ni esporas. (16)

Con base en sus antígenos, O (somático), H (flagelar), y Vi - (fig. No. 1), Salmonella fué clasificada en diferentes serotipos específicos.

Esta clasificación esta hecha en base al esquema de Kauffman-White; nueve serogrupos (A a I) son identificados. (43)

Las determinantes individuales O se designan por números, aun que solo algunas especies pueden contener varios antígenos O, cada uno siempre tiene un componente específico O. (9,43)

Los miembros O pueden subdividirse en especies, en términos del antígeno H. Una cepa dada puede elaborar en momentos diferentes cada uno de los dos tipos de antígeno H, los del primer tipo, denominados antígenos flagelares de fase uno, sólo se comparten con pocas especies de Salmonella; mientras que la fase dos es menos específica (43) En la clasificación de Kauffman-White, los primeros se indican por letras minúsculas, y los últimos por números. (7,16)

El antígeno Vi para una determinada especie. Se indica con las letras "Vi", situadas convencionalmente después de los números que indican los distintos antígenos O. (16)

Así pues podemos ver en el (Cuadro No. 1) la clasificación de Salmonella typhi.

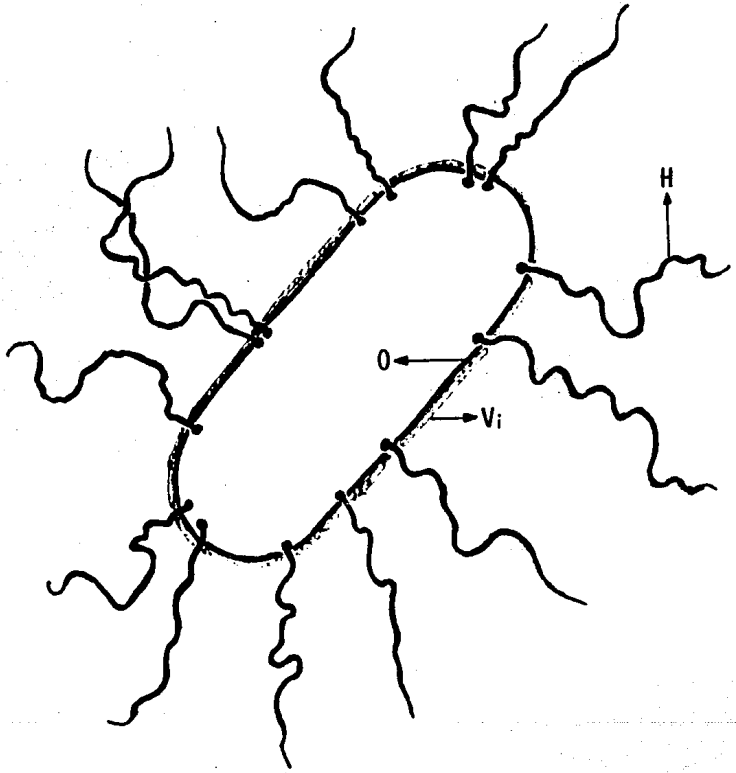
En adición a su importancia clínica y microbiológica, los antígenos H, O, y Vi son estudiados individualmente.

#### ANTIGENO "O" (somático)

La denominación O viene de la palabra alemana Onne (que significa sin). Se aplicó primero a las formas de Proteus no invasoras - (es decir no flageladas) y actualmente se usa como término genérico para denominar los antígenos somáticos. (81)

Estos antígenos a diferencia de el H y el Vi son parte de una estructura macromolecular que forma la porción exterior de la pared

Fig.No.(1) ESTRUCTURA ANTIGENICA DE SALMONELLA



CUADRO No. 1

CLASIFICACION SEROLOGICA DE SALMONELLA SEGUN KAUFFMAN Y WHITE

GRUPO	SEROTIPOS	ANTIGENOS O	ANTIGENOS H	
			Fase 1	fase 2
A	<i>S. paratyphi A</i>	<u>1</u> , 2, 12	c	--
B	<i>S. abortussequi</i>	4, <u>12</u>	--	--
B	<i>S. paratyphi B</i>	<u>1</u> , 4, (5), 12	b	1,2
B	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, (5), 12	i	1,2
b	<i>S. heidelberg</i>	1, 4, (5), 12	r	1,2
C <sub>1</sub>	<i>S. paratyphi C</i>	6, 7, VI	c	1,5
C <sub>1</sub>	<i>S. choleraesuis</i>	5, 7	c	1,5
C <sub>2</sub>	<i>S. montevideo</i>	6, 7	g, n, s	--
C <sub>2</sub>	<i>S. oranienburg</i>	6, 7	n, t	--
D	<i>S. sendai</i>	<u>1</u> , 9, 12	a	1,5
D	<i>S. typhi</i>	9, 12, VI	d	--
D	<i>S. enteritidis</i>	<u>1</u> , 9, 12	g, n	--
D	<i>S. dublin</i>	<u>1</u> , 9, 12, (VI)	g, p	--
D	<i>S. panama</i>	<u>1</u> , 9, 12	l, y	1,5
D	<i>S. gallinarum</i>	1, 9, 12	--	--
E <sub>1</sub>	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1,6

Los números subrayados representan determinados factores antigénicos.  
 Los números entre paréntesis representan únicamente antígenos en algunas clases de serotipos.

celular de *Salmonella* y posee importantes propiedades biológicas.

Este complejo es endotoxina o lipopolisacárido (LPS) y se compone de tres capas. (fig. No. 2)

Una superficial (O-polisacárido), una intermedia núcleo-R y una basal (lípidos A).

El O-polisacárido está compuesto de una secuencia regular de azúcares repetidos en la superficie de la pared celular que determinan la naturaleza específica del antígeno O.

El núcleo-R sirve de unión del O-polisacárido con el lípido y contiene cinco azúcares, fosfato y O-fosforiletanolamina. Los anticuerpos dirigidos contra elementos del núcleo-R protegen contra infecciones causadas por una gran variedad de bacterias gramnegativas.

El lípido A liga la molécula entera de endotoxina con el resto de la estructura de la pared celular; este es un complejo de repetición conteniendo unidades de ácido graso diglucosamina atacado por las unidades amino e hidroxilo.

El antígeno O es termoestable y en la reacción de aglutinación precipita de manera granular. Los anticuerpos contra los antígenos O son predominantemente IgM. (10,80,81)

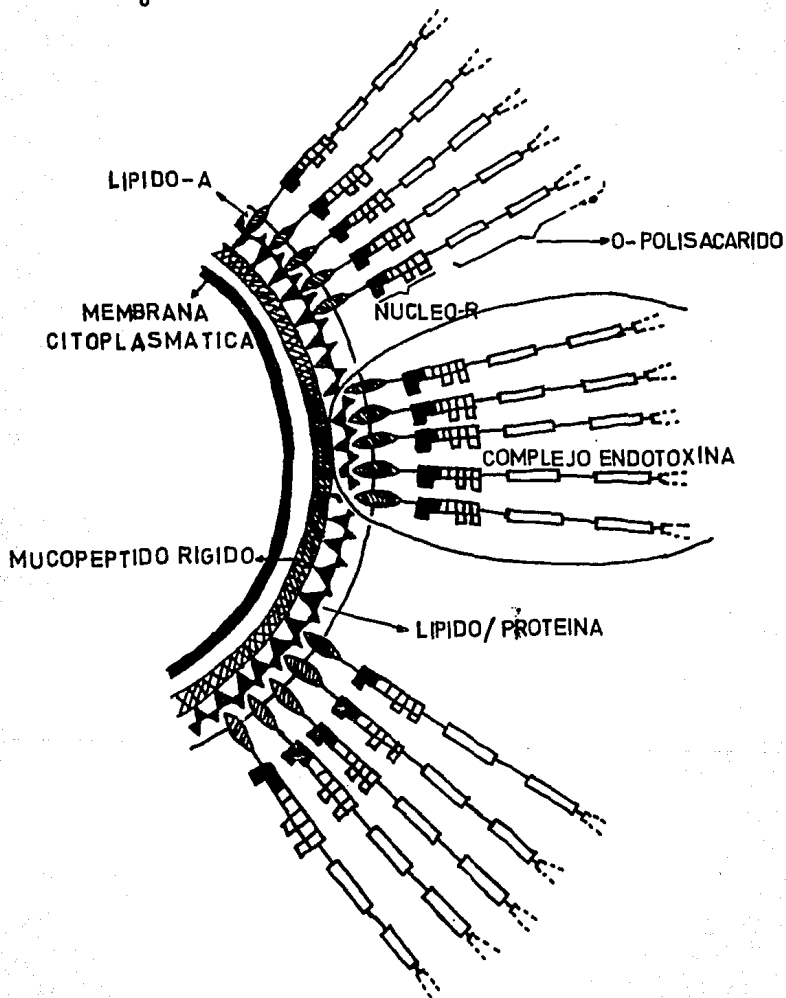
#### ANTIGENO H (Flagelar)

El término H deriva de la palabra alemana *Hauch*, que significa aliento.

Se utilizó primero para describir la capa de crecimiento de *Proteus* en la superficie de las placas de agar húmedas. La capa producida por la invasión de este microorganismo muy móvil asemeja el aspecto empañado de un vidrio al arrojar aliento sobre él. (81)

Este antígeno H es inactivado por calentamiento a temperaturas superiores a 60°C por lo que es termolábil. Es de naturaleza proteica localizada en los flagelos del microorganismo, los cuales pueden

Fig. No. (2) PARED CELULAR DE SALMONELLA



tener dos formas alternativas que se llaman fase uno y fase dos, - siendo la fase uno más específica que la dos. Los anticuerpos contra los antígenos H son predominantemente Ig G. (10,80,81)

En la reacción de aglutinación el antígeno flagelar se aglutina formando un precipitado floculento y grueso. (10)

#### ANTIGENO "Vi"

El término Vi se adoptó para designar un antígeno adicional de superficie de Salmonella typhi, estos antígenos también se les llama K (capsulares) y a menudo interfieren con la aglutinación de cepas aisladas recientemente con los antiseros que contienen primordialmente aglutininas anti-O. Los antígenos Vi son destruidos por el ca lentamiento durante una hora a 60°C y por los ácidos y el fenol. - Los cultivos de microorganismos que contienen antígenos Vi tienden a ser más virulentos que los que no lo tienen. Este antígeno está constituido químicamente por un polímero del ácido N-Acetil-d-galactosa minúrico. (7,81)

#### 2.2.5 FORMA DE TRANSMISION:

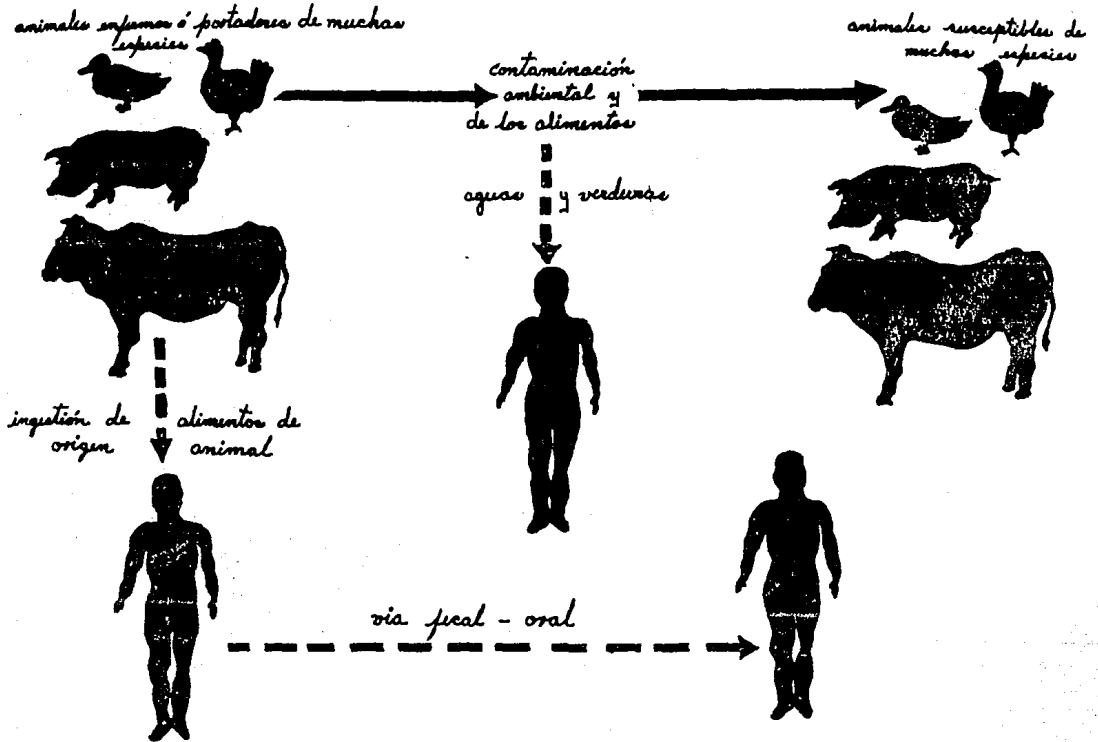
Se pueden señalar dos formas de transmisión. La primera, característica de la infección por un vehículo o fuente común, implica la contaminación de un abastecimiento de agua o de un alimento de gran consumo como la leche o verduras, causa brotes epidémicos cuando se ingieren crudos.

La segunda se relaciona con portadores manejadores de alimentos y se considera como de contaminación oral-fecal o de persona a persona, aunque en este tipo de transmisión participan los alimentos - regados con aguas negras como vehículo.

En este caso se presentan brotes pequeños, que en forma insidiosa y con duración prolongada pueden llegar a invadir una gran comunidad. (17) (fig. No. 3)



Fig.No. (3) FORMA DE TRANSMISION DE SALMONELLA



#### 2.2.6 PERIODO DE INCUBACION:

El largo período de incubación de fiebre tifoidea está directamente relacionada por el número de organismos al cual el paciente se expone; el tamaño del inóculo, el breve tiempo entre el contacto y la aparición de la enfermedad.

Este es usualmente entre una a dos semanas; pero puede ser tan corto como tres días o tan largo como sesenta días. (43)

#### 2.2.7 CUADRO CLINICO:

El cuadro clínico principia en forma gradual con fiebre, cefalea, malestar general y anorexia. La fiebre con remisiones matutinas, tiende a aumentar progresivamente durante las siguientes tres semanas para terminar por lisis durante la cuarta o la quinta. En los adultos es frecuente observar bradicardia relativa y dirotismo. En algunos casos puede presentarse diarrea, aunque la mayoría de las veces cursa con estreñimiento; existen distensión y dolores abdominales. (17)

Durante el curso de la enfermedad puede observarse la roseola tifoídica caracterizada por pequeñas manchas rosadas en tórax y abdomen, que desaparecen a la presión. La esplenomegalia es frecuente aunque debido a la consistencia blanda del bazo no siempre es posible palparlo. Existe anemia hipocrómica y usualmente leucopenia, se presenta delirio o estado estuporoso. (17)

Las recaídas ocurren en 15% de los casos, una o dos semanas - después de suspendido el tratamiento; aparte de la forma típica citada, a menudo se presentan formas caracterizadas por su localización, sea la gastroentérica con alteraciones gastrointestinales y fiebre, la neumónica o la meningoencefalítica. (17)

En los niños menores de dos años el cuadro clínico difiere del clásico descrito. El principio es brusco con fiebre alta, diarrea -

en ocasiones disenteriforme, no se observa el pulso lento y existe frecuentemente convulsiones y otros signos meníngeos; su evolución natural es más corta, alrededor de dos semanas, pero la letalidad es más alta.

La hemorragia y la perforación intestinal son las complicaciones más graves. La frecuencia de esta última es menor al tres por ciento. La tifoidea puede complicarse con colecistitis aguda, endocarditis, meningitis, osteomielitis y otras. (17)

#### 2.2.8 PATOGENIA:

La vía de entrada del bacilo es la digestiva; llega a las placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos donde se reproduce.

Por vía linfática pasa al torrente circulatorio para producir septicemia con ataque a hígado; vías biliares, bazo, médula ósea, pulmón, riñón, cerebro y a veces el aparato osteoarticular. Se elimina por la materia fecal y por la orina.

En el íleon causa hiperplasia del tejido linfoide y ulceraciones que pueden perforarse.

La endotoxina liberada de la *Salmonella* produce la mayor parte de la sintomatología y de las complicaciones. (17,43)

#### 2.2.9 PATOLOGÍA:

Las características de la patología de la infección por *Salmonella* son hiperplasia e hipertrofia de los tejidos reticuloendotelial, particularmente de los nódulos linfoides intestinal y abdominal, pero también del bazo, hígado y médula ósea. (43)

La lesión histológica básica es una intensa fagocitosis de bacterias, células blancas y eritrocitos por la invasión activada de macrófagos. La eritrofagocitosis es un rasgo prominente microscópico característico de fiebres entéricas. Los cambios secuenciales que ocurren en el curso de la fiebre tifoidea severa, se encuentran

en el tracto gastrointestinal. (43)

Osler, Mallory y otros autores han clasificado las alteraciones patológicas del tracto gastrointestinal dentro de cuatro etapas: hiperplasia, necrosis, ulceración y cicatrización.

Los cambios hiperplásicos comienzan a aparecer en el tejido linfoide intestinal durante la primera semana de la enfermedad e involucra primariamente las placas de Peyer del íleon y los folículos linfoides del ciego. (43)

Si la hiperplasia de los folículos linfoides del intestino no se resuelve, la necrosis de la mucosa intestinal se desarrolla, usualmente al final de los primeros días 7-10 de la enfermedad, probablemente porque la intensa reacción linfoide interfiere con la circulación. Posteriormente se desarrolla una úlcera que puede sangrar.

Las lesiones ulcerativas son redondas u ovals y en serie en paralelo del eje longitudinal del intestino, especialmente en el íleon. Las lesiones son más pequeñas en el ciego y en el colón, sitios en los cuales los agregados de células linfoides no están a lo largo como en el íleon.

Muchas de las úlceras son superficiales otras penetran en la submucosa del intestino hasta alcanzar la capa serosa, mientras otras inmóviles perforan la pared entera del intestino. (43)

El bazo está aumentado en pacientes con fiebre tifoidea. La anomalía microscópica más impresionante es la sobrepoblación de la pulpa esplénica con enorme número de glóbulos rojos.

Hay marcada proliferación celular reticuloendotelial e hipertrofia esplénica. Los agregados de estas células forman los típicos nódulos tifoides. (43)

Los nódulos tifoides están también presentes en el hígado y en la médula ósea. Las áreas de necrosis pueden aparecer alguna vez en el sitio del lóbulo hepático. (43)

Una complicación frecuente en la infección por Salmonella typhi es la glomerulonefritis. El corazón está aumentado. La examinación histológica revela modelos no específicos de necrosis y degeneración de células miocardiales.

Infecciones metastásicas de algún órgano o tejido particularmente en la espina pueden desarrollarse. Esto puede venir manifestado durante el estado agudo de la fiebre tifoidea; o permanece latente el bacilo por meses o años sin perder su virulencia. (43)

#### 2.2.10 DIAGNOSTICO:

La confirmación diagnóstica de fiebre tifoidea se consigue por aislamiento del agente causal lo cual puede hacerse por medio de - mielocultivo, hemocultivo, coprocultivo, urocultivo y cultivo de ro seóla. Cada una presentando un porcentaje de positividad según las semanas transcurridas del padecimiento como puede observarse en el - (Cuadro No. 2). (43)

La demostración de una elevación significativa en el título de anticuerpos frente a los microorganismos específicos aislados a partir del paciente resulta útil para confirmar el diagnóstico. (81)

Así pues las pruebas serológicas para el estudio de aglutininas específicas son:

**PRUEBA DE WIDAL:** La primera aplicación práctica a la medicina clínica de la nueva ciencia de la inmunología fué la introducción por Grunbaum y Widal de la medición cuantitativa de aglutininas específicas en los sueros de pacientes con fiebre tifoidea. El ensayo del suero de un paciente sospechoso de fiebre tifoidea frente a un cultivo de Salmonella typhi se conoce en el laboratorio y en la clínica como prueba de Widal.

Se utilizan los antígenos O, H, y Vi. Las aglutininas de tipo O resultan más útiles para el diagnóstico, ya que después de una -

CUADRO No. 2

HEMBLADOS CLINICOS Y DEL LABORATORIO EN EL TRANSURSO DE FIEBRE TIFOIDEA

TIEMPO TRANSCURRIDO	PERIODO DE INCUBACION	ESTADO DE INVA SION ACTIVA	ESTABLECIMIENTO DE LA DEFENSA JAD.	PERIODO DE CONVA LESCENCIA	PERIODO POSTERIOR COMPLIC. CIONES FOCALES		
<p>Ingestión</p> <p>Curva de temperatura</p> <p>40.0°C.</p> <p>38.8</p> <p>37.7</p> <p>36.6</p> <p>35.5</p>		1a. sem.	2a. sem.	3a. sem.	4a. sem.	5a. sem.	In- defini- do.
Estados patogénicos	-Prolifera- ción de los organismos al intestino -Penetración a la mucosa	-Proliferación de los organis- mos al sistema linfático in- testinal. -Con expansión a tejido lin- fático regio- nal. -Hacia el final de este perio- do principia el período de septicemia.	-Proliferación al SRE -Bacteremia -Posible esta- blecimiento de infección nu- ctástica fo- cal. -Necrosis y ul- ceración del intestino en los sitios de proliferación linfática.	-Las defen- sas del organismo comienzan a reparar el tejido dañado.			

ref. 43

CONTINUACION DEL CUADRO No. 2

Manifestaciones de la enfermedad.	Diarrea en el 10-20% de los casos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cefalaea</li> <li>-Malestar</li> <li>-Mialgias</li> <li>-Anorexia</li> <li>-Hécticas</li> <li>-Tos</li> <li>-Dolor de garganta.</li> <li>-Constipación.</li> <li>-Posible diarrea.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Toxemia</li> <li>-Malestar abdominal.</li> <li>-Síndromes neurológicos</li> <li>-Ulceración intestinal (puede ocurrir perijoración y hemorragia intestinal).</li> <li>-Síndrome genitourinario.</li> <li>-Bronquitis</li> <li>-Esplenomegalia</li> <li>-Hepatomegalia</li> <li>-Exantema</li> <li>-Anemia</li> <li>-Leucopenia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Puede ocurrir recaída de la enfermedad.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Colecistitis</li> <li>-Osteomielitis</li> <li>-Abscesos en tejido blando.</li> </ul>	
Cultivos de sangre.	Negativo	-----	80-90%	-----	Negativo a menos que continúe la enfermedad o una recaída.	
Cultivo de heces	Transitoriamente positivo.	Negativo	-----	30% positivo	50% positivo.	Disminuye la incidencia de cultivos + con el tiempo. 20% - 2 meses 10% - 3 meses 3% - 1 año
Cultivo de orina.	Negativo	Negativo	-----	25%	10% positivo.	Disminuye la incidencia de cultivos +.

Ref. 43

CONTINUACION DEL CUADRO No. 2

Cultivo de médula ósea	Negativo	Negativo	---80-90%--- positivo	Disminuye la incidencia de cultivos positivos.	
Cultivo de rosca	Negativo	Negativo	---60%--- positivo	Disminuye la incidencia de cultivos positivos	
Fructa de sical	Negativo	--20%positivo	--50%positivo	--80%positivo--	

Ref. 43



vacunación las aglutininas H tienden a persistir durante mayor período de tiempo, y en algunos casos, no son producidas durante una infección activa. La mayoría de los seres humanos poseen anticuerpos frente a diversos grupos séricos de *Salmonella*, como resultado de infecciones inaparentes o de inmunizaciones previas; por otra parte, distintos tipos de *Salmonella* poseen antígenos idénticos. De ahí que las pruebas de Widal utilizando antígeno de grupo, tal como se lleva a cabo en la mayoría de laboratorios clínicos, resulta totalmente inútiles y en algunos casos, dan resultados que conducen a errores diagnósticos. (81)

Si se utilizan antígenos específicos de *Salmonella typhi* deben realizarse como mínimo, dos muestras; La primera obtenida tan pronto como sea posible y la segunda 7 a 10 días después, para que tengan valor diagnóstico.

Otras pruebas serológicas que existen son la prueba de hemaglutinación indirecta (47,61), coaglutinación y contrainmuno-electroforesis (49), microaglutinación (50), aglutinación con látex que ha demostrado ventajas en comparación con la prueba de Widal (51), prueba de aglutinación bacteriana pasiva con una sensibilidad y especificidad del 95% (52), prueba de anticuerpo fluorescente indirecto (55), análisis inmuno-electroforético cruzado (56), contrainmuno-electroforesis radial (66) y prueba de ELISA que ofrece ventajas de mayor sensibilidad y especificidad que la prueba de Widal, además que se trabaja con muestras muy pequeñas. (53,58,60,68)

## 2.3 FIEBRE PARATIFOIDEA

2.3.1 SINONIMIA : Fiebre entérica. (12)

2.3.2 DATOS HISTORICOS :

En 1896 Achard y Bensaudé aislaron un microbio parecido, pero no idéntico al de la tifoidea. Y dos años después Gwyn aisló un microorganismo muy semejante a S. enteritidis en circunstancias similares. Desde entonces muchos investigadores en diferentes partes del mundo han aislado bacterias parecidas en la sangre de pacientes que sufren una enfermedad sintomáticamente idéntica a la tifoidea. (10)

2.3.3. ETIOLOGIA :

La fiebre paratifoidea es una infección producida por Salmonella paratyphi A, Salmonella paratyphi B (Salmonella schottmülleri) y Salmonella paratyphi C (Salmonella hirschfeldii).

2.3.4 FORMA DE TRANSMISION : De la misma manera que S. typhi.

2.3.5 CUADRO CLINICO, LA PATOLOGIA Y LA PATOGENIA es similar a la fiebre tifoidea.

La fiebre paratifoidea es clínicamente más ligera y con un período de duración más corto que la tifoidea. (12,13).

2.3.6 DIAGNOSTICO :

Es el mismo que para la fiebre tifoidea, solo que se utilizan los antígenos Paratífico A, Paratífico B y Paratífico C. (10)

## 2.4 TIFUS EXANTEMÁTICO EPIDÉMICO

2.4.1 SINONIMIA: Tifus macular, tifus exantémico clásico, tifus manchado, fiebre petequiral, fiebre de la cárcel, fiebre de campamento, fleck feiber (alemán), el tabardillo (español), tifo exantemático (italiano), (20,30)

2.4.2 DEFINICION: El tifus exantemático epidémico es una enfermedad infecciosa aguda, no contagiosa, causada por Rickettsia prowazekii, caracterizada por una fiebre alta y continua de unas dos semanas de duración, intensas cefaleas, obnubilación y un exantema maculoso. (20,30)

2.4.3 DATOS HISTORICOS: El tifus exantemático epidémico ha sido una de las mayores pestes en la historia.

Durante la guerra de 1619-1648 el tifus debastó a Europa. La guerra de Crimea, las guerras napoleónicas, la ruso-turca, la de los Balcanes, la de Corea y las dos Guerras Mundiales, fueron marcadas por el tifus. En Rusia de 1913-1923 las estimaciones en casos de tifus y muertes es aproximadamente de un millón.

En México apareció poco después de la conquista española; en Sudamérica apareció seguida de la conquista de Perú y en las tierras altas de América Central. (20,30)

2.4.4 ETIOLOGIA: El agente causal del tifus exantemático epidémico fue demostrado en 1916 por Rocha Lima (69) como parásito intracelular obligado en el epitelio intestinal de los piojos alimentados con sangre procedente de enfermos. Lo denominó Rickettsia prowazekii en honor a dos investigadores que habían fallecido como consecuencia de la enfermedad: H.T. Ricketts, E. Von Provasnik, Wellack y cols. demostraron histológicamente la presencia de estos gérmenes en los endotelios capilares de la piel de los enfermos de tifus exantemático epidémico. La forma fundamental de Rickettsia prowazekii muestra contornos ovalados de aspecto cocoidal. La mayoría de las veces se -

trata de ~~sus~~ corpúsculos unidos en forma de par, según su eje longitudinal. Si estas pequeñas formaciones, del tamaño aproximado de - 0.3-0.6 $\mu$  penetran en una célula receptiva, crecen hasta constituir finos bastoncillos de 0.7-2 $\mu$ , que con la coloración de Giemsa muestran a menudo una tinción polar. R. prowazekii puede extenderse - hasta constituir prolongados filamentos de 20 $\mu$  ó más, antes de fragmentarse en una cadena de diplococos. (30)

Contiene RNA y DNA, y se multiplica por fisión binaria. (29)

Rickettsia prowazekii se ha aislado del piojo corporal humano Pediculus vestimenti (10) y recientemente se ha aislado en E.U. de ardi llas voladoras, Glaucomys volans volans Linn., y de sus ectoparásitos (pulga Orchopeas howardi y el piojo Neohaematopinus scuiroptera) (29) Tanto en las células intestinales del piojo como en las receptoras de los mamíferos, R. prowazekii se multiplican de tal forma que finalmente llena por completo el citoplasma celular preservando el núcleo. Por último la célula estalla y libera las rickettsias. Este microorganismo se comporta de igual forma en el artrópodo que en el mamífero. (30)

2.4.5 FORMA DE TRANSMISION: La enfermedad es transmitida de persona a persona por el piojo del cuerpo humano. Durante el estado febril del humano, las rickettsias se encuentran en la sangre, y el piojo se infecta por ingerirla. En él las rickettsias infectan las células que revisten el intestino, se multiplican y se eliminan con las heces después de romperse las células infectadas; el piojo se hace infeccioso en seis u ocho días a 32°C. Las glándulas salivales no están infectadas, no hay transmisión a sus descendientes de la infección y está matará al piojo. La mayor parte de las infecciones se adquieren probablemente por la contaminación de la picadura del piojo con las heces infectadas o por abrasión de la piel habiendo -

depósitos de heces infectadas. (10)

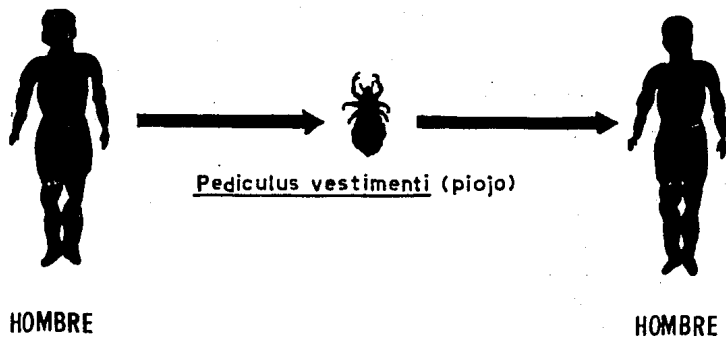
También ha habido infecciones accidentales por inhalación de heces infectadas, ya que las heces del piojo, bajo condiciones de humedad ambiental escasa y baja temperatura, R. prowazekii puede permanecer viva hasta seis meses. (30) (fig.No.4)

#### 2.4.6 CUADRO CLINICO:

El período de incubación, según la mayoría de los autores es de 10 a 14 días. Cuando existen pródromos consisten en cefaleas, pos<sup>tr</sup>ación, anorexia. La mayoría de las veces, la enfermedad se presenta de modo súbito, con fiebre y rara vez con escalofrío. Con remisiones matutinas, la fiebre asciende en 2-3 días hasta 40°C ó más, manteniéndose generalmente a este nivel, sólo con oscilaciones escasas durante unos diez días. (30)

En los casos no complicados la fiebre decae a partir de los días 12-14 de la enfermedad, para alcanzar por lisis la temperatura normal en 2-3 días. La duración de la fiebre es por término medio de 15 días. Al principio, el cuadro clínico está dominado por cefaleas intensas, poco influenciadas por la terapéutica y una tos generalmente seca, junto con la fiebre elevada. La ~~ora~~ está enrojecida, algo cianótica. Son frecuentes los dolores en el dorso y en la musculatura de las piernas. A los 4-7 días de fiebre, brota el característico exantema que se inicia por el tronco y se extiende en el curso de 1-2 días a las extremidades, dejando libres la cara y el cuero cabelludo, así como generalmente también las palmas de las manos y plantas de los pies. Las máculas, que al principio son de un color rojo pálido o de intensa tonalidad rojiza, no son prominentes y desaparecen por compresión. Cada una de las eflorescencias tienen un tamaño diferente, que oscila entre 2-4 mm., con una delimitación poco nítida. En los días siguientes, todas o algunas manchas aisladas pueden adquirir una coloración rojo oscura o rojo azulada. En este caso, ya no -

Fig.No.(4) FORMA DE TRANSMISION DE TIFO EXANTEMICO EPIDEMICO



desaparecen totalmente por la presión. (30)

En medio de las pequeñas manchas, aparecen ahora otras de mayor tamaño, más oscuras. Este polimorfismo es característico del exantema de esta enfermedad. En los casos graves, se producen con frecuencia transformaciones petequiales del exantema o hemorragias cutáneas más pronunciadas. Cuando el exantema permanece en el estado de la roseóla, es de carácter fugaz y desaparece antes de terminar la fiebre. En las personas de piel morena, puede pasar inadvertido; además falta por completo aproximadamente en el 10% de los casos, especialmente en aquellos niños y adultos que han sido inmunizados. Con la presencia del exantema aparece un tercer síntoma, que caracteriza al cuadro clínico del tifus exantemático epidémico, es decir, las manifestaciones cerebrales. La apatía y somnolencia que existe desde el principio de la enfermedad, va incrementándose progresivamente pasando a un estado más o menos estuporoso, acompañado de delirios. Aún el estupor puede quedar interrumpido, sobre todo durante las noches, por delirios (mas o menos) intensos. Existe insomnio total, con la caída de la fiebre se aclara el sensorio generalmente de un modo rápido en los casos favorables. Cuando el coma persiste después de la desaparición de la fiebre, el pronóstico es malo. (30)

Junto a los síntomas psíquicos, el tifus exantemático presenta también signos neurológicos. El aislamiento de los pacientes se refiere en parte a la sordera, que puede persistir durante algún tiempo después de sobrepasada la enfermedad. Se han observado lesiones permanentes del nervio acústico que llegan hasta la sordera unilateral completa, así como alteraciones en el nervio óptico hasta la ceguera de un ojo. Rara vez se observan parálisis, mientras que, por el contrario, el temblor en las manos y en los pies se inicia ya durante la primera semana. En los individuos gravemente afectados, pueden presentarse movimientos atetósicos o hasta un estado cataléptico.

tico de los músculos. En casos de coma, existe con frecuencia incontinencia de heces y orina. Mientras que durante la primera semana de pulso muestra una taquicardia más intensa de lo que corresponde a la fiebre, a partir de la segunda semana el número de pulsaciones es de 120-140, pudiendo presentarse también un ritmo de galope. La presión sanguínea puede descender intensamente y en los casos graves existe una tendencia al colapso. (30)

Riñones: Prácticamente, todos los pacientes eliminan albúmina con la orina. En los casos graves se encuentran abundantes cilindros granulosos así como valores incrementados para la urea, como síntoma de una nefritis.

Liquor: La presión puede estar ligeramente incrementada, siendo generalmente normal en los restantes aspectos o con una ligera pleocitosis. En ocasiones se ha observado xantocromía.

Cuadro hemático: El número de leucocitos permanece, al principio, dentro de los límites normales, pudiendo también observarse ligeras leucopenias. En la segunda y tercera semanas, la cifra puede estar moderadamente elevada. Una leucocitosis pronunciada habla en favor de una complicación bacteriana. El recuento diferencial muestra un cuadro hemático policromo, con falta de eosinófilos. A partir de la segunda semana existe una anemia secundaria.

El bazo está aumentado de tamaño aproximadamente en la mitad de los casos. (30)

Las complicaciones se presentan generalmente hacia final de la segunda o tercera semana. En los individuos comatosos y pese a suficientes cuidados, pueden presentarse decúbitos. Son de condición bacteriana la parotiditis, otitis media, así como la especialmente temida bronconeumonía. Existen casos de gangrena en los pies, de la punta de los dedos de las manos, de los lóbulos de la oreja, punta de la nariz, pene y vulva, como resultado de lesiones obliterantes específicas, es decir, condicionadas por el germen causal del tífus exantemático. (30)



Resulta asombroso que una enfermedad que cursa con graves alteraciones, no solamente cerebrales, sino también renales, y a menudo, del corazón, sólo en casos muy raros deja tras sí secuelas permanentes. No obstante, hasta la recuperación corporal y psíquica completa, pueden transcurrir muchos meses. La pérdida de peso que se observa durante la enfermedad, afectando muy especialmente a los músculos puede llegar hasta 20 kg.

Causas de la muerte: En el tífus, la muerte puede presentarse aun sin el acompañamiento de complicaciones bacterianas, la mayoría de las veces hacia la tercera semana y bajo un coma, con fracaso del aparato circulatorio. Hay casos que la uremia es la causa más importante de los fallecimientos. (30)

#### 2.4.7 PATOLOGIA:

Las alteraciones macroscópicas, que pueden considerarse como específicas del tífus exantemático, se observa en la autopsia sólo en la piel, y aun allí únicamente cuando el exantema es petequiral o hemorrágico. Las lesiones son de naturaleza microscópica, hallándose se en todos los órganos, pero con especial abundancia en la piel y en el cerebro. Estas alteraciones vasculares inflamatorias, descritas en 1914 por FRANKEL, a nivel de las lesiones cutáneas, fueron confirmadas desde entonces por los anatomopatólogos, se consideran como característicos pequeños acúmulos celulares, de aspecto nodulillar, a nivel de los pequeños vasos. Lo primario es siempre una lesión del endotelio vascular, acompañada de trombosis del segmento afectado. Los nodulillos perivasculares constituyen siempre un fenómeno consecutivo a la lesión endovascular. En el cerebro, estos nodulillos no en todos los casos asientan en un vaso, cuando la célula endotelial de un capilar es afectada por el germen causal del tífus exantemático, el proceso de formación del nodulillo se

desarrolla en torno a esta célula. Dentro del nodulillo plenamente desarrollado deja de objetivarse la pared capilar, por hallarse destruida. Estos llamados nodulillos están constituidos generalmente por células mononucleares. Los leucocitos polinucleares pueden faltar o hallarse en cifras variables. En algunos casos, pueden faltar totalmente, mientras que en otros se presentan en forma de masas, sin que su aparición permita deducir una infección mixta con bacterias piógenas. Junto a los nodulillos se encuentran acúmulos peri-vasculares de grandes monocitos, linfocitos y células plasmáticas. En torno a los capilares, se encuentran a partir del octavo día, - pequeñas hemorragias en el corion. Mientras que los investigadores alemanes consideran que los nodulillos cerebrales están constituidos en su mayoría por células gliales. (30)

Los nodulillos del cerebro miden, de 0.1 a 0.12 mm., hallándose - principalmente en la substancia gris y, sobre todo, con especial - frecuencia, en la médula, en la protuberancia y en los núcleos grises centrales. La frecuencia de las lesiones cerebrales cursa paralelamente con la intensidad del exantema. En el miocardio, la mayoría de los autores encuentran menos nodulillos vasculares típicos que infiltrados intersticiales difusos. En los riñones hallados con bastante frecuencia junto a las típicas lesiones vasculares, las correspondientes a la nefritis intersticial o glomerulonefritis. Todos los autores consideran como el hallazgo más llamativo en el hígado

una reacción difusa de las células de Kupffer que se manifiesta por inhibición, partición celular y eritrofagia. (30)

#### 2.4.8 PATOGENIA:

Los gérmenes llegan con las heces del piojo, por vía percutánea o aerógena sobre el pulmón, al organismo y colonizan las células endoteliales de pequeños vasos sanguíneos. Después de la destrucción de estas células colonizadas, las rickettsias llegan a la vía hemática para colonizar nuevas células endoteliales y así, ya durante el periodo de incubación se llega a una rickettsiemia lentamente progresiva y, por consiguiente, a un aumento del número de células endoteliales infectadas. El desencadenamiento de la enfermedad parece iniciarse a expensas de una descarga explosiva de rickettsias.

Mientras estos gérmenes se desarrollen en una célula endotelial, existe una calma completa en la vecindad, por el contrario, tan pronto como las células rellenas de rickettsias se desintegran y liberan a los gérmenes, se desencadena la inflamación aguda en torno a las mismas. Los leucocitos polinucleares rodean a la célula, penetran hasta en su interior y fagocitan las rickettsias, que no consiguen quedar libres en la vía hemática. Ya en el estadio, que muestra un aspecto similar al de un absceso miliar, el foco leucocitario, en cuyo centro se encuentran los restos de las células endoteliales, queda densamente rodeado por macrófagos. Los leucocitos no soportan esta carga de rickettsias y perecen, siendo ingeridos por los macrófagos.

El resultado final es el nodulillo característico de la enfermedad, en la cual ya no son demostrables las rickettsias. Como ha podido demostrarse en la experimentación animal, la reacción defensiva primaria a cargo de los leucocitos que inicia la formación de nodulillos, es la regla al principio de la infección. En un curso ulterior disminuyen cada vez más las reacciones por parte de los leucocitos polinucleares, iniciándose la formación de nodulillos monocitarios sin fase polinuclear notable. Esto explica probablemente el que sólo de modo excepcional se les encuentre en los cadáveres de los individuos fallecidos por tifus exantemático. Aun en el caso de escindir una lesión cutánea en los enfermos, ésta suele realizarse hacia los 4-7 días después de la enfermedad, - es decir, 14-21 días después de haber tenido lugar la infección.

Los síntomas neurológicos en el tifus exantemático pueden estar condicionados por una encefalitis focal. A nivel de los nodulillos se encuentra una destrucción intensa y hasta completa de las células ganglionares y fibras nerviosas. De esta forma se explican las secuelas permanentes en el nervio óptico, acústico, así como las parálisis periféricas. Sin duda alguna, la encefalitis rickettsiósica puede constituir, "per se", la causa de la muerte. SIGBERT indica que la toxina de las rickettsias es responsable de ciertas alteraciones histopatológicas. El cuadro clínico tóxico, incluidas las manifestaciones cerebrales, está ocasionada, sin duda alguna, por la toxina de estos gérmenes. (30)

En el curso de la enfermedad aparecen en la sangre anticuerpos contra el antígeno específico, ligado al cuerpo de las rickettsias, así como contra el antígeno común (soluble) y contra la toxina. Estos anticuerpos son los responsables de la desaparición total de las rickettsias en el momento de la caída de la fiebre o inmediatamente después. Sus titulaciones alcanzan precozmente en la convalecencia valores muy elevados en muchos casos. No existe duda alguna de que estos anticuerpos constituyen la causa de la sólida y prolongada - inmunidad que deja la afección, ya que el suero de convalecientes protege a los animales de experimentación, no solamente contra la - infección, sino también contra la toxina. Estos anticuerpos pueden demostrarse al cabo de 30 y más años. (30)

#### 2.4.9 DIAGNOSTICO:

Las dificultades y peligros del trabajo con las rickettsias no permiten los intentos de aislarlas fácilmente por lo que es de gran importancia el diagnóstico serológico. (29)

#### PRUEBA DE WEIL- FELIX

En 1961, Weil y Felix aislaron una cepa de Proteus de la orina de un paciente con fiebre tífus. El suero del paciente aglutinaba - esta cepa de Proteus de la misma manera que lo hacía el suero de - otros pacientes con tífus. La cepa original de Weil y Felix era una cepa no móvil o cepa "O", designada como X19, de donde se origina - el nombre de Proteus OX19. (1)

La prueba de aglutinación de Weil-Felix es tradicionalmente la que puede hacerse cómodamente en cualquier laboratorio y a menudo - da resultados que luego resultan no específicos e inseguros. Aunque los buenos resultados dependen de los buenos reactivos y controles y que aún así la prueba tiene sus limitaciones que es necesario recordar cuando se trata de determinar la significancia de los resultados.

Un título inferior a 1:160 se califica como no utilizable. Lo decisivo para enjuiciar la reacción de Weil-Felix, es un ascenso del título por lo menos cuádruple para considerarse significativo en el curso de la enfermedad, pero no una sola titulación. (10,29,30)

Un factor decisivo es la utilización de una variante O-pura o no móvil. Si se comprueba que los microorganismos no tienen motilidad el cultivo puede usarse para la producción del antígeno. Puede usarse antígeno vivo o muerto. (29,30)

Se venden antígenos y antisueros comerciales, pero es necesario observar ciertas precauciones en su uso. A veces los antígenos comerciales están estandarizados contra antisueros de conejo de animales inmunizados contra la cepa homóloga de Proteus. Estos sueros de conejo aglutinan Proteus sin tener en cuenta si los microorganismos que forman el antígeno son o no sensibles a los anticuerpos rickettsiales. Estos antígenos no se han aprobado aceptablemente y no deben usarse como sueros de control positivos en la prueba de Weil-Felix. Los únicos antígenos comerciales aceptables son aquellos que se han estandarizado contra el suero humano apropiado de fase convaleciente.

Sobre la base de la reacción de Weil-Felix es imposible diferenciar entre tifus murino y epidémico. (29)

Además de esta prueba tradicional, actualmente tenemos pruebas en las que se utiliza antígeno rickettsial que resultan ser muy específicas y seguras, a saber son:

#### PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO

Esta prueba sirve para detectar anticuerpos y es muy específica, pero lamentablemente, los antígenos purificados apropiados para usarse no pueden ser siempre fácilmente estandarizados, por su máxima reactividad y especificidad. (26,29,70,71)

### PRUEBA DE MICROAGLUTINACION

Esta prueba es muy simple y más sensible que la fijación de complemento. La prueba de microaglutinación es muy útil y práctica. Los resultados indican buena reproducibilidad. (26,29,72)

### PRUEBA DE INMUNOFLOURESCENCIA

Se han ideado pruebas de inmunofluorescencia (IF) para la identificación directa de rickettsias en tejido y líquidos infectados y para la detección y medición indirecta de anticuerpos rickettsiales específicos. (73-78)

Estas pruebas proporcionan: amplia detección de anticuerpos, - relativa libertad de artefactos, economía de antígeno, sensibilidad, reproducibilidad y comodidad, representando un progreso en la serología de las enfermedades rickettsiales.

La falta actual de antígeno rickettsial comercial apropiado para la prueba micro-IF indirecta es el único obstáculo al uso amplio de rutina de esta técnica. (29)

### PRUEBA DE HEMAGLUTINACION

La prueba de hemaglutinación indirecta (IHA) para detectar anticuerpos humanos para tifus del grupo de rickettsias tiene especial atención por sus favorables resultados obtenidos. (27)

La prueba es relativamente simple y sensible, pero tiene la desventaja que el antígeno llamado Sustancia Sensibilizante de Eritrocitos (BSS) es algo especializada. (26,27,29)

### PRUEBA DE ELISA

La prueba de ELISA fué adaptada para la medición de anticuerpos rickettsiales. El método es fácil de realizar, altamente sensible y reproducible serológicamente en el área clínica. (26)

### OTRAS PRUEBAS

Existen otras pruebas de laboratorio que son útiles para la investigación pero tienen poco uso práctico en el diagnóstico de rutina de enfermedades humanas. Dichas pruebas son neutralización de toxinas y otras pruebas de neutralización, sensibilización de -antiglobulina, precipitación de radioisótopos y pruebas de precipitina. (29)



## 2.5 BRUCELOSIS (B. abortus)

### 2.5.1 SINONIMIA:

Aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizootico (animales) enfermedad de Bang (bovinos). (40)

### 2.5.2 DEFINICION:

Enfermedad infectocontagiosa de principio insidioso o agudo con tendencia a la cronicidad y muy variable en sus manifestaciones clínicas. El agente causal puede afectar cualquier órgano o tejido por lo que son frecuentes los síntomas localizados en alguno o varios de ellos. (17)

### 2.5.3 DATOS HISTORICOS:

La brucelosis no fue tomada en cuenta como infección de importancia, sino hasta la época en que tuvo lugar la guerra de Crimea (1834-1856) debido a los numerosos casos de fiebres prolongadas no explicables. Sin embargo se ha considerado que esa enfermedad era conocida desde Hipócrates (400 años A.C.) y se supone que las descripciones más antiguas y en las que se presenta con claridad son las de Cleghorn (1751).

Narston desde 1859 hizo cuidadosos estudios clínicos y autopsias de casos de fiebres mediterráneas remitentes. El mismo autor presentó más tarde (1863) una descripción detallada de la enfermedad tal como ocurría en Malta, lo que fue confirmado por otros no solamente en esa isla sino en otras zonas, considerándose desde entonces como

padecimiento endémico característico de los países bañados por el Mediterráneo.

El agente causal de la Brucelosis fué descubierto por Bruce (1886) en el bazo de personas muertas de esa infección. Más tarde logró -- ciclar el agente de enfermos y pudo demostrar la virulencia de Micrococcus melitensis para el mono.

En 1897 Hughes presentó su célebre monografía que sigue siendo -- considerada por los especialistas como una de las contribuciones -- más completas sobre la materia.

En este mismo año Wright y Semple desarrollaron el método de aglutinación como ayuda diagnóstica.

Simultáneamente Bang 1897 en Dinamarca, bastante alejado de los -- focos mediterráneos encontró el agente causal de aborto infeccioso bovino, descubrimiento que quedó en el misterio durante 21 años. -- Hasta que Alice Evans relacionó el micrococcus de Bruce con el bacilo de Bang. (3)

El conocimiento de la Brucelosis en México se inicia con la sospecha clínica de Valenzuela 1905 de que pudiera ser fiebre de Malta. Y con el intento de aislamiento del Micrococcus melitensis de la sangre de uno de estos enfermos por Carbajal (1906). Ni uno ni otro pudieron demostrar su idea, pero abrieron el camino y demostraron -- que el medio médico de la época conocía la enfermedad de Bruce.

Desde entonces, la literatura médica acerca de esta enfermedad se

va enriqueciendo, lentamente primero, rápidamente desde 1937 a la fecha y de ella entresacando los trabajos que señalan un nuevo camino, que enseñan un dato nuevo o que dan para uso del médico un nuevo instrumento o técnica para su mejor estudio. (42)

#### 2.5.4 ETIOLOGIA:

La brucelosis es una infección producida por el Género *Brucella* y las especies que infectan al hombre son:

*Brucella melitensis* (con 3 biotipos); *Brucella abortus* (con 9 biotipos); *B. suis* (con 4 biotipos); *B. neotomae*; *B. canis*; (29,40)

Los microorganismos *brucella* son cocobacilos o bacilos cortos --- Gram (-) que aparecen solos o, raramente, en cadenas cortas, son aerobios obligados con respecto al oxígeno y su crecimiento mejora a menudo aumentando el  $CO_2$  de la atmósfera. No son móviles, no esporulados, las formas lisas están encapsuladas. (17,29)

Antígenos: Cada una de las especies de brucelas contiene dos antígenos termocstables llamados A y H. La proporción entre A y H para *Brucella abortus* es de 20 a 1. Las brucelas también comparten un antígeno C. (10)

#### 2.5.5 FORMA DE TRANSMISIÓN:

El hombre contrae la infección en la mayoría de los casos de la carne, la leche y a través de las secreciones y excretas de animales enfermos que son el reservorio de la *Brucella*, principalmente el ganado bovino, caprino y porcino, secundariamente del ovino y equino,

por lo que se considera una zoonosis. La especie animal, de la cual el hombre tiene más probabilidades de adquirir la infección varía - según el país o región en que vive. (17) (fig. N. 5)

#### TOXINA Y VIRULENCIA:

Estas bacterias no forman exotoxinas, pero la sustancia celular de Brucella es tóxica y se ha comprobado que la toxina es un componente de la pared celular. (10)

#### MECANISMO DE TRANSMISION:

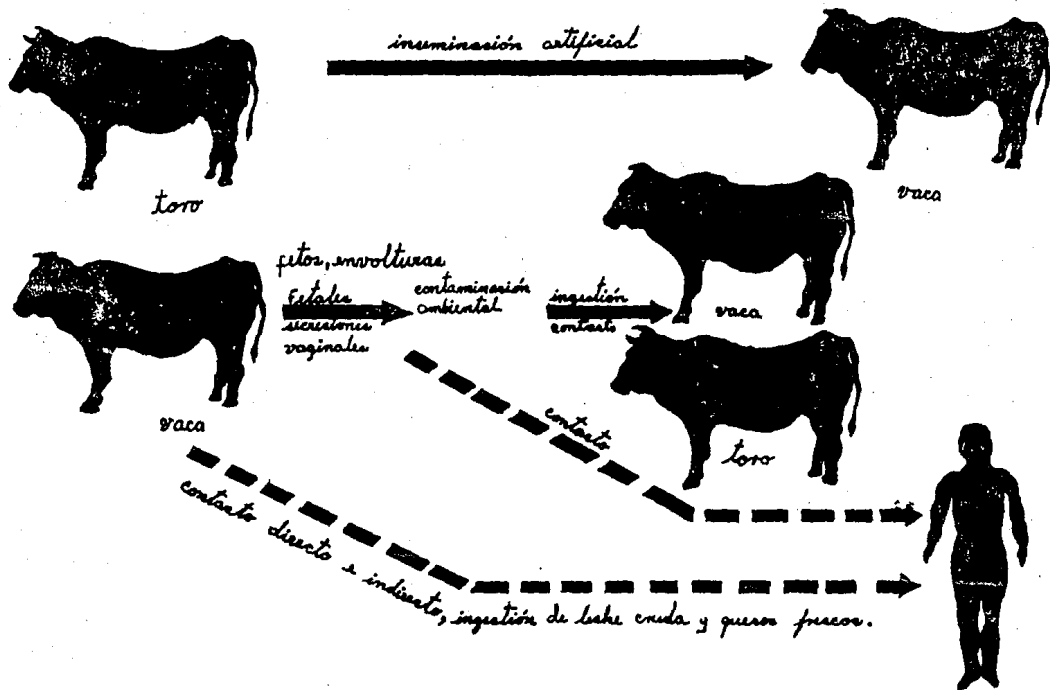
- a) Vía oral: Por leche cruda y queso, crema y otros lácteos preparados con leche no hervida.
- b) Vía transtegumentaria: Por contacto con animales infectados a partir de sus tejidos o secreciones, las brucelas penetran a través de la piel o mucosas.
- c) Inoculación: Con la sangre de donadores infectados o con jeringas y agujas o instrumentos quirúrgicos mal esterilizados.
- d) Inhalación: Se ha observado especialmente en laboratorio, inhalando gotitas dispersas en el aire, provenientes de cultivos de sangre, o tejidos de animales infectados; también por el polvo de los corrales.

La infección interhumana es excepcional; puede ocurrir de la madre al recién nacido, durante el parto o lactancia. (17)

#### 2.5.6 PERIODO DE INCUBACION:

El período de incubación por lo general es de una a tres semanas,

Fig. No. (5) FORMA DE TRANSMISION DE Brucella abortus



pero a veces puede prolongarse por varios meses. (40)

#### 2.5.7 CUADRO CLINICO:

La brucelosis es una enfermedad septicémica de principio brusco o insidioso, con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de la brucelosis aguda, consiste en escalofríos, sudores -- profusos y elevación de la temperatura.

Un síntoma casi constante es la astenia y cualquier ejercicio produce una pronunciada fatiga.

La temperatura puede variar de normal en la mañana hasta 40 °C en la tarde; los sudores se presentan durante la noche y son de un -- olor particular.

Los síntomas comunes son: insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalalgia, artralgias y dolores generalizados. La enfermedad tiene un fuerte impacto sobre el sistema nervioso, que se traduce por irritación, nerviosismo y depresión. Muchos pacientes tienen los ganglios periféricos aumentados de volumen o esplenomegalia y con frecuencia hepatomegalia, pero raramente ictericia.

La duración de la enfermedad puede variar desde pocas semanas o meses a varios años.

A veces se producen complicaciones serias tales como encefalitis, meningitis, neuritis periférica, espondilitis, artritis supurativas y endocarditis vegetativa.

Las brucelas se localizan intracelularmente en los tejidos del --

sistema reticuloendotelial tales como los ganglios, la médula ósea, el bazo y el hígado. La reacción tisular es de tipo granulomatosa.

En cierto número de pacientes la brucelosis tiene un curso crónico que puede durar muchos años, con presencia o no de focos de infección localizada.

Los síntomas están asociados con un estado de hipersensibilidad. En áreas de brucelosis enzoóticas especialmente de brucelosis bovina, hay infecciones que transcurren asintóticamente. (40)

#### 2.5.8 PATOGENIA:

Una vez que ingresa al organismo, la brucela se reproduce en el sitio de la infección, ya sea en la piel o en las membranas mucosas.

El germen infecta los vasos linfáticos que lo transportan a los ganglios linfáticos y de ahí al conducto torácico y a la corriente sanguínea. (17)

Diseminada por esta vía se localiza frecuentemente en bazo, hígado, médula ósea, riñones, en glándulas mamarias y en órganos genitales, particularmente en el útero, lo que explica la frecuencia del aborto. (17)

En las fases agudas se encuentra la brucela extracelular e intracelular en las etapas posteriores. Las principales reacciones histológicas en la brucelosis consisten en proliferación de mononucleares, exudación de fibrina, necrosis por coagulación y fibrosis. Los granulomas contienen células epiteloides y células gigantes con ne -

crisis central y fibrosis periférica. (17)

## 2.5.9 DIAGNOSTICO:

El curso clínico de la brucelosis humana y la predominancia de las formas atípicas de la enfermedad dificultan el diagnóstico. El aislamiento del agente causal por cultivos de sangre o de otros fluidos del cuerpo es difícil y largo, por lo que el diagnóstico de esta enfermedad está basado en gran parte en los resultados de pruebas serológicas. (35,37)

### LA PRUEBA DE AGLUTINACION

Es un procedimiento con valor diagnóstico de brucelosis.

El título de las aglutininas de brucella depende de varios factores, incluyendo la sensibilidad del antígeno y la técnica empleada. (34)

Las desventajas que tiene esta prueba es que los títulos de aglutininas varía de un laboratorio a otro y se tiene que tener un antígeno de aglutinación patrón y un proceso de estudio uniforme. (10)

Otra desventaja es que debido a la diversidad de las inmunoglobulinas contenidas en el suero ocasiona fenómenos de bloqueo. (17)

Se sabe que hay tres tipos de inmunoglobulinas desarrolladas durante el curso de la brucelosis, la pesada IgM (19 S macroglobulina) la ligera IgG (7 S microglobulina) y la IgA (anticuerpo sensibilizante de la piel).

Coghlan y Jøir (1976) observaron que estaban presentes en el suero



de la enfermedad aguda la IgG y la IgM. Y en la enfermedad crónica - Coombs (1967) confirmó la presencia de la IgG e IgA y muy poca o nada de IgM. (35)

Y por última desventaja de la prueba de aglutinación es que no se puede diferenciar la enfermedad aguda de la crónica.

Además de la prueba de aglutinación clásica se desarrollaron otras pruebas como son : la prueba de aglutinación directa de mercaptoetanol, la prueba de fijación de complemento, y la prueba de antiglobulina humana (Coombs) que ofrecen resultados no muy fáciles de interpretar porque no son específicas para una sola clase de inmunoglobulina. (35,38)

La prueba de radioinmunoensayo (RIA) mide los anticuerpos de Brucella abortus específicos de las clases IgG, IgM e IgA, por lo que resulta una prueba específica, y puede ser demostrada con pequeñas cantidades de anticuerpo, pero la desventaja que tiene es que utiliza  $I^{125}$  que no es fácil de manejar, y de conseguir. (36,38)

Otra prueba que puede ser utilizada como diagnóstico de rutina es la prueba de hemaglutinación pasiva, que es sensible y específica para los anticuerpos presentados en la brucelosis. (37,38)

ELISA es comparable en la sensibilidad con RIA, además que también es muy específica.

Por lo que se puede utilizar rutinariamente. Ofreciendo gran auge en el área inmunológica. (38)

#### 2.5.10 DISTRIBUCION, FRECUENCIA Y TENDENCIA :

En México son frecuentes en los estados de Coahuila, Guanajuato, Michoacán, Nuevo León, San Luis Potosí y Tamaulipas. El Bajío y la Comarca Lagunera se consideran zonas de mayor endemicidad. En 1905 se diagnóstico el primer caso en México y desde entonces hasta 1961 fue en incremento el número de casos notificados; posteriormente, se observa un descenso; por lo menos estabilidad en la prevalencia, circunstancia asociada a la pasteurización de la leche y a su industrialización. (17)

### 3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro país se recurre a las pruebas serológicas denominadas "Reacciones Febriles" para el diagnóstico de fiebre tifoidea, paratifoidea, brucelosis, y tifo exantémico epidémico.

Estas pruebas serológicas se manejan en todos los laboratorios de Análisis Clínicos Institucionales y en la mayoría de los laboratorios clínicos del sector privado. Dichas reacciones febriles se basan en el método de aglutinación, habiendo otros métodos para tal detección de anticuerpos, sin embargo en nuestro medio no han sido utilizados.

Lo que se ha extendido es la elaboración de los antígenos febriles por diferentes marcas comerciales, de los que no se tiene confianza de su calidad, ya que según algunos autores (10), hay gran variabilidad de resultados de un laboratorio a otro.

Lo que trae como consecuencia que una determinación se realice en repetidas ocasiones para tener una mayor seguridad en los resultados ya que el Médico toma estos resultados como diagnóstico-confirmativo y no como una ayuda para valorar el estado del paciente. Si a todo esto aunamos el costo de los reactivos y la pérdida de tiempo de personal calificado que utiliza para tales determinaciones nos lleva con mayor razón a la búsqueda de datos precisos que den confiabilidad.

### 3.2 OBJETIVOS

- a) Observar si existe alguna diferencia significativa entre las distintas marcas comerciales de antígenos febriles.
- b) Comparar el grado de sensibilidad de las técnicas - inmunológicas utilizadas.
- c) Observar la relación que existe entre el hallazgo microbiológico y las reacciones febriles.
- d) Identificar los factores de error en las determinaciones inmunológicas para las reacciones febriles.

### 3.3 HIPOTESIS

*Se ha observado una gran variación en los resultados de las determinaciones para las Reacciones Febriles - de un laboratorio clínico a otro, misma que puede ser debida a la utilización de distintas marcas comerciales en dichas determinaciones.*

#### 4.- MATERIAL

##### 4.1 MATERIAL BIOLÓGICO:

65 Sueros problema, de pacientes a los cuales se les fué solicitado solo reacciones febriles.

135 Sueros problema, de pacientes a los cuales se les solicitó además de reacciones febriles, coprocultivo, mielocultivo, y/o hemocultivo.

Total 200 sueros problema; de pacientes del Hospital de Infectología C.N.R. (Centro Médico la Raza).

##### 4.2 MATERIAL DE LABORATORIO:

Placas de vidrio para aglutinación (30 anillos).....P 5420

Pipetas serológicas de 0.2 ml. en 1/100.....#marca IVA

Aplicadores de madera

Placas de plástico.

Micropipetas de 0.025 ml.

##### 4.3 EQUIPO:

Agitador rotatorio de 115 Vots AC.....Marca eberbach

Lámpara de luz de tungsteno de 100 watts.....American Optical C.

Microdilutor de 0.025 ml. Model 360-1.....Cooke Lab. Prod.

Estufa a 37°C.

Refrigerador.

##### 4.4 REACTIVOS:

1 Equipo de Antígenos febriles Andre Bigaux

Lote: FC 04 86, O-14-85, H-13-85, A-11-85, B-10-85, PH-01-86  
Br-01-86.

1 Equipo de Antígenos febriles Biolab

Lote: O-14, H-12, A-15, B-15, P-16, Br-20

- 1 Equipo de Antígenos febriles de la S.S. (Secretaría de Salud)  
Lote: O7-30-1, ASH-002, APA-001, O4-26-1, ABA-002, APX-001
- 1 Equipo de Antígenos febriles IFA  
Lote: AFE 862

Los cuales contenían cada uno:

- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno O Salmonella typhi (somático)
- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno H Salmonella typhi (flagelar)
- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno Paratyphi A (flagelar).
- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno Paratyphi B (flagelar).
- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno Proteus OX-19.
- 1 Frasco gotero de 5 ml. con Antígeno Brucella abortus (Huddleson)
- 1 Frasco gotero de 2 ml. con Suero control positivo.
- 1 Frasco gotero de 2 ml. con Suero control negativo.

#### 4.5 SOLUCIONES:

Solución salina al 0.85%.

#### 4.6 METODOLOGIA:

Se trabajarón 200 muestras de suero de pacientes del Hospital de Infectología del C.M. "La Raza", las cuales se obtuvieron por punción venosa en ayunas. Después se depositó la sangre a un tubo estéril (rotulado con el número correspondiente a la solicitud) sin anticoagulante, una vez que la sangre coaguló a temperatura ambiente y se sedimentó el coagulo, se separó el suero de cada muestra con una pipeta Pasteur, pasandolo a otro tubo de ensayo estéril y rotulado, manteniendose en refrigeración por unas horas, hasta la realización de la determinación el mismo día.

Las 200 muestras fueron seleccionadas de la siguiente forma: Las primeras 100 muestras de suero se les practicó las reacciones febriles con cuatro marcas comerciales diferentes, por dos métodos -

(aglutinación rápida en placa y microtécnica en tubo). Y posteriormente se buscó si se les había realizado hemocultivo, coprocultivo o mielocultivo.

Las otras 100 muestras se seleccionaron de esta forma: se buscó primero si se había realizado hemocultivo, coprocultivo o mielocultivo, y después se les practicó las reacciones febriles, sólo a aquellas que se les había practicado algunas de las técnicas mencionadas.

#### 4.6.1 METODO DE AGLUTINACION RAPIDA EN PLACA.

- 1.- Los antígenos deben estar a temperatura ambiente del laboratorio agitándolos ligeramente antes de efectuar la prueba.
- 2.- Utilizar una placa de vidrio marcada con 5 hileras de 6 cuadros, anotando el antígeno que le corresponde a cada serie.
- 3.- Depositar en los cuadros de cada serie 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml. de suero del paciente de izquierda a derecha.
- 4.- Agregar una gota de antígeno en cada una de las cantidades de suero.
- 5.- Mezclar con un aplicador limpio, comenzando con la última dilución de la derecha y siguiendo con las restantes de la izquierda (utilizar un aplicador por cada serie).
- 6.- Agitar suavemente la placa por rotación (120 R.P.M) durante dos minutos.
- 7.- Leer con luz indirecta.

#### 4.6.2 MICROMETODO DE AGLUTINACION.

- 1.- Colocar la placa de plástico a lo ancho y marcar las filas de los pozos, con los diferentes antígenos de la prueba.
- 2.- Con la micropipeta de 0.025 ml., depositar en la primera fila de pozos cuatro gotas de solución salina fisiológica y una gota en los demás pozos.



- 3.- Con una micropipeta de 0.025 ml., tomar el suero y depositarlo en los pozos de la primera fila de pozos (0.025 ml. a cada pozo).
- 4.- Con el microdilutor de 0.025 ml. mezclar bien en la primera fila y pasar a la segunda fila de pozos y así sucesivamente hasta la octava fila.
- 5.- A partir de los pozos de la segunda fila agregar 0.025 ml. del antígeno correspondiente.
- 6.- Agitar 15 minutos por rotación a 80 R.P.M.
- 7.- Incubar dos horas a 37°C.
- 8.- Dejar en el refrigerador hasta el día siguiente.
- 9.- Hacer la lectura.

**INTERPRETACION:**

El título de positividad corresponde al último pozo que muestra aglutinación.

En el siguiente cuadro se muestra el valor de título de cada pozo.

FILA	1	2	3	4	5	6	7	8
Soln. de NaCl 0.85% (microlitros)	100	25	25	25	25	25	25	25
Suero (microlitros)	25	25	25	25	25	25	25	25
Dilución	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
Antígeno (microlitros)	-	25	25	25	25	25	25	25
Dilución final	-	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280

→  
Desechar

## 5.- RESULTADOS

En el histograma No. 1, se observan las frecuencias de los títulos de anticuerpo contra el antígeno O de las 200 muestras trabajadas, con tres marcas comerciales diferentes.

En el histograma No.2, los títulos de anticuerpo contra el antígeno H de Salmonella typhi; en el histograma No.3 los títulos de anticuerpo contra el antígeno Paratífico A, en el histograma No.4 los títulos de anticuerpo contra el antígeno Paratífico B, en el histograma No.5 los títulos de anticuerpo contra el antígeno Proteus OX-19, y en el histograma No.6 los títulos de anticuerpo contra el antígeno - Brucella abortus.

Se observa en los histogramas No. 7,8,9,10,11, y 12 las frecuencias de los títulos de los anticuerpos contra los antígenos O y H de Salmonella typhi, Paratífico A, Paratífico B, Proteus OX-19 y Brucella abortus, respectivamente, de las 135 muestras que se les realizó coprocultivo, mielocultivo o hemocultivo, con tres marcas comerciales.

En los histogramas No. 13,14,15,16,17,18, se observan las frecuencias de los títulos de anticuerpos contra los antígenos O y H de Salmonella typhi, Paratífico A, Paratífico B, Proteus OX-19 y Brucella abortus, respectivamente, de las primeras 100 muestras trabajadas con cuatro marcas comerciales.

La gráfica No.1 muestra el porcentaje de casos positivos de Salmonella.

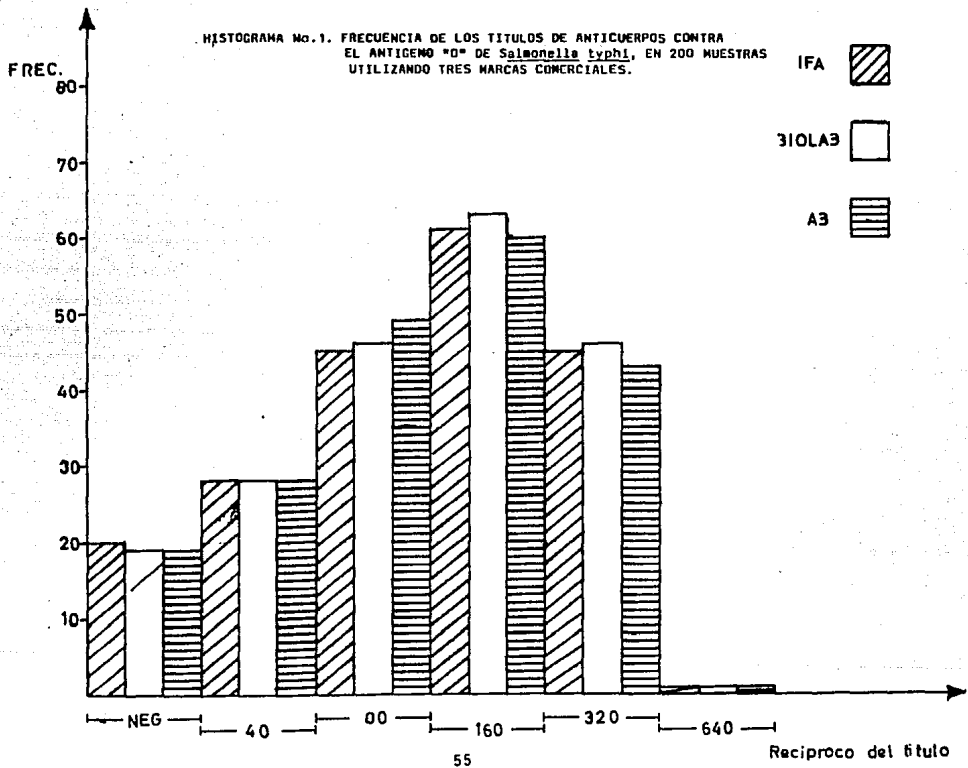
En la tabla No. 1 se observan los diagnósticos presuntivos en las ordenes de solicitud de la realización de las Reacciones Febriles.

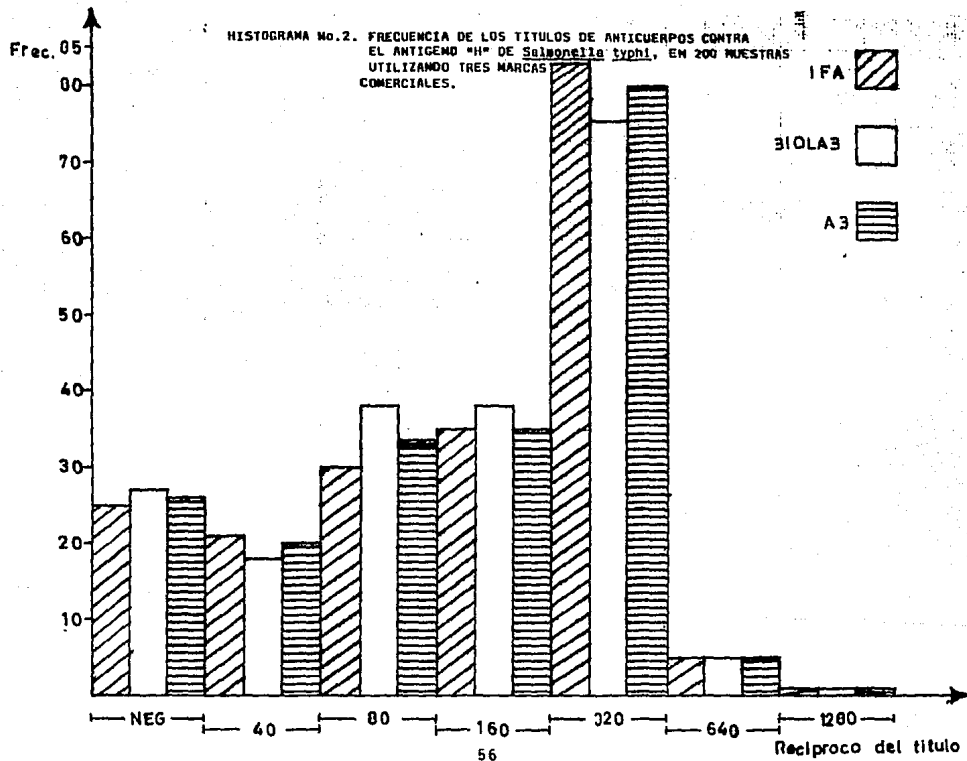
En los histogramas No. 19,20,21 se aprecia la variación en títulos de las dos técnicas empleadas (macrotécnica en placa y microtécnica en tubo) para la detección de anticuerpo contra el antígeno O y H

de Salmonella typhi, y antígeno Brucella abortus, respectivamente.

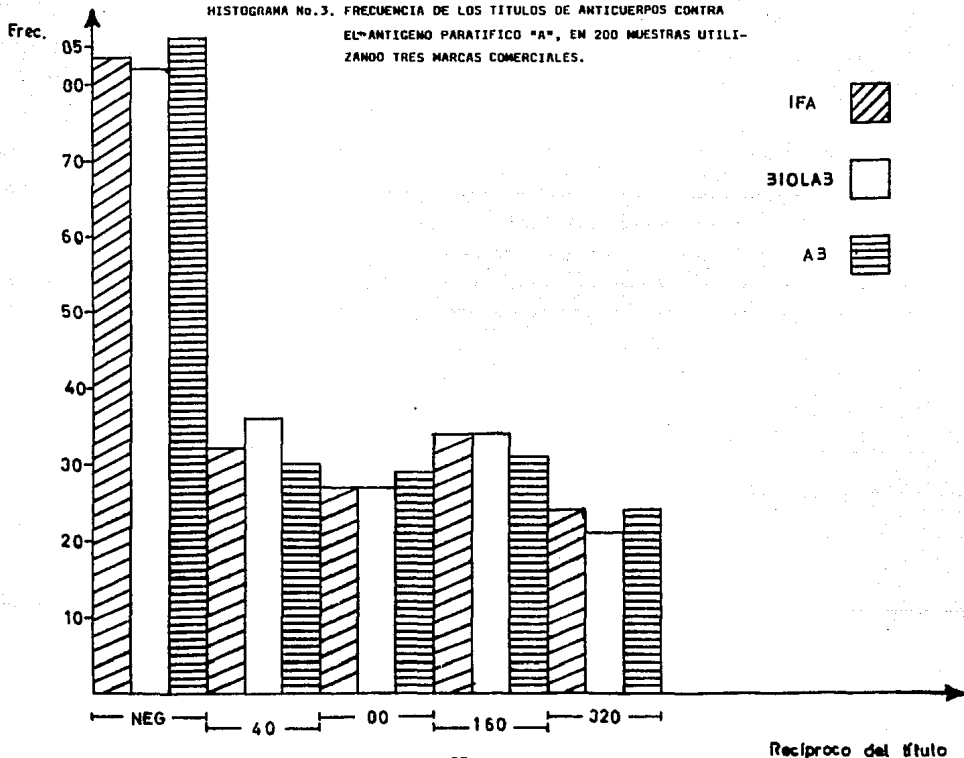
En la tabla No. 2 se observa la relación de títulos y el resultado del análisis microbiológico.

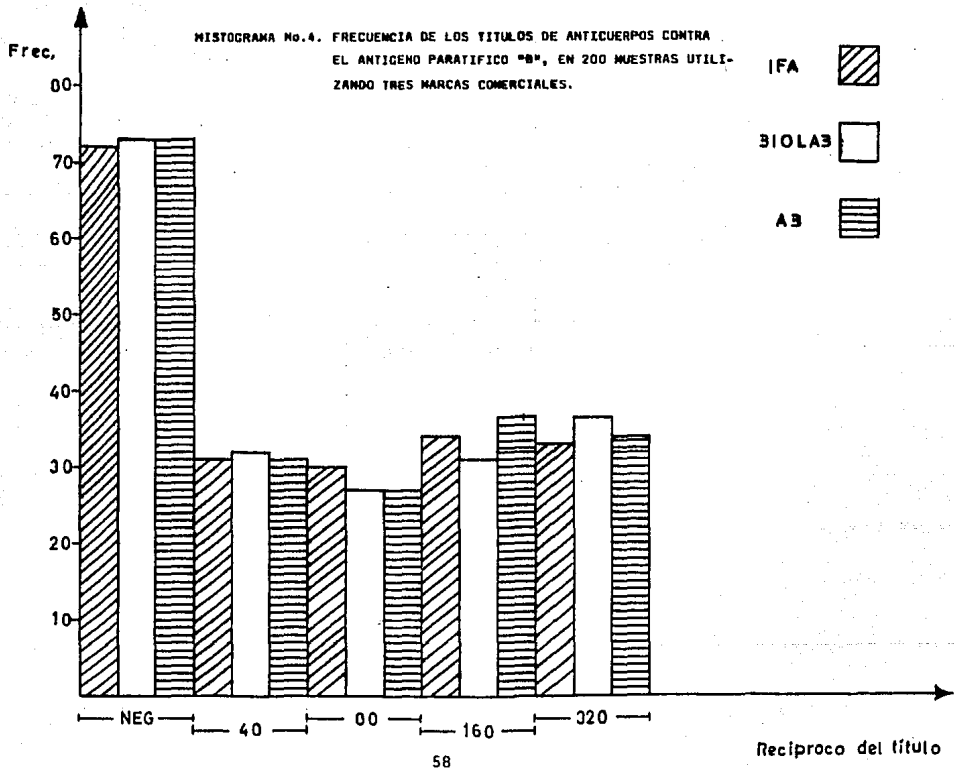
HISTOGRAMA No.1. FRECUENCIA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO "O" DE *Salmonella typhi*, EN 200 MUESTRAS UTILIZANDO TRES MARCAS COMERCIALES.

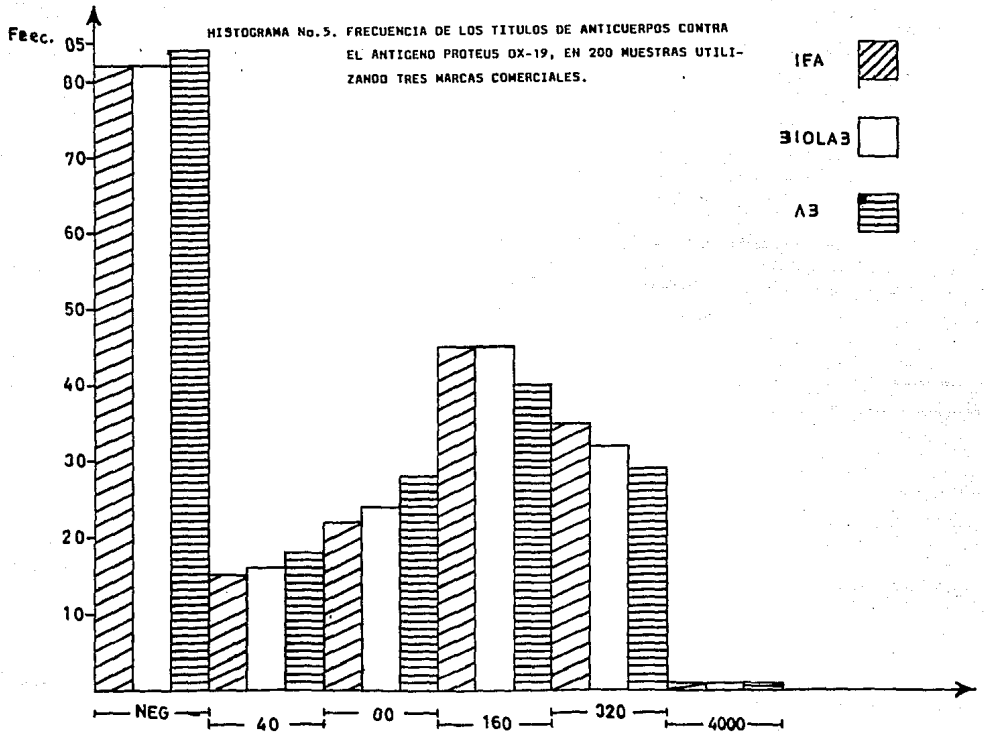




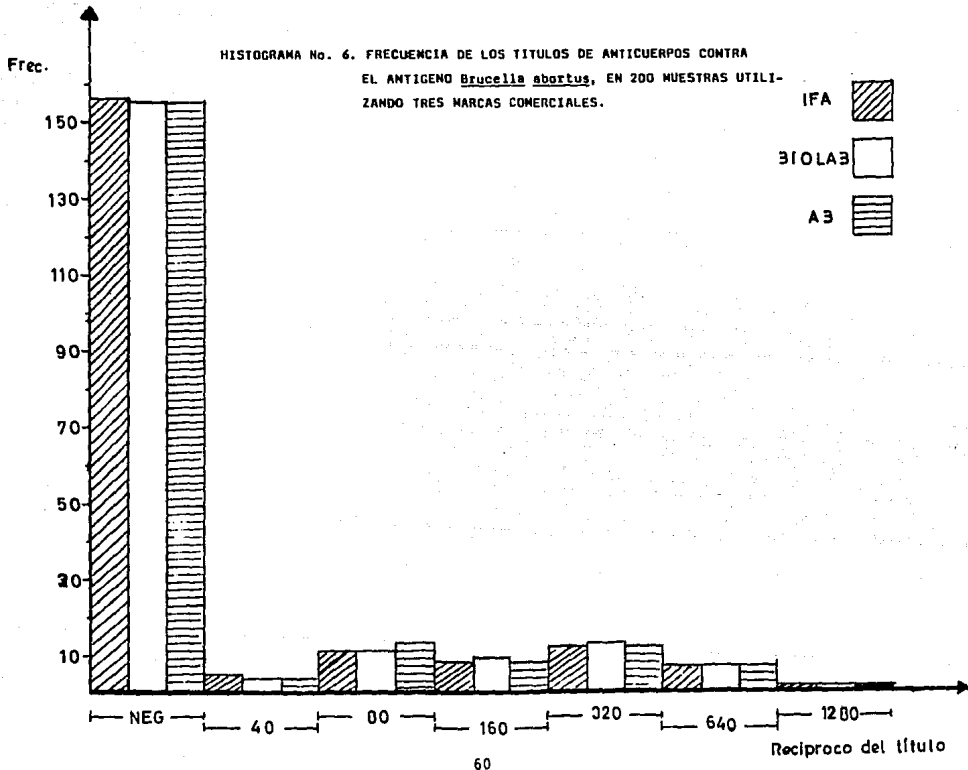
HISTOGRAMA No.3. FRECUENCIA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO PARATIFICO "A", EN 200 MUESTRAS UTILIZANDO TRES MARCAS COMERCIALES.

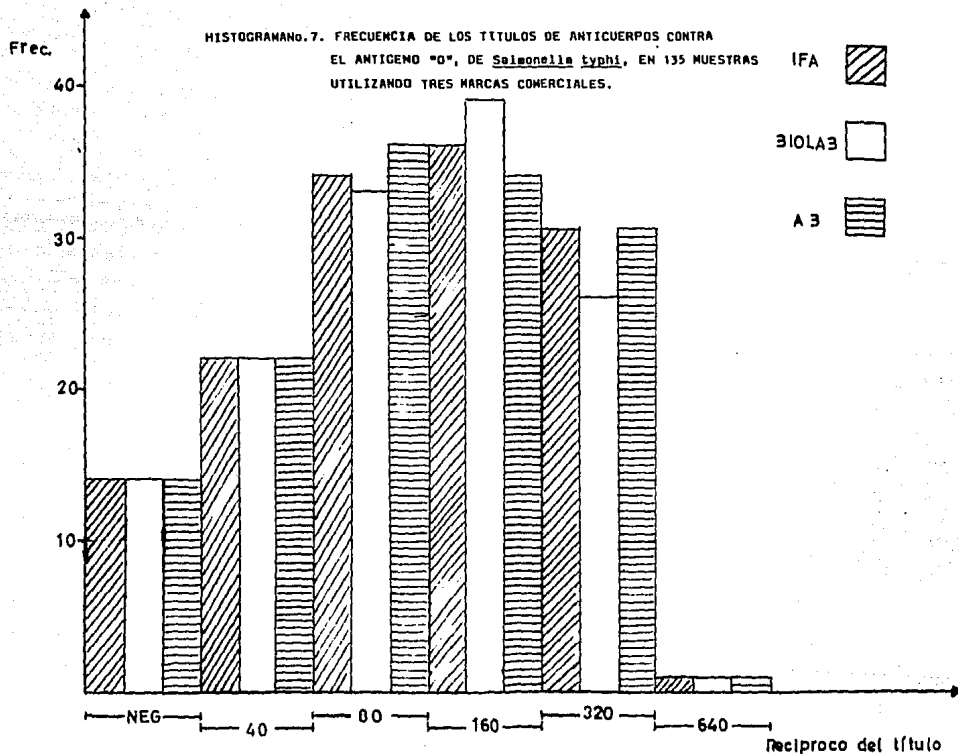


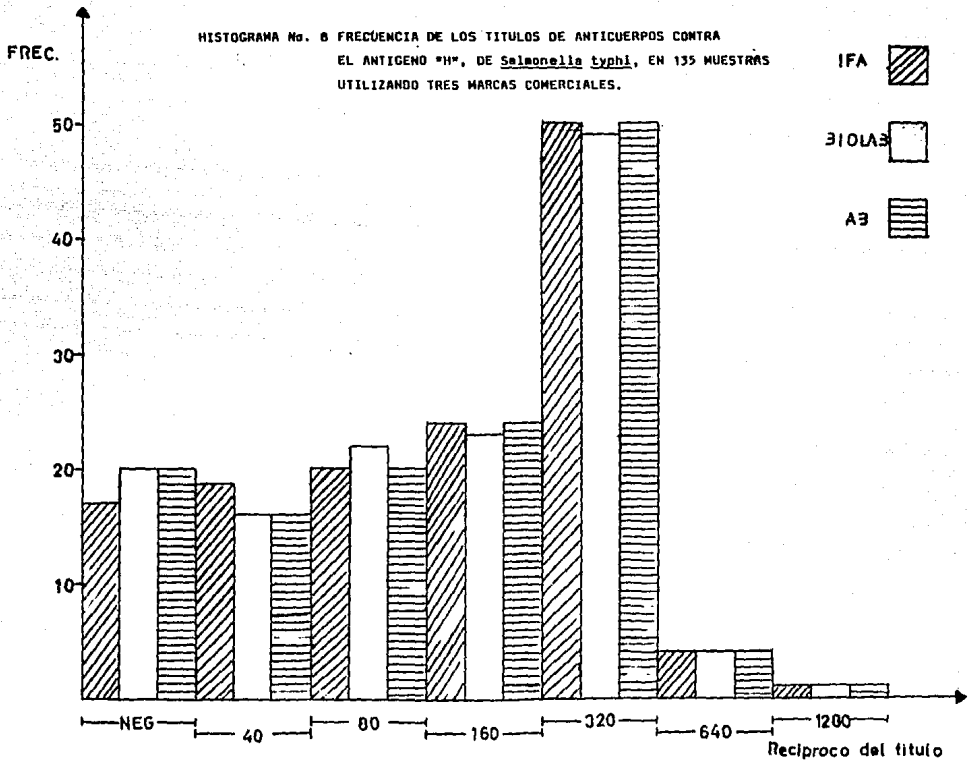


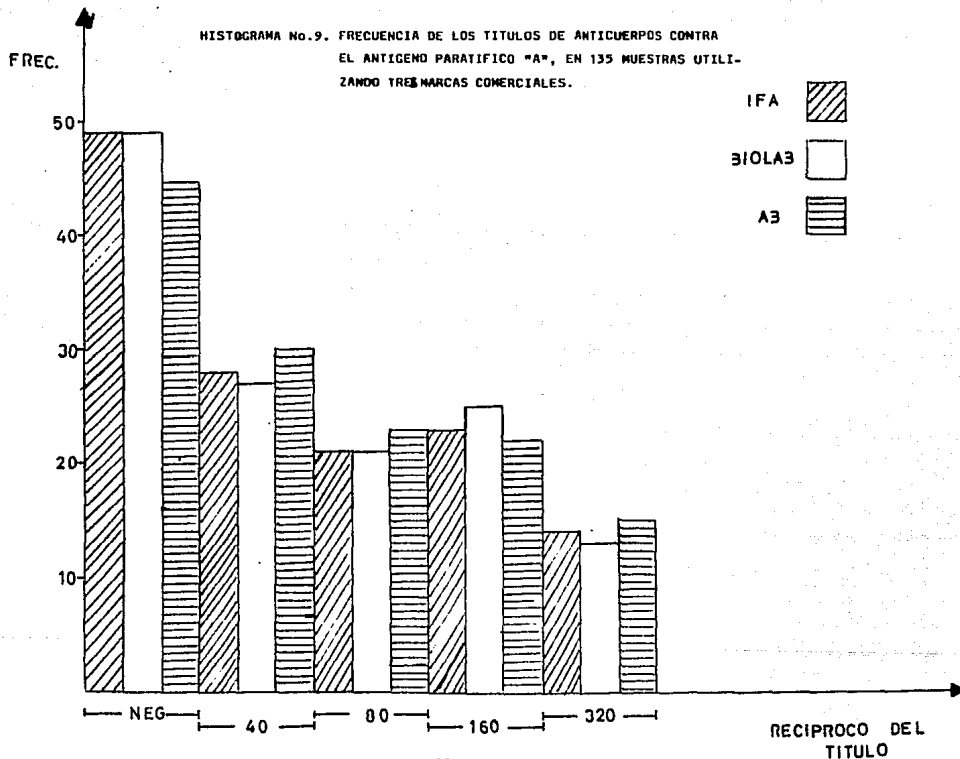


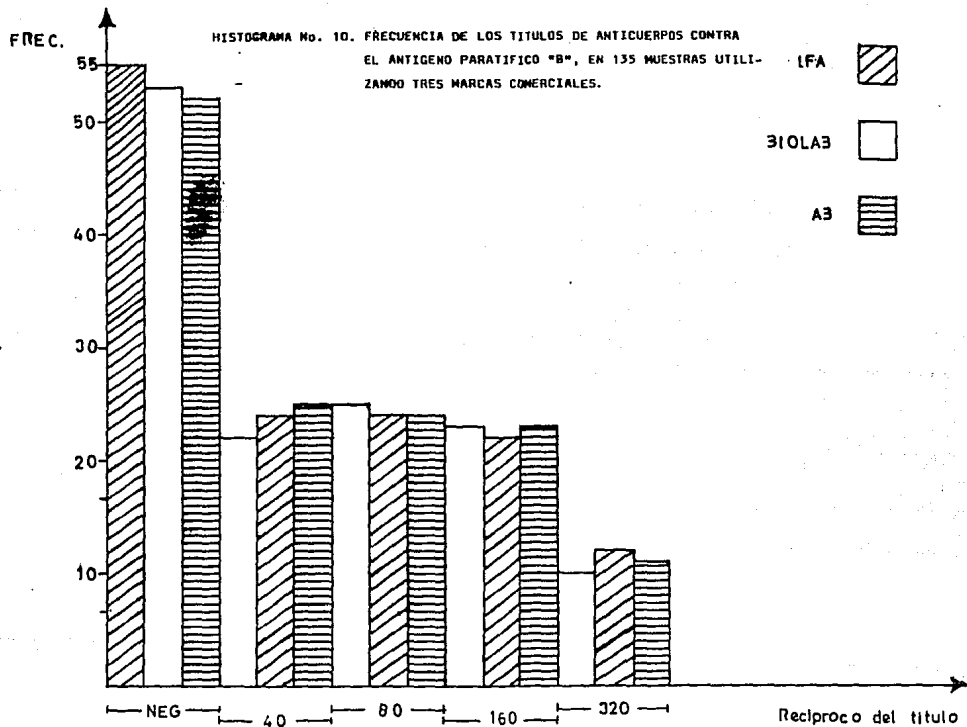














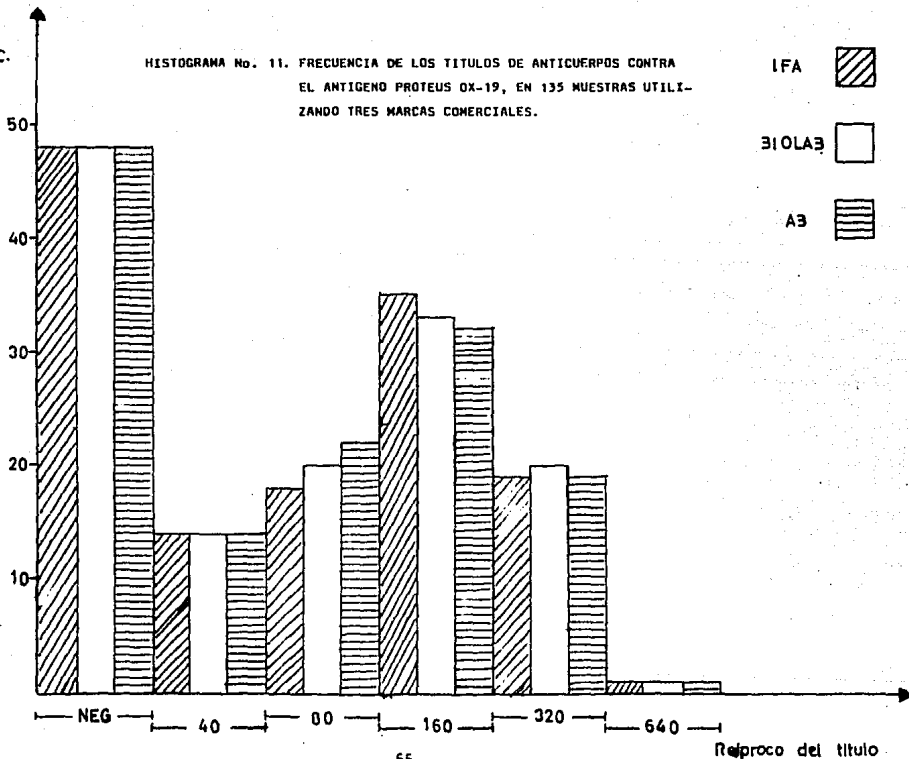
FREC.

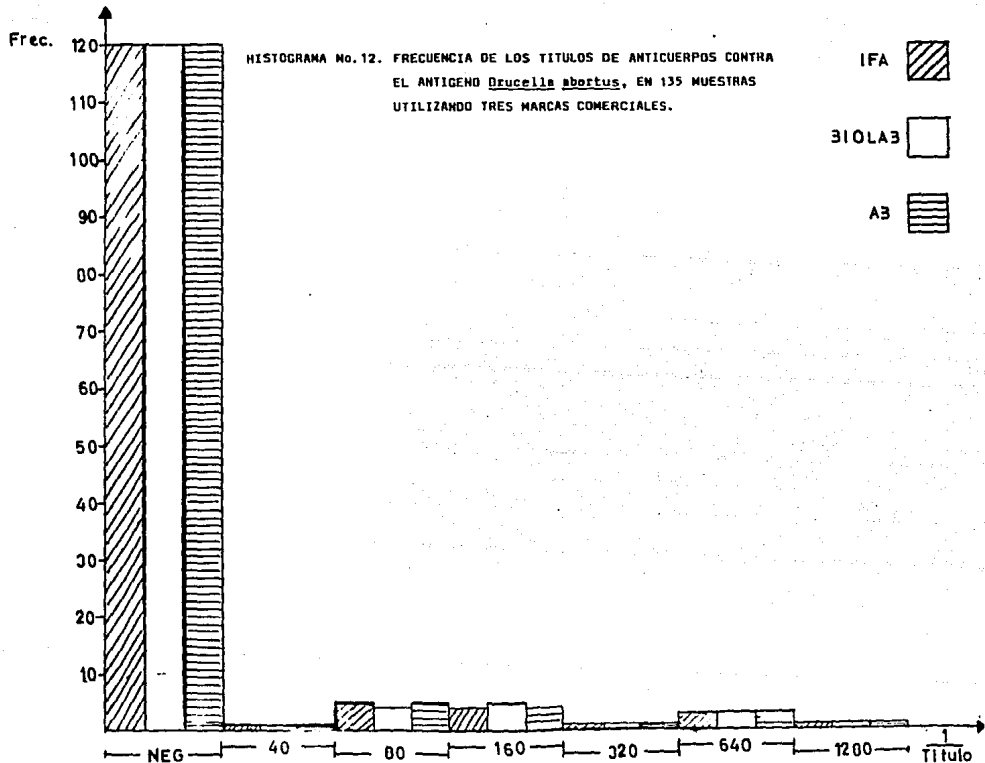
HISTOGRAMA No. 11. FRECUENCIA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO PROTEUS OX-19, EN 135 MUESTRAS UTILIZANDO TRES MARCAS COMERCIALES.

IFA 

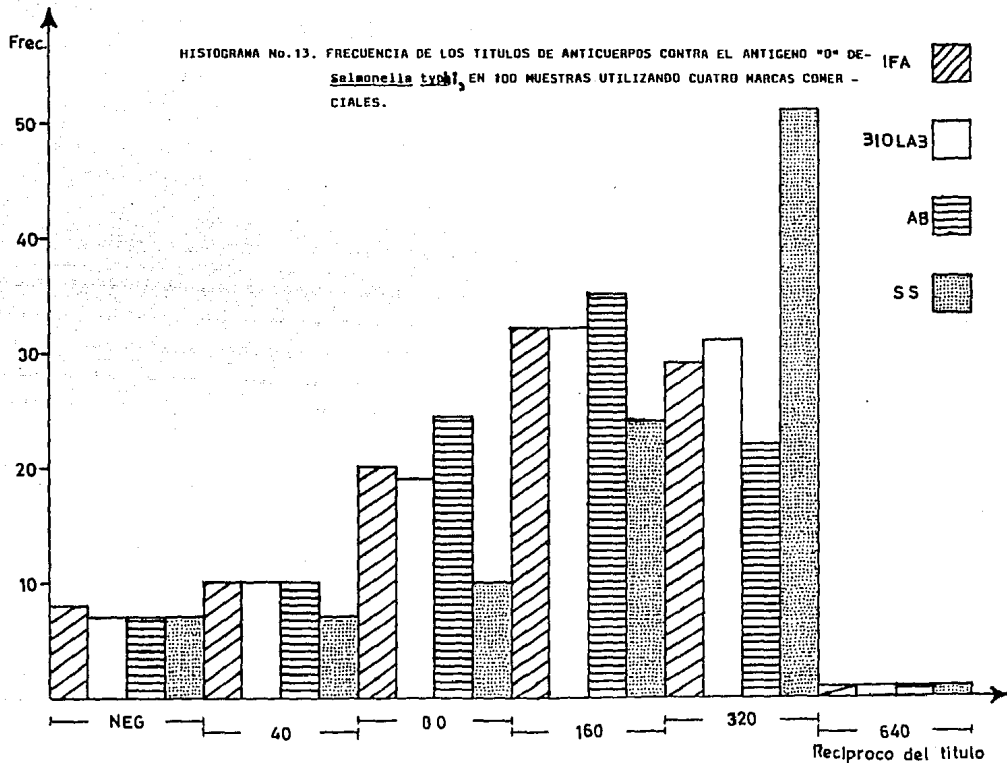
BIOLAB 

A3 

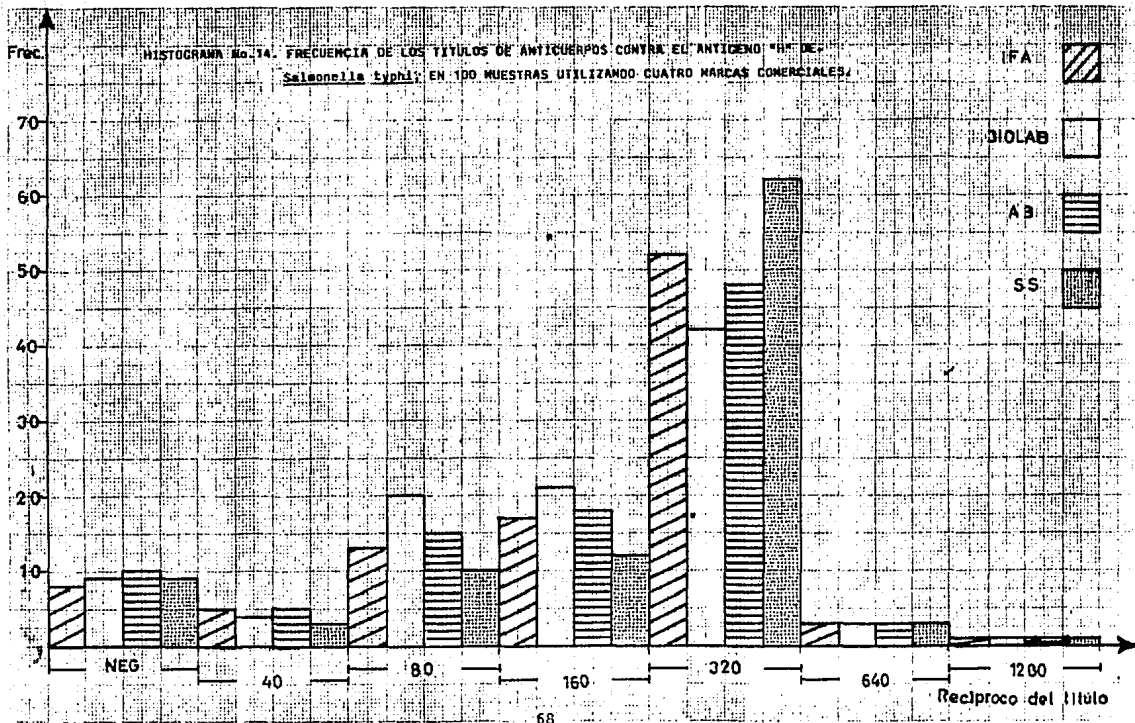


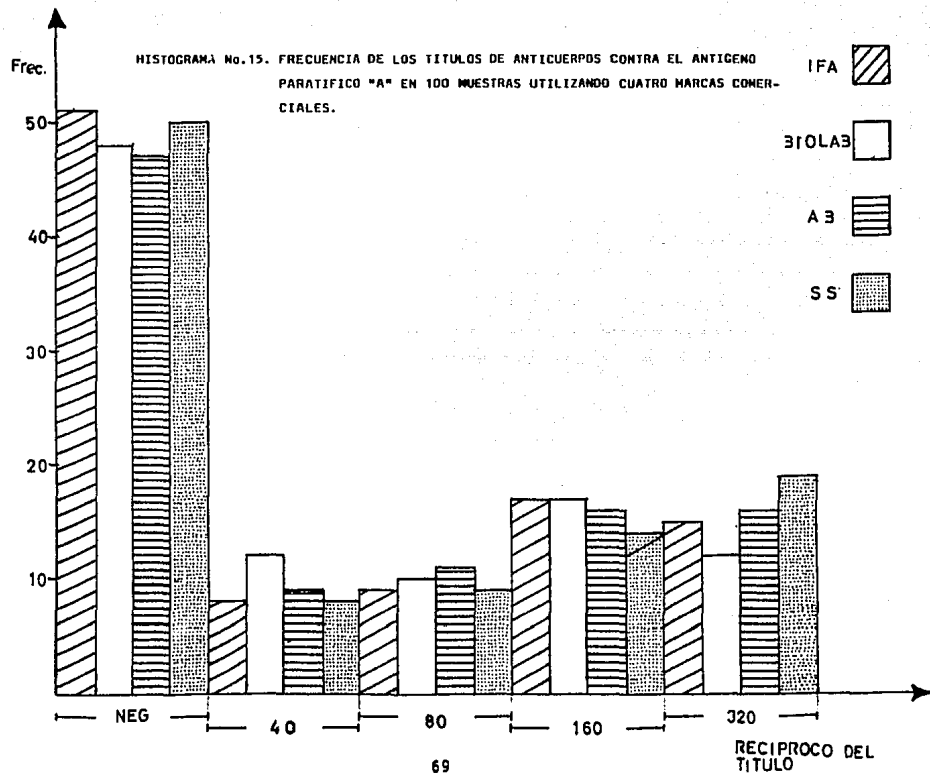


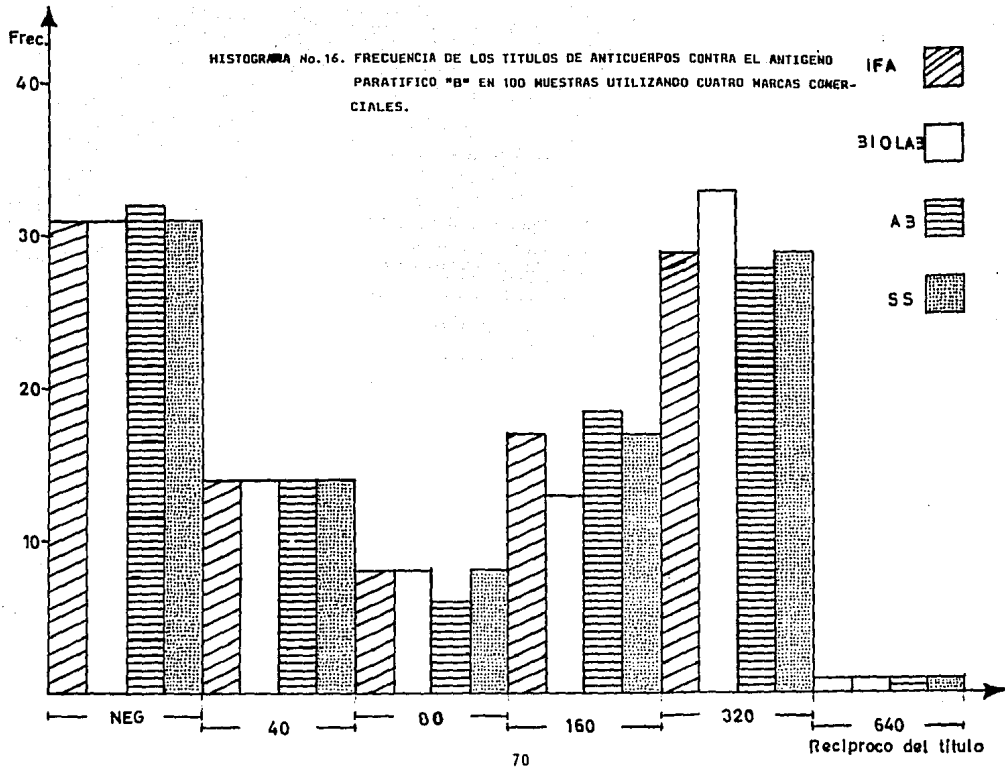
HISTOGRAMA No. 13. FRECUENCIA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO "O" DE-  
Salmonella typhi, EN 100 MUESTRAS UTILIZANDO CUATRO MARCAS COMER-  
 CIALES.











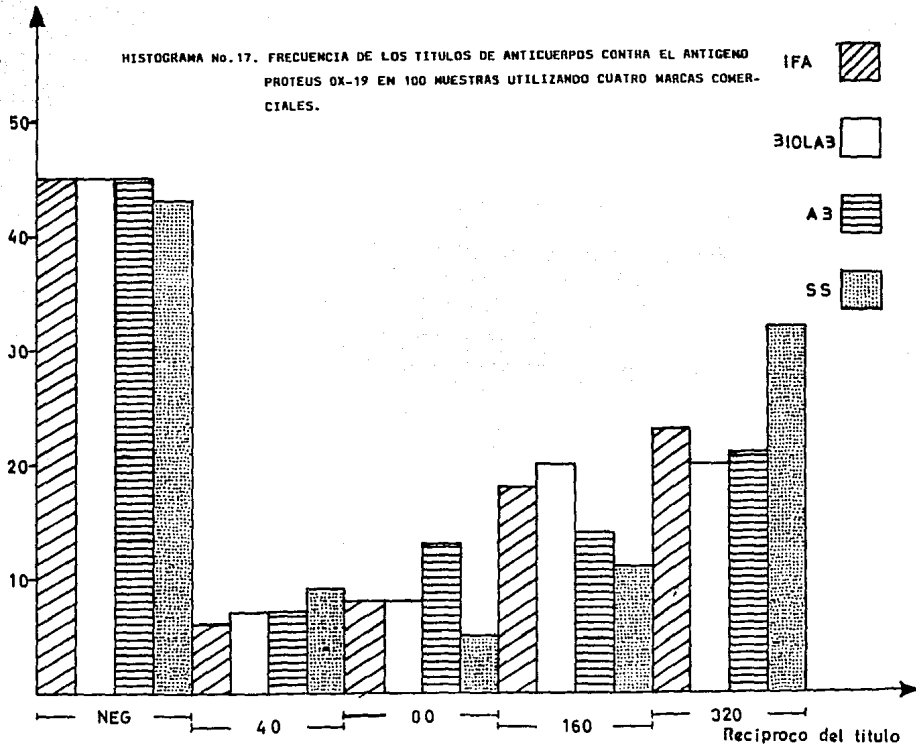


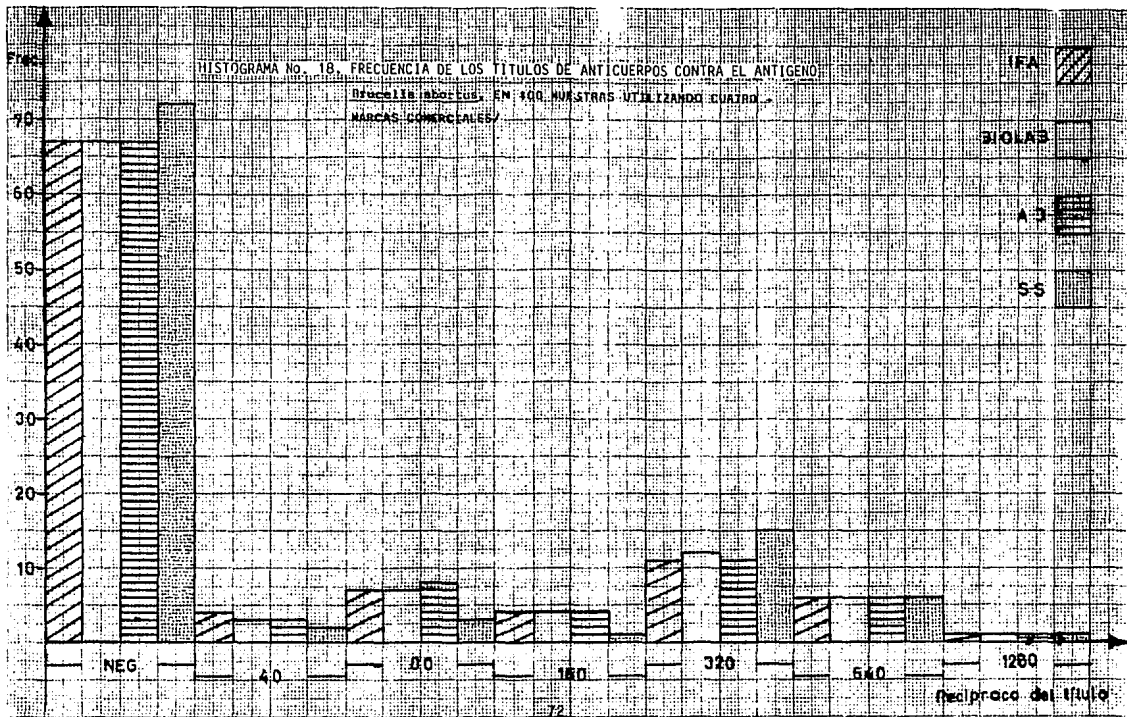


Frec.

HISTOGRAMA No. 17. FRECUENCIA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA EL ANTIGENO PROTEUS OX-19 EN 100 MUESTRAS UTILIZANDO CUATRO MARCAS COMERCIALES.

IFA   
BIOLA3   
A3   
SS 

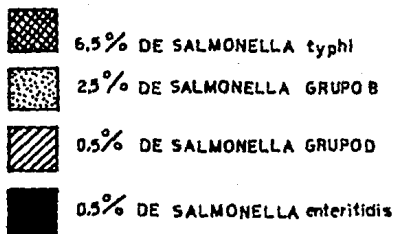
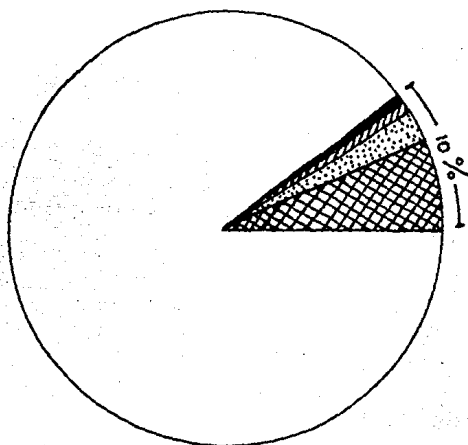




## GRAFICA No. 1

### CASOS POSITIVOS DE SALMONELLA

DE LAS 200 MUESTRAS TRABAJADAS SE OBTUVO EL 10% DE AISLAMIENTO DE *Salmonella* sp. CLASIFICADAS DE ACUERDO A PRUEBAS BIOQUIMICAS Y SEROTIFICACION



10%

**TABLA No. 1**

**DIAGNOSTICOS PRESUNTIVOS EN LAS SOLICITUDES PARA LA REALIZACION  
DE LAS REACCIONES FEBRILES**

Control de Brucelosis.  
Descartar Salmonelosis  
Síndrome febril.  
Fiebre.  
Probable fiebre tifoidea.  
Fiebre tifoidea.  
Fiebre en estudio.  
Brucelosis.  
Choque séptico.  
Meningoencefalitis.  
Ictericia.  
Salmonelosis.  
En estudio.  
Hemofilia.  
Tifo.  
Bloqueo.  
Probable colecistitis.  
Síndrome diarreico.  
Infección severa.  
Portador de Salmonella.  
Leptospirosis.  
Septicemia por Rickettsia.

**TABLA No. 2**  
**RELACION DE TITULOS CON EL HALLAZGO MICROBIOLÓGICO**  
**EN LOS CASOS POSITIVOS DE SALMONELLA**

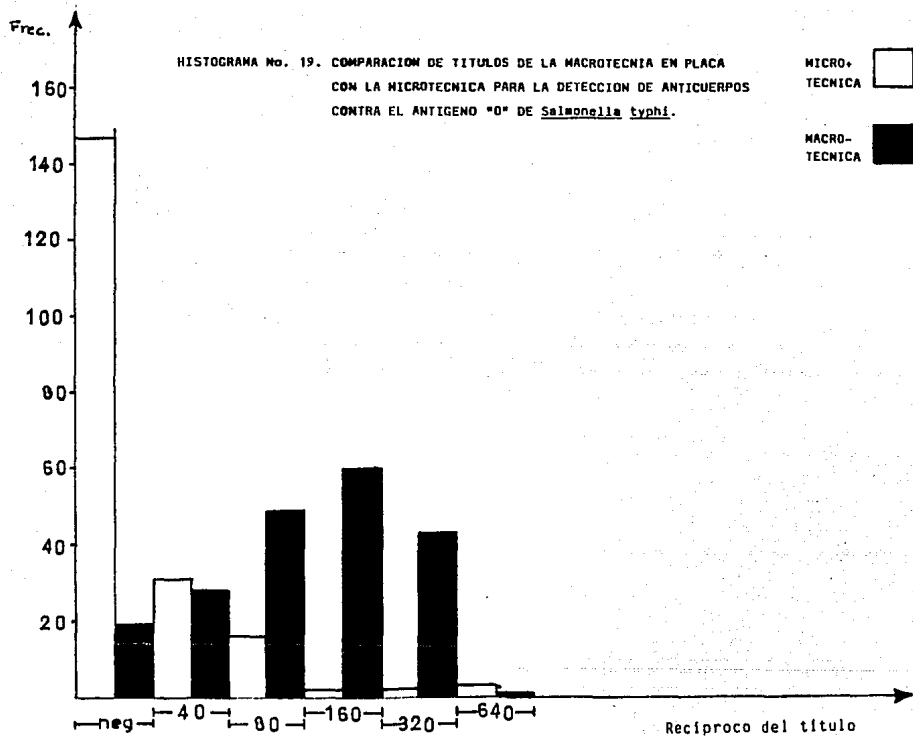
RECÍPROCO DEL TÍTULO DEL ANTÍGENO:				TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS		
O	H	A	B	COPROCULTIVO	HEMOCULTIVO	HIELOCULTIVO
80	320	320	40	+	NR	NR
320	320	320	320	+	+	NR
40	320	0	0	+	-	NR
80	640	40	40	+	+	NR
160	320	0	320	+	NR	NR
320	640	160	320	+	+	NR
320	640	160	160	NR	+	NR
80	320	0	80	NR	+	NR
40	320	40	40	+	NR	NR
80	80	40	160	+	NR	NR
160	320	320	320	+	NR	NR
160	320	0	320	NR	+	NR
320	320	80	80	NR	+	+
160	320	40	160	+	NR	NR
320	320	40	80	+	NR	NR
320	320	160	0	+	+	+
320	320	160	320	+	NR	NR
320	320	160	0	NR	+	NR
320	160	160	0	+	NR	+
320	320	0	0	NR	+	NR

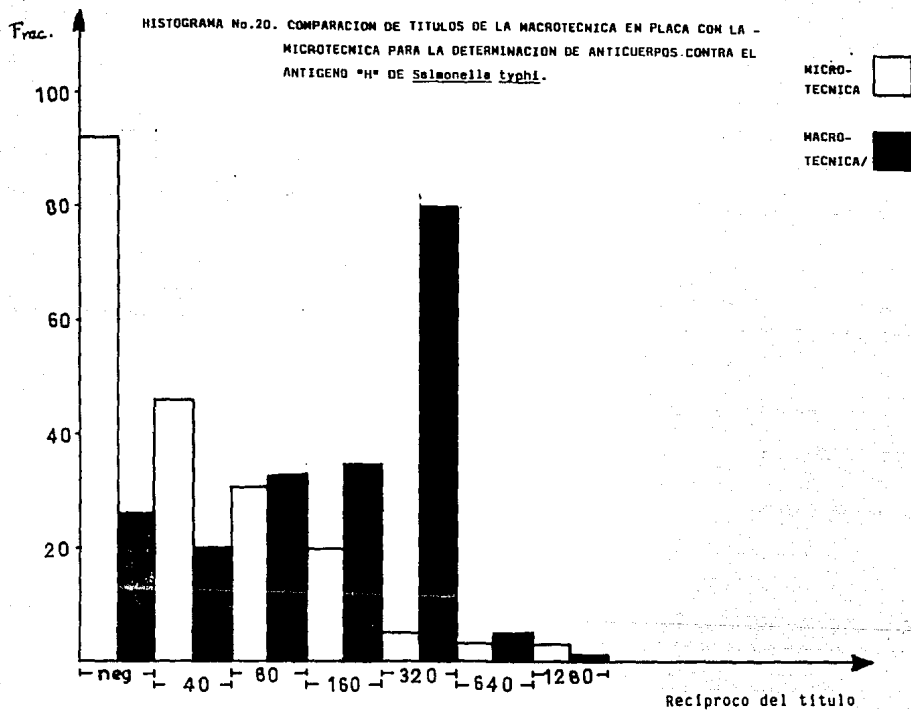
+ = POSITIVO

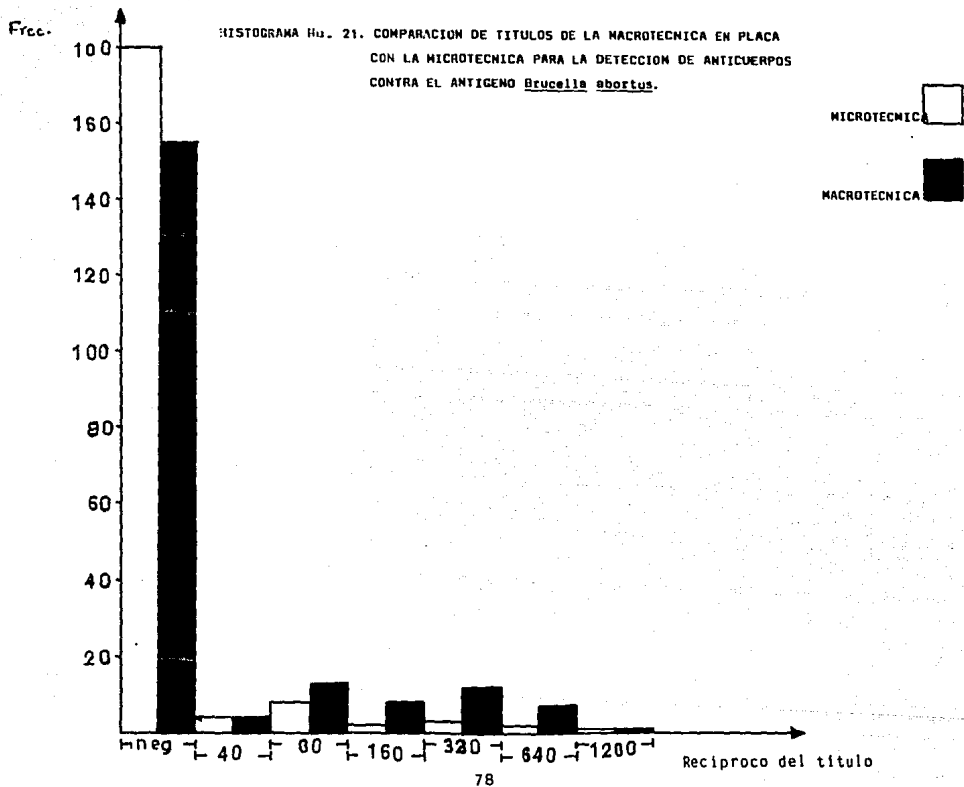
- = NEGATIVO

NR= No se realizó









5.1 RESULTADOS ESTADÍSTICOS

PROCEDIMIENTO: Análisis de Varianza

paquete de Análisis Estadístico SAS (Statistical Analysis System)

Centro de Estadística y Cálculo

Colegio de Postgraduados, Chapingo México.

Con un 95% de Confianza tenemos que:

Si  $Pr > F$  es  $> 0.05$  es significativo que los reactivos son iguales.

Si  $Pr > F$  es  $< 0.05$  es significativo que los reactivos son diferentes

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO "O"  
DE Salmonella typhi

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	16028344.00	6242.667
Error	599	16040829.33	26848.147

$F = 0.23$   $Pr > F = 0.7926$  Por lo tanto los reactivos son iguales

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO "H"  
DE Salmonella typhi

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	12475368.84	6274.037
Error	599	12487916.92	21002.504

$F = 0.30$   $Pr > F = 0.7419$  Por lo tanto los reactivos son iguales.

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO  
PARATÍFICO A

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	6369216.00	880.0000
Error	599	6370316.00	10663.7025

$F = 0.30$   $Pr > F = 0.7419$  Por lo tanto los reactivos son iguales

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO

PARATIFICO B

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	7854096.00	690.6667
Error	599	7855477.33	13155.9397

F= 0.07 Pr > F 0.9278 Por lo tanto los reactivos son iguales

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO

PROTEUS OX-19

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	53202264.00	5768.000
Error	599	53213800.00	89116.020

F= 0.06 Pr > F 0.9373 Por lo tanto los reactivos son iguales

PARA LOS TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO

Brucella abortus

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	597	15976760.00	258.6667
Error	599	15977277.33	26761.7420

F= 0.01 Pr > F 0.9904 Por lo tanto los reactivos son iguales

COMPARACION DE LA MACROTECNICA CON LA MICROTECNICA PARA LOS  
TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO "O" DE Salmonella typhi

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	398	37398224.0	1382976.0
Error	399	51228000.0	93960.0

F= 147.18 Pr > F 0.0001 Por lo tanto las técnicas son diferentes

COMPARACION DE LA MICROTECNICA CON LA MACROTECNICA PARA LOS  
TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO "H" DE Salmonella typhi

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	398	11850496.0	1345600.0
Error	399	13196096.0	29775.1

$F = 147.18$   $Pr > F = 0.0001$  Por lo tanto las técnicas son diferentes

COMPARACION DE LA MICROTECNICA CON LA MACROTECNICA PARA LOS  
TITULOS DE ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO Brucella abortus

	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados
Reactivo	398	8065120.00	133384.00
Error	399	8203504.00	20264.12

$F = 6.83$   $Pr > F = 0.0093$  Por lo tanto las técnicas son diferentes

## 6.- DISCUSION DE RESULTADOS

Es de gran importancia contar con pruebas serológicas, ya que estas ayudan a confirmar el diagnóstico de la enfermedad. Sin pasar por alto que la confirmación se consigue exclusivamente con el aislamiento del agente etiológico.

A pesar de que existen muchas pruebas serológicas para el diagnóstico de fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, brucelosis y tifo-exantemático clásico, en nuestro país se siguen usando las pruebas más antiguas denominadas Reacciones Febriles donde se utilizan antígenos fabricados por cuatro marcas comerciales (IFA, Biolab, Andre Bigaux y S.S.), las cuales se compararon en el presente trabajo.

Observando en general los histogramas, se puede ver que no hay mucha diferencia en las frecuencias de los títulos de anticuerpo contra los antígenos, de una marca a otra, lo que quiere decir que no hay diferencia significativa de una marca a otra comprobándose estadísticamente.

Se puede decir que las diferentes marcas comerciales tienen buena calidad en cuanto a su producción; la única diferencia apreciada fué el tamaño de aglutinación, ya que para Andre Bigaux esta es mayor, esto es, los grupos son más grandes que para Biolab e IFA en los que la aglutinación es tan fina que la observación se tiene que hacer detenidamente.

Y aún resulta extremadamente difícil la observación de la aglutinación con los antígenos producidos por S.S., ya que además de tener una aglutinación mucho muy fina, la coloración que facilita la apreciación de la aglutinación es muy clara dificultando su interpretación.

Por otra parte se aprecia que la mayor frecuencia para el anticuerpo contra el antígeno "O" de Salmonella typhi se observa en el título 1:160 en las 200 muestras con IFA, Biolab y André Bigaux. - Con este título se aprecia que estamos en contacto con Salmonella typhi muy a menudo debido a las condiciones higiénicas y socioeconómicas en las que nos encontramos.

Para el anticuerpo contra el antígeno "H" de Salmonella typhi se tiene su mayor frecuencia en el título 1:320 en las 200 muestras explicándose de igual manera que para el anticuerpo contra el antígeno "O".

En la gráfica No. 1 se aprecia que Salmonella typhi resulta - sin duda con 6.5% la más frecuente en el presente trabajo, seguido con 2.5% de Salmonella del grupo B no especificando que se trate de Salmonella paratífico B, 0.5% de Salmonella del grupo D y 0.5% de Salmonella enteritidis.

El anticuerpo contra el antígeno paratífico A muestra su mayor frecuencia en el título negativo lo cual indica que no tenemos mucho contacto con Salmonella paratífico A. Al igual que el anticuerpo contra el antígeno paratífico A el anticuerpo contra el antígeno paratífico B tiene su mayor frecuencia en el valor negativo que nos dice que tampoco tenemos mucho contacto con la Salmonella paratífico B.

El anticuerpo contra el antígeno Proteus OX-19 que es un antígeno no específico para Rickettsia prowazekii tiene su mayor frecuencia en el valor negativo que nos dice que nos estamos en contacto con Rickettsia prowazekii y no estamos en una zona endémica, un título muy frecuente que el negativo es 1:160, pero este título se presta a confusión, ya que no se detectó ningún caso de tifo exantemático clásico. Esto quiere decir que se debe utilizar un antígeno específico.

Se aprecia también un caso con título 1:4000, que no se comprobó



que se tratara de Rickettsia prowazekii, ya que la muestra fué mandada de Querétaro a C.U. para su aislamiento y nunca se obtuvo noticia del resultado y el paciente murió.

El anticuerpo contra el antígeno Brucella abortus tiene su mayor frecuencia en el valor negativo, demostrando que en el presente trabajo, hay poco contacto con Brucella abortus. Esto es debido a que probablemente el contacto con ganado bovino es poco frecuente, y los que llegan a presentarse pueden ser ocasionados por las otras vías de transmisión o sea la vía oral por lácteos; o por inoculación. (17)

De las primeras 100 muestras, cuando se buscó si se les había practicado hemocultivo, coprocultivo o mielocultivo, después de haberse practicado las Reacciones Febriles. Se encontró que a sólo 35 muestras se les había practicado tales exámenes. Lo que quiere decir que la mayoría de los médicos toman los valores de las Reacciones Febriles como diagnóstico-confirmativo.

Sumando estas muestras (35) con las otras 100 muestras trabajadas las cuales se escogieron a las que se les había realizado hemocultivo, coprocultivo o mielocultivo. Haciendo un total de 135 muestras las cuales se compararon sus títulos de cada anticuerpo contra los antígenos con tres marcas comerciales (IFA, Biolab y André Bigaux) Y se aprecian resultados similares a los encontrados con las 200 muestras.

La diferencia observada entre un laboratorio a otro, se deben a errores humanos como son: la interpretación al leer la aglutinación, al pipetear. Y al método utilizado porque en el método de aglutinación rápida en placa (Macrotécnica) se aprecian títulos más altos que en la microtécnica de aglutinación, teniendo un rango de 2 a 3 títulos. Comprobándose también estadísticamente, que la macrotécnica y la microtécnica en promedio son diferentes entre si.

La sensibilidad obtenida se aprecia al relacionar los títulos - con los casos positivos de Salmonella. También se observa que no en todos los casos se aísla el microorganismo en todas las técnicas microbiológicas, esto se explica debido a que dependiendo de la etapa de la enfermedad se puede aislar en determinada técnica (coprocultivo, hemocultivo o mielocultivo). Explicándose de igual forma los casos en que se observaron resultados de títulos muy altos sin haberse obtenido ningún aislamiento.

También es apreciable que como en este caso se obtuvieron sólo datos positivos para Salmonella, los antígenos que tienen títulos - más altos son; el antígeno H con títulos mayores y con valores más bajos el antígeno O.

Sin embargo se han reportado otras técnicas que ofrecen mayores ventajas sobre estas técnicas de aglutinación, como es para Salmonella la aglutinación con látex (51), aglutinación bacteriana pasiva (52), la prueba de ELISA que esta reportada con una sensibilidad y especificidad mayor que la prueba de Widal, además de que se trabaja con - muestras muy pequeñas. (53,58,60,68)

El antígeno Proteus OX-19 que no es específico tiene desventajas sobre el antígeno específico Rickettsia prowazekii ya que utilizando Proteus OX-19 es imposible diferenciar entre tifus murino y tifus epidémico, por no ser un antígeno específico.

De las pruebas que utilizan el antígeno específico son: la prueba de microaglutinación que esta reportada como útil, práctica y - reproducible (26,29,72), la prueba de inmunofluorescencia proporciona buena sensibilidad, reproducibilidad y comodidad (29), la prueba de aglutinación indirecta tiene favorables resultados (27), y la - prueba de ELISA que ofrece gran sensibilidad, es reproducible y - fácil. (26)

Para Brucella abortus la prueba de aglutinación tiene desventajas sobre otras pruebas como son: el suero que posee inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA) IgG e IgM en la enfermedad aguda

IgG e IgA en la enfermedad crónica (35) provoca fenómenos de bloqueo en esta prueba de aglutinación. Además - que no se puede diferenciar la enfermedad aguda de la crónica.

Las pruebas que ofrecen ventajas son la prueba de radioinmunoensayo (36,38); prueba de hemaglutinación pasiva (37,38); y la prueba de ELISA (38).

## 7.- CONCLUSIONES

- Con un 95% de confianza se puede concluir que se presenta evidencia estadística para considerar diferente alguna de las marcas comerciales utilizadas.
- Los antígenos febriles IFA, Biolab, y André Bigaux tienen buena sensibilidad.
- Los antígenos febriles de la S.S tienen menor calidad que los fabricados por André Bigaux, IFA y Biolab.
- Las Reacciones Febriles no deben utilizarse como pruebas de diagnóstico-confirmativo.
- Con un 95% de confianza se tiene evidencia estadística para considerar que en promedio la macrotécnica en placa y la microtécnica son diferentes entre sí.
- La brucelosis bovina es una enfermedad que no es frecuente, debido a que no se detectó ningún caso de Brucelosis.

## 8.- COMENTARIOS

Los antígenos Paratífico A y B; y Proteus OX-19, podrían dejar de utilizarse de rutina de las Reacciones Febriles - en nuestro medio, ya que no es una zona endémica y los resultados se prestan a confusión.

Deberían de utilizarse sólo en los casos indicados por el médico cuando este tenga suficientes bases para pedirlo. O bien realizar pruebas más específicas, para que no exista confusión.

### 9.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- BENNETT C. ; "Serología clínica", Editorial Panamericana, Buenos Aires Argentina 1976, pág. 130-138.
- 2.- DAVIDSOHN I. ; BERNARD J. ; "Diagnóstico clínico por el laboratorio", sexta edición; Salvat Editores; Barcelona España 1978 - pág. 1255.
- 3.- KOLMER A.J. ; "Diagnóstico clínico por los análisis de laboratorio", tercera edición; Editorial Interamericana; México 1982, - pág. 408-425.
- 4.- LYNCH J.W. ; STANLEY S.R. ; NELLOR D.L.; INWOOD J.H.; "Métodos de laboratorio"; segunda edición; Editorial Interamericana; México 1982; pág. 992-996.
- 5.- WIDMAN K.F.; "Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio"; segunda edición; Editorial JIMS; Barcelona España 1981; - pág. 379-380, 407-411.
- 6.- RUIZ CASTAÑEDA H.; "Reacciones serológicas para el diagnóstico de las reacciones febriles"; Bol. Med. Hosp. Inf. 18:63-67; 1961
- 7.- JAETZ E.; MELNICK J.L.; ADELBERG E.A.; "Manual de Microbiología Médica"; novena edición; Editorial El manual moderno; México 1981 pág. 296-298.
- 8.- LEDEBULE LABORATORIES DIVISION AMERICAN CYANAMID COMPANY; "Laboratory diagnosis of enteric and other febrile diseases"; Peal - River New York 1979.
- 9.- MANUAL BIOXON; "Antígenos febriles"; Bioxón de México S.A. de C. V. 1980.
- 10.-BURROWS W.; "Tratado de microbiología"; vigésima edición; Ed. Interamericana; México 1973; pág. 429-444, 472-481, 731-750.
- 11.-SMITH D.; CONANT T.; "Bacteriología de Zinsser"; segunda edición Editorial Hispano Americana; México 1964; pág. 444-463.

- 12.-MARION E.W.; ECKEL H.; "Microbiology in patient care"; second edition; Macmillan Publishing; New York 1969; pág. 361-362.
- 13.-WILLIS R.A.; WILLIS A.T.; "Principles of pathology and bacteriology"; third edition; Butterworth and Co.; London 1972; pág. 173-8.
- 14.-WATSON R.C.; "Laboratory and clinical investigation of recovery of Salmonella typhi from blood"; J.CLIN.MICROBIOL.; 7(2):122-6; 1978.
- 15.-PROTELL R.L.; SOLOWAY R.D.; MARTIN W.J.; SHOENFIELD L.J.; SUMMER KILL W.H.J.; "Anti-Salmonella agglutinins in chronic active liver diseases"; Lancet 14:330-332; 1974.
- 16.-EDWARDS P.R.; AND EWING H.W.; "Identification of Enterobacteriaceae"; third edition; Burgess Pub. Co.; 1972; pág. 146-206.
- 17.-SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA; "Control de enfermedades transmisibles"; segunda edición; México 1975; pág. 35-48, 161-167
- 18.-GIROUD PAUL; JADIN JEAN; "En 1974 la question que nous avons posé en 1950 est toujours discutée: Les animaux domestiques ou sauvages démontrent-ils un cycle particulier de conservation de R. prowazeki ou une transformation antigénique d'une rickettsie" Bull. Soc. Pathol. Exot. 68(1):14-18; 1975.
- 19.-RAMM E.L. and HERBERT H. WINKLER; "Rickettsial Hemolysis: Adsorption of Rickettsiae to erythrocytes"; Infect Immun. 7:93-9; - Jan 1973.
- 20.-DYER E.R.; "The rickettsial diseases"; JAMA 124:1165-1172; 1944.
- 21.-SHIH-KAN CHANG; "A serologically-active erythrocyte-sensitizing substance from typhus rickettsiae"; J.Immunol. 70:212-214; 1952.
- 22.-SHUBERT H.J.; HOLDEMAN L.; MARTIN D.S.; "Evaluation of certain factors which affect the titers obtained in the Weil-Felix test"; J.Lab.Clin.Med. 44:194; 1964.

- 23.-PLOTZ H.; and WERTMAN K.; "Modification of serological response to infection with murine typhus by previous immunization with - epidemic typhus vaccine"; Proc. Soc. Exper. Biol. Med.; 59:248-251 1945.
- 24.-ZARAFONETIS C.J.D.; "Well-Felix and typhus complement-fixation test in relapsing fever, with special reference to B. proteus OX-K agglutination"; J. Immunol. 52:189-199; 1945.
- 25.-RUIZ CASTAÑEDA M.; "The antigenic relationship between bacillus Proteus X-19 and rickettsiae"; J. Expr. Med. 62:289; 1935.
- 26.-SIDNEY HALL; DASH A.G.; and WEISS E.; "Sensitive Enzymelinked - immunosorbent assay for detection of antibodies against typhus - rickettsiae, Rickettsia prowazekii and Rickettsia typhi"; J. Clin Microbiol 6(2):101-10; 1977.
- 27.-OSTERMAN V.J.; and EISENMAN S.C.; "Rickettsial indirect hemagglutination test: Isolation of erythrocyte-sensitizing substance"; J. Clin. Microbiol 8(2):189-196; 1978.
- 28.-WALKER T.S.; and WINKLER H.H.; "Rickettsial hemolysis: Rapid method for enumeration of metabolically active typhus rickettsiae"; J. Clin. Microbiol 9(5):645-647; 1979.
- 29.-LENZTE H.E.; BALOWS A.; HAUSLER J.W.; TRUANT P.J.; "Manual de - Microbiología Clínica"; tercera edición; Editorial Médica Panaméricana; Buenos Aires Argentina; 1982; pág. 398-402, 1107-1120.
- 30.-HAAS R.; VIVELL O.; "Infecciones humanas por virus y rickettsias"; Ed. Científico Médica; Barcelona España 1968; pág. 869-884.
- 31.-HUDDLESON I.F.; and ABELL E.; "Rapid macroscopic agglutination - for the serum diagnosis of Bang's abortion disease"; J. Infect Dis 42:242-247; 1928.
- 32.-FEINBERG R.J.; and WRIGHT G.G.; "Factors the agglutination titration in human brucellosis"; J. Immunol 67:115-122; 1951.



- 33.-GRIFFITTS J.J.; "Agglutination and an agglutinin-blocking property in serums from known cases of brucellosis"; *Pub. Health Reports* 62:865-885; 1947.
- 34.-SPINK W.W.; "The laboratory in the diagnosis of brucellosis"; - *Amer. J. Clin. Path.* 22:201-210; 1952.
- 35.-KERR W.R.; Mc CAUGHEY W.J.; COUGHLAN J.D.; PAYNE J.H.; QUATE R.A.; ROBERTSON L.; FARRELL I.D.; "Techniques and interpretations in the serological diagnosis of brucellosis in man"; *J. Med. Microbiol* 1:181-193; 1968.
- 36.-WILSON D.V.; THORNLEY M.J.; COOMBS R.R.; "A solid phase assay with radioactively-labelled antibody for the detection of Brucella abortus"; *J. Med. Microbiol* 10:281-292; 1977.
- 37.-RENOUX M.; "A passive hemagglutination test for the detection of Brucella infection"; *J. Immunol Methods* 32(4):349-55; 1980.
- 38.-MAQEE J.T.; "An enzyme-labelled immunosorbent assay for Brucella abortus antibodies"; *J. Med. Microbiol* 13:167-172; 1980.
- 39.-RUIZ CASTANEDA; "Brucellosis"; Ediciones de la Revista Médica; México D.F.; 1942; pág. 15-35.
- 40.-ACHA N.P.; BORIS SZYFRES; "Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales"; Organización Panaméricana de la Salud; OMS; segunda impresión; Washington E.U.A. 1981; pág.6-23
- 41.-FOREST HUDLESON D.V.H.; "Brucellosis in man and animals"; New York E.U.A.; 1943.
- 42.-EVANS ALICE; RUIZ CASTANEDA; MAZZA SALVADOR; "Primera Comisión Interamericana de la Brucellosis"; Ediciones del Hospital Gral. - S.S.A.; México 1948.
- 43.-RUBIN H.R.; WEINSTEIN M.D.; "Salmonellosis" microbiologic, pathologic and clinical features; Stratton Intercontinental Medical - Book Corporation; New York 1979.

- 44.-HOFFMAN S.L.; FLANIGAN T.P.; KLAUCKE D.; LEKSANA B.; RACKHILL R. C.; "The Widal slide agglutination test, a valuable rapid diagnostic test in typhoid fever patients at the infectious diseases Hospital of Jakarta"; *Am.J.Epidemiol* may;123(5):899-75; 1986.
- 45.-CALDERON I.; LOBOS S.R.; ROJAS H.A.; PALOMINO C.; RODRIGUEZ L.; -MORA G.C.; "Antibodies to porin antigens of Salmonella typhi induced during typhoid infection in humans".*Infect. Immun.*Apr.;52 (1): 209-12; 1986.
- 46.-FU S.J.; HUANG H.S.; "Diagnostic value of a single Widal test"; -*Chung Hua Min Kuo Wei Sheng Wu Chu Mien I Hsuch Tsa Chih* ; Nov;-18 (4): 256-63; 1985.
- 47.-BARRET T.J.; "Improvement of the indirect hemagglutination assay for Salmonella typhi Vi antibodies by use of glutaraldehyde-fixed erythrocytes"; *J.Clin.Microbiol* Oct; 22(4):662-3; 1985.
- 48.-ZUERLEIN T.J.; SMITH P.H.; "The diagnostic utility of the febrile agglutinin tests". *JAMA* Sep 6; 254(9):1211-4; 1985.
- 49.-SHETTY N.P.; SRINIVAS H.; BHAT P.; "Coagglutination and counter-immunoelectrophoresis in the rapid diagnosis of typhoid fever"; *Am.J.Clin.Pathol.* jul;84(1):80-4; 1985.
- 50.-HIRSCHL A.; STANEK G.; ROTTER N.L.; CHAU P.Y.; NIEMETZ A.H.; "Antibody response to somatic antigen of Salmonella typhi in areas endemic and non-endemic for typhoid fever"; *Infect. Control* ; -mar; 6(3):110-4; 1985.
- 51.-TANTIVANICH S.; CHONGSANGRAN M.; SANGPETCHSONG V.; THARAVANIJ S.; "A simple and rapid diagnostic test for typhoid fever"; *J.Trop. - Med. Public Health.* sep; 15(3):317-22; 1984.
- 52.-JOHN T.J.; SIVADASAN K.; KUNEN B.; "Evaluation of passive bacterial agglutination for the diagnosis of typhoid fever"; *J.Clin.Microbiol* ; oct; 20(4):751-3; 1984.

- 53.-HARDIELLO S.; PIZZELLA T.; RUSSO M.; GALANTI B.; "Serodiagnosis of typhoid fever by enzyme-linked immunosorbent assay determination of anti-Salmonella typhi lipopolysaccharide antibodies"; J. Clin. Microbiol oct; 20(4):718-21; 1984.
- 54.-EL-OLEHY G.M.; ATTA A.A.; HAHMOUD J.H.; HANZAH E.G.; "Brucellosis in man. I. Serological diagnosis"; DEV BIOL STAND 56:565-72; 1984
- 55.-DOSHI N.; TAYLOR A.G.; "Comparisons of the Vi indirect fluorescent antibody test with the Widal agglutination method in the serodiagnosis of typhoid fever". J. Clin. Pathol. jul; 37(7):805-8; 1984.
- 56.-CHAU PY; WAN K.C.; TSANG R.S.; "Crossed immunoelectrophoretic analysis of anti-Salmonella typhi antibodies in sera of typhoid patients and carriers". Infect. Immun. mar; 43(3):1110-3; 1984.
- 57.-SIVADASAN K.; KURIEN B.; JOHN T.J.; "Rapid diagnosis of typhoid fever by antigen detection"; Lancet jan 21; 1(8369):134-5; 1984.
- 58.-LIM P.L.; HO MY; "Diagnosis of enteric fever by inhibition assay using peroxidase labelled monoclonal antibody and Salmonella typhi lipopolysaccharide"; aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. Dec; 61(pt6):637--704; 1983.
- 59.-TSANG R.S.; LUI S.W.; CHAU PY; "Antigenic analysis of Barbers' protein antigen prepared from Salmonella typhi and demonstration of protein-specific antibodies in sera of typhoid patients". Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg. apr; 254(2):244-52; 1983.
- 60.-HARDIELLO S.; PIZZELLA T.; RUSSO M.; GALANTI B.; "ELISA determination of IgM anti-LPS in the early phase of typhoid fever". Boll Ist. Sieroter Milan; sep 30; 62(4):372-75; 1983.
- 61.-SANGPATCHONG V.; THAKAVANIJJI S.; "Diagnosis of typhoid fever by indirect hemagglutination with lyophilized cells". J. Trop. Med. Public Health; sep; 14(5):374-9; 1983.

- 62.-ENGLEBERG H.C.; BARRET T.J.; FISHER H.; PORTER B.; HURTADO E.; "Identification of carrier by using Vi enzyme-linked immunosorbent assay serology in an outbreak of typhoid fever on an Indian reservation"; J.Clin.Microbiol.Dec; 18(6):1320-2; 1983.
- 63.-TAYLOR D.W.; HARRIS J.R.; BARRITT T.J.; HARGRETT N.T.; PRENTZELL I.; VALDIVIESO C.; PALOMINO C.; LEVINE M.M.; BLAKE P.; "Detection of urinary Vi antigen as a diagnostic test for typhoid fever"; J.Clin.Microbiol. oct; 18(4):872-6; 1983.
- 64.-LANATA C.G.; LEVINE M.M.; RISTORI C.; BLACK R.E.; JIMENEZ L.; SALCEDO M.; GARCIA J.; SOTOMAYOR V.; "Vi serology in detection of chronic Salmonella typhi carriers in an endemic area"; Lancet - aug 20; 2(8347):441-3; 1983.
- 65.-CHAU PY; TSANG H.S.; "Antibody response to the protein antigens of Salmonella typhi during typhoid infection and following vaccination with a live oral typhoid vaccine T y 21a"; Dev.Biol.Stand; 53:29-31; 1983.
- 66.-SUNDAEJ T.; ILANG B.; SUBRAMANIAN S.; "A study on the usefulness of counter immuno-electrophoresis for the detection of Salmonella typhi antigen in the sera of suspected cases of enteric fever"; - Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 77(2):194-7; 1983.
- 67.-BARRITT T.J.; BLAKE P.A.; BROWN S.L.; HOFFMAN L.; LLORTJ M.; FEELEY J.C.; "Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of human antibodies to detection of human antibodies to Salmonella typhi Vi antigen"; J.Clin.Microbiol.; apr;17(4):625-7; 1983.
- 68.-PANG T.; PUTHUCHEARY S.D.; "Significance and value of the Widal test in the diagnosis of typhoid fever in an endemic area"; J. - Clin.Pathol.; apr; 36(4):471-5; 1983.
- 69.-ROCHA LIMA H.; Arch. Schiffs y Tropenhyg 20, 17-31 (1916).

- 70.-BOZEMAN F.M.; B.L. ELISBERG; J.W. HUMPHRIES; K. RUNCIK; and D.B. PALMER; "Serologic evidence of Rickettsia canadæ infection of man"; J.Infect.Dis.; 121:367-371; 1970.
- 71.-SHEPARD C.C.; M.A. REDUS; T. TZIANABOS; and D.T. WARFIELD; "Recent experience with the complement fixation test in the laboratory diagnosis of rickettsial diseases in the United States; J. Clin.Microbiol.; 4:277-283; 1976.
- 72.-FISSET P.R.; H. ORMSBEE; R. SILBERMAN; M. PEACOCK; and S.H. SPIELMAN A.; "Microagglutination technique for the detection and measurement of rickettsial antibodies"; Acta Virol 13:60-66; 1969.
- 73.-BOZEMAN F.M.; and B.L. ELISBERG; "Serological diagnosis of scrub typhus by indirect immunofluorescence"; Proc.Soc.Exp.Biol.Med.; -112:558-573; 1967.
- 74.-CHERRY W.B.; M. GODMAN; T.R. CORSKI; and M.D. MOODY; "Fluorescent antibody techniques in the diagnosis of communicable diseases"; -U.S.Public Health Serv. Publ. No. 729; 1960.
- 75.-ELISBERG B.L.; and F.L. BOZEMAN; "Serological diagnosis of rickettsial diseases by indirect immunofluorescence"; Arch.Inst.Pasteur Tunis; 43:193-204; 1966.
- 76.-ORMSBEE R.; M. PEACOCK; R. PHILIP; E. CASPER; J. PLOUDE; T.GABRE KIDAN; and L. WRIGHT; "Serologic diagnosis of typhus fever"; Am. J. Epidemiol; 105:261-271; 1977.
- 77.-PHILIP R.H.; E.A. CASPER; R.A. ORMSBEE; M.G. PEACOCK; and W.BURGDORFER; "Microimmunofluorescence test for the serological study of Rocky Mountain spotted fever and typhus"; J.Clin.Microbiol 3:51-61; 1976.
- 78.-WOODWARD T.E.; C.E.PEDERSEN; Jr. C.N. OSTER; L.H. BAYLEY; J. ROMBERGER; and M.J. SNYDER; "Prompt confirmation of Rocky Mountain spotted fever: Identification of rickettsiae in skin tissue J.Infect. Dis.; 154:297-301; 1976.

- 79.-ROCH V. EUSTAQUIO; "Bacteriología y Virología Médica"; segunda edición; Salvat Editores S.A.; México 1955.
- 80.-PEÑA PEREZ R.; "Frecuencia de Salmonelosis en la clínica Hospital T-1 Zona-1 del IMSS, Tapachula Chiapas México"; Tesis ; México 1986.
- 81.-DAVIS B.D.; DULBECCO R.; EISEN H.H.; GINSBERG S.H.; BARRY WOOD W.; Mc. CARTY M.; "Tratado de Microbiología"; segunda edición; Salvat Editores S.A.; Barcelona España 1983; pág.784-85;797-800.