

112  
2eq



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PATOLOGIA Y FACTORES DE VIRULENCIA  
ASOCIADOS A SALMONELLA TYPHI

TRABAJO MONOGRAFICO DE  
ACTUALIZACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
PRESENTA :  
CLAUDIA SANDOVAL MONTES



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

1998.

266608



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**Jurado Asignado:**

Presidente	Prof. Raúl Garza Velasco
Vocal	Prof. Abel Gutiérrez Ramos
Secretario	Prof. Adriana Guadalupe Mejía Chávez
1er. Suplente	Prof. Eduardo Bonilla Espinosa
2do. Suplente	Prof. Ruth Edith Martín Fuentes

**Sitio donde se desarrolló el tema:**

Biblioteca de la Facultad de Química y diversas bibliotecas del sector salud.

**Asesor del tema:**

QFB. Raúl Garza Velasco



**Sustentante:**

Claudia Sandoval Montes



## **AGRADECIMIENTOS:**

**A DIOS:** Por darme la oportunidad de vivir, de realizarme como persona y profesionalista. Y de iluminarme.

**AL QFB. RAÚL GARZA:** Por su amistad, ayuda, dedicación, entusiasmo y paciencia, para la realización de este trabajo.  
¡Ojalá hubiera más personas como usted!

**A MIS AMIGOS:** Mariana, Laura A, Laura U, Marco, Gerson, Rivelino, Gabriel, Cuahutemoc, América, Claudia, Erika, Maggy Rigo, Mayolo, Willy, Magaly, Sandra y todos los demás.  
Por su amistad, por compartir conmigo buenos y malos momentos, por sus consejos, y sobre todo por aguantarme durante tantos años.

## **DEDICATORIAS:**

**A MIS PADRES:** Por todo su amor, apoyo, comprensión, confianza,  
y paciencia, sin ustedes no lo hubiera logrado.

**A MIS HERMANOS (LORENA Y PABLO):** Por soportarme en todo  
momento y lo que les falta. . .

**A ABELARDO:** Contigo conocí realmente lo que es el amor.  
No importa el tiempo, ni la distancia, porque tú siempre  
estarás en mí.

**A LA FAMILIA MONTES:** En especial a mi tía Martha. Gracias por su  
cariño y su alegría.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>OBJETIVOS</b>	4
<b>I. GENERALIDADES ACERCA DEL GÉNERO <i>Salmonella</i></b>	5
Taxonomía básica	5
Esquema de Kauffmann-White	6
Microscopía, cultivo e identificación bioquímica	9
<b>II. FACTORES DE VIRULENCIA</b>	13
i. Adherencia, movilidad e invasividad	14
ii. Sobrevivencia dentro del tracto digestivo	22
iii. Sobrevivencia dentro de los fagocitos	27
iv. Respuesta de tolerancia al ácido	33
v. Resistencia a los efectos del complemento	34
vi. Lipopolisacáridos (LPS)	35
vii. Antígeno VI	37
viii. Plásmidos de virulencia	38
ix. Resistencia a los antibióticos	39
<b>III. PATOLOGÍA ASOCIADA A LA FIEBRE TIFOIDEA</b>	41
Patogenia	41
Anatomía patológica	44
Principales manifestaciones clínicas	50

Epidemiología	52
<b>IV. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO</b>	60
• Métodos microbiológicos	60
• Pruebas serológicas	63
• Reacción en cadena de la polimerasa	70
<b>V. TRATAMIENTO</b>	73
Cloranfenicol	73
Ampicilina	75
Sulfametoxazol-Trimetoprim	76
Furazolidona	77
Quinolonas	78
Cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos	81
<b>VI. PREVENCIÓN</b>	84
• Medidas sanitarias	84
• Vacunas	85
<b>CONCLUSIONES</b>	94
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	96

## INTRODUCCIÓN

Sin lugar a dudas, *Salmonella typhi* figura entre las especies bacterianas que afectan con mayor frecuencia al humano, al cual le ocasiona una de las enfermedades que, además de adquirirse por vía oral y afectar al tracto intestinal, compromete al torrente circulatorio y, como consecuencia, a varios órganos internos fundamentales tales como el hígado, el bazo y la vesícula biliar.

En este sentido, es claro que dicho microorganismo posee diversos factores de virulencia que le permiten neutralizar y evadir los mecanismos de defensa de su hospedador, e inclusive, es capaz de adaptarse rápidamente a diferentes condiciones ambientales.



Ambas características, su virulencia y gran adaptabilidad, tienen como origen numerosos genes que se expresan de acuerdo con diversos estímulos ambientales. Por tal razón, los estudios sobre su patogenicidad deben incluir el análisis de su material genético, del que dependen no sólo su gran movilidad y su adherencia a las células humanas, sino también su facilidad para desarrollarse tanto fuera como dentro de estas últimas y su comprobada resistencia a varios antibióticos y a la acción bactericida de los fagocitos profesionales (neutrófilos y macrófagos).

En definitiva, este microorganismo utiliza más de una estrategia para controlar la síntesis y la concentración de sus factores de virulencia, dependiendo de las señales fisicoquímicas que recibe en cada uno de los tejidos en donde sobrevive o crece. Así las cosas, los estudios futuros tendientes a detectar sus principales

mecanismos de patogenicidad y a establecer las medidas de prevención y tratamiento de los padecimientos que ocasiona, también deberán basarse en el análisis molecular de los genes implicados.

El presente trabajo pretende subrayar los aspectos actuales más relevantes sobre la patología y los factores de virulencia asociados a *Salmonella typhi*, incluyendo una breve descripción de las pruebas implicadas en su diagnóstico de laboratorio, de su tratamiento y de las vacunas obtenidas para prevenir la fiebre tifoidea.

## OBJETIVOS

- Describir los principales factores de virulencia relacionados con *Salmonella typhi*.
- Describir las principales manifestaciones clínicas de la fiebre tifoidea y mencionar los aspectos más relevantes asociados a su diagnóstico y tratamiento.
- Señalar los últimos avances en el desarrollo de vacunas para prevenir la fiebre tifoidea.

## I. GENERALIDADES ACERCA DEL GÉNERO *Salmonella*

- **Taxonomía básica**

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y sus especies principales son: *Salmonella typhi* (agente causal de la fiebre tifoidea), *Salmonella choleraesuis* (importante patógeno en el cerdo y generador ocasional de infecciones sistémicas en humanos) y *Salmonella enteritidis* (uno de los más frecuentes agentes etiológicos de infecciones diarreicas en humanos y animales). La especie *Salmonella enteritidis* comprende diferentes serotipos (alrededor de 2000), los cuales se designan de la siguiente manera: el serotipo *typhimurium* corresponde a un subgrupo de *S. enteritidis* y su designación correcta es *S. enteritidis* var

*typhimurium*, aunque técnicamente se acostumbra denominarla *S. typhimurium* (9, 36, 66).

Otras variedades o subgrupos importantes son: *S. paratyphi A, B y C* (las cuales causan fiebres entéricas), *S. typhimurium* (agente infeccioso sistémico y modelo de estudio de *S. typhi* en murinos), *S. gallinarum* (que infecta exclusivamente a aves de corral), *S. dublin* (la cual afecta preferentemente ganado vacuno), *S. derby*, *S. infantis*, *S. oranienburg*, *S. newport*, *S. anatum*, *S. london*, *S. senftenberg* y *S. pomona* entre muchas otras (9, 36, 66).

- **Esquema de Kauffmann-White**

Tal como se puede observar en la tabla 1, esta clasificación se basa en las estructuras antigénicas de las cepas y se representan por números y letras asignados a los diferentes grupos y especies.

Los antígenos O (somáticos) se numeran del 1 al 65; por su parte, los H son los antígenos flagelares que sólo se encuentran en las cepas móviles y los hay de dos tipos: la fase 1 y la 2; los primeros sólo se sintetizan durante las primeras 24 h del crecimiento y se denominan por letras de la "a" a la "z", "z<sub>1</sub>" hasta "z<sub>59</sub>"; en cuanto a los de la fase 2, estos originalmente se numeraron, pero debido a la gran cantidad de sus reacciones cruzadas entre diferentes cepas, quedaron en desuso; además, *S. typhi* presenta el antígeno VI (capsular), por lo que su fórmula antigénica se menciona como sigue: primero los antígenos O, a continuación el antígeno capsular (si lo hay) y, por último los antígenos H de las fases 1 y 2, respectivamente (11, 14, 16, 19).

**Tabla 1.** Principales especies de *Salmonella* y su clasificación de acuerdo con el esquema de Kauffman y White.

GRUPO	TIPO	Ag O	Ag H FASE 1	Ag H FASE 2
A	<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	-----
B	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, 5, 12	i	1, 2
	<i>S. paratyphi B</i>	1, 4, 5, 12	b	1, 2
	<i>S. derby</i>	1, 4, 5, 12	f, g	-----
C <sub>1</sub>	<i>S. paratyphi C</i>	6, 7, Vi	c	1, 5
	<i>S. infantis</i>	6, 7	r	1, 5
	<i>S. oranienburg</i>	6, 7	m, t	-----
C <sub>2</sub>	<i>S. newport</i>	6, 8	e, h	1, 2
D <sub>1</sub>	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	-----
	<i>S. typhi</i>	9, 12, Vi	d	-----
	<i>S. gallinarum</i>	1, 9, 12	-----	-----
E <sub>1</sub>	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6
	<i>S. london</i>	3, 10	i, v	1, 7
E <sub>4</sub>	<i>S. senftenberg</i>	1, 3, 19	f, g, t	e, n, z, 15
G <sub>1</sub>	<i>S. pomona</i>	13, 22	z	1, 6

- **Microscopía, cultivo e identificación bioquímica**

a) Microscopía

El género *Salmonella* está constituido por bacilos rectos Gram negativos de 0.5 a 0.7  $\mu\text{m}$  de ancho por 1 a 3  $\mu\text{m}$  de largo, que no esporulan, que se mueven mediante flagelos peritricos y no presentan agrupación alguna (9, 66, 67).

b) Aislamiento y medios de cultivo

En relación con su aislamiento y/o reproducción, destacan los siguientes medios de cultivo:

a) Medios de enriquecimiento. Los más utilizados son los caldos de selenita F o tetrationato, los cuales inhiben el crecimiento



de las bacterias que integran la flora habitual del intestino, pero permiten la multiplicación de las salmonelas. Después de una incubación de 12 a 18 h se efectúa la siembra, a partir de estos, en medios diferenciales y selectivos ( 40, 66, 67,118).

b) Medios selectivos y diferenciales. Se caracterizan por contener inhibidores para bacterias Gram positivas y, permiten diferenciar las colonias lactosa negativas de las lactosa positivas, debido a que su formulación incluye lactosa y un indicador de pH. Los de mayor empleo el agar para *Salmonella-Shigella* (SS), agar citrato-desoxicolato, EMB, y Mc Conkey los cuales contienen como inhibidores: sales biliares, desoxicolato, azul de metileno y cristal violeta respectivamente (40, 66, 67,118).

La placas inoculadas se incuban en condiciones de aerobiosis, debido a que las especies de *Salmonella* son facultativas; su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y el tiempo requerido para su primoaislamiento es de 18 a 24 h (40, 66, 67).

Cabe señalar que sus colonias por lo general son blancas (el color depende del medio utilizado), convexas, de bordes regulares, húmedas, cremosas, de 3 a 7 mm de diámetro (40, 60).

Una vez seleccionadas las colonias lactosa negativas se inoculan en diferentes pruebas bioquímicas, las cuales van a permitir la identificación del microorganismo después de una incubación de 18 a 24 h a 37°C.

La tabla 2 resume las pruebas bioquímicas asociadas a la identificación de las principales especies de *Salmonella* (77).

**Tabla 2.** Resultados de las pruebas bioquímicas de algunas especies del género *Salmonella* (77).

Pruebas Bioquímicas	<i>S.typhi</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.choleraesuis</i>	<i>S.paratyphi A</i>	<i>S.gallinarum</i>
Lactosa	-	-	-	-	-
Sacarosa	-	-	-	-	-
Glucosa	+	+	+	+	+
Gas	-	+	+	+	-
H <sub>2</sub> S	+	+	+ ó -	-	+
Rojo de metilo	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-
Citrato Simmons	-	+	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-
Lisina	+	+	+	-	+
Arginina	-	+	+ ó -	-	-
Ornitina	-	+	+	+	-
Movilidad	+	+	+	+	-
Gelatina	-	-	-	-	-
Manitol	+	+	+	+	+
Nitrato	+	+	+	+	+
Oxidasa	-	-	-	-	-

## II. FACTORES DE VIRULENCIA

La fiebre tifoidea es ocasionada por una bacteria intracelular facultativa conocida como *Salmonella enterica* serovar *typhi* o *Salmonella typhi*. Esta especie ingresa al organismo por ingesta de agua o alimentos contaminados, migra al íleon distal -en donde se adhiere e invade el epitelio intestinal-, se internaliza en las placas de Peyer y se disemina por el sistema reticuloendotelial (70).

Generalmente, para estudiar la patogénesis asociada a *S. typhi* se utiliza como modelo de laboratorio a *S. typhimurium*, debido a que la primera sólo infecta a los humanos y la segunda causa tifoidea en ratones; de esta forma, resulta más factible analizar la patología implicada y detectar los factores de virulencia relacionados con este último microorganismo (70).

A continuación se describen los principales factores de patogenicidad de *S. typhi*.

### **i. Adherencia, movilidad e invasividad**

Como es sabido, la cubierta intestinal es permeable, permite la absorción de electrolitos y nutrientes, y representa una barrera fisiológica ejemplar que contiene macromoléculas y microorganismos; estos últimos componen la flora habitual de la región, la cual impide el libre establecimiento de patógenos -al ocupar los receptores presentes en el intestino- (81,106).

Sin embargo, en dicha obstaculización hacia los patógenos es aún más importante el sistema inmune, cuya activación corre a cargo de macromoléculas y partículas microbianas que deben

cruzar la barrera mucoide del intestino para fungir como inmunógenos al procesarse por el tejido linfoide (81, 106).

Dicho tejido linfoide está constituido por folículos aislados y agrupados, localizados a lo largo de todo el tracto gastrointestinal; en este sentido, destacan las placas de Peyer (agregados de nódulos linfoides ubicados en el intestino delgado), el apéndice y los nódulos linfoides mesentéricos (81, 106).

La cubierta luminal de los folículos linfoides intestinales contiene un "folículo especializado asociado al epitelio" (FAE) que incluye a las células M; éstas tienen como su función principal el transporte de nutrientes (81, 106, 118,121).

A este respecto, *S. typhi* se adhiere selectivamente a las células M, internándose en ellas por medio de vacuolas; en consecuencia, la reacción inflamatoria aguda se dispara -debido al daño y a la rápida diseminación de la bacteria por el epitelio- y la reproducción del microorganismo conduce a la destrucción de las células M -en cerca de 30 minutos-; a continuación, *S. typhi* invade las células mononucleares, en aproximadamente 2 h, extendiendo su multiplicación a gran parte del sistema retículoendotelial, previa septicemia (4, 23, 81,106, 132).

La adherencia bacteriana a las células del hospedador constituye un paso esencial para que suceda la colonización e invasión de un tejido determinado. En *Salmonella*, dicha etapa del proceso infectivo requiere de la expresión de diversos genes y, a continuación, es el sistema de secreción tipo III de la bacteria el que juega un papel muy importante en la invasión

celular; dicho sistema origina la producción de proteínas que inducen modificaciones en la membrana de las células hospedadoras, permitiendo que el microorganismo penetre en ellas (24, 127, 128).

Con respecto a los flagelos de *S. typhi*, estos determinan los diversos serotipos en que se divide a la especie, en casi todo el mundo, el serotipo más común es el H1-d y a éste le sigue el H1-j; evidentemente, ambos corresponden a antígenos de fase-1 (28, 42, 59).

En *Salmonella spp*, los antígenos H1 se encuentran codificados en el locus *fliC*, que a su vez contiene al gen *flg*; en reside la capacidad para sintetizar las subunidades proteicas de los flagelos; cabe mencionar que los antígenos H1-d y H1-j de *Salmonella typhi* son prácticamente homólogos, excepto por



una delección que se detecta en el locus *fliC* del segundo; esta pequeña diferencia genotípica se asocia a cambios fenotípicos que podrían impactar sobre la patogenicidad de la bacteria, ya que existe una clara relación directa entre la movilidad y la invasividad; de hecho, se ha comparado la virulencia del serotipo H1-j con la del H1-d, comprobándose que éste es más móvil e invasivo y ocasiona patologías más agresivas (28, 42, 59).

Obviamente, para que una bacteria pueda invadir requiere lograr el contacto directo con la superficie de las células hospedadoras, adherirse a los receptores presentes en ellas e internalizarse mediante endocitosis; en este sentido, la función flagelar es fundamental en el primero de los pasos mencionados: gracias a su movilidad (y a la quimiotaxis), el microorganismo se podrá desplazar hasta contactarse con el tejido a invadir (28, 42, 59).

En el serotipo H1-j, la movilidad es menor, como consecuencia de una función flagelar más limitada, lo que *in vivo* conduce a una disminución en la invasividad y, por lo tanto, a una menor virulencia (28, 42, 59).

#### Genes involucrados en la invasividad

Entre los genes de Invasividad *inv* figuran el *invA*, *invB*, *invC*, *invD*, *invE*, *invF*, *invG* e *invH* y prácticamente todos ellos resultan necesarios para que las cepas de *Salmonella spp* invadan las células hospedadoras. Consecuentemente, las mutaciones naturales o provocadas en algunos de ellos reducen drásticamente esa propiedad; en este sentido, diversos estudios sugieren que gran parte de la capacidad de *Salmonella spp* para invadir cultivos celulares reside en el gen *invA*, ya que los productos de este último se relacionan con severos síntomas en las patologías humanas; sin embargo, otros reportes cuestionan

lo antes mencionado, esgrimiendo que las mutaciones en dicho gen sólo provocan un pequeño incremento en la DL<sub>50</sub> establecida en ratones, cuando la bacteria se administra por vía oral y no alteran esta medida si la aplicación es intraperitoneal. Cuando se descubrieron los genes *invA-D*, se pensó que codificaban para proteínas que actuaban justo en el momento de la invasión; no obstante, en la actualidad se ha demostrado que su expresión también origina proteínas auxiliares que regulan a otros niveles el proceso infectivo (37, 70, 116).

Independientemente de la polémica existente en torno a la mayor o menor virulencia del gen *invA*, se considera que el *invE* y el *invG* también son muy trascendentales, a diferencia del *invB* y el *invH*, cuyas deleciones sólo reducen la invasión en los cultivos celulares y los que se practican en *invC* definitivamente no alteran el fenómeno; además, cabe destacar que si bien las

mutaciones en *InvH* tampoco influyen en la capacidad de *S. typhimurium* para sobrevivir a la acción bactericida de los PMN, sí incrementan la susceptibilidad del bacilo a la lisis por parte de los macrófagos. Finalmente, las alteraciones sí conducen a pequeñas aunque significativas reducciones en la invasividad de las cepas analizadas (37, 70, 116).

Por su parte, Miras y cols identificaron otros genes que también participan en la invasividad de *S. typhi*: *lagA* e *lagB*, los cuales, participan en la invasión de la línea celular HeLa; ambos codifican para activadores de la expresión de varios genes de invasión, tal como lo hacen el *ipgC* y los *ipaBCDA* de *Shigella* (7, 70, 82, 111, 133).

## ii. Supervivencia dentro del tracto digestivo

Para *S. typhi* es fundamental cruzar la mucosa del íleon distal, ya que sólo así logra persistir y estabilizar una infección próspera y consistente; esta especie bacteriana es capaz de adaptarse a la gran diversidad de condiciones ambientales encontradas dentro de su hospedador, merced a la expresión de distintos genes y operones regulables por la temperatura y la acidez gástricas, por la alta osmolaridad y la baja tensión de oxígeno que predominan dentro del intestino, por la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , y por otras variables que también repercuten en la expresión génica (26, 70).

### Efecto de la tensión de oxígeno

Por lo que se refiere a esta variable, es claro que representa una de las principales señales ambientales que influyen sobre la

mayor o menor virulencia de *Salmonella*; por ejemplo, las condiciones de anaerobiosis provoca la invasión de las células epiteliales por parte de *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. typhi*; de hecho, como en el íleon distal suele existir una reducida presión de oxígeno, es precisamente en esa región anatómica en donde, basada en la expresión del operón *MudJ*, *S. typhi* se interna y prolifera dentro de las células epiteliales. A este respecto, se ha observado que el gen *oxrA* actúa en condiciones de anaerobiosis, como regulador positivo de otros genes que estimulan la producción de las enzimas nitrato y fumarato reductasas; asimismo, el *invG* y el *prgH* también parecen estar involucrados en la asimilación de nitratos aunque, como ya se ha mencionada, también participan en la invasión; en resumen, la capacidad de sobrevivir a las condiciones de anaerobiosis se asocia al crecimiento en condiciones carentes de oxígeno y a la localización y multiplicación intracelular del microorganismo (26).

## Efecto de la osmolaridad

La osmolaridad constituye otra señal ambiental que controla la expresión de numerosos genes de virulencia, incluidos el *invA*, *invF*, *prgH*, *prgK*, *orgA*, *sspA* y *sspC* de *S. typhimurium* y el *tcp pili* de *V. cholerae*. En cuanto a *S. typhi*, se ha logrado establecer que sus genes *prgH* y *cpxA* son osmorregulados y, junto con algunos otros, están implicados en la penetración del microorganismo a las células epiteliales del intestino. Adicionalmente, debe considerarse que la osmolaridad regula también los niveles de antígeno capsular VI; de hecho, cuando aquella es elevada, se observa una adherencia máxima y una escasa producción de factor VI (70).

Por último, se ha detectado que las proteínas *ompR/envZ* figuran entre los componentes del sistema regulador de diversos genes que se activan en respuesta a la osmolaridad del medio; ambas

actúan como potenciadoras de la virulencia en *Salmonella spp.*, sobre todo cuando predominan condiciones hipertónicas en el Intestino (24, 74, 77).

### Concentración de hierro

Dentro del organismo del hospedador, las proteínas que se unen al hierro (lactoferrina, transferrina y ferritina), limitan la concentración de este elemento en forma libre, impidiendo que las bacterias lo obtengan para proliferar en los fluidos orgánicos, en los tejidos e intracelularmente. Algunos de los genes de virulencia que codifican para la síntesis de sideróforos o proteínas bacterianas de batalla, son: el *fhuA*, el cual está involucrado en el transporte del hierro y, el *hemA*, cuyos productos hacen posible la procuración de dicho metal a partir de los grupos heme (24, 25).



El pH y la proteína Fur también regulan la expresión de genes implicados en la adquisición del hierro; de hecho, cuando la concentración intracelular de éste es elevada, la Fur activa los genes *iroB* e *iroC* para reducir sus niveles dentro de la bacteria (12).

#### Efecto de la fase de crecimiento

La fase logarítmica del crecimiento bacteriano es determinante en varios eventos del proceso infeccioso, incluyendo la adherencia a las células epiteliales intestinales; aparentemente, los genes de invasión sólo son estimulados en ciertas etapas del crecimiento, como lo demuestran la alterna expresión y represión del gen *invG* (70).

En este sentido, también cabe recordar que la interacción de los diferentes serotipos de *Salmonella* con el epitelio celular depende del sistema de secreción de proteínas tipo III, codificado por los genes *inv* y *spa* (70, 101, 104, 105, 113).

### **iii. Supervivencia dentro de los fagocitos**

Dado que las células fagocitarias constituyen una línea crítica de defensa contra la infección, la capacidad de algunos microorganismos patógenos para sobrevivir y reproducirse dentro de ellas resulta determinante en virtud de que, inclusive, les permite evadir los principales mecanismos de resistencia del hospedador; en este aspecto, se calcula que 6 a 14 h después de que *Salmonella* penetra en los macrófagos, se ha reproducido eficazmente dentro de los fagosomas o vacuolas y puede llegar a provocar la destrucción de dichas células fagocitarias, logrando su liberación y diseminación. Sin lugar a

dudas, este tipo de características refleja la gran cantidad de factores que fundamentan la patogénesis de los padecimientos ocasionados por *S. typhi* (74, 75, 79, 129).

Cabe mencionar que se han identificado numerosos *loci* -con alrededor de 200 genes cada uno- esenciales para que *Salmonella* sobreviva dentro de los fagocitos, sin embargo, sólo algunos de ellos se han estudiado con cierta profundidad, destacando el *phoP/phoQ*, que codifica para proteínas que permiten la sobrevivencia intracelular, respondiendo al estrés, al bajo pH, a las formas reactivas del oxígeno, a las denominadas "defensinas" (péptidos bactericidas intrafagocitarios), etc. (13, 24).

A continuación se describen algunas de las principales funciones del locus-operón *phoP/phoQ* y del factor sigma RpoS.

## El operón *phoP/phoQ*

Este operón controla la expresión de varios genes que resultan determinantes para que *Salmonella typhi* sobreviva dentro de los macrófagos, como lo demuestra el hecho de que, al provocarse una disrupción en él, la  $DL_{50}$  se incrementa considerablemente (13, 45, 70).

Entre los productos proteicos originados por *phoP/phoQ* destacan PhoP y PhoQ; el primero actúa como sensor que activa al segundo, fosforilándolo, bajo ciertas condiciones "ambientales". A su vez, PhoQ regula ciertos genes involucrados en varias funciones y/o propiedades del microorganismo; por ejemplo: en la invasividad, en la sobrevivencia dentro de los macrófagos o cuando existe carencia de carbono y/o de nitrógeno, en la resistencia a pH ácidos y a la acción bactericida de diversos mecanismos de defensa, e inclusive, en el

crecimiento bajo condiciones de niveles subóptimos de oxígeno (13, 45, 70, 89).

Este sistema regulador PhoPQ se manifiesta durante las etapas temprana y tardía de la infección, y obedece a los estímulos asociados a la expresión de los genes *pag* (que actúan como sus promotores) y *prg* (sus represores naturales) (24, 70).

En este contexto, trabajos recientes han demostrado que las alteraciones provocadas en algunos de los genes *pag* (*pagA* y *pagB*) no alteran la virulencia de las cepas estudiadas, pero las que se practican en el *pagC* incrementan la  $DL_{50}$ , ya que este gen codifica para la producción de proteínas de membrana que contribuyen a la sobrevivencia de *Salmonella* dentro de los macrófagos (24, 45, 70).

Por lo que se refiere a los genes *prg*, estos codifican para la síntesis de proteínas que aparecen en condiciones carentes de carbono, a pH ácidos y en aerobiosis; por ejemplo, el *prgB* sólo se expresa en aerobiosis total y cuando el pH es menor de 6; por su parte, el *prgH* codifica para una proteína involucrada en la invasión tisular y macrofágica; evidentemente, este último proceso no ocurre cuando se practican mutaciones en el *prgH* (24, 70).

PhoPQ también controla la expresión de dos sistemas de transporte de alta afinidad para el  $Mg^{2+}$ : *MgtA* y *MgtBC*, los cuales actúan en respuesta a las bajas concentraciones de dicho catión en el fagosoma del macrófago (24, 41).

## El factor sigma RpoS

Una vez en la fase estacionaria, el factor sigma RpoS es el encargado de regular a numerosos genes necesarios para que *Salmonella typhi* sobreviva en ambientes adversos; dos de dichos genes son: el *cfa* (ácido graso ciclopropano sintetasa) y el *otsBA* (osmoregulador trehalosa sintetasa). En condiciones limitadas de aminoácidos, el *cfa* modifica los ácidos grasos de la membrana bacteriana, introduciendo un anillo de ciclopropano para prevenir la pérdida de proteínas celulares. En cambio, el *otsBA* tiene como función principal la de sintetizar trehalosa, la cual es importante para que *S. typhi* sobreviva en condiciones de estrés osmótico y/o térmico (24, 88).

De acuerdo con lo antes señalado, el factor RpoS también es fundamental para que *Salmonella* pueda sostener una respuesta protectora ante una gran variedad de señales ambientales,

incluyendo a la acidez, el calor, el  $H_2O_2$ , la osmolaridad y la fase de crecimiento (70).

#### **iv. Respuesta de tolerancia al ácido**

La llamada "acid tolerance response" (ATR) o "respuesta de tolerancia al ácido", permite que las cepas de *Salmonella* resistan los bajos pH que predominan en el estómago y en el interior de los fagosomas. *S. typhi* es capaz de expresar su ATR a pH de hasta 4, ya que a cifras menores generalmente muere, debido a que los protones del medio que se internan en ella provocan la inactivación de proteínas vitales, principalmente cuando el pH ha disminuído hasta 3; cabe mencionar que el *Fur* y el gen *invG* son importantes participantes en el ATR (12, 54, 70).



## v. Resistencia a los efectos del complemento

Cuando *Salmonella* invade al organismo se enfrenta al sistema del complemento, a cuyos efectos líticos podría quedar expuesta de no contar con algunos factores tales como sus antígenos O y Vi; en cuanto al primero de ellos, la gran longitud de las cadenas del antígeno somático (LPS) originan que el MAC (Complejo de Ataque a la Membrana) se forme a una distancia suficientemente lejana, quedando impedido para interactuar con la superficie de la membrana bacteriana. Por lo que hace el antígeno capsular Vi, esta envoltura contribuye de manera esencial para que las capas externas de *S. typhi* presenten una mayor oposición a los efectos del MAC (46, 99, 110, 131).

## vi. Lipopolisacáridos (LPS)

Los polisacáridos superficiales bacterianos se clasifican en dos grupos de acuerdo con ciertos criterios físicos y químicos. El primero (I) incluye a los que se componen por ácido urónico y poseen una masa molecular alta, siendo éste el caso del polisacárido O. Por otra parte, el grupo II contiene a una gran variedad de componentes ácidos cuya masa molecular es relativamente baja (123).

En *Salmonella*, el polisacárido O se sintetiza como una unidad de oligosacárido que, al polimerizarse, forma la molécula del LPS. La longitud y la composición química de este último difieren en cada microorganismo; por ejemplo, en *S. typhimurium* se expresa el serotipo 1,4,5,12 del polisacárido O mientras que, en *S. typhi*, lo hace el serotipo 9,12. La mayoría de los genes estructurales que

sintetizan polisacárido O están localizados en el loci *rfb*, que a su vez contiene a los genes *rfbS* y *rfbE*; estos codifican para las proteínas paratosa sintetasa y CDP-tivelosa epimerasa, necesarias para producir antígeno O9. Además, la galactosa es otro ingrediente esencial para llevar a cabo la síntesis del LPS y está codificada por el gen *galE*; en este sentido, diversas investigaciones han demostrado que las mutantes en el gen *galE* de *S. typhi* presentan un crecimiento lento y cuentan con muy pocas posibilidades de sobrevivir *in vivo*, debido a la ausencia de antígeno somático (16, 57).

Evidentemente, buena parte de los síntomas de la fiebre tifoidea se pueden atribuir al LPS, ya que éste induce una respuesta inflamatoria local durante la invasión de la mucosa; de hecho, ello se relaciona con el dolor abdominal y la fiebre asociada a la gastroenteritis, aunque también influye en la reducción de la

capacidad para absorber el agua y los alimentos, lo que finalmente provoca la diarrea (30, 55, 57,119).

### **vii. Antígeno Vi**

El antígeno Vi es un polisacárido capsular, expresado junto con el Ag somático O: 9,12 de *S. typhi*; se trata de un homopolímero lineal de ácido  $\alpha$ -1,4 2-deoxy-2-N-acetilgalactosaminurónico, su masa molecular es de  $10^6$  Da y es considerado como un factor de virulencia muy importante, ya que los estudios realizados en voluntarios humanos han demostrado que las cepas de *S. typhi* Vi<sup>+</sup> son más agresivas y resistentes al MAC y a la fagocitosis que las mutantes Vi<sup>-</sup> (16, 91, 92, 95,131).

La síntesis intracelular del polisacárido Vi está catalizada por los polipéptidos TviB, TviC, TviD y TviE, pero su control reside en el

sistema RcsB-RcsC y en el regulador positivo RcsA (48, 92, 123,131).

#### **viii. Plásmidos de virulencia**

En este rubro destaca el gen *rpoS*, mismo que media la expresión del plásmido de virulencia *spv* durante la invasión bacteriana; *S. typhimurium* presenta largos plásmidos de virulencia, de 50 a 90 Kbp, cuya pérdida refleja una clara disminución en la capacidad de la bacteria para causar infecciones sistémicas en ratones. En general, se acepta que los plásmidos de virulencia promueven el crecimiento microbiano en hígado y bazo, sin embargo, ello no se ha logrado observar en *S. typhi*, aún cuando a esta especie se le han insertado plásmidos de *S. typhimurium* (43, 44, 70, 88, 129).

## ix. Resistencia a los antibióticos

La resistencia a los agentes antimicrobianos es una de las características naturales que residen en algún factor preexistente en el microorganismo o en moléculas recién adquiridas. En algunas bacterias Gram negativas, los genes de resistencia se transmiten por conjugación, muchas veces durante el tratamiento; los plásmidos R corresponden a pequeñas unidades extracromosómicas de DNA que se autorreplican y confieren resistencia a numerosos antibióticos y a algunos otros agentes terapéuticos (31, 32, 49, 71, 96, 98).

La transmisión de factores de resistencia durante las infecciones entéricas es especialmente importante, ya que en éstas participan microorganismos que fungen como eficaces donadores y receptores de plásmidos. Entre estos últimos destacan diversas especies de *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Shigella* y

*Salmonella*; en este contexto, se propone que el 67 % de las cepas de *Salmonella typhi* presentan resistencia al cloranfenicol, ampicilina, estreptomina, tetraciclina, trimetoprim y sulfametoxazol, con base en la conjugación de plásmidos largos de aproximadamente 180 Kb; cabe mencionar que la resistencia a los antibióticos se incrementa al aplicarse utilizarse terapias largas e inefectivas, y que las *Salmonellas* no tifoídicas cuentan con mayores probabilidades de adquirir esta propiedad, ya que poseen mayor capacidad para adquirir y mantener los plásmidos R (1, 32, 49, 51, 71, 83, 96, 98).

### III. PATOLOGÍA ASOCIADA A LA FIEBRE TIFOIDEA

#### Patogenia

*Salmonella typhi* puede producir la fiebre tifoidea dependiendo de la virulencia de la cepa involucrada, de la cantidad de bacterias ingeridas y, lógicamente, de las condiciones del sistema de defensa del hospedador (23, 64, 84, 94).

Diversos investigadores han estudiado la dosis infectante en voluntarios humanos, estableciéndose que mil millones de bacterias enferman al 95 % de las personas inoculadas, cien millones al 89 %, diez millones al 50 %, cien mil bacterias al 28 % y mil bacterias a ninguna de ellas (14, 49, 84, 96, 110, 125).



Evidentemente, el bacilo tifoídico presente en los alimentos debe vencer la barrera que supone el jugo gástrico y reproducirse en la luz intestinal, antes de penetrar la mucosa del intestino delgado; empero, en ocasiones el proceso de invasión ocurre de manera directa, sin el previo crecimiento intraluminal. El sitio específico de penetración se localiza en el íleon, en donde inicialmente la invasión no lesiona al epitelio intestinal, tal como ocurre en la shigelosis y, con menor frecuencia, en los padecimientos ocasionados por *E. coli* enteropatógena; previa reproducción del bacilo en los ganglios mesentéricos, ocurren la fase septicémica y la invasión de diversos órganos internos; en este sentido, las bacterias son fagocitadas por las células del sistema monocito-macrófago presentes en bazo, hígado y vesícula y, en el término de 24 h, se localizan intracelularmente, resultando por ello invulnerables a numerosos antibióticos (14, 49, 84, 96, 110, 120, 125).

Las endotoxinas o LPS constituyen el antígeno somático de las salmonelas y sus efectos pirogénico, leucopenizante, generador del estado de shock y necrosante, representan importantes factores desencadenantes de diversas manifestaciones asociadas al cuadro clínico de la tifoidea. Como es sabido, los enfermos presentan respuestas febriles muy intensas, dada la presencia de endotoxinas exógenas, aunque con el paso del tiempo aparentan desarrollar cierto grado de tolerancia a ellas (14, 49, 84, 96, 110, 120, 125).

*Salmonella typhi* es un parásito intracelular facultativo que intracelularmente reside en el SRE (sistema retículo-endotelial), sobre todo en el hígado ya que, dada su resistencia a la acción antimicrobiana de la bilis, puede instalarse en el árbol biliar extrahepático -produciendo o no colangitis-, desde donde se desplaza a través del colédoco hacia el tubo digestivo. Los portadores convalescentes y crónicos llegan a eliminar más de

1,000 salmonelas por gramo de heces; a este respecto, se sabe que la inmunidad residual postifoídica suele no ser completa y que, precisamente debido a ello, el 20 % de los pacientes puede llegar a padecer un segundo ataque de fiebre tifoidea (14, 49, 110, 120).

### **Anatomía patológica**

Las lesiones tisulares clásicas provocadas por *S. typhi*, se localizan en los tejidos linfoides y en el SER; es decir, incluyen principalmente a las placas de Peyer ubicadas en el íleon terminal, a los ganglios mesentéricos, al bazo y al hígado, en donde aparecen los característicos tifomas, como producto de la proliferación de las células reticuloendoteliales intravasculares, de la infiltración inflamatoria y de la necrosis (14, 49, 67).

Antes de que el paciente reciba algún tratamiento específico, los principales hallazgos en la médula ósea son: a) sistema granulopoyético activo, con gran predominio de formas jóvenes; b) eritroblastopenia; c) hipoplasia de eosinófilos; y d) presencia de megacariocitos normales. Tales observaciones coinciden con las alteraciones que se detectan en sangre periférica: anemia moderada, ausencia de eosinófilos, aumento de neutrófilos en banda y plaquetas normales (14, 49, 67).

### **Principales manifestaciones clínicas**

El período de incubación de la fiebre tifoidea oscila entre 10 y 14 días, si bien se han descrito casos de hasta tres semanas; en cualquier caso, el cuadro clínico aparece de manera insidiosa: el enfermo presenta malestar general, astenia, anorexia, cefalea y, poco después, náuseas y vómitos; la fiebre suele ser típicamente vespertina, con elevaciones cada día mayores,

hasta alcanzarse una meseta entre los 39 y 40°C, aproximadamente en el término de una semana. Durante los primeros días, la exploración física revela un paciente con mal estado general, pálido, apático y decaído; su lengua es sarrosa y la faringe se evidencia congestionada por lo que, inclusive, puede confundirse con una faringoamigdalitis estreptocócica; el abdomen manifiesta meteorismo y se aprecian ruidos con tono grave al palpase la fosa ilíaca derecha. En los adultos es común encontrar bradicardia y, al finalizar la primera semana, aparece la roséola tifoídica, que consiste en una leve erupción congestiva o hemorrágica, localizada en la parte inferior del abdomen y en la cara interna de los muslos (14, 33, 49, 84, 120, 125).

En las formas más severas de la enfermedad se altera el estado de conciencia y se alcanza el denominado "estado tifoso", en el cual los pacientes denotan sopor, hablan incoherencias y, ocasionalmente, efectúan movimientos desordenados. El cuadro

neurológico puede llegar a ser muy grave y confundirse con una meningoencefalitis o con algún trastorno vascular en el cerebro; las manifestaciones del aparato digestivo incluyen una diarrea moderada, salvo en los lactantes en quienes suele ser profusa y hemorrágica. Lógicamente, se padece de dolor abdominal difuso y la palpación de la región aumenta o desencadena la molestia sin provocar la clásica defensa muscular; además, es evidente el meteorismo, hay esplenomegalia y el área hepática se detecta crecida, con dolor en la zona vesicular (49, 84, 96,125).

Por lo que respecta al aparato cardiovascular, la bradicardia es casi privativa de los adolescentes y adultos, si bien en todas las edades son frecuentes los ruidos cardíacos velados y una hipotensión moderada. Cuando llega a presentarse el estado de shock, es común registrar extremidades frías (y en ocasiones cianóticas) con hipertermia en el tronco; de hecho, la diferencia

entre ambas regiones anatómicas puede ser de hasta 5°C (14, 49, 84, 96, 125).

Durante el primer año de vida, la tifoidea semeja un cuadro de gastroenteritis grave, con evacuaciones frecuentes (y a menudo sanguinolentas) que conducen hacia la deshidratación. De acuerdo con la mayoría de los estudios, este tipo de manifestaciones se presentan en 1 a 3 % del total de casos de tifoidea, dificultando el diagnóstico de la enfermedad y, con ello, su adecuado tratamiento. En este sentido, es conveniente señalar que su mortalidad es elevada, debido probablemente a la tardanza de su reconocimiento aunque, por lo general, se afirma que las pruebas empleadas para establecer el diagnóstico en los pacientes mayores también son útiles cuando se trata de lactantes (14, 84, 96 120, 125).

Sin lugar a dudas, los regímenes terapéuticos erróneos pueden originar que las manifestaciones antes descritas se prolonguen hasta por cuatro semanas, con una cierta tendencia a que disminuyan la fiebre y la gravedad de los trastornos digestivos y neurológicos. La reducción térmica podría deberse a la lenta pero evolutiva lisis bacteriana (14, 84, 96, 120, 125).

Cabe mencionar que la gestación no modifica la presentación clínica ni los datos de laboratorio de las pacientes enfermas y que la afección influye desfavorablemente el curso del embarazo, asociándose a abortos y a partos prematuros (14, 49, 84, 96, 125).



## Complicaciones de la fiebre tifoidea

Dado el carácter septicémico de la fiebre tifoidea, también es de esperarse la localización extraintestinal del agente causal; en esencia, algunas de las principales complicaciones son: miocarditis, meningitis, artritis, osteomielitis, parotiditis, nefritis, otitis, neumonías, pleuritis con derrame, peritonitis primaria, y adenitis; sin embargo, las consecuencias más frecuentes son de tipo intestinal, destacando las perforaciones y hemorragias. Las primeras ocurren en 3 a 5 % de los casos y comúnmente aparecen en la tercera semana, sobre todo en los pacientes desnutridos; son consecuencia de la ulceración y necrosis de las placas de Peyer, situadas en el borde antimesentérico del íleon terminal, a unos 20-40 cm de la válvula íleocecal; muestran aspecto de sacabocado, suelen ser únicas y, en función del tiempo de aparecida la perforación, se acompañan de peritonitis y formación de adherencias plásticas; clínicamente, los

pacientes vuelven a presentar el vómito que había desaparecido desde la fase inicial, e inclusive, experimentan estreñimiento y dolor abdominal intenso. En la exploración física se detecta defensa muscular del área hepática, y las placas simples de abdomen revelan dilatación de las asas, ciertos niveles de líquido, ausencia de aire y opacidad en la pelvis, aunque eventualmente también existe aire libre subdiafragmático (14,15, 18, 67, 93).

Por su parte, las enterorragias ocurren habitualmente después de la segunda semana; en este sentido, la rectorragia puede tener aspecto de melena o de sangre fresca, según la rapidez del tránsito intestinal del individuo. Es importante señalar que cuando la sangre perdida es relativamente abundante, el enfermo suele caer en estado de shock y manifestar anemia aguda. Obviamente, los focos hemorrágicos se localizan en donde la

ulceración intestinal ha llegado a erosionar la pared de los vasos sanguíneos (14, 15, 67).

## **Epidemiología**

*Salmonella typhi* es resistente a las bajas temperaturas (puede sobrevivir los inviernos completos en terrenos congelados) y permanece viable durante tiempos prolongados en el agua de pozos o depósitos, en la materia fecal y en los alimentos descompuestos, por lo que la fiebre tifoidea se encuentra ampliamente distribuida, si bien su incidencia es mayor en los países subdesarrollados. Evidentemente, la fuente de infección es casi siempre la ingesta de bebidas y alimentos contaminados, tales como leche y sus derivados, carne, huevos, mariscos y agua (66, 67, 69, 134).

En la mayoría de las epidemias, la causa principal es el agua "potable" contaminada; a diferencia de lo anterior, las endemias se deben generalmente al deficiente manejo de los alimentos y a la falta de higiene personal; en ambos casos, el papel de los portadores crónicos es muy importante en la elevada incidencia del padecimiento (69, 134).

En México, la tifoidea presenta características endémico-epidémicas relacionadas con serias deficiencias en cuanto al saneamiento ambiental y al aprovisionamiento del agua potable (134).

Los datos reportados por la Dirección General de Epidemiología, en relación con la fiebre tifoidea en México durante 1990-1995, revelaron que el número de casos aumentó en 1995, siendo más susceptibles los individuos entre los 25 y 44 años. La enfermedad

predomina en los meses de Julio, Junio, Enero y Octubre, sobre todo en los estados de Chiapas, Veracruz, Coahuila, Michoacán y el Distrito Federal(134).

Por lo que se refiere a los índices de mortalidad, el número de defunciones por fiebre tifoidea ha disminuído hasta menos de la mitad, desde 1990 a 1995, lo cual se debe principalmente al uso de antibióticos más potentes; el grupo de 16 a 64 años es el más afectado, seguido por el de personas de más de 65 años y los estados con mayores tasas son: Chiapas, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Guanajuato y Michoacán (134).

Las tablas siguientes resumen los datos de morbilidad y mortalidad de la fiebre tifoidea en México.

**Tabla 3.** Casos registrados de fiebre tifoidea en México  
(1990-1995).

<b>Año</b>	<b>Núm. de casos</b>	<b>Tasa *</b>
1990	94,535	110.20
1991	104,105	119.30
1992	95,383	109.92
1993	97,975	110.75
1994	100,342	111.29
1995	147,839	161.39

**CLAVE:** \* = por cada 100,000 habitantes

**Tabla 4.** Casos de fiebre tifoidea en México, por edad.

<b>Grupo de edad (años)</b>	<b>Núm de casos en 1995</b>
< 1	2,237,988
1 - 4	8,880,416
5 - 14	21,699,707
15 - 24	19,542,613
25 - 44	24,931,994
45 - 64	10,492,992
> 65	3,820,432

**Tabla 5.** Casos mensuales de fiebre tifoidea en México.

<b>Mes</b>	<b>Número de casos en 1995</b>
Enero	14,012
Febrero	10,878
Marzo	10,430
Abril	12,468
Mayo	12,838
Junio	14,091
Julio	16,806
Agosto	13,114
Septiembre	12,092
Octubre	13,971
Noviembre	9,648
Diciembre	7,492



**Tabla 6.** Número de defunciones por fiebre tifoidea en México (1990-1995).

<b>Año</b>	<b>Número de casos</b>
1990	602
1991	492
1992	335
1993	301
1994	243
1995	233

**Tabla 7.** Defunciones asociadas a fiebre tifoidea, por edad.

<b>Grupo de edad (años)</b>	<b>Núm. de casos en 1995</b>
<1	19
1 - 4	14
5 - 14	27
15 - 64	108
> 65	60

#### IV. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

- **Métodos microbiológicos**

Sin lugar a dudas, el aislamiento de *S. typhi* a partir de la sangre del paciente se considera como la prueba definitiva para establecer el diagnóstico de laboratorio de la fiebre tifoidea; ello se debe principalmente a que la detección del microorganismo en otras muestras clínicas -heces, orina, bilis- también es posible en los portadores sanos (40, 60, 67).

En cuanto a los hemocultivos, la sangre del enfermo se siembra en un medio de cultivo enriquecido, líquido o bifásico, ya que de esa manera se promueve el aislamiento del agente causal hasta en el 80 % de los casos, sobre todo cuando la muestra se extrae adecuada y oportunamente (momentos antes de la elevación

febril); el cultivo suele resultar positivo desde la segunda semana de la enfermedad (40, 63, 67, 117, 119, 122).

Por lo que respecta al coprocultivo, los positivos se obtienen desde la parte final de la primera semana del padecimiento; no obstante, en inoculaciones experimentales, algunos individuos empiezan a eliminar salmonelas desde el primer día; en el 10 % de los casos, la excreción fecal del agente causal se prolonga hasta después de la disminución del cuadro (portadores convalecientes); sin embargo, cuando se establece el estado de portador crónico, el microorganismo se puede detectar en la materia fecal durante más de un año (40, 67, 122).

Respecto a otros de los análisis clínicos, el mielocultivo ofrece las mayores oportunidades de éxito, ya que en aproximadamente el

90 % de los estudios el aislamiento de *S. typhi* resulta positivo (40, 67).

Por su parte, el urocultivo puede resultar exitoso después de la segunda semana de infección, y el bilicultivo y los cultivos de otros especímenes relacionados con cuadros de artritis, meningitis, abscesos diversos y osteomielitis, también representan métodos útiles en el diagnóstico; cabe subrayar que el análisis de las biopsias de la roséola tifoídica puede redituar positivos en más del 90 % de los casos (40, 122).

Asimismo, especímenes representativos del duodeno se pueden recolectar introduciendo por la boca cápsulas ligadas a cuerdas delgadas (6).

- **Pruebas serológicas**

Entre las pruebas serológicas utilizadas para efectuar el diagnóstico de la fiebre tifoidea, destacan la reacción de Widal, las técnicas de hemoaglutinación, los ensayos inmunoenzimáticos -y sus diversas variantes- y la contrainmunolectroforesis (5, 58, 100).

#### Reacción de Widal

Las aglutininas séricas se incrementan de manera importante durante la segunda y tercera semanas del padecimiento por lo que, como ocurre en cualquiera de las denominadas reacciones febriles, se requieren al menos dos determinaciones seriadas en otras tantas muestras de suero del paciente, obtenidas con 3 a 7 días de diferencia; el título de anticuerpos debe aumentar

significativamente en función del tiempo (5, 17, 22, 58, 103, 106, 119).

Diluciones seriadas del suero del enfermo se enfrentan a antígenos de salmonelas representativas, cepas de *S. typhi* O-901 y H-901; cuando la aglutinación indica títulos mayores de 1:160 o las cifras aumentan en muestras posteriores, el diagnóstico se considera como muy probable. Particularmente, los títulos de anticuerpos anti-O mayores de 1:160 sugieren que ocurre infección activa, pero los títulos elevados de anti-H y bajos de anti-O se asocian a inmunización previa o a infecciones anteriores. La reacción de Widal posee una sensibilidad de 80 %, aunque puede dar lugar a resultados falsos positivos, sobre todo cuando se trata de salmonelas del grupo D o de algunas otras con determinantes antigénicas semejantes al 9 y 12 de *S. typhi*. En los casos de perforación intestinal, la proporción de reacciones

falsas negativas es importante, especialmente en las diluciones a las que se ha adicionado antígeno H (5, 17, 22, 58, 103, 107, 119).

Otro tipo de reacción falsa positiva puede ocurrir cuando se padece de infecciones poco relacionadas; por ejemplo, con el bacilo de Calmette-Guerin (BCG), ciertas aglutininas presentan reacción cruzada con *S. typhi* y *S. paratyphi*, hasta que el paciente recibe tratamiento antituberculoso (5, 17, 58, 103, 107, 119).

Finalmente, aunque se desconoce el mecanismo a través del cual ciertos antibióticos podrían influir sobre los títulos de anticuerpos relacionados con la reacción de Widal, lo cierto es que algunos que se utilizan en la terapéutica provocan una notable disminución en la magnitud de la reactividad serológica (5, 17, 58, 103, 107, 119).



## Otras técnicas de aglutinación

Los métodos de microhemaglutinación en placa se basan en el empleo de LPS de *S. typhi* adsorbidos a glóbulos rojos de carnero; a esta suspensión se agrega el suero del paciente y, si éste se encuentra infectado con el microorganismo, sus anticuerpos IgM e IgG provocarán la hemaglutinación. Esta prueba se considera de suma importancia en diversos laboratorios clínicos (5, 102).

Prácticamente, el mismo fundamento da lugar a algunas variantes de la prueba. Si bien la hemaglutinación -como tal- se utiliza para detectar anticuerpos séricos contra el LPS, alcanzando una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98.2 %, las técnicas de inhibición de la hemaglutinación pueden poner de manifiesto al LPS (antígeno) de *S. typhi* presente en el suero del paciente; es decir, la inhibición ocurre cuando los

líquidos corporales del enfermo contienen antígeno; éste se unirá a anticuerpos anti-LPS de distribución comercial, los cuales de esta manera no aglutinarán a los glóbulos rojos sensibilizados con LPS (22).

Análogamente, para realizar la aglutinación en látex, se utilizan partículas de este soporte recubiertas con anticuerpos anti-Vi o anti-O de *S. typhi*; esta prueba se emplea para identificar al microorganismo a partir de cultivos obtenidos previa siembra de las diversas muestras biológicas; las colonias se suspenden en solución salina isotónica y se hacen reaccionar con los anticuerpos anti-*S. typhi* adsorbidos a las partículas de látex; la presencia de aglutinación indicará homología. La reacción en la que los anticuerpos están dirigidos contra el antígeno Vi tiene una sensibilidad del 98.1 % y su especificidad es del 100 %; contrastando con las cifras anteriores, si los anticuerpos empleados son anti-O, sólo se alcanzará una pobre sensibilidad

del 39.5 %, aunque la especificidad será del 100 %; por ello, se prefieren las partículas recubiertas con anticuerpos anti-Vi (60).

#### Ensayos inmunoenzimáticos (EIA)

En este rubro destacan diversos ensayos capaces de detectar la presencia de anticuerpos IgM e IgG específicos en el suero del paciente (58).

Una de las variantes más aceptadas incluye el empleo de anticuerpos dirigidos contra una proteína de membrana externa (OMP) de 50 KDa de *S. typhi*. El antígeno se encuentra adherido a una membrana de nitrocelulosa, por lo cual los sueros positivos reaccionarán con dichas proteínas fijas; un segundo anticuerpo anti- $\gamma$  globulina humana marcado con peroxidasa se incorporará establemente al sistema y la reacción se podrá revelar

adicionando el sustrato para la enzima (  $H_2O_2$  acomplejado con o-fenilendiamina) (58).

Cabe señalar que los anticuerpos IgG anti-OMP persisten hasta por 18 meses después de aparecer la afección, pudiendo dar lugar a falsos positivos en caso de patologías futuras; en este sentido, aunque la prueba es muy sensible y específica, debe apoyarse con la realización de hemocultivos seriados (58).

Otros anticuerpos a detectarse y cuantificarse son los dirigidos contra flagelina o fracciones de la envoltura celular -incluida la OMP-; la técnica es tan sensible que puede resultar exitosa, aún desde la última parte de la primera semana. Su especificidad es del 100 %, su sensibilidad del 100 % y tiene la ventaja de realizarse en sólo 4.5 h (119, 120).

Finalmente, una ELISA por inhibición utiliza como antígeno a las porinas de membrana y anticuerpos monoclonales anti-porina conjugados con una enzima; obviamente, los anticuerpos del paciente -si los hay en el suero-, reaccionarían con el antígeno, impidiendo la unión de los anticuerpos monoclonales marcados; esta prueba tiene una sensibilidad del 94 % y una especificidad del 98 % (85).

- **Reacción en cadena de la polimerasa**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se basa en la amplificación de una secuencia específica del DNA, con lo cual se producen múltiples copias que hacen casi imposible pasar por alto la presencia de *S. typhi* en las muestras involucradas. En esencia, se trata de una reacción enzimática en la que participa una DNA polimerasa, denominada taq DNA pol I, la cual cataliza la formación de enlaces fosfodiéster entre los

desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTP) y los pequeños segmentos de DNA conocidos como primers o iniciadores, que garantizan la amplificación del fragmento "molde". Evidentemente, el papel de la taq polimerasa también resulta determinante, en el sentido de que promueve la formación de cadenas complementarias, copiando con exactitud la secuencia "blanco". La unión de las bases no sólo depende de la secuencia del DNA molde, sino también de ciclos repetidos, cada uno de los cuales involucra tres etapas de temperatura; a 96°C se desnaturaliza el DNA molde, entre los 40 y 60°C ocurre el alineamiento de los primers al molde, y a los 72°C tien lugar la extensión de los primers por parte de la DNA polimerasa. El análisis por PCR permite detectar la presencia de diferentes microorganismos en las diferentes muestras biológicas, con una alta sensibilidad y especificidad (17, 21, 35, 59, 112, 119).

En el caso de *Salmonella typhi*, el segmento "blanco" a amplificar por PCR es frecuentemente el gen *viaB* (que codifica para el antígeno Vi), aunque también es confiable apuntar hacia el gen *fliC* (68, 87, 119).

La PCR basada en la amplificación de *viaB* puede dar lugar a reactividad cruzada con otras bacterias que también presentan el antígeno Vi; además, se ha observado que la inserción natural del elemento IS200 entre los genes *gyrA* y *rscC* de *S. typhi*, origina una banda constante en todos los ensayos asociados a la PCR (17).

En virtud de lo anterior, es más confiable la amplificación del fragmento de 343 bp del gen de flagelina de *S. typhi*, ya que se trata de un segmento muy específico (21, 35, 112).

## V. TRATAMIENTO

Antes del descubrimiento del cloranfenicol, la mortalidad asociada a la fiebre tifoidea ascendía hasta 10 a 15 %; sin embargo, la disponibilidad de este fármaco disminuyó las cifras hasta 1 a 3 %, si bien la aparición de cepas resistentes a concentraciones del antibiótico superiores a 100 mg/ml obligó a modificar drásticamente el enfoque y las recomendaciones terapéuticas. A continuación se señalan los antimicrobianos empleados con mayor frecuencia para tratar los padecimientos debidos a *S. typhi* (39, 78).

### **Cloranfenicol**

El uso del cloranfenicol inició en 1948 y durante algunas décadas permaneció como el fármaco de elección contra la fiebre



tifoidea; se trata de un antibiótico de amplio espectro, activo contra numerosas bacterias Gram positivas y Gram negativas, a las cuales inhibe su síntesis de proteínas; no es tóxico a concentraciones terapéuticas: en niños, la dosificación adecuada es de 100 mg/Kg de peso, cada 6 h, durante 10-12 días, mientras que en los adultos, es de 50 mg/Kg con la misma posología. Cuando el paciente está inconsciente o se detecta intolerancia por ocurrir vómito, se puede administrar por vía parenteral en las mismas dosis y, si el agente causal es sensible, la fiebre desaparecerá en un período de tres a cinco días (1, 2, 39, 40, 73, 108, 125).

Entre las ventajas que ofrece el cloranfenicol se cuentan su gran biodisponibilidad, bajo costo y notable eficacia clínica. En contraste, sus principales desventajas son: no garantiza la eliminación de *S. typhi* ni las recaídas al término del tratamiento, no evita las complicaciones tales como la perforación intestinal y

el sangrado, y forma parte de regímenes terapéuticos prolongados que provocan leucopenia y trombocitopenia (1, 2, 39, 40, 73, 108, 125).

### **Ampicilina**

La ampicilina es una penicilina semisintética que actúa contra un amplio espectro de bacterias a las que inhibe la síntesis de pared celular; es bactericida y carece de toxicidad, pero es sensible a la acción de las  $\beta$ -lactamasas e inestable en presencia del ácido clorhídrico gástrico. Su empleo inició desde 1970, percibiéndose que su actividad es ligeramente menor a la del cloranfenicol y que, aunque controla la gravedad del cuadro clínico de la tifoidea en seis a siete días, sus porcentajes de portadores convalescentes, de fracasos y de complicaciones son superiores a los relacionados con dicho medicamento. En niños y adultos la dosis adecuada es de 100-200 ml/Kg, cada 6 h,

durante 12 a 14 días; la ampicilina puede administrarse por vía oral y parenteral, y es el fármaco de elección durante el embarazo, ya que es el de menor riesgo tanto para la madre como para el producto (39, 72, 108, 125).

### **Sulfametoxazol-Trimetoprim**

Esta combinación, en proporción 5:1, a dosis de 40 mg/Kg, durante 14 días, ofrece la posibilidad de éxito contra las cepas resistentes al cloranfenicol, ya que neutraliza las fiebres elevadas en 7 días. Puesto que se trata de un antimetabolito de las pirimidinas, son de esperarse algunos efectos tóxicos; de hecho, esta combinación antimicrobiana es nefrotóxica y no debe emplearse en pacientes con concentraciones de creatinina sanguínea mayores de 2 mg/100 ml. Sus proporciones de portadores convalescientes y fracasos clínicos son similares a los observados con la ampicilina (1, 39, 73, 125).

## Furazolidona

La furazolidona pertenece a los nitrofuranos y es un antimicrobiano sintético eficaz contra una amplia variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas, varios protozoos patógenos y algunos hongos que causan infecciones superficiales. En dosis de 10 a 15 mg/Kg, durante 12 a 14 días, logra controlar la fiebre tifoidea en 6 a 7 días; se administra exclusivamente por vía oral y se asocia a un 20 % de portadores convalescientes, quienes dejan de serlo en un lapso de dos semanas; en general, su eficacia terapéutica es comparable a la de la ampicilina (1, 39).

Cada vez se describen con mayor frecuencia algunos brotes de infecciones ocasionadas por cepas de *S. typhi* resistentes a cloranfenicol-ampicilina-TMP/SMZ, contra los cuales la furazolidona también resulta poco efectiva; en dichos casos se

recomienda el empleo de quinolonas, cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos (1, 39).

## **Quinolonas**

Desde 1990, los derivados de las quinolonas fluorinadas o fluoroquinolonas (entre los cuales se incluye a la ciprofloxacina, la ofloxacina, la perfloxacina y la norfloxacina), han demostrado gran eficacia contra las cepas multirresistentes de *S. typhi*, tanto en enfermos como en los portadores crónicos; de hecho, todos inducen una rápida apirexia y la eliminación de los microorganismos por excreción intestinal. La ciprofloxacina se administra en dosis de 500 a 750 mg, por vía oral, cada 12 h, durante 14 días, alcanzando una eficacia muy cercana al 100 %; los regímenes terapéuticos de 7 a 10 días también llegan a cifras semejantes, pero los de 3 a 6 días apenas rebasan el 65 % (39, 72, 108, 122, 124).

El uso de estos fármacos aún no está autorizado para pacientes en edad pediátrica, ya que podrían resultar artropatogénicos; esta afirmación se desprende del hecho de que en modelos animales han provocado daños al cartilago y a los huesos largos; sin embargo, lo cierto es que aún no se han detectado evidencias de que en los humanos sucedan procesos similares u otros de características tóxicas (39, 72, 108, 122).

Adicionalmente, el uso de la ciprofloxacina es limitado en el embarazo, aunque se han reportado numerosos casos exitosos durante el primer trimestre de gestación, sin consecuencias indeseables para el producto; en algunos estudios se analiza la posibilidad de reducir la duración del tratamiento a tan sólo 2 ó 3 días, con dosis de 15 mg/Kg/día (3, 8, 73, 98, 130).

Es importante tomar en cuenta que se han aislado algunas cepas de *S. typhi* que presentan resistencia a las quinolonas y que, por lo tanto, no responden a la ciprofloxacina; en este sentido, es recomendable efectuar pruebas de susceptibilidad antes de instituir la terapia correspondiente. La resistencia a dicho antibiótico es realmente rara, porque esta capacidad reside en el cromosoma bacteriano y no en plásmidos (3, 8, 39, 73, 98, 130).

Por lo que se refiere a la ofloxacina, ésta se considera muy efectiva, dosificada a razón de 200 mg, cada 12 h, por vía oral, durante 5 días; de hecho, es más aceptada que la ceftriaxona administrada por 3 días, en una sola dosis diaria de 3 g. También se ha observado que, en los pacientes pediátricos, los tratamientos con ofloxacina oral, durante 2 ó 3 días, a razón de 15 mg/Kg/día, representan una adecuada opción terapéutica (51, 72, 108).

En general, la ofloxacina forma parte de regímenes sencillos, baratos, seguros y 100 % efectivos, contra cepas multirresistentes que inducen el estado de portador crónico (39, 72, 108, 122).

### **Cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos**

Las cefalosporinas de tercera generación incluyen a la ceftriaxona, la cefotaxime y la cefoperazona, entre algunas otras. En afecciones debidas a cepas multirresistentes de *S. typhi*, todas las anteriores han demostrado ser de gran utilidad en dosis de 100 mg/Kg/día (sin exceder los 4 g por día), por vía parenteral, cada 12 h, durante dos semanas; se difunden rápidamente en los tejidos y penetran en las células, lo que las hace efectivas contra microorganismos intracelulares; además, son de amplio espectro, estables a las  $\beta$ -lactamasas y no son nefrotóxicas (1, 2, 3, 39, 72).



La ceftriaxona ha mostrado hasta 100 % de actividad *in vitro* contra las diferentes especies de *Salmonella*, su vida media es de 8 h y puede utilizarse en niños y en mujeres embarazadas; aunque su excreción biliar impide el éxito en pacientes con infecciones entéricas, su efectividad *in vivo* se calcula en 79 a 92 %, y sus eventuales efectos colaterales son urticaria, flebitis y colestasis (1, 2, 3, 72).

Por su parte, el aztreonam se recomienda hasta para mujeres embarazadas, en dosis de 1 a 2 g, por vía parenteral, cada 8 h, durante dos semanas; en los niños, la dosis adecuada es de 120 a 200 mg/Kg, por vía intravenosa, cada 6 h. Aunque muestra gran actividad *in vitro* contra *S. typhi* y *S. paratyphi*, su acción resulta más lenta *in vivo*; elimina rápidamente al microorganismo de los vasos sanguíneos, si bien el alivio es lento, debido a que no penetra eficazmente en las células infectadas; su mayor

desventaja reside en que sólo se administra por vía parenteral (3, 40).

La azitromicina es un antibiótico macrólido que presenta una actividad moderada *in vitro* contra *Salmonella*; durante un estudio en el que se administró por vía oral, a razón de 1g en el primer día y de 500 mg en los 7 días subsecuentes, se obtuvo una buena respuesta en tres de los cuatro pacientes analizados quienes, desafortunadamente, también manifestaron síntomas de toxicidad tales como vómito y fiebre; este último inconveniente pudo deberse a que se alcanzaron muy elevadas concentraciones intracelulares del fármaco. En este sentido, se concluyó que la azitromicina sí es efectiva contra *S. typhi*, pero sólo debe utilizarse en cuadros muy severos (125).

## VI. PREVENCIÓN

- **Medidas sanitarias**

Tal como se ha establecido para el caso de todas las enfermedades infecciosas que se adquieren por vía oral, la prevención primaria de la fiebre tifoidea incluye diversas medidas de orden sanitario, entre las que destacan cocer adecuadamente los alimentos, en particular la carne y huevos, pasteurizar la leche y lavarse las manos después de ir al baño y antes de comer; asimismo, es importante que exista un control del agua potable, de los alimentos y bebidas pero, además, es necesario evitar que los portadores y enfermos participen en la manipulación y preparación de los alimentos (90).

- **Vacunas**

Dada la frecuencia y gravedad de la enfermedad, se han desarrollado numerosas vacunas destinadas a neutralizar los efectos nocivos de *S. typhi*, previniendo que este microorganismo logre ingresar al intestino humano. Dichas vacunas suelen constituirse por bacterias inactivadas o atenuadas, o bien, por sustancias bacterianas purificadas conjugadas con proteínas acarreadoras que potencian su inmunogenicidad (90).

En cuanto a las vacunas producidas por cepas inactivadas de *S. typhi*, sus beneficios son muy limitados: la de menores objeciones es la obtenida mediante la previa exposición de los microorganismos a la acción sucesiva del calor -a temperaturas aproximadas de 60°C- y del fenol; se administra a los individuos en dos oportunidades, por vía subcutánea, a razón de  $5 \times 10^9$  bacterias (0.5 mL) cada vez, obteniéndose una cuestionable

protección de corta duración y elevadas incidencias de reacciones colaterales, tanto locales como sistémicas (38, 47, 56, 90, 114).

Por lo que hace a las vacunas constituídas por sustancias de *S. typhi* conjugadas con proteínas acarreadoras, éstas aún se encuentran en estudio, si bien destacan las conformadas por antígeno capsular Vi. Una de ellas se puede administrar prácticamente a cualquier edad, por vía intramuscular, en dosis de 15 µg y, al parecer, sus reacciones adversas son mínimas, brindando protección en 60 a 75 % de los casos, durante tres años; sin embargo, la más conocida no es adecuada para niños menores de seis años y, aunque su eficacia se calcula en 66 a 94 %, su aplicación provoca fiebre y malestar general durante 12 a 24 h (38, 62, 67, 65, 114).

Adicionalmente, algunos autores se encuentran trabajando con una vacuna elaborada con el LPS del microorganismo, unido a toxoide tetánico, tratando de aprovechar que éste es seguro y altamente inmunógeno. Hasta el momento sólo se ha inoculado en ratones, obteniéndose resultados esperanzadores: en uno de los lotes empleados se detectaron altos niveles de anticuerpos anti-O, los cuales *in vitro* manifestaron efectos bactericidas contra el microorganismo; otro de los lotes vacunados se desafió inoculando 10 DL<sub>50</sub> de *S. typhi* Ty2 (tipo salvaje) a cada animal y se logró una protección final de 100 %. Otros estudios sugieren que las proteínas de membrana externa (OMP) del microorganismo también estimulan la respuesta inmune celular y humoral, por lo que se continúa analizando su probable utilidad profiláctica en modelos murinos (76, 99).

Finalmente, con respecto a las vacunas constituidas por bacterias atenuadas, algunas se encuentran en uso y otras bajo

investigación; la mencionada atenuación se ha venido practicando mediante diversas metodologías, sobresaliendo las de mutagénesis química, en las que se busca la eliminación de algunos genes de virulencia o la de otros que codifican para la síntesis de adenilato ciclasa, para la proteína receptora para AMPc o para enzimas esenciales en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos; de la misma manera, se han obtenido cepas auxótrofas para los ácidos p-aminobenzoico (PABA) y dihidroxibenzoato, e inclusive, se ha empleado la radiación con neutrones para generar bacterias atenuadas en las que, además, se neutralizan las propiedades tóxicas de sus LPS (29, 90, 97, 115).

A continuación se describen algunas características de las principales vacunas elaboradas con microorganismos atenuados, cuya administración es por vía oral:

Una de ellas se emplea encapsulándose bajo cubiertas entéricas y no ha resultado alentadoramente protectora; la cepa involucrada es *S. typhi* Ty21a, cada cápsula contiene 10<sup>9</sup> UFC y se proporciona al individuo a razón de tres a cuatro dosis cada tercer día. Su eficacia es aproximadamente de 65 % en las zonas endémicas y la duración de sus efectos protectores se limita a tres años, por lo que las personas con riesgo de exposición deben recibir dosis de refuerzo al término de dicho lapso (20, 27, 54, 80, 86, 114, 126).

Otra vacuna atenuada implica a la cepa *S. typhi* Ty21, su presentación es en forma líquida, es segura, con pocas reacciones colaterales, confiere una protección de hasta el 95 % y se puede administrar a menores de seis años. Su desventaja incluye la necesidad de ingerir tabletas de bicarbonato de sodio antes de su ingestión, a fin de neutralizar la acidez gástrica que



resulta letal para las bacterias que integran al agente profiláctico (20, 27, 54, 62, 80, 86, 114, 126).

Otro caso es el de la vacuna elaborada a partir de mutaciones en el gen *galE* de *S. typhi* Ty21; ésta confiere protección contra la fiebre tifoidea, inclusive con escasos efectos colaterales, pero como la modificación origina la pérdida de la capacidad para producir galactosa, la respuesta inmune inducida no resulta muy eficaz debido a que dicho carbohidrato es esencial en la estructura del LPS. También se han intentado utilizar cepas con deleciones en el operon *phoP/phoQ*, como vacunas; las cuales han demostrado ser cepas altamente seguras, pero poco inmunogénicas (52, 53, 57).

Algunas cepas atenuadas de *S. typhi* pueden ser utilizadas como vectores que también acarrean antígenos de otros

microorganismos tales como *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis* y *Plasmodium falciparum*. Este es el caso de la CVD908, un derivado de *S. typhi* Ty2, que se emplea como vacuna oral; no posee los genes *aroC* y *aroD* completos, es bien tolerado, provoca una adecuada respuesta inmune, es muy seguro y la virulencia de las bacterias no se revierte; además, desencadena una proliferación de linfocitos citotóxicos muy eficaces -la cual es muy relevante porque dichos leucocitos promueven la destrucción de células hospedadoras infectadas por *S. typhi*- y la cepa también se puede usar como vector, para inmunizar al individuo contra algunos otros microorganismos (10, 34,114, 115).

Cabe mencionar que otra bacteria, la CVD906 derivada del tipo salvaje ISP1820, es muy inmunogénica pero origina fiebre en proporciones significativas; en este sentido, algunos investigadores de la Universidad de Meriland lograron una

mutación en el gen *htrA* de ésta y de la CVD908, que condujo a la pérdida, tanto de la virulencia, como de la capacidad para sobrevivir y/o replicarse en los tejidos y de sobrevivir dentro de los macófagos; de esta manera, ambas cepas resultaron muy eficaces en voluntarios sanos, con buena tolerancia y elevada respuesta de anticuerpos contra el LPS y el antígeno H de *S. typhi* (10, 34, 114, 115).

Por otra parte, se está estudiando en una vacuna oral constituida por *S. typhi* (Ty21a) y *V. cholerae* (CVD103-HgR) atenuados; en forma conjunta, seroconvirtieron al 72 % de los voluntarios inoculados por vía oral, lográndose elevados títulos de anticuerpos IgG e IgA contra los LPS de ambas especies; la vacuna no ocasionó efectos adversos pero aún se encuentra bajo investigación (27).

Finalmente, no se han reportado datos acerca del efecto de las vacunas señaladas en mujeres embarazadas ni en individuos inmunocomprometidos pero, como se ha subrayado, aquéllas sólo se recomiendan en personas con exposición continúa a *Salmonella typhi* que habitan en zonas de alto riesgo, así como en turistas que visitan países endémicos, en quienes tienen contacto permanente con portadores crónicos o laboran en laboratorios clínicos (38).

## CONCLUSIONES

1. Entre los diversos factores de virulencia de *S. typhi* destacan su adherencia e invasividad, su gran movilidad, los LPS, el antígeno Vi, su capacidad para sobrevivir en el tracto digestivo y dentro de los fagocitos, y su resistencia a la acción del complemento y de numerosos antibióticos.
2. La capacidad de síntesis de los factores de patogenicidad de *S. typhi* reside en numerosos genes cromosómicos y plasmídicos cuya expresión depende de diferentes señales físicas y químicas, tales como la temperatura, el pH, la concentración de oxígeno, la osmolaridad, y la concentración de algunos cationes.
3. La fiebre tifoidea es un padecimiento endémico asociado a la ingestión, tanto de agua supuestamente potable, como de alimentos y bebidas contaminados; su frecuencia es mayor en los países subdesarrollados -como México-, en los que la morbilidad asciende y la mortalidad disminuye gradualmente.

4. El tratamiento de elección de la fiebre tifoidea incluye el empleo de cloranfenicol, ampicilina y/o trimetoprim-sulfametoxazol aunque, en el caso de cepas resistentes, se recomiendan las quinolonas y las cefalosporinas de tercera generación.

5. Las medidas básicas para prevenir la fiebre tifoidea son de orden sanitario; sin embargo, en las zonas de mayor riesgo y entre las personas con riesgo profesional, también podrían emplearse algunas vacunas orales constituidas por cepas atenuadas, las cuales llegan a brindar protección durante aproximadamente tres años.

## BIBLIOGRAFIA

1. Acharya G., Butler T., Ho M., and Tiwari M.: Treatment of typhoid fever: Randomized trial of a three-day course of ceftriaxone versus a fourteen-day course of chloramphenicol, *Am J Trop Med Hyg*, 1995; 52(2): 162-165.
2. Acharya G., Crevoisier C., Butler T., Ho M., Tiwari M., Stoeckel K., and Bradley C.: Pharmacokinetics of ceftriaxone in patients with typhoid fever, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1995; 38(10): 2415-2418.
3. Alam M., Haq S., Das K., Baral P., Mazid M., Sikkique R., Rahman K., Hasan Z., Khan M., and Dutta P.: Efficacy of ciprofloxacin in enteric fever: Comparison of treatment duration in sensitive and multidrug-resistant *Salmonella*, *Am J Trop Med Hyg*, 1995; 53(3): 306-311.
4. Altmeyer, McNern; Bossio, Rosenshine, Finlay, and Galán.: Cloning and molecular characterization of a gene involved in *Salmonella* adherence and invasion of cultured epithelial cells, *Mol Microbiol*, 1993; 7: 89-98.
5. Alvarado F., González M., Rodríguez B., Ramírez A., Isibasi A., y Kumate J.: Serología comparativa en la fiebre tifoidea en niños. II. Comparación de una técnica de microhemoaglutinación en placa con fijación en superficie de Ruíz-Castañeda, *Bol Med Hosp Infant Mex*, 1989; 46(2): 83-88.

6. Antony T., Patwari A., Anand V., Pillai P., Aneja S., and Sharma D.: Duodenal string test in typhoid fever, *Indian Pediatr*, 1993; 30(5): 643-647.
7. Arya Subhash. IS200 Insertion between *gyrA* and *rcsC* Genes in *Salmonella typhi*, *J of Clin Microbiol*, 1998; 36(5): 1466.
8. Atkins B., Licciardone J., Gleckman R., and Zenilman J.: Emerging drug resistance and vaccination for typhoid fever, *JAMA*, 1998; 279(8): 579-580.
9. Bailey Scott.: DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO  
editorial Panamericana, 7ª. edición  
Buenos Aires, (1996), p. 375-394
10. Barry E., Gomez D., Chatfield S., Rappuoli R., Pizza M., Losonsky G., Galen J., and Levine M.: Expression and immunogenicity of pertussis toxin S1 subunit-tetanus toxin fragment C fusions in *Salmonella typhi* vaccine strain CVD 908, *Infection and Immunity*, 1996; 64(10): 4172-4181.
11. Bäumler A., Tsolis R., and Heffron F.: Fimbrial adhesins of *Salmonella typhimurium*. Role in bacterial interactions with epithelial cells, *Curr Top Microbiol Immunol*, 1997; 730: 149-155.
12. Bäumler A., Tsolis R., Van der Velden, Stojiljkovic I., Anic S., and Heffron F.: Identification of a new iron regulated locus of *Salmonella typhi*, *Gene*, 1996; 183: 207-213.



13. Belden W., and Miller S.: Further characterization of the PhoP regulon: Identification of new PhoP-activated virulence loci, *Infection and Immunity*, 1994; 62(11): 5095-5101.
14. Bradley D. Salmonellosis: Host immune responses and bacterial virulence determinants, *Annu Rev Immunol*, 1996; 14: 533-561.
15. Buczko G. and Mc Lean J.: Typhoid fever associated with adult respiratory distress syndrome, *Chest*, 1994; 105: 1873-1874.
16. Cabello Felipe.: Pathogenicity islands: important but not unique factors contributing to *Salmonella* virulence, *Trends in Microbiology*, 1997; 5(11): 431-432.
17. Calva E., Ordoñez G., Fernández-Mora M., Santana F., Bobadilla M., and Puente J.: Distinctive IS200 insertion between *gyrA* and *rscC* genes in *Salmonella typhi*, *J of Clin Microbiol*, 1997; 35(12): 3048-3053.
18. Caygill P., Hill J., Braddick M., Sharp C.: Cancer mortality in chronic typhoid and paratyphoid carriers, *Lancet*, 1994; 343: 83-84.
19. Chart H., Rowe B., and Cheesbrough J.: Serological response of patients infected with *Salmonella typhi*, *J Clin Pathol*, 1997; 50(11): 944-946.

20. Chatfield, Roberts, Dougan, and Khan.: The development of oral vaccines against parasite diseases utilizing live attenuated *Salmonella*, *Parasitology*, 1995; 110: S17-S24.
21. Chaudhry R., Laxmi B., Nisar N., Ray K., and Kumar D.: Standardisation of polymerase chain reaction for the detection of *Salmonella typhi* in typhoid fever, *J Clin Pathol*, 1997; 50(5): 437-439.
22. Choo K., Davis T., Ismail A., and Ong K.: Longevity of antibody responses to a *Salmonella typhi*-specific outer membrane protein: Interpretation of a dot enzyme immunosorbent assay in an area of high typhoid fever endemicity, *Am J Trop Med Hyg*, 1997; 57(6): 656-659.
23. Clark A., Hirst B., and Jepson M.: Inoculum composition and *Salmonella* pathogenicity island 1 regulate M-cell invasion and epithelial destruction by *Salmonella typhimurium*, *Infection and Immunity*, 1998; 66(2): 724-731.
24. Conner C., Heithoff D., and Mahan M.: In vivo gene expression: contributions to infection, virulence, and pathogenesis, *Curr Top Microbiol Immunol*, 1998; 225: 1-12.
25. Conner C., Heithoff D., Steven M., Sinsheimer R., and Hahan M.: Differential patterns of acquired virulence genes distinguish *Salmonella* strains, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95: 4641-4645.

26. Contreras I., Toro C., Troncoso G., and Mora G.: *Salmonella typhi* mutants defective in anaerobic respiration are impaired in their ability to replicate within epithelial cells, *Microbiology*, 1997; 143: 2665-2672.
27. Cryz S., Que J., Levine M., Wiedermann G., and Kollaritsch H.: Safety and immunogenicity of a live oral bivalent typhoid fever (*Salmonella typhi* Ty21a)-cholera (*Vibrio cholerae* CVD 103-HgR) vaccine in healthy adults, *Infection and Immunity*, 1995; 63(4): 1336-1339.
28. DeRosier David.: The turn of the screw: The bacterial flagellar, motor, *Cell*, 1998; 93: 17-20.
29. Dima F., Ivanov D., and Dima S.: Active immunization against *Salmonella typhi* by oral administration of fast neutron irradiated cells, *Ann N Y Acad Sci*, 1994; 739: 348-349.
30. Dunstan S., Simmons C., and Strugnell R.: Comparison of the abilities of different attenuated *Salmonella typhimurium* strains to elicit humoral immune responses against a heterologous antigen, *Infection and Immunity*, 1998; 66(2): 732-740.
31. Elsinghorst Eric.: Measurement of invasion by gentamicin resistance, *Methods in Enzymology*, 1994; 236: 405-420.
32. Fenández, Torres, Verdejo, Fernández, and Górgolas.: Treatment of experimental endocarditis due to ampicillin susceptible or ampicillin resistant *Salmonella enteritidis*,

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996; 40(7): 1589-1593.
- 33.Figueroa R., Segura E., García T., y De la Cruz R.: Fiebre tifoidea durante la gestación. Curso clínico; tratamiento y repercusión perinatal, Ginecología y Obstetricia de México, 1994; 62: 362-367.
- 34.Fouts T., Lewis G., and Hone D.: Construction and characterization of a *Salmonella typhi*-based human immunodeficiency virus type 1 vector vaccine, Vaccine, 1995; 13(6): 561-569.
- 35.Gad Frankel.: Detection of *Salmonella typhi* by PCR, J Clin Microbiol, 1994; 32(5): 1415.
- 36.Galán J.: Molecular and cellular bases of *Salmonella* entry into host cells, Curr Top Microbiol Immunol, 1996; 209: 43-56.
- 37.Galán J., and Curtiss. Distribution of the *invA*, *-B*, *-C*, and *-D* genes of *Salmonella typhimurium* among other *Salmonella* serovars *invA* mutants of *Salmonella typhi* are deficient for entry into mammalian cells, Infect Immun, 1991; 59: 2901-2908.
- 38.Gardner, Eickhoff, Poland Gross, Griffin, LaForce and Schaffner.: Adul immunization, Annals of Internal Medicine, 1996; 124 (1): 38-40.

39. Goodman y Gilman, LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA

editorial Panamericana, 8ª. edición

México, (1991), p. 1027-1095.

40. Gotuzzo E., Echevarría J., Carrillo C., Sánchez J., Grados P., Maguiña C., and Dupont H.: Randomized comparison of aztreonam and chloramphenicol in treatment of typhoid fever, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994; 38(3): 558-562.

41. Groisman Eduardo.: A green light for virulence gene expression, *Nature Medicine*, 1997; 3(11): 1190-1191.

42. Grossman D., Withan N., Burr D., Lesmana M., Rubin F., Schoolnik G., and Parsonnet J.: Flagellar serotypes of *Salmonella typhi* in Indonesia: Relationships among motility, invasiveness, and clinical illness, *J Infectious Diseases*, 1995; 171: 212-216.

43. Gulig, Doyle, Ciare-Salzler, Maiese, and Matsui, Systemic infection of mice by wild-type but not Spv- *Salmonella typhimurium* is enhanced by neutralization of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha, *Infect and Immunity*, 1997; 65(12): 5191-5197.

44. Guilloteau L., Wallis T., Gautier A., MacIntyre S., Platt D., and Lax A.: The *Salmonella* virulence plasmid enhances *Salmonella*-induced lysis of macrophages and influences inflammatory responses, *Infection and Immunity*, 1996; 64(8): 3385-3393.

45. Gunn J., Hohmann E., and Miller S.: Transcriptional regulation of *Salmonella* virulence: a PhoQ periplasmic domain mutation results in increased net phosphotransfer to PhoP, *J Bacteriol*, 1996; 178(21): 6369-6373.
46. Gunn J., Alpuche C., Loomis W., Belden W., and Miller S.: Characterization of the *Salmonella typhimurium pagC/pagD* chromosomal region, *J of Bacteriology*, 1995; 177(17): 5040-5047.
47. Hal Jenson and Conred D.: Typhoid new and improved vaccines promise weapons against varicella, hepatitis A, and typhoid fever, *Posgrad Med*, 1996; 100(4):113-118.
48. Hashimoto Y., and Quayum K.: Comparison of *ViaB* regions of Vi-positive organisms, *FEMS Microbiology Letters*, 1997; 157:55-57.
49. Hassan M. Multiply-resistant *Salmonella typhi* in children, *Drugs*, 1995; 49(Suppl.2): 457-459.
50. Heithoff D., Conner C., Hanna P., Julio S., Hentschel U., and Mahan M.: Bacterial infection as assessed by in vivo gene expression, *Proc natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 934-939.
51. Hermans P., Samir S., Wijnanda J., Van L., Werbrugh H., Van B., and Wil G.: Molecular typing of *Salmonella typhi* strains from Dhaka (Bangladesh) and development of DNA probes identifying plasmid-encoded multidrug-resistant isolates, *J of Clinical Microbiology*, 1996; 34(6): 1373-1379.

- 52.Hohmann E., Oletta C., Killen K., and Miller S.: *phoP/phoQ*-Deleted *Salmonella typhi* (Ty800) is a safe and immunogenic single-dose typhoid fever vaccine in volunteers, *J of Infectious Diseases*, 1996; 173: 1408-1414.
- 53.Hohmann E., Oletta C., and Miller S.: Evaluation of a *phoP/phoQ*-deleted, *aro A*-deleted live oral *Salmonella typhi* vaccine strain in human volunteers, *Vaccine*, 1996; 14(1):19-24.
- 54.Hone D., Harris A., and Levine M.: Adaptive acid tolerance response by *Salmonella typhi* and candidate live oral typhoid vaccine strains, *Vaccine*, 1994; 12(10): 895-897.
- 55.Hone D., Harris A., Lim V., and Levine M.: Construction and characterization of isogenic O-antigen variants of *Salmonella typhi*, *Molecular Microbiology*, 1994; 13(3): 525-530.
- 56.Hooke A., Cerquetti M., Zelig B., Wang Z., Hoberg K., and Bellanti J.: Genetically stable temperature sensitive mutants of *Salmonella typhi* induce protection in mice, *Vaccine*, 1993; 11(14): 1386-1389.
- 57.Houng H., Kopecko D., and Baron L.: Molecular cloning and physical and functional characterization of the *Salmonella typhimurium* and *Salmonella typhi* galactose utilization operons, *J of Bacteriology*, 1990; 172(8): 4392-4398.

58. Jackson A., Ismail A., Tuan A., Zainoodin S., and Nazaruddin M.: Retrospective review of dot enzyme immunoassay test for typhoid fever in an endemic area, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1995; 26(4): 625-630.
59. Jae H., Cho H., Mee Y., Yang S., Hee B., Yoo k., and Chik H. Detection of the H1-j strain of *Salmonella typhi* among Korean Isolates by the polymerase chain reaction, *Am J Trop Med Hyg*, 1994; 50(5): 608-611.
60. Jesudason M., Sridharan G., Mukundan S., and John T.: Vi specific latex agglutination for early and rapid detection of *Salmonella* serotype *typhi* in blood cultures, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1994; 18(2): 75-78.
61. Kaufmann Stefan.: Immunity to intracellular bacteria, *Annu Rev Immunol*, 1993; 11: 129-163.
62. Keitel W., Bond N., Zahradnik J., Cramton T., and Robbins J.: Clinical and serological responses following primary and booster immunization with *Salmonella typhi* Vi capsular polysaccharide vaccines, *Vaccine*, 1994; 12(3):195-198.
63. Keuter M., Dharmana E., Kullberg B., Schalkwijd C., Gasem H., Seuren L., Kjekomoeljanto R., Dolmans W., Van der Bosch H., and Van der Meer J.: Phospholipase A2 is a circulating mediator in typhoid fever, *J Infectious Diseases*, 1995; 172: 305-308.



64. Keuter M., Dharmana E., Gasem H., Van der Ven-Jogekrijg, Kjekomoeljanto R., Kolmans W., Demacker P., Sauerwein R., Gallati H., and Van der Meer.: Patterns of proinflammatory cytokines and inhibitors during typhoid fever, *J of Infectious Disease*, 1994; 169: 1306-1311.
65. Klugman K., Koornhof H., Robbins J., and Lecam N.: Immunogenicity, efficacy and serological correlate of protection of *Salmonella typhi* VI capsular polysaccharide vaccine three years after immunization, *Vaccine*, 1996; 14(5): 435-438.
66. Koneman, Allen, Dowell, Janda, Sommer, Win. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO  
editorial Panamericana, 3ª. edición  
Buenos Aires, (1992), p 213-217 y 228-230.
67. Kumate, Gutiérrez, González, Muñoz. MANUAL DE INFECTOLOGÍA  
editorial Méndez, 1ª. edición  
México, (1994), p. 103-115.
68. Kwai-Lin T., Megan P., Clegg A., Barry C., Rohani Y., and Tikki P.: Molecular analysis of isolates of *Salmonella typhi* obtained from patients with fatal and nonfatal typhoid fever, *J of Clinical Microbiology*, 1996; 34(4): 1029-1033.

69. Kwai-Lin T., Yuet-Meng C., Savithry P., Chong-Lek K., and Tikki P.: Epidemiologic analysis of sporadic *Salmonella typhi* isolates and those from outbreaks by pulsed-field gel electrophoresis, *J of clinical Microbiology*, 1994; 32(5): 1135-1141.
70. Leclerc G., Tartera C., and Metcalf E.: Environmental regulation of *Salmonella typhi* invasion-defective mutants, *Infection and Immunity*, 1998; 66(2): 682-691.
71. Leegaard, Van, Petit, and Van De Klundert.: Antibiotic resistance mechanisms in *Salmonella* species causing bacteraemia in Malawi and Kenya, *APMIS*, 1996; 104: 302-306.
72. Leung D., Venkatesan P., Boswell T., Innes J., and Wood M.: Treatment of typhoid in pregnancy, *Lancet*, 1995; 346: 648.
73. Limson Benjamin. Short course quinolone therapy of typhoid fever in developin countries, *Drugs*, 1995; 49(Suppl.2): 136-138.
74. Lindgren S., Stojiljkovic I., and Heffron F.: Macrophage killing is an essential virulence mechanism of *Salmonella typhimurium*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93: 4197-4201.
75. Lindler L., and Jeanne H.: Nucleotide sequence of the *Salmonella typhi groEL* heat shock gene, *Microbial Pathogenesis*, 1994; 17: 271-275.

76. López M., López H., González, Isibasi, and Ortiz N.: Induction of antibodies against *Salmonella typhi* Omp C porin by naked DNA immunization, *Ann N Y Acad Sci*, 1995; 772: 285-288.
77. Mac Faddein Jean F. PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA editorial Panamericana, 1ª. edición México, (1996 ), p. 259-274.
78. Mahan M., Tobias J., Slauch J., Hanna P., Collier J., and Mekalanos J.: Antibiotic-based selection for bacterial genes that are specifically induced during infection of a host, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995; 92: 669-673.
79. Mattatall N., Daines D., Liu S., and Sanderson K.: *Salmonella typhi* contains identical intervening sequences in all seven *rrl* genes, *J of Bacteriology*, 1996; 178(17): 5323-5326.
80. McKenna A., Bygraves J, Maiden M., and Feavers I.: Attenuated typhoid vaccine *Salmonella typhi* Ty21a: fingerprinting and quality control, *Microbiology*, 1995; 14: 1993-2002.
81. Mills S., Ruschkowski S., Stein M., and Finlay B.: Trafficking of porin-deficient *Salmonella typhimurium* mutants inside HeLa cells: *ompR* and *envZ* mutants are defective for the formation of *Salmonella*-induced filaments, *Infection and Immunity*, 1998; 66(4): 1806-1811.

82. Miras, Arricau, and Popoff.: Nucleotide sequence of *lagA* and *lagB* genes involved in invasion of HeLa cells by *Salmonella* subsp. *Enterica* ser. *Typhi*, *Res Microbiol*, 1995; 146: 17-20.
83. Mirza S., Beeching N., and Hart C.: The prevalence and clinical features of multi-drug resistant *Salmonella typhi* infections in Baluchistan, Pakistan, *Ann Trop Med and Parasitology*, 1995; 89(5): 515-519.
84. Misra S., Díaz P., and Rowley A.: Characteristics of typhoid fever in children and adolescents in a major metropolitan area in the United States, *Clinical Infectious Diseases*, 1997; 24: 998-1000.
85. Nandakumar K., Palanivel V., and Muthukkaruppan V.: Diagnosis of typhoid fever: detection of *Salmonella typhi* porins specific antibodies by inhibition ELISA, *Clin Exp Immunol*, 1993; 94(2): 317-321.
86. Nardelli-Haeffliger D., Kraehenbuhl J., Crutiss R., Schödel F., Potts A., Kelly S., and De Grandi P.: Oral and rectal immunization of adult female volunteers with a recombinant attenuated *Salmonella typhi* vaccine strain, *Infection and Immunity*, 1996; 64(12): 5219-5224.
87. Navarro, Llovet, Echeita, Coll, Aladueña, Usera, and Prats.: Molecular typing of *Salmonella enterica* serovar *Typhi*, *J of Clinical Microbiology*, 1996; 34(11): 2831-2834.

88. Nickerson C., and Curtiss R.: Role of sigma factor RpoS in initial stages of *Salmonella typhimurium* infection, *Infection and Immunity*, 1997; 65(5): 1814-1823.
89. Ochman H., Soncini F., Solomon F., and Groisman E.: Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93: 7800-7804.
90. Paniagua J., García J., López C., González C., Isisbasi A., y Kumate J.: Vacunas conjugadas contra infecciones bacterianas: Fiebre tifoidea, *Salud Pública de México*, 1992; 34(3): 268-273.
91. Pérez, Calderón, Ximénez, and Melendro.: Human cell-mediated immune responses to antigenic fractions of *Salmonella typhi*, *Immunology*, 1996; 89: 262-267.
92. Pickard, Li, Roberts, Maskell, Hone, Levine, Dougan, and Chatfield.: Characterization of defined *ompR* mutants of *Salmonella typhi*: *ompR* is involved in the regulation of VI polysaccharide expression, *Infect Immun*, 1994; 62: 3984-3993.
93. Plessis J., Govendragelook, and Levin S.: Right-sided endocarditis due to *Salmonella typhi*, *Pediatr Cardiol*, 1997; 18(6): 443-444.
94. Prieto L., De la Fuente A., González D., López M., Martínez V., Sopena P., Fenández G., and Jimenez B.: Infection by

*Salmonella typhi* in the southern area of Ponteverde, Ann Med Interna, 1994; 11(2): 71-73.

95. Qudri A.: Identification of specific recognition molecules on murine mononuclear phagocytes and B lymphocytes for Vi capsular polysaccharide: modulation of MHC class II expression on stimulation with the polysaccharide, Immunology; 1997; 92: 146-152.
96. Rasally, Dutta, Saha, Mitra Lahiri, and Pal.: Multi-drug resistant typhoid fever in hospitalised children, Eur J Epidemiol, 1994; 10(1): 41-46.
97. Reisinger C., Grsmug E., and Krejs G.: Antibody response after vaccination against typhoid fever in Kurdish refugee camp, Lancet, 1994; 343: 918-919.
98. Rowe B., Ward L., Threlfall E.: Ciprofloxacin-resistant *Salmonella typhi* in the UK, Lancet, 1995; 346: 1302.
99. Saxena M., and Di Fabio J.: *Salmonella typhi* O-polysaccharide-tetanus toxoid conjugated vaccine, Vaccine, 1994, 12(10): 879-884.
100. Sharma M., Datta U., Roy P., Verma S., and Sehgal S.: Low sensitivity of counter current immuno-electrophoresis for serodiagnosis of typhoid fever, J Med Microbiol, 1997; 46(12): 1039-1042.

101. Shea J., Hensel M., Gleeson C., and Holden D.: Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in *Salmonella typhimurium*, Proc Natl Acad Sci USA, 1996; 93: 2593-2597.
102. Shukla S., and Chitnis D.: Haemagglutination system for the simultaneous detection of LPS and anti LPS antibodies of *S. typhi*, Indian J Med Sci, 1997; 51(8): 265-267.
103. Shukla S., Patel B., and Chitnis D.: 100 years of Widal test & its reappraisal in an endemic area, Indian J Med Res, 1997; 105: 53-57.
104. Shu-Lin L., and Kenneth S.: Highly plastic chromosomal organization in *Salmonella typhi*, Proc Natl Acad Sci USA, 1996; 93: 10303-10308.
105. Shu-Lin L., and Kenneth S., and Sanderson A.: Rearrangements in the genome of the bacterium *Salmonella typhi*, Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92: 1018-1022.
106. Siebers A., and Finlay B.: M cells and the pathogenesis of mucosal and systemic infections, Trends in Microbiology, 1996; 4(1): 22-29.
107. Skoutellis, Dimitrakopoulos, and Bassaris.: False positive Widal reactions in high-titer disseminated BCG infection, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1994; 13 (3): 261-263.

108. Smith M., Duong N., Hoa N., Wain J., Ha H., Diep T., Day N., Hien T., and White N.: Comparison of ofloxacin and ceftriaxone for short-course treatment of enteric fever, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994; 38(8): 1716-1720.
109. Soni P., Hoosen A., and Pillay D.: Hepatic abscess caused by *Salmonella Typhi*. A case report and review of the literature, *Hig Dis Sci*, 1994; 39(8): 1694-1696.
110. Steinbacher S., Ulrich B., Miller S., Weintraub A., Seckler R., and Huber R.: Crystal structure of phage P22 tailspike protein complexed with *Salmonella* spp O-antigen receptors, 1996; 93:10584-10588.
111. Subhash C.: Molecular analysis of isolates of *Salmonella typhi* from patients with fatal or nonfatal typhoid fever or aberrant clinical presentations, *J of Clinical Microbiology*, 1996, 34(9): 2340.
112. Subhash C.: Identification of *Salmonella typhi* by PCR among recipients of oral typhoid vaccine lots, *Infect Immun*, 1996; 32: 1133.
113. Swords E., Cannon B., and Benjamin W.: Avirulence of LT2 strains of *Salmonella typhimurium* results from a defective *rpoS* gene, *Infection and Immunity*, 1997; 65(6): 2451-2453.
114. Szein M., Tanner M., Polotsky Y., Orenstein J., and Levine M.: Citotoxic T lymphocytes after oral immunization with



- attenuated vaccine strains of *Salmonella Typhi* in humans, *J of immunology*, 1995; 3989-3993.
115. Tacket C., Sztein M., Losonsky G., Wasserman S., Nataro J., Edelman R., Pickard D., Dougan G., Chatfield S., and Levine M.: Safety of live oral *Salmonella typhi* vaccine strains with deletions in *htrA* and *aroC aroD* and immune response in humans, *Infection and Immunity*, 1997; 65(2): 452-456.
116. Tartera, and Metcalf.: Osmolarity and growth phase overlap in regulation of *S. typhi* adherence to and invasion of human intestinal cells, *Infect Immun*, 1993; 61: 3084-3089.
117. Ungerer, Burger, Bissbort, and Vermaak.: Adenosine deaminase isoenzymes in typhoid fever, *Eur J Microbiol Infect Dis*, 1996; 15: 510-512.
118. Valdivia R., and Falkow S.: Fluorescence-based isolation of bacterial genes expressed within host cells, *Science*, 1997; 777: 2007-2010.
119. Verdugo, López, Puente, Palacios, and Calva.: Early diagnosis of typhoid fever by an enzyme immunoassay using *Salmonella typhi* outer membrane protein preparations, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1993; 12(4): 248-257.
120. Verdugo R., Gam L., Devi S., Koh C., Puthucheary S., Calva E., and Pang T.: Detection of antibodies against *Salmonella typhi*

outer membrane protein (OMP) preparation in typhoid fever patients, *Asian Pac J Allergy Immunol*, 1993; 11(1): 45-52.

121.Vidula A., and Ramesh K.: Immunomodulatory properties of porins of some members of the family *Enterobacteriaceae*, *Infection and Immunity*, 1997; 65(6): 2382-2388.

122.Vinh H., Wain J., Wo T., Cao N., Mai T., Bethell D., Nguyen T., To S., Nguyen M., and White N.: Two or three days of ofloxacin treatment for uncomplicated multidrug-resistant typhoid fever in children, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1996; 40(4): 958-961.

123.Virlogeux I., Waxin H., Ecobichon C., Lee J., and Popoff M.: Characterization of the *rcaA* and *rcaB* genes from *Salmonella typhi*: *rcaB* through *tviA* is involved in regulation of VI antigen synthesis, *J Bacteriol*, 1996; 178(6): 1691-1698.

124.Waiz Anis.: The new quinolones in the treatment of diarrhoea and typhoid fever, *Drugs*, 1995; 49(Suppl.2): 132-135.

125.Wallace Mark R., Yousif Aziz A., Habib Nadia F., and Tribble David R.: Azithromycin and typhoid, *Lancet*, 1994; 343: 1497-1498.

126.Wandel G.: Efficacy of *Salmonella typhi* VI capsular polysaccharide vaccine in South Africa, *Vaccine*, 1997; 15(17/18): 1815.

127. Weinstein D., O'neill B., and Metcalf E.: *Salmonella typhi* stimulation of human intestinal epithelial cells induces secretion of epithelial cell-derived interleukin-6, *Infection and Immunity*, 1997; 65(2): 395-404.
128. Weinstein D., O'neill B., Hone D., and Metcalf E.: Differential early interactions between *Salmonella enterica* serovar *typhi* and two other pathogenic *Salmonella* serovars with intestinal epithelial cells, *Infection and Immunity*, 1998; 66(5): 2310-2318.
129. Wilson Julie, Thomas J, Doyle, and Gulig. 1997. Exponential-phase expression of *spvA* of the *Salmonella typhimurium* virulence plasmid: induction in intracellular salts medium and intracellularly in mice and cultured mammalian cells. *Microbiology*, 143: 3827-3839
130. White N., Nguyen M., Ha V., Bethell D., and Tran T.: Fluoroquinolone antibiotics in children with multidrug resistant typhoid, *Lancet*. 1996; 348: 547.
131. Yasuhiro H., Abdul Q., and Takayudi E.: Positive autoregulation of *vipR* expression in *ViaB* region-encoded *Vi* antigen of *Salmonella typhi*, *J Bacteriol* 1996; 178(5): 1430-1436.
132. Yu-Kyoung, Alpuche A., Berthiaume, Tim Jinks, Miller, and Swanson.: Rapid and complete fusion of macrophage lysosomes with phagosomes containing *Salmonella typhimurium*, *Infection Immunity*, 1996; 64(9): 3877-3883.

133.Zahrt T., and Maloy S.: Barriers to recombination between closely related bacteria: MutS and RecBCD inhibit recombination between *Salmonella typhimurium* and *Salmonella typhi*, Proc Natl Acad Sci USA, 1997; 94: 9786-9791.

134.Dirección General de Epidemiología.