

11237
2ej
149



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

División de Estudios de Postgrado
Facultad de Medicina
Hospital General, Centro Médico
"LA RAZA"

FIEBRE TIFOIDEA:
DIAGNOSTICO SEROLOGICO POR MEDIO DE LA
TECNICA DE MICROAGLUTINACION EN PLACA.

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA MEDICA
P R E S E N T A :
DR. BALDOMERO RODRIGUEZ SOLIS



IMSS
SEGURIDAD PARA TODOS

México, D. F.

FALLA DE ORIGEN
TESIS CON

1985



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE

I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES CIENTIFICOS	3
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
IV.	OBJETIVO	7
V.	HIPOTESIS	8
VI.	MATERIAL, METODO Y TECNICA	9
VII.	RESULTADOS	12
VIII.	COMENTARIOS	19
IX.	CONCLUSIONES	22
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	24

INTRODUCCION

La fiebre tifoidea es en nuestro país, una enfermedad que presenta características endémo-epidémicas, relacionadas con deficiencias en el saneamiento ambiental y el aprovisionamiento de agua potable.

Es producida por la infección de la Salmonella Typhi, bacilo gramnegativo móvil, perteneciente a la tribu Salmonellas de la familia Enterobacteriaceae; es una salmonela adaptada al hombre y resiste las bajas temperaturas. Perteneció al grupo D en la clasificación de Kauffman White de las salmonelas y comparte con 96 especies de este grupo, los antígenos somáticos 9,12; los flagelos contienen el antígeno "d" y en la superficie - posee el antígeno "Vi". La fórmula: 9,12,d,Vi, denota a S.typhi en forma abreviada.

La infección tifóidica tiene origen hídrico; el agua se contamina por la eliminación fecal de S.typhi procedente de un enfermo o portador. No tiene reservorios animales.

Es una enfermedad de la edad escolar preferentemente; resulta excepcional entre los lactantes y poco frecuente en los preescolares.

La S.typhi es infectante, en función de la virulencia de la bacteria y de la cantidad del inóculo, reconociéndose que la presencia del antígeno Vi, está asociada con una mayor virulencia del germen. La DI_{50} es 10^7 .

El bacilo tífico presente en los alimentos, debe vencer la barrera que supone el jugo gástrico. La salmonela puede reproducirse en la luz intestinal, antes de penetrar la mucosa del intestino delgado, pero hay ocasiones en que el proceso de invasión es directo, sin reproducción previa intraluminal, siendo el sitio de penetración el intestino delgado, desde el yeyuno hasta el ileon.

A continuación sigue la fase de bacteremia que distribuye al germen en -

todo el organismo, posteriormente la S. typhi es fagocitada por el SRE y se localiza en 24 horas intracelularmente y es relativamente insensible a los antibióticos.

El período de incubación oscila alrededor de 10-14 días. El cuadro clínico se instala de manera insidiosa con ataque al estado general, fiebre hasta 40°C, lesiones ulcerativas del intestino y balance nitrogenado negativo que afecta seriamente al estado nutricional. La infección muestra marcada tendencia a recidivar, a desarrollar complicaciones graves del tracto digestivo y a la eliminación fecal prolongada de la bacteria.

El diagnóstico de la enfermedad se hace por medio del cultivo de S. typhi en sangre, siendo considerado tradicionalmente como prueba definitiva. Mediante el mielocultivo se aísla a la bacteria en un 90%; con el hemocultivo hasta un 80% dando esta positividad a las 72-horas aproximadamente después de la toma de la muestra. Así mismo se puede realizar el diagnóstico por medio de pruebas serológicas, como la reacción de Widal con una sensibilidad del 80%, la reacción de fijación en superficie del Doctor - Ruiz Castañeda con una sensibilidad mayor del 90% pero con algunas imperfecciones en su realización por lo que se han creado nuevas técnicas de tipo serológico, en un intento para detectar la enfermedad en forma oportuna, siendo una de ellas, el motivo del trabajo que se presenta.

Dentro del tratamiento se cuenta con antibióticos, a los cuales la S. typhi es sensible como es el cloramfenicol, la ampicilina, el trimetoprim-sulfametoxazol y la furazolidona.

Se ha demostrado la eficacia profiláctica de la vacuna tífica, preparada por extracción con acetona que preserva el antígeno Vi, alcanzando hasta un 90% de protección con dos dosis, por un período de tres años. (2,16,-20).

II. ANTECEDENTES CIENTIFICOS.

La fiebre tifoidea es considerada como un importante problema de Salud Pública, siendo endémica en muchos países en desarrollo. En nuestro país se ha notado una tendencia a la disminución de este padecimiento; en el año de 1978 la mortalidad fué del 2.3 y la morbilidad del 4.1 por cien mil habitantes en toda la República (1).

La infección por S. typhi en el hombre, da origen a través de sus antígenos somáticos 9,12 y de su fracción flagelar "d", a la formación de anticuerpos, la detección y cuantificación de los dirigidos contra el antígeno somático "O" sirven para establecer un diagnóstico de probabilidad e iniciar una terapéutica antimicrobiana, antes de la confirmación bacteriológica (2).

Las pruebas más empleadas son las serológicas, tanto las de aglutinación, como la de Widal utilizada desde 1896, así como otras técnicas de mayor sensibilidad entre las que tenemos:

- a).- La detección de anticuerpos incompletos por medio del reactivo de Coombs (3).
- b).- Las técnicas de hemoaglutinación y sus diversas variantes (4 y 5).
- c).- La prueba de Talmange y Freter. En donde hay una inhibición de la combinación: los anticuerpos del suero problema compiten, con los anticuerpos marcados radioactivamente (6).
- d).- La contraelectroforesis (CIEF), en donde la colocación del lipopolisacárido y de suero problema en diluciones en pocillos de placa de agarosa en un pH alcalino, al pasar una corriente eléctrica, las proteínas cargadas negativamente emigran hacia el ánodo, formando arcos de precipitación al efectuarse la reac-

ción antígeno-anticuerpo (7).

- e).- ELISA (Enzyme Lynked Immunosorbent Assay), de reciente aparición, útil para la detección de anticuerpos séricos tipo IgG. dirigidos contra el lipopolisacárido extraído de S. typhi, con muy buenos resultados, sin embargo su costo es elevado y no esta al alcance del médico general (8,9y10).
- f).- La prueba de fijación es superficie de Ruiz Castañeda demuestra en forma específica anticuerpos de muy variable índole, mediante la acción del suero fisiológico, sobre mezclas de antígeno-anticuerpo en papel filtro (11y12); esta técnica comparada a otras más complicadas, ha resultado más segura debido a su especificidad en los pacientes con fiebre tifoidea (2). El inconveniente de la prueba es que el antígeno coloreado y unido al papel filtro sufre modificaciones en su corrimiento, debido a la cantidad de sacarosa con la humedad en climas cálidos.
- g).- Actualmente se han desarrollado nuevas técnicas para el diagnóstico de la fiebre tifoidea, entre las cuales tenemos la precipitación en capilar (13) y la Microaglutinación en placa (14) con buenos resultados a nivel de investigación.

Numerosos estudios clínicos demuestran la ayuda que representa al médico en el diagnóstico de la fiebre tifoidea las pruebas serológicas mencionadas. Kumate desde 1962 las ha venido aplicando en la investigación clínica (16); Turner con técnicas de filtración gel (17); Chernokvostova extendió el estudio a la detección de anticuerpos del tipo IgM e IgA (18); Kumar valoró además C₃ del complemento y la inhibición de la migración de los leucocitos, tanto en pacientes con fiebre tifoidea, como en vacunados (19); la fijación en superficie ha sido utilizada en estudios epidemiológicos por Gutiérrez (20); la comparación de Widal y la

fijación en superficie por Muñoz (21); la técnica de ELISA por -- Hernández y Muñoz (10) y el radioinmunoensayo por Tsang (22), todos ellos en pacientes con fiebre tifoidea.

Debido a que la producción de anticuerpos ante la agresión bacteriana no es inmediata, su producción se inicia a niveles cuantificables al quinto día (15); una proporción importante de las técnicas, tanto de la Microbiología e Inmunología contemporáneas se basan en la detección de antígenos en los primeros días de la evolución de la enfermedad.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Para el diagnóstico de la fiebre tifoidea, aunque se cuenta con múltiples pruebas de laboratorio, la aplicación clínica en forma rutinaria de las mismas es problemática, ya sea en unas por su alto costo o en otras por sus dificultades técnicas y/o su alta sofisticación. Los métodos de cultivo son los más fieles intérpretes del proceso infeccioso, pero son tardados y costosos. Lo anterior condiciona que el diagnóstico de este padecimiento tan común en nuestro medio y en los países en desarrollo sea tardío, creándose serias consecuencias para la vida de los pacientes; agudizándose esta situación con el hecho de no contar con laboratorios equipados adecuadamente en la mayoría de las unidades hospitalarias, principalmente a nivel rural. Por lo tanto, la posibilidad de utilizar técnicas sencillas, rápidas y baratas con el fin de dar una orientación diagnóstica precisa, sería de gran utilidad.

La prueba de Microaglutinación en placa reúne las características anteriores, por lo que el propósito del presente estudio, será determinar la utilidad de dicha prueba en el diagnóstico de pacientes con sospecha de fiebre tifoidea.

IV. O B J E T I V O .

Mostrar que la técnica de Microaglutinación en placa, es útil, confiable y rápida para el diagnóstico de la fiebre tifoidea en la edad pediátrica.

V. HIPOTESIS.

La técnica de Microaglutinación en placa tiene más del 90% de especificidad, para detectar anticuerpos contra Salmonella typhi en pacientes con fiebre tifoidea.

VI. MATERIAL, METODO Y TECNICA.

MATERIAL HUMANO:

Criterio de Inclusión: Se estudiaron todos los niños, de ambos sexos, - en las edades de preescolar a adolescencia, que fueron vistos en el Servicio de Urgencias Pediátricas del Hospital General "Centro Médico La Raza", tomando como criterio de inclusión los que presentaron un cuadro clínico sugestivo de fiebre tifoidea, biometría hemática con leucopenia relativa y ausencia de eosinófilos de preferencia. Incluyéndose en el estudio solamente aquellos pacientes que resultaron con hemocultivo positivo a Salmonella typhi. Efectuándose comparación con un grupo testigo en el cual se realizaron las pruebas en estudio.

Criterio de exclusión: Se excluyeron todos aquellos pacientes que además del cuadro sugestivo de fiebre tifoidea, se les detectó un segundo foco de infección ya sea por clínica o por laboratorio.

Tamaño de la muestra: Se consideró como muestra representativa un mínimo de 30 pacientes y el máximo como no definido debido a que depende de la incidencia de la enfermedad.

Calendarización: El estudio fué longitudinal, abarcando los meses de -- mayor incidencia, de abril a septiembre de 1984, siendo un estudio de - tipo prospectivo en lo que se refirió a la captación de la información,

MATERIAL DE LABORATORIO.

El material de laboratorio en este estudio fué de bajo costo e incluyó: jeringas, agujas, placas Cooke Microtiter y micropipeta. Los eritrocitos de carnero sensibilizados con antígeno lipopolisacárido y estabilizados con glutaraldehído fueron proporcionados por el laboratorio de - protefnas (Inmunodiagnóstico) de la Unidad de Investigación Biomédica -

del Centro Médico Nacional del IMSS (División de Inmunoquímica).

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de urgencias del hospital; no necesitándose un entrenamiento especial ya que la técnica es sencilla.

TECNICA:

A los pacientes que reunieron los requisitos señalados se les tomó una muestra de sangre de 3 mililitros, la cual se centrifugó para obtener el suero, con el cual se prepararon diluciones en placa Cooke Microtiter en un módulo 2X y una dilución inicial de 1:50; a estas diluciones se les agregó 50 microlitros de eritrocitos de carnero sensibilizados con antígeno lipopolisacárido y estabilizados con glutaraldehído, realizando lecturas de las pocillas a los 15, 30 y 60 minutos; se consideraron como niveles diagnósticos, aquellas en las cuales la aglutinación fué franca y con títulos de 1:400 o mayores.

Se consideraron como negativas todas aquellas en las cuales no existió aglutinación, ésta fué dudosa o cuyos títulos fueron menores a los ya mencionados.

Se efectuaron controles con sueros testigo y con un amortiguador (P.B.S.) con un pH de 7.4; así mismo se corrieron las tres pruebas con glóbulos rojos de carnero sin sensibilizar con el fin de detectar falsas positivas.

A todos los pacientes en quienes resultó la prueba positiva, se les practicaron los siguientes estudios: Biometría hemática completa, reacciones febriles, reacción de fijación en superficie y hemocultivo con el fin de confirmar la infección bacteriana.

Los procedimientos indicados no pusieron en peligro la vida o integri-

dad de los pacientes en estudio, por lo que no se requirió permiso especial de parte de los familiares.

METODO ESTADISTICO.

El diseño estadístico se llevó a cabo de acuerdo a Galen y Gambino en base a su modelo de valor predictivo, basado en el teorema de Baye; determinandose la sensibilidad, la especificidad, la eficiencia, el valor predictivo de una prueba negativa así como el valor predictivo de una prueba positiva, que nos permitió valorar la utilidad de la prueba en estudio. (23).

El investigador responsable asumió la responsabilidad de cumplir, las recomendaciones de la Declaración de Helsinki y del Código Sanitario Mexicano.

VII. RESULTADOS.

Se obtuvieron muestras de 69 pacientes que cumplieron los requisitos clínicos de inclusión. Reportándose solamente en 36 de ellos hemocultivo positivo a S. typhi, siendo éstos exclusivamente los seleccionados para ingresar al estudio de los cuales 17 fueron del sexo femenino y 19 del sexo masculino; cuyas edades oscilaron entre 3 y 15 años, siendo la media de 9 años. En la tabla número 1 se muestran los resultados de las reacciones realizadas en cada uno de los pacientes estudiados.

La revisión estadística se realizó de acuerdo a Galen y Gambino basados en el modelo de valor predictivo el cual se expone a continuación:

	PAC. CON PRUEBA POS.	PAC. CON PRUEBA NEG.	TOTALES
PAC. CON ENFERMEDAD	VP	FN	VP + FN
PAC. SIN ENFERMEDAD	FP	VN	FP + VN
TOTALES	VP + FP	FN + VN	VP+FP+VN+FN

En donde tenemos:

VERDADEROS POSITIVOS (VP): Pacientes con enfermedad calificados correctamente por la prueba.

FALSOS POSITIVOS (FP): Pacientes que no tienen enfermedad, calificados como positivos por la prueba.

VERDADEROS NEGATIVOS (VN): Pacientes sin enfermedad calificados correctamente.

FALSOS NEGATIVOS (FN): Pacientes con enfermedad calificados erróneamente.

En el presente trabajo se determinaron las siguientes variables, tanto -

en la prueba en estudio como aquellas con las cuales fué comparada:

SENSIBILIDAD: Es la positividad de la prueba en la enfermedad, expresada en por ciento.

$$\frac{VP}{VP + FN} \times 100$$

ESPECIFICIDAD: La negatividad de la prueba en sujetos sanos o en ausencia de una enfermedad particular, expresada en por ciento.

$$\frac{VN}{VP + FN} \times 100$$

EFICIENCIA: El por ciento de las pruebas calificadas correctamente como enfermos o como no enfermos expresados en por ciento.

$$\frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN} \times 100$$

VALOR PREDICTIVO DE UNA PRUEBA NEGATIVA: El por ciento de pacientes que no tienen enfermedad y dan la prueba negativa,

$$\frac{VN}{VN + FN} \times 100$$

VALOR PREDICTIVO DE UNA PRUEBA POSITIVA: El por ciento de pacientes que tienen enfermedad y dan la prueba positiva.

$$\frac{VP}{VP + FP} \times 100$$

En las tablas siguientes se muestran los resultados, de cada una de las pruebas efectuadas,

TABLA No. 1

PACIENTES	R.WIDAL 'O' IGUAL O MAYOR A 1:160	FIJACION EN SUPER FICIE IGUAL O MA- YOR AL 50%	MICROAGLUTINACION EN PLACA IGUAL O MAYOR A 1:400	HEMOCUL- TIVO.
1.	+	+	+	+
2.	+	+	+	+
3.	+	+	+	+
4.	+	+	+	+
5.	+	+	+	+
6.	+	+	+	+
7.	+	+	+	+
8.	-	+	+	+
9.	+	+	+	+
10.	+	+	-	+
11.	+	+	+	+
12.	+	-	-	+
13.	+	+	+	+
14.	+	-	+	+
15.	+	+	+	+
16.	+	+	+	+
17.	+	+	+	+
18.	+	+	+	+
19.	-	+	+	+
20.	+	+	+	+
21.	-	+	+	+
22.	+	+	+	+
23.	+	+	+	+
24.	+	+	+	+
25.	+	+	+	+
26.	+	+	+	+
27.	+	+	+	+
28.	+	+	+	+
29.	+	+	+	+
30.	+	+	+	+
31.	+	+	+	+
32.	-	+	+	+
33.	-	+	+	+
34.	-	+	-	+
35.	-	-	+	+
36.	-	+	+	+

TABLA No. 2

REACCION DE WIDAL

Se consideraron como positivos aquellos pacientes que dieron títulos de 1:160 o mayores, para el antígeno somático "O".

GRUPOS	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Pac. con Fiebre Tifoidea	28	8	36
Testigos sanos	8	28	36
Totales	36	36	72

TABLA No. 3
REACCION DE FIJACION DE SUPERFICIE

Se consideraron como positivos los pacientes que mostraron igual o mayor del 50% de fijación.

GRUPOS	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Pac. con Fiebre Tifoidea	33	3	36
Testigos sanos	0	36	36
Totales	33	39	76

TABLA No. 4
MICROAGLUTINACION EN PLACA

Se consideraron como positivos, los pacientes que a los 15 minutos mostraron signos francos de aglutinación, con títulos de 1:400 o mayores, no observándose cambios en las reacciones en las lecturas a los 30 y 60 minutos.

GRUPOS	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Pac. con Fiebre Tifoidea	33	3	36
Testigos sanos	0	36	36
Totales.	33	39	72

TABLA No. 5

En la tabla 5 se muestran los resultados finales obtenidos en las variables mencionadas anteriormente y aplicadas a cada una de las pruebas enumeradas.

	REACCION DE WIDAL.	FIJACION EN SUPERFICIE,	MICROAGLUTINACION EN PLACA.
SENSIBILIDAD	78%	92%	92%
ESPECIFICIDAD	78%	100%	100%
EFICIENCIA	78%	96%	96%
VALOR PREDICTIVO PARA UNA PRUEBA POSITIVA	78%	100%	100%
VALOR PREDICTIVO PARA UNA PRUEBA NEGATIVA	78%	92%	92%

E S P E C I F I C I D A D

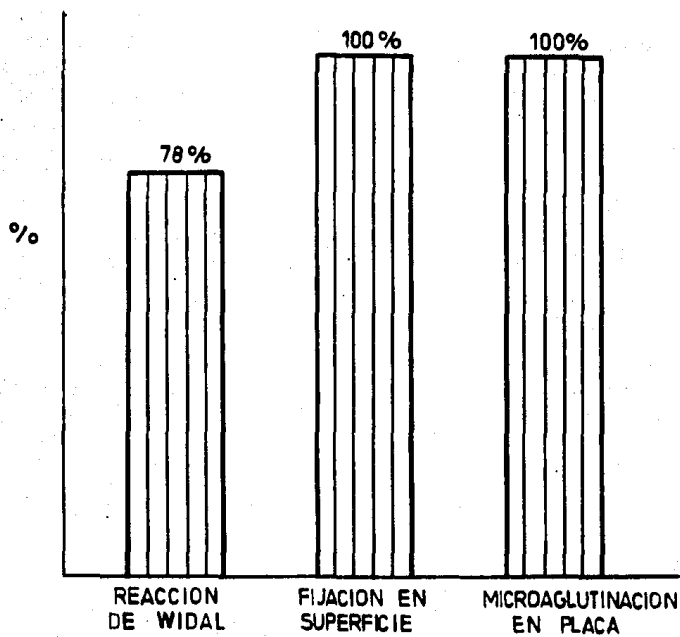


Fig.1 Que muestra el porcentaje de especificidad de cada una de las pruebas.

S E N S I B I L I D A D

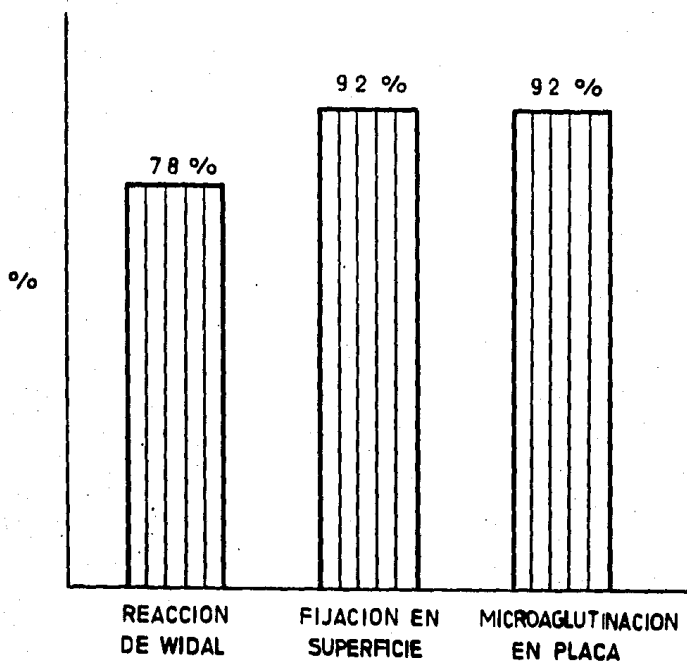


Fig. 2 Que muestra el porcentaje de sensibilidad de cada una de las pruebas comparadas.

E F I C I E N C I A

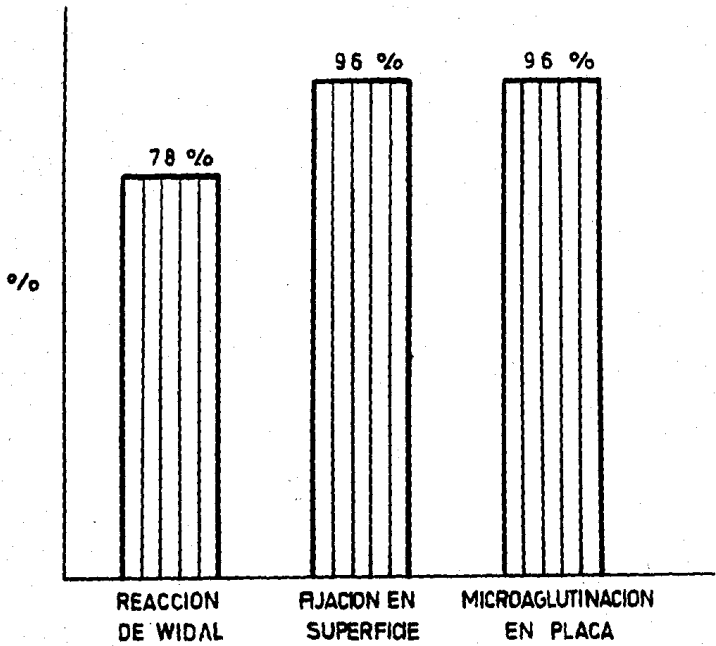


Fig. 3 Que muestra el porcentaje de eficiencia de cada una de las pruebas comparadas.

VALOR PREDICTIVO PARA
UNA PRUEBA POSITIVA

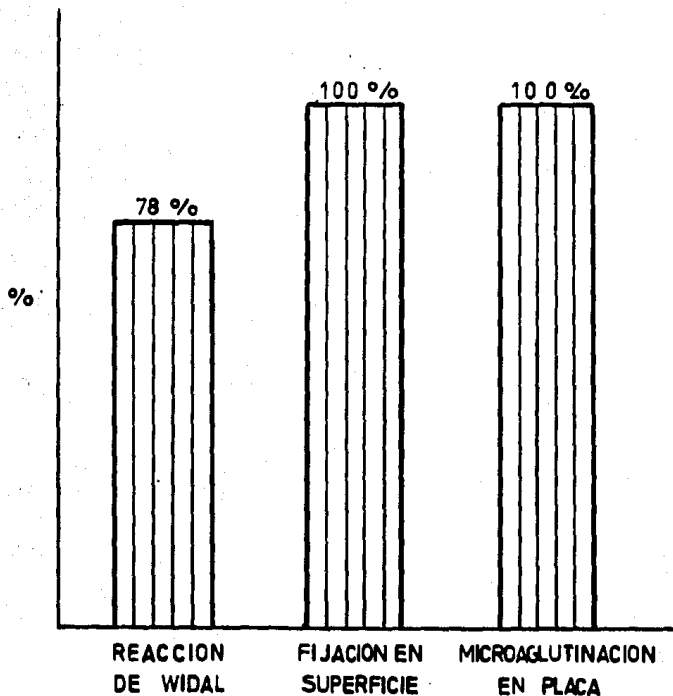


Fig. 4 Que presenta el porcentaje del valor predictivo para una prueba positiva de cada una de las pruebas comparadas.

VALOR PREDICTIVO PARA
UNA PRUEBA NEGATIVA

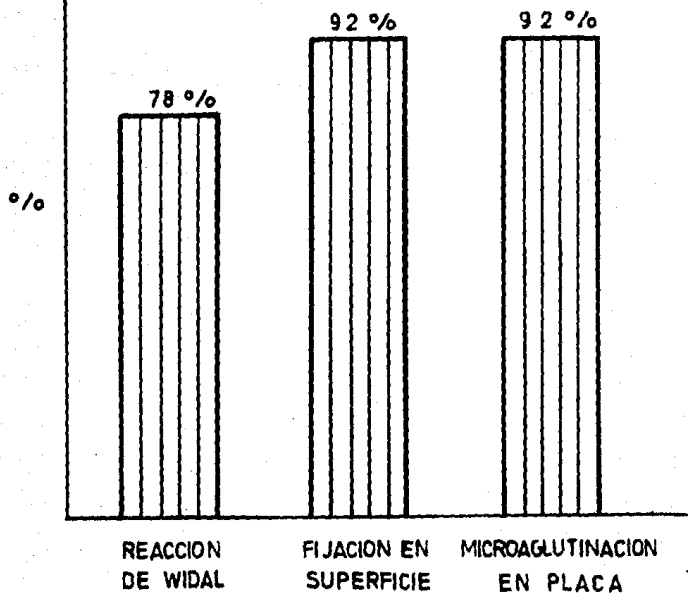


Fig. 5 Que muestra el porcentaje del valor predictivo para una prueba negativa de cada una de las pruebas comparadas.

VIII. COMENTARIOS.

La fiebre tifoidea continua siendo un problema de Salud Pública, en -- países en desarrollo como el nuestro, en donde la enfermedad presenta - características endémico-epidémicas, lo cual subraya la importancia del diagnóstico diferencial de ésta con otros padecimientos febriles, frè--- cuentes en la edad pediátrica.

El diagnóstico de certeza de la fiebre tifoidea se basa en el aislamiento e identificación de la S. typhi ya sea en sangre, médula ósea, heces y ocasionalmente en otros productos biológicos (LCR, orina, bilis, roseola tifoidica), lo que requiere un mínimo de 48-72 horas y es por - lo tanto un método de diagnóstico tardío; disminuyendo las posibilidades de aislamiento, ya sea por el uso de antibióticos durante los prime ros días de la enfermedad o bien por la evolución natural de la misma, que reduce la posibilidad de cultivar la S. typhi hasta en un 20% en la 2a. y 3a. semanas de evolución.

Por otro lado el costo de los cultivos es inasequible a la mayor parte de los pacientes, debiendose valorar adecuadamente el momento preciso de mayor positividad, dependiendo de la muestra biológica.

De manera ideal los exámenes de laboratorio y gabinete como instrumentos para orientar o confirmar un diagnóstico clínico, deben ser sensibles, específicos, reproducibles, técnicamente sencillos, rápidos y con un cos to de operación accesible a todos los enfermos.

Las pruebas serológicas a pesar de estar sometidas a la influencia de - numerosos factores de tipo biológico, son un recurso valioso para el - clínico, al permitirle un diagnóstico temprano de presunción e iniciar un tratamiento antimicrobiano, antes de tener la confirmación bacterio- lógica. De ahí la importancia de utilizar pruebas serológicas que reu- nan las característica ya enumeradas y que sean equivalentes a los procedimientos microbiológicos.

Sin embargo la identificación y cuantificación serológica de anticuerpos contra el antígeno somático de S. typhi, presenta limitaciones en las pruebas actualmente disponibles, como es la reacción de Widal, por la desventaja de su variabilidad, en relación la preparación del antígeno, con la técnica de cada laboratorio y con el entrenamiento del personal técnico; el método de la hemaglutinación detecta preferentemente anticuerpos pertenecientes a las inmunoglobulinas M y la fijación en superficie que no ha sido aceptada universalmente por su falta de estandarización, que provoca variabilidad en los resultados obtenidos en diferentes laboratorios. Lo que ha motivado la búsqueda de nuevos métodos como es la técnica de ELISA con buenos resultados pero alto costo.

En el presente trabajo se analizaron los resultados obtenidos con una nueva prueba serológica; La Microaglutinación en placa, haciéndose una correlación, con otras dos pruebas serológicas: reacción de Widal y fijación en superficie, de las cuales la más utilizada en el diagnóstico de la fiebre tifoidea en los centros de atención médica es la primera. Se estudiaron 36 pacientes a los cuales se les confirmó la infección tifoídica por medio de hemocultivo positivo a S. typhi como valor de fidedignidad de la prueba en estudio.

La Microaglutinación en placa mostró una reproducibilidad constante, ya que en general una dilución al doble, más o menos, suele ser un criterio requerido para la aceptación de una prueba serológica y en los procedimientos realizados, todos los sueros de los 36 pacientes cayeron dentro de este rango con títulos positivos de 1:400 a 1:6400.

La rapidez con que se puede realizar la lectura, es otra de sus características, ya que a los 15 minutos de realizada la prueba, se presentaron signos francos de aglutinación con títulos de 1:400 o mayores, no observándose cambios en las reacciones, en las lecturas a los 30 y 60 minutos.

Una característica más a favor de esta prueba es que es técnicamente sencilla de realizar.

Analizando los resultados obtenidos, se puede observar claramente que la prueba es altamente confiable, ya que ninguno de los pacientes testigos en quienes se corrió la prueba, tanto con eritrocitos sensibilizados, como sin sensibilizar reportó la prueba positiva, encontrándose en la mayor parte de los pacientes (30) títulos de cero y en los restantes (6), los títulos obtenidos no fueron mayores de 1:200; en comparación de los pacientes enfermos en los cuales el título mínimo de aglutinación fué de 1:400, no encontrándose superposiciones entre los títulos de ambos grupos, corroborándose de esta forma la estandarización de la prueba en cuanto al título de aglutinación.

Mediante la realización del método estadístico, se determinó la sensibilidad, especificidad, eficiencia, el valor predictivo de una prueba positiva y el valor predictivo de una prueba negativa; correlacionándose los resultados de la prueba en estudio, con los obtenidos en la reacción de Widal y con la Fijación de Superficie. Encontrándose en la Microaglutinación en placa valores superiores, respecto al Widal y equivalentes a la fijación en superficie como se observa en las gráficas previas.

Demostrándose de esta manera la veracidad de la hipótesis planteada, de que la Microaglutinación en placa tiene una especificidad mayor del 90% para detectar anticuerpos contra S. typhi, después de la 1.ª semana de evolución, siendo en este estudio del 100%.

Por consiguiente los resultados obtenidos en este trabajo indican que la técnica de Microaglutinación en placa aplicada al serodiagnóstico de la fiebre tifoidea es un método rápido, sensible, específico, técnicamente sencillo, asequible y reproducible, que la coloca como una alternativa superior a la reacción de Widal, prueba más frecuentemente usada en los servicios médicos y equiparable a la reacción de fijación en superficie.

IX. CONCLUSIONES .

- a) La Fiebre tifoidea continua siendo un problema de Salud Pública en nuestro país.
- b) El diagnóstico de certeza se realiza con el aislamiento de S. - typhi por medio de cultivos, pero con inconvenientes de tiempo y costo.
- c) Las pruebas serológicas son un recurso valioso para el clínico, al permitirle un diagnóstico temprano de presunción e iniciar un tratamiento antimicrobiano, antes de tener la confirmación bacteriológica.
- d) Las técnicas serológicas disponibles actualmente, presentan dificultades de estandarización, sofisticación y/o alto costo.
- e) En el presente estudio se valoró la utilidad de la técnica de - Microaglutinación en placa en el diagnóstico de la fiebre tifoidea.
- f) Los resultados obtenidos con dicha técnica mostraron una mayor sensibilidad, especificidad, eficiencia, valor predictivo para una prueba positiva y valor predictivo para una prueba negativa respecto a la reacción de Widal y equiparables a la reacción - de fijación en superficie.
- g) La rapidez de la prueba es manifiesta ya que la lectura de la - aglutinación se realizó a los 15 minutos.
- h) Técnicamente es sencilla su realización por cualquier persona y es factible de automatizarse.

- i) Su costo es bajo, puesto que los reactivos son baratos y estables por la adición del glutaraldehído, lo que permite utilizar los glóbulos rojos sensibilizados por largos períodos de tiempo.
- j) Muestra una reproducibilidad constante, criterio requerido para la aceptación de una prueba serológica.
- k) Su confiabilidad quedó demostrada, con los resultados obtenidos con los grupos testigos.
- l) Se confirmó el título de aglutinación mínimo, como nivel diagnóstico de 1:400, valor de estandarización de la prueba.
- m) El uso de la técnica de Microaglutinación en placa, en cualquier nivel de atención médica facilitaría la práctica clínica, ya que un diagnóstico de certeza, permitiría establecer un tratamiento precoz, evitándose complicaciones, con la consecuente disminución de las tasas de mortalidad, hospitalización innecesaria, - costosos cultivos, repercutiendo en un ahorro para las instituciones de salud.
- n) Tomando en consideración los puntos mencionados, nos permitimos proponer la prueba de Microaglutinación en placa como método de elección para el diagnóstico de la fiebre tifoidea.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Subdirección de información Epidemiológicas. Dirección General de Epidemiología. S.S.A.
2. Kumate, J.: Gutiérrez, G.: Manual de Infectología. Fiebre tifoidea 6a. ed. Méndez Cervantes, 1981; 11-21.
3. Ford, A.C. and De Falco, R.J.: Studies on Bacterial Agglutination by use of the antiglobulin (Coombs) technique. *Canc. J.- Microb.* 1956; 2:657-664.
4. Neter, E.: Bacterial Haemagglutination and hemolysis. *Bacterial Rev.* 1956; 20:166-172.
5. Spaun, J.: Determination of Salmonella typhi O and Vi antibodies by haemagglutination. *Act. Pathol. Microbiol. Scand.* 1952; 31:462-69.
6. Talmage, D.W., Freter, G.G. and Talafierro, W.H.; Two antibodies of related specificity but different hemolytic efficiency separate by centrifugation, *J. Infect. Dis* 1956; 98:300-318.
7. Muñoz, O., Hernández-Velarde, R., Garduño, R.G., González, A., S., Gutiérrez, G.: Contrainmunolectroforesis para la identificación de anticuerpos contra antígenos "O" de S. typhi. II Evaluación en enfermos de fiebre tifoidea y población sana. *Arch. Invest. Méd. (Méx)*. 1979; 10:33-38.
8. Carlsson H.E., Lindberg, A.A., Hammarstrom, S. and Ljungén, A. : Quantification of Salmonella O antibodies in human sera by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.* 1975; 48:485-494.

9. Hernández Velarde, R., Sánchez, G.J., Díaz G. Ma. C., Muñoz, O.: Utilización de la técnica de ensayo enzimático inmunoespecífico (ELISA) para el diagnóstico de la fiebre tifoidea. I.: Estandarización de la Técnica. Arch. Invest. Méd. (Méx). 1980; 11:137-145.
10. Hernández-Velarde, R., Sánchez, C.J., Díaz G. Ma. C. y Muñoz, O.: Utilización de la técnica de ensayo enzimático inmunoespecífico (ELISA) para el diagnóstico de la fiebre tifoidea. Arch Invest. Méd. (Méx). 1980; 11:267-271
11. Rufz-Castafeda, M. Reacciones inmunológicas sobre papel filtro - Fijación en superficie. Libro conmemorativo. Centenario de la Academia Nacional de Medicina. México. II 1969:199-208.
12. Rufz Castafeda, M. Surface fixation. A new method of detecting certain immunological reactions. Proc. Soc. Expt. Biol. and Med. 1950; 73:43-46.
13. Alvarado Alemán F.J.: Precipitación en capilar. Una nueva prueba serológica en el diagnóstico de la fiebre tifoidea. Tesis. Maestría en Ciencias Médicas. Facultad de Medicina. División de Estudios Superiores UNAM. 1984.
14. Alvarado Alemán F.J., Lazcano U., Salinas S., Aguirre. G., Ramírez. A., Kumate R.J., : Microaglutinación en placa con glóbulos rojos tratados con glutaraldehído en el diagnóstico de fiebre tifoidea. (En Prensa).
15. Rochill. R.C. Rumans, L.W., Lesmona, M., Demus, T.: Detection of Salmonella typhi D. Vi and d antigens by slide coagglutination in human urine from patients with typhoid fever. J. Clin. Microbiol. 1980; 11:213-224.

16. Kumate, J., Benavidez, L., Hikimura, J., Herrera, R.L.: Respuesta inmunológica en fiebre tifoidea. Bol. Méd. Hosp. Infant. -- (Méx.). 1962; 19:17-27.
17. Turner, W.M. and Rowe. S.D.: Characterization of human antibodies to Salmonella typhi by gel-filtration and antigenic analysis. - Immunol. 1964; 7: 639-649.
18. Chernokvostova, E., Luxembur. I.K., Starshinova, V., Andreeva N. and German, G: Study on the production of IgG, IgA and IgM antibodies to somatic antigens of Salmonella typhi in humans. Clin. Expl. Immunol. 1969; 4:407-421.
19. Kumar, R., Maloviya, N.A., Murthy, S.R., Venkatamaran, M. and Mohapatra, N.L.: Immunological study of typhoid: Immunoglobulins, C-3 antibodies, and leucocyte migration inhibition in patients with typhoid fever and TAB vaccinated in individuals Inf. and Imm. 1974; 10:1219-1225.
20. Gutiérrez, G., Benavidez, L., Kumate, J. y Rangel R.L.: Encuesta epidemiológica en la población infantil. I. Investigación de anticuerpos contra S. typhosa por medio de la reacción de fijación en superficie. Bol. Méd. Hosp. Inf. (Méx). 1962; 19: 107-112.
21. Muñoz, O. Alvarez, M.T., Rufz, G. y Gutiérrez, G.: Estudio comparativo de las reacciones de aglutinación y de fijación en superficies en el diagnóstico de la fiebre tifoidea. Gac. Méd. Méx. - 1975; 109: 253-257.
22. Tsang, W., R., S., Chang, Y., P., Lam, K., S., Lebroy. T.J. and Rowley, D.: Antibody response to the lipopolysaccharide and protein antigens of Salmonella typhi during typhoid infection. -- Clin. Exp. Immunol. 1981: 46:508-514.

23. Galen, R.S., and Gambino, S.R.: Beyond Normality: The predictive value of efficiency in medical diagnosis. John Wiley and son. - New York. 1975: 87-105.