



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.

INTRODUCCION

La Fiebre Tifoidea es un problema importante de salud en México.

El diagnóstico temprano, las nuevas rutas terapéuticas y el tratamiento oportuno de las complicaciones han reducido el índice de letalidad.

La finalidad y justificación del estudio estriba en contar con un método eficaz, rápido y económico que detecte la enfermedad en etapa temprana y de esta forma iniciar el tratamiento de elección.

OBJETIVO

**Establecer los índices de confiabilidad
de una prueba de coagulación en el
diagnóstico de fiebre tifoidea.**

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

La fiebre tifoidea es un problema de salud especialmente en países en desarrollo como el nuestro. Es una enfermedad de tipo cosmopolita, sin embargo, la susceptibilidad al padecimiento depende del medio ambiente en que el individuo se desarrolla (1).

De acuerdo al reporte de la OMS se estima que aproximadamente 12.5 millones de casos ocurren anualmente en el mundo, correspondiendo para América Latina y las Islas del Sur del Pacífico, alrededor de 406,000 casos (2).

En el Hospital de Infectología del CMR, IMSS se atendieron 5115 casos de fiebre tifoidea en un periodo de 18 años (3); posteriormente en el brote epidémico de 1972 se atendieron 2,132 pacientes con una tendencia a disminuir de 1978 en adelante. En México el número de casos cuantificados acumulados de 1980 a 1985 fue de 8,100 con una mediana de 6,528. En el Servicio de Infectología Pediátrica del CMR de 1982 a 1987 se han manejado 604 pacientes con diagnóstico de fiebre tifoidea con una mortalidad del 0.8% representando este padecimiento el 12.3% del total de egresos de dicho servicio (4) ocupando el cuarto lugar en frecuencia siendo superado por hepatitis viral, meningoencefalitis bacteriana, sarampión, en orden de importancia (tabla 1).

El agente etiológico de la fiebre tifoidea es la Salmonella typhi, bacilo gramnegativo móvil que sobrevive en los alimentos y en el agua. Se destruye a la tempera-

T A B L A I

FRECUENCIA DE DIAGNOSTICOS EN EL PERIODO 1982-1987

HOSPITAL DE INFECTOLOGIA, IMSS CMR

PADECIMIENTOS	1982	1983	1984	1985	1986	1987	TOTAL
1) HEPATITIS VIRAL	178	195	322	173	138	108	1,114
2) MENINGOENCEFALITIS BACTERIANA	44	141	122	147	142	183	779
3) SARAMPION	22	97	58	216	32	- -	641
4) FIEBRE TIFOIDEA	49	207	122	55	73	98	604
5) TOSFERINA	21	31	119	77	57	23	328
6) VARICELA	30	62	48	33	50	63	286

tura de 60° C, resiste al frío y a la congelación. Pertenece al grupo D de la clasificación de Kauffman y White, compartiendo sus antígenos somáticos 9,12 con otras 96 especies de salmonelas, posee en sus flagelos el antígeno "d" y en su superficie el antígeno "Vi". La fórmula 9,12,d,Vi, denota a Salmonella typhi en su forma abreviada (5).

La fiebre tifoidea es una enfermedad exclusiva del hombre, afectando en la edad pediátrica principalmente a los escolares y adolescentes. La vía de infección es a través del agua o de los alimentos contaminados con Salmonella typhi que procede de un enfermo o portador. Por vía digestiva entra al organismo alojándose en las placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos donde se reproduce, por vía linfática pasa al torrente circulatorio para producir bacteremia con afección multiorgánica. La DI_{50} en la enfermedad natural es de 100,000 bacterias por mililitro y la inducida experimentalmente es de 10,000,000 bacterias por mililitro (1, 6).

Cuando existe la sospecha clínica de fiebre tifoidea, se debe tratar de establecer un diagnóstico definitivo mediante el aislamiento del bacilo, sin embargo esto requiere de un mínimo de 72 horas después de la toma de la muestra por lo que se considera un método tardío (7).

El diagnóstico presuntivo se puede realizar por medio de pruebas serológicas cuya sensibilidad y especificidad son variables (8).

Existen pocos antecedentes en la determinación del antígeno bacteriano de Salmonella typhi que permita estable-

cer un diagnóstico presuntivo más adecuado (9).

La infección por Salmonella typhi en el hombre da origen a la formación de anticuerpos a través de su fracción flagelar d, y sus antígenos somáticos 9,12, así la cuantificación de los dirigidos contra el antígeno somático O, sirven para establecer el diagnóstico de probabilidad (1).

En 1896, hace exactamente 93 años, Gruber, Durham y Widal trabajando en forma separada reportaron que el suero de pacientes convalescientes al ser mezclado con Salmonella typhi producía "agrupamiento en grandes grumos haciéndolas perder su movilidad" naciendo el término de aglutininas y la clásica prueba serológica de Widal posterior a la cual han sucedido una gran variedad, entre ellas; la prueba de Coombs, la hemoaglutinación (11, 12), la de Talmage y Freter (13), floculación en bentonita (14, aglutinación en látex (15, 16) contrainmunolectroforesis (17, 18) e inmunolectroforesis (17, 18) e inmunoenzimáticas (ELISA) (19, 20, 21) entre otras. La prueba de Widal y su variante la aglutinación en placa son las más populares a pesar de que la especificidad no es buena, no están bien estandarizadas y su interpretación se presta a confusión (22). La prueba de floculación aglutinación en capilar y en superficie de Ruiz Castañeda muestran superioridad a la de Widal en especificidad y sensibilidad; sin embargo, tiene las mismas desventajas que otras pruebas serológicas en cuanto a la sensibilidad al efectuarse en la primera semana de la enfermedad cuando aun los niveles de anticuerpos no son detectables con este tipo de pruebas dando lugar a falsas

negativas aún en epidemias (8, 23, 24, 25, 26, 27, 28). Es bien conocido que ningún método serológico ofrece por sí mismo pruebas suficientes para determinar si una paciente sufre una infección determinada ya que solo son indicadores de que el sujeto ha sido estimulado para producirlos (23, 27).

Los cultivos de sangre y médula ósea, son generalmente reconocidos como el mejor procedimiento para el diagnóstico definitivo de la fiebre tifoidea, detectándose por aislamiento e identificación con pruebas bioquímicas y serológicas lo cual requiere un mínimo de 3 días lo que resulta tardado y en ocasiones costoso por la variedad de medios de cultivo (7, 29). Se han usado partículas de látex sensibilizadas con anticuerpo monoclonal Salmonela 0-9 para detectar el grupo de salmonelas en hemocultivos con la desventaja de no distinguir a aquellas salmonelas diferentes a la S. typhi (15). También se ha utilizado la coagulación estabilizando a la proteína A del estafilococo sensibilizado con antígeno de Salmonella C, E y Vi para diagnóstico en cultivos de heces enriquecidas, pero se requiere medio especial y existe cruce con otras bacterias (30).

A partir de 1973, Kronvall introdujo un nuevo método rápido y simple para determinar el serogrupo de las bacterias conocido como coagulación, empleando a la proteína A del Staphylococcus aureus (Cowan I) que reacciona con la parte FC de la IgG y deja libre el sitio de unión antigénica para la interacción con la bacteria a aglutinar, esta prueba ha sido empleada en el diagnóstico de infecciones por diversos microorganismos incluyendo Salmonella typhi. Existen pocos antecedentes del empleo de esta técnica en las muestras clínicas (sangre) para el diagnóstico de la fiebre tifoidea (10, 31).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando que es de mayor valor diagnóstico la detección del antígeno bacteriano y que no se cuenta en el momento actual con alguna técnica o reactivo para la aplicación en los laboratorios de bacteriología y urgencias se pretende evaluar un reactivo de coagulación no comercial. Siendo el problema base conocer cuales son los índices de confiabilidad de la prueba de coagulación para el antígeno Vi en el diagnóstico de fiebre tifoidea.

HIPOTESIS

H1: El reactivo de coagultinaci3n tiene una mayor sensibilidad y especificidad que el hemocultivo y/o mielocultivo en el diagn3stico de fiebre tifoidea.

Ho: El reactivo de coagultinaci3n tiene una menor sensibilidad y/o especificidad que el hemocultivo y/o mielocultivo en el diagn3stico de fiebre tifoidea.

MATERIAL Y METODOS

El estudio fue realizado en el Servicio de Pediatría del Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social desde el mes de marzo de 1989 hasta enero de 1990.

Para el grupo problema se incluyeron pacientes de 0-16 años de uno y otro sexo con un mínimo de 4 parámetros clínicos y uno de laboratorio o 2 clínicos y dos de laboratorio de los siguientes:

- CLINICOS: - Fiebre de una o más semanas de evolución.
- Cefalea.
- Malestar general (astenia, adinamia, hiporexia).
- Gastrointestinales (dolor abdominal, náuseas y/o vómito).
- Hepato o esplenomegalia.
- Roseóla tifoidica.

LABORATORIO:

- BHC (anemia, eosinopenia, leucopenia menor de 5000 o neutrofilia moderada).
- Reacción de Widal significativa; O positiva $\geq 1:160$.

Caracterizando de esta forma al grupo experimental de pacientes pediátricos con el diagnóstico de probable fiebre tifoidea.

Para el grupo testigo se incluyeron pacientes sanos o con otras patologías demostradas, diferentes a fiebre tifoidea.

No se incluyeron pacientes que no cumplieron criterios de inclusión y se excluyeron a aquellos con antibioticoterapia o falta de cultivos como métodos comparativos. Una vez que el paciente cumplió con los criterios de inclusión se procedió a obtener la muestra.

Acompañando al utilizado para la toma de hemocultivo previa asepsia y antisepsia de la región a puncionar con isodine se tomaron 2cc de sangre con aguja y jeringa estériles colocándolos en un tubo de ensaye también estéril.

Realización de la prueba de coaglutinación:

- Se empleó un reactivo de coaglutinación no comercial estandarizado en el laboratorio de investigación de Infectología e Inmunología del Instituto Nacional de Perinatología.
- Se probaron muestras de suero de pacientes con diagnóstico de probable fiebre tifoidea.
- Se emplearon reactivos dirigidos contra el antígeno Vi.
- En cada ensayo se empleó una cepa control de Salmonella typhi como testigo positivo y solución salina estéril como control negativo.

- Cada muestra clínica debió corresponder a la misma muestra enviada para cultivo.

METODOLOGIA

- De cada muestra de sangre obtenida para hemocultivo se destinaron 2 ml que fueron colocados en tubos de ensaye con tapón de rosca estéril.
- La muestra de sangre se centrifugó a 10,000 revoluciones por minuto separándose del suero.
- Cada muestra de suero fue sometida a calentamiento a 60° C por 30 minutos.
- Después del procedimiento anterior se colocaron tres gotas de cada muestra problema sobre una placa de vidrio a las cuales se les adicionaron:

MUESTRA 1: coagulación para antígeno Vi
(reactivo 1)

MUESTRA 2: solución salina.

MUESTRA 3: Salmonella typhi más reactivo 1.

Las muestras se mezclaron con agitador de madera y se rotaron manualmente por 1-2 minutos.

- La reacción de coagulación se consideró positiva cuando se observó una franca aglutinación después de 1 minuto y antes de 2 minutos.
- Las reacciones que no dieron franca aglutinación se consideraron como negativas.
- De cada muestra se revisó posteriormente el resultado del cultivo de sangre y/o médula ósea en el laboratorio de bacteriología.

METODO ESTADISTICO

Se analizaron 12 pacientes en el grupo problema y 12 en el grupo control, determinándose sensibilidad, especificidad, Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN) de acuerdo a las siguientes fórmulas.

$$\text{SENSIBILIDAD} \quad \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de verdaderos positivos}}{\text{N}^{\circ} \text{ de resultados positivos}} = \frac{A}{A+C}$$

$$\text{ESPECIFICIDAD} \quad \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de verdaderos negativos}}{\text{N}^{\circ} \text{ de resultados negativos}} = \frac{D}{B+D}$$

$$\text{VALOR PREDICTIVO POSITIVO} \quad \frac{A}{A+B}$$

$$\text{VALOR PREDICTIVO NEGATIVO} \quad \frac{D}{C+D}$$

Ver tablas siguientes

RESULTADOS

El presente estudio fue realizado en el Hospital de Infectología, Servicio de Pediatría del Centro Médico La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social, en donde se tiene un promedio de 70 a 100 de ingresos anuales por fiebre tifoidea con tendencia a la disminución progresiva encontrando en este año (1989) solo 12 casos que reunieron criterios de inclusión, observándose un mayor número de casos en las edades de 12-16 años, en la distribución por sexo, 7 fueron femeninos y 5 masculinos, con evolución en su mayoría de 7 a 10 días, presentando como datos clínicos sobresalientes (en más del 90% de los casos), fiebre, malestar general, cefalea y datos de laboratorio más frecuentes de anemia y leucopenia, la reacción de Widal en la mayoría de los casos no fue significativa.

Los resultados de cultivos en este estudio mostraron una confiabilidad muy diferente ya que el mielocultivo resultó ser el estandar ideal de comparación para establecer el diagnóstico de certeza de fiebre tifoidea no así el hemocultivo que en la mayoría de los casos fue negativo, como se aprecia en la tabla 2, solo 3 casos tuvieron hemocultivo positivo. La coaglutinación fue positiva en todos los casos mostrando una sensibilidad del 100% y especificidad de 84%, VPP 84% y VPN 100% (tabla 4). El mielocultivo fue positivo en todos los casos con excepción de 1 en el que no fue tomado, hacemos la observación de que a pesar de esta situación el paciente se incluyó en el estudio ya que la coaglutinación fue positiva, el cuadro clínico muy su-

gestivo y tuvo una respuesta satisfactoria al tratamiento para fiebre tifoidea, siendo este caso en particular el que causó la disminución en la especificidad del método de coaglutinación por considerarse como un falso positivo.

En este grupo de pacientes el hemocultivo tuvo una baja sensibilidad (25%) y aunque el valor predictivo positivo es adecuado tuvo un valor predictivo negativo solo del 10% (tabla 5).

T A B L A 2

PACIENTES CON COAGLUTINACION POSITIVA Y DIAGNOSTICO DE FIEBRE TIFOIDEA

CASO	HEMOCULTIVOS	MIELOCULTIVOS	COAGLUTINACION
1	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
2	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
3	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
4	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
5	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
6	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
7	Positivo (3)	Positivo	Positiva (3)
8	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)
9	Negativo (3)	N.R.	Positiva (3)
10	Positivo (3)	Positivo	Positiva (3)
11	Positivo (3)	Positivo	Positiva (3)
12	Negativo (3)	Positivo	Positiva (3)

T A B L A 3

CONTROLES NEGATIVOS PARA PRUEBA DE COAGLUTINACION

CASO	DIAGNOSTICO	COAGLUTINACION
1	Hepatitis tóxica	Negativa
2	Sarampión	Negativa
3	Infección urinaria	Negativa
4	Sano	Negativa
5	Hepatitis	Negativa
6	Asma bronquial	Negativa
7	Amibiasis invasora	Negativa
8	Sarampión	Positiva
9	Hepatitis crónica	Negativa
10	Asma bronquial	Negativa
11	Asma bronquial	Negativa
12	Derrame pleural	Negativa

T A B L A 4

MIELOCULTIVO				
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
COAGLUTINACION	POSITIVA	11 (A)	2 (B)	13
	NEGATIVA	0 (C)	11 (D)	11
	TOTAL	11	13	24
SENSIBILIDAD		$\frac{A}{A+C} = \frac{11}{11} = 1 = 100\%$		
ESPECIFICIDAD		$\frac{D}{B+D} = \frac{11}{13} = .84 = 84\%$		
VALOR PREDICTIVO POSITIVO		$\frac{A}{A+B} = \frac{11}{13} = .84 = 84\%$		
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO		$\frac{D}{C+D} = \frac{11}{11} = 1 = 100\%$		

T A B L A 5

M I E L O C U L T I V O				
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HEMOCULTIVOS	POSITIVO	3 (A)	0 (B)	3
	NEGATIVO	9 (C)	1 (D)	10
	TOTAL	12	1	13
SENSIBILIDAD		$\frac{A}{A+C} = \frac{3}{12} = 25\%$		
ESPECIFICIDAD		$\frac{D}{B+D} = \frac{1}{1} = 100\%$		
VALOR PREDICTIVO POSITIVO		$\frac{A}{A+B} = \frac{3}{3} = 100\%$		
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO		$\frac{D}{C+D} = \frac{1}{10} = 10\%$		

DISCUSION

De manera general el diagnóstico presuntivo de fiebre tifoidea se realiza en la mayoría de las unidades hospitalarias a través de la detección de anticuerpos circulantes en suero, debido a que la elevación de estos anticuerpos específicos contra Salmonella typhi son más francos a partir de la segunda semana de evolución de la enfermedad, ésta es una limitante para el diagnóstico durante las fases tempranas de la misma, es aceptable que el diagnóstico pueda sustentarse cuando existe detección del antígeno bacteriano en la circulación el cual es mayor en las etapas iniciales de la enfermedad por lo que se considera de mayor utilidad su búsqueda intencionada a través de reacciones inmunológicas.

El uso directo de anticuerpos como un método rápido en la identificación de cepas de Salmonella se han estudiado en cultivos, especímenes clínicos y alimentos con anterioridad con hallazgos variables que parecen depender en la especificidad de los anticuerpos policlonales y la técnica empleada, como lo demuestra Svenungsson, et al. con una alta especificidad (100%) lograda con un antisuero monoespecífico 0-9 cuando lo usó con inmunofluorescencia para detectar Salmonella enteritidis en cultivos fecales (9).

Se han utilizado otro tipo de partículas, como las de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales de Salmonella 0-9 para detectar el grupo D de salmonelas en cultivos de sangre, encontrando este sistema eficaz un

100% cuando se usó en 104 especímenes clínicos. La fiebre entérica fue diagnosticada tan pronto como en 24 horas después de la elaboración del cultivo en el 18% de los casos descritos. Las partículas de látex se usaron también en una situación experimental para detectar el lipopolisacárido soluble de Salmonella typhi por el método de aglutinación en tubo lo cual fue encontrado cuatro veces más sensible que el método convencional de aglutinación en placa (15).

Otros autores como Mikhail et al., usando Salmonella A, D, Vi y antisuero polivalente sensibilizado con organismos estafilocócicos detectaron Salmonella typhi y Salmonella paratyphi en cultivos de sangre y bilis de buey en un 95% de los casos en comparación a los métodos convencionales de cultivos.

La exactitud en la identificación de salmonelas por métodos inmunológicos depende de la especificidad de las preparaciones de anticuerpos utilizados.

Los procedimientos convencionales para la preparación de antisueros monoespecíficos contra los antígenos O de Salmonella que definen la especificidad del serogrupo requerían la inmunización activa de conejos con bacterias muertas con formalina y tomar posteriormente su suero, el cual daba una gran cantidad de reacciones cruzadas siendo además la absorción incompleta y el título de anticuerpos muy bajo, en la actualidad se han tomado de humanos con fiebre tifoidea mejorando los parámetros mencionados (9).

La sensibilización de cepas de Staphylococcus aureus Cowan I, con antisuero contra el antígeno Vi, resultó ser un reactivo diagnóstico excelente para la detección de Salmonella typhi ya que con la dilución utilizada la reacción de aglutinación se presentó en el 100% de los casos con mielocultivo positivo, mostrando una gran confiabilidad. Es probable que exista reacción cruzada con otras salmonelas que puedan causar las llamadas fiebres entéricas; sin embargo este cruce no influirá en la decisión terapéutica ya que el tratamiento antimicrobiano es el mismo.

La detección de antígenos para el diagnóstico de fiebre tifoidea ha sido poco utilizada, siendo los especímenes más estudiados; sangre, heces y orina y los métodos diagnósticos; coaglutinación, contrainmunolectroforesis y ELISA (16).

En este estudio tratamos de mostrar que la coaglutinación supera los métodos convencionales como son los cultivos, encontrándola económica, rápida, útil en los primeros días de la enfermedad y confiable; como lo han demostrado otros investigadores (9, 15, 16, 30, 31).

El método de coaglutinación es superada por inmunofluorescencia indirecta respecto a sensibilidad al poder detectar menos cantidades de bacterias (10^4) a comparación de coaglutinación que detecta solo si son más de 10^8 bacterias pero en ese mismo estudio esta prueba es superior en rapidez y menos sofisticación.

La sensibilidad y especificidad del método de coagulación fue alta como se comprueba en otros trabajos también con pocos patients como el de Sivadasán, único reporte encontrado en muestras sanguíneas directas (31).

Aunque se han mencionado diferentes métodos para detectar el antígeno, consideramos que al aumentar el tamaño de la muestra para coagulación se verán resultados más convincentes y reales por demostrarse lo que en este pequeño reporte se describe.

BIBLIOGRAFIA

1. Kumate J, Gutiérrez G: Manual de Infectología. Fiebre tifoidea. 8va. ed. Méndez Cervantes, 1981.
2. Edelman R, Levine MM: Summary of an international workshop on typhoid fever. Rev Infect Dis. 1986; 8:329-349.
3. Mendoza HP, Terminel VM, Ruiz ML: Experiencias bacteriológicas y clínicas y terapéuticas en 1676 casos de fiebre tifoidea. (Epidemia de 1972). 108:85-92.
4. Archivos del Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza.
5. Kelly MT, Brenner DJ, Farmer JJ: Enterobacteriaceae En: Lennete EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds.) Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington DC. 1985; 263-277.
6. González SG, Torales TA, Gómez ED y cols: Infectología clínica. Fiebre tifoidea. 2a. ed. 1986; 179-190.
7. Chang JE, Hernández H, Yi A: Hemocultivo y mielocultivo en niños con fiebre tifoidea. Bol Med Hosp Infant Mex. 1982; 39:614-616.
8. Muñoz O, Alvarez MT, Ruiz G y cols: Estudio comparativo de las reacciones de aglutinación y de fijación de superficie en el diagnóstico de fiebre tifoidea. Gac Med Mex. 1975; 109:253.

9. Svenungsson DO, Lindberg AA: Identification of Salmonella bacteria by coagglutination, using antibodies against synthetic disaccharide protein antigens 02,04 and 09, adsorbed to protein a containing staphylococci. Acta Path Microbiol Scand Sect. 1978; 86:283-290.
10. Ford AC, Defalcs RJ: Studies on bacterial agglutination by use of the antiglobuline (coombs) technique. Can J Microbiol. 1986; 2:657-664.
11. Spaun J: Determination of Salmonella typhi O and Vi antibodies by hemagglutination. Acta Pathol Microbiol Scand. 1952; 31:462-469.
12. Neter E: Bacterial haemagglutination and hemolysis. Bacterial Rev. 1956; 20:166.
13. Talmage DW, Freter GG, Talafierro WH: Two antibodies of related specificity but different hemolytic efficiency separated by centrifugation. J Infect Dis. 1956; 98:300.
14. Diena BB, Wallace R, Greenberg L: A flocculation test for Salmonella antibodies using sensitized Bentanite particles. J Microbiol. 1983; 9:221-226.
15. Leong LP, Fak YP: Detection of group D Salmonellae in blood culture broth and soluble antigen by tube agglutination using an 0-9 monoclonal antibody latex conjugate. J Clin Microbiol. 1987; 25:1165-1168.

16. Nandini SP, Hiresave S, Prema B: Coagglutination and counter immunoelectrophoresis in the rapid diagnosis of typhoid fever. AJCP. 1985; 84:80-84.
17. Nakamizo Y, Takaha Shi R: Latex-agglutination test in shigellosis and salmonellosis. Am J Trop Med Hyg. 1965; 14:783-786.
18. Muñoz O, Hernández VR, Garduño RG y cols: Contrainmuno-electroforesis para la detección de anticuerpos contra el antígeno O de Salmonella typhi. II evaluación en enfermos de fiebre tifoidea y población sana. Arch Invest Med (Mex). 1979; 1033.
19. Carlson HE, Lindberg AA, Hammarstrom S y cols: Quantitation of Salmonella O antibodies in human sera by enzyme immunosorbent assay (ELISA). Int Arch Allergy Appl Immunol. 1975; 48:485-489.
20. Hernández-Velarde R, Muñoz O, Sánchez-Castillo J: Nuevas técnicas para la detección de anticuerpos séricos contra el antígeno O de Salmonella typhi. Gac Med. Mex. 1979; 115:197-201.
21. De Villier AB: Comparative study of typhoid O antigen. Am J Clin Pathol. 1965; 44:410-412.
22. Gutiérrez TG, Benavides L, Carrillo J y cols: La reacción de Widal en la fiebre tifoidea. Bol Med Hosp Infant Mex. 1962; 19:5-16.

23. Herrera L: Respuesta inmunológica en fiebre tifoidea juzgada mediante aglutininas, anticuerpos bloqueadores y fijación en superficie. Tesis de internado. Hospital Infantil de México. 1960.
24. Brandao CS: Relación de fijación de superficie como diagnóstico en la fiebre tifoidea. Bol Med Hosp Infant Mex. 1972; 29:413-420.
25. Ruiz CM: Surface fixation. A new method of detecting immunological reactions. Proc Soc Exp Biol Med. 1950; 73:46-49.
26. Alvarado AF, Ruiz CM, Kumate J: Prueba de floculación en capilar en el diagnóstico serológico de fiebre tifoidea en niños. Bol Med Hosp Infant Mex. 1987; 44:74.
27. Alvarado AF, Vidal RA, Aguirre SG y cols: Serología comparativa en la fiebre tifoidea en niños. Bol Med Hosp Infant Mex. 1987; 44:254-259.
28. Levine MM, Grados O, Gilman HT y cols: Diagnostic value of the Widal test in areas endemic for typhoid fever. Am J Trop Hyg. 1978; 27:795-800.
29. Mikhail AI, Sanborn RW, Sippel EJ: Rapid, economical diagnosis of enteric fever by a blood clot culture coagglutination procedure. J Clin Microbiol. 1983; 17:564-565.

30. Sanborn RW, Lesmana M, Earl EA: Enrichment culture coagglutination test for rapid low cost diagnostic of salmonellosis. J Clin Microbiol. 1980; 12:151-155.

31. Sivadasan K, Kurien B, Jacob JT: Rapid diagnosis of typhoid fever by antigen detection. Lancet. 1984; 21:134-135.