

Estudio seroepidemiológico de fiebre tifoidea en población escolar en el área norte de Lima Metropolitana.

Sero-epidemiological study of typhoid fever in schoolchildren of the northern

CLENDENES Martin¹, CARRILLO Carlos¹, GOTUZZO Eduardo¹ y BENAVENTE Luis²

¹Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt". Universidad Peruana Cayetano Heredia.

²Centro de Investigación "Dr. H. Lumbreras Cruz"

SUMMARY

From September to November 1989, a transversal was made in 1322 schoolchildren, supposedly healthy, without history of immunization against Typhoid Fever, from San Juan Lurigancho district.

They were selected by conglomerate sampling, in order to estimate the proportion with positive serology to Salmonella typhi O and H antigens and its distribution by sex, age group and school type. The determination of the titles was made with plate microagglutination; this technique has a sensitivity of 84% and a specificity of 87% when using a cut-off point of $\geq 1:160$ for typhoid fever diagnosis. The prevalence of positive serology to antigen O at different cut-off points ($\geq 1:20$, $\geq 1:40$ and $\geq 1:80$) was higher in women (41.6%, 12.4% and 3.9%) than in men (41.1%, 9.1% and 1.1%) ($p < 0.05$). The prevalence of positive serology to antigen H at the same cut-off points was similar in women (69.0%, 18.8% and 5.6%) than in men (73.1%, 16.5% and 6.4%) ($p > 0.05$). Both for O and H antigens, there were statistical differences in prevalence of positive serology by age group; but, prevalence among different school types were similar. The finding of prevalence of positive serology to S. typhi suggests frequent subclinical infection which perpetuates the endemicity of this disease. (Rev Med Hered 1992; 3: 94-100).

KEY WORDS: Typhoid fever, schoolchildren, epidemiology.

RESUMEN

Entre los meses de setiembre y noviembre de 1989, se realizó un estudio transversal en 1322 escolares supuestos sanos, del distrito de San Juan de Lurigancho, sin antecedente de inmunización contra fiebre tifoidea, seleccionado mediante muestreo por conglomerados, con el objetivo de estimar las prevalencias de serología positiva para antígeno O y H de Salmonella typhi y su distribución según sexo, grupo etáreo y tipo de colegio. La determinación de los títulos se hizo con la técnica de microaglutinación en placa, que tiene una sensibilidad del 84% y una especificidad del 87% para el punto de corte $\geq 1:160$ para el diagnóstico de fiebre tifoidea. Las prevalencias de serología O positiva para los diferentes puntos de corte ($\geq 1:20$, $\geq 1:40$ y $\geq 1:80$), fue significativamente mayor en mujeres (41.6%, 12.4% y 3.9%) que en hombres (41.1%, 9.1% y 1.1%) ($p < 0.05$). Las prevalencias de serología H positiva para los puntos de corte mencionados fueron similares en mujeres (69.0%, 18.8% y 5.6%) y en hombres (73.1%, 16.5% y 6.4%) ($p > 0.05$). Ambas prevalencias

positivas O y H fueron estadísticamente diferentes según grupo etáreo; pero, similares según tipo de colegio. Las altas proporciones de prevalencia encontradas, sugieren frecuente infección subclínica lo cual perpetúa la endemidad de esta enfermedad. (Rev Med Hered 1992; 3: 94-100).

PALABRAS CLAVE: Fiebre Tifoidea, Población escolar, epidemiología

INTRODUCCION

La fiebre tifoidea sigue siendo un problema mundial de salud pública y se registran 12.5 millones de casos en el mundo con tasas anuales de incidencia que en los países del Tercer Mundo oscilan entre 35 y 765 casos por 100,000 habitantes (1). En el Perú, esta enfermedad es endémica, y su origen se relaciona con deficiencias en el saneamiento ambiental, representando una de las seis causas más importantes de morbilidad infecciosa, de los casos notificados al Ministerio de Salud (2,3) encontrándose tasas de incidencia por año de 40-60 casos por 100,000 habitantes, pero en distritos de pobre nivel socioeconómico y en adultos jóvenes esta cifra es más elevada: 300-500 casos por 100,000 habitantes (4) siendo el 35% niños menores de 14 años y la mayoría del rango de 5-20 años (5). Una peculiar característica de la tifoidea es que no existen reservorios animales como en otras salmonelosis y el hombre es el único reservorio. Entre 1-5% de las infecciones agudas de *Salmonella typhi* convierten en portadores crónicos asintomático (habitualmente en vesícula biliar), siendo más frecuentes en mujeres mayores de 25 años (6,7).

Se han descrito bacteremias benignas (autolimitadas) por *S. typhi* o *S. paratyphi* en 4/199 lactantes (2%) y en 7/648 niños (1%) menores de 5 años, que acudían a la emergencia del Hospital Cayetano Heredia o al Centro de Salud de Canto Grande en San Juan de Lurigancho respectivamente por cuadros febriles autolimitados (10). Estas bacteremias benignas, también descritas en Chile y en África (11) pueden explicar parte del múltiple patrón de infección por *S. typhi* y/o *s. paratyphi*.

La fiebre tifoidea afecta preferentemente a escolares y adultos jóvenes, con una proporción de 74.8% casos en el grupo escolar, siendo el grupo de edad más afectado el de 10-14 años (4,5,12,13). Igualmente, se ha demostrado que existe una elevada frecuencia de infecciones subclínicas, con una relación de 10/1 de infección subclínica/clínica, evidenciada por bacteriología positiva transitoria intestinal (bili ó coprocultivo positivos) en pacientes asintomático (14).

El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento de la *S. typhi* en sangre, heces, orina y otros fluidos corporales (12,13,15,21).

En la práctica, el diagnóstico se basa en el cuadro clínico de la enfermedad y en la detección de anticuerpos con la reacción de aglutinación en *Salmonella typhi* (1,5,12,13,17,22,23,24). Actualmente, existen otras pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra el antígeno somático O de *Salmonella typhi*: prueba de Coombs, hemoaglutinación, contraelectroforesis y la prueba inmunoenzimática (ELISA) (24-30).

En nuestro país las aglutinaciones y los hemocultivos, son los procedimientos auxiliares más utilizados en el diagnóstico de fiebre tifoidea (31). Las aglutinaciones tienen dos restricciones importantes: han sido descritas prevalencias elevadas de aglutinaciones positivas O y H en población sana, sin antecedente de enfermedad ni vacunación (32) y

existe un 10% de pacientes con fiebre tifoidea que tienen aglutinaciones persistentemente negativas y un 15% con títulos bajos no diagnósticos (5), por lo cual se considera limitada la utilidad de test de Widal como forma de diagnóstico (5,21,22,23,28,32,33,34,35).

El test de Widal, en algunas áreas, tiene una sensibilidad y especificidad del 80% en el diagnóstico de fiebre tifoidea (26-35). Otros autores reportan para este test, sensibilidades y especificidades que oscilan entre 75% y 95% (26,37).

El presente trabajo tiene por objetivos: 1. Determinar las “tasas” o proporciones de prevalencia de serología positiva (anticuerpos O y H) para *Salmonella typhi* en la población escolar del área norte de Lima. (Distrito de San Juan de Lurigancho) y 2. Estimar la distribución de escolares con títulos altos y bajos según edad, sexo y tipo de colegio.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio transversal mediante una encuesta serológica en los escolares del distrito de San Juan de Lurigancho (S JL), ubicado al norte de la ciudad de Lima-Perú.

El universo en estudio estuvo constituido por los escolares de los niveles Inicial-Primaria-Secundaria de los colegios nacionales y particulares.

La muestra se obtuvo a partir del marco muestral constituido por el Registro de Centros Educativos de la Unidad de Servicios Educativos (USE-03-S JL) actualizado a Agosto de 1988; el cual contiene la totalidad de Colegios Nacionales y Particulares con el total de alumnos matriculados del distrito de San Juan de Lurigancho (S JL). El marco muestral constó de un total de 107,439 alumnos distribuidos en 314 centros educativos.

La muestra diseñada fue probabilística, estratificada para obtener 400 sujetos por grupo étnico, tripartita de selección sistemática de colegios con arranque aleatorio, selección al azar de secciones y alumnos, tanto para colegios estatales y particulares.

El tamaño necesario de la muestra, para estimar las “tasas” de prevalencia de serología positiva para antígenos O y H en escolares supuestos sanos, se obtuvo según el Programa N-Muestra (38), con un nivel de confianza del 95% y una potencia del 95% (Errores tipo I y II respectivamente), con un error máximo de 0.018 y mínimo de 0.007. Empleando además la técnica de Muestreo por Conglomerados (39), el total de alumnos previstos para el muestreo fue de 1,200.

Los padres de familia de los alumnos fueron informados previamente y otorgaron su consentimiento por escrito para la participación de sus hijos en este estudio.

De cada alumno, se obtuvo sangre capilar por punción del dedo anular de la mano izquierda con lancetas estériles previa asepsia con alcohol yodado, recolectándola en 2 tubos capilares heparinizados, los cuales se sellaron con plastilina y se transportaron en cajas térmicas al Laboratorio de Inmunología Experimental del Instituto de Medicina Tropical “Alexander Von Humboldt” de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, donde fueron centrifugados a 11,500 rpm durante 3 minutos en una centrífuga DAMON/IEC DIVISION, medidos su hematocrito con un dispositivo DAMON/IEC DIVISION y de acuerdo al protocolo se almacenaron los plasmas en viales plásticos a -20°C hasta el momento de procesar la serología para los anticuerpos O y H de *Salmonella typhi*.

Se obtuvo de cada ficha de registro de los alumnos muestreados el antecedente o no de inmunizaciones previas contra Fiebre Tifoidea, por no estar establecida esta vacunación en el Programa de Inmunizaciones del Ministerio de Salud.

La técnica serológica empleada para el procesamiento de las muestras fue la de Microaglutinación en Placa (40).

La información fue almacenada en archivos electrónicos en formato de Base III Plus, en donde se registraron la edad, sexo, grupo étnico, tipo de colegio, título O y título H de cada sujeto muestreado. Los datos fueron analizados haciendo una transformación logarítmica en base neperiana de la recíproca del título (41), con la finalidad de normalizar esta variable y poder emplear estadísticas paramétricas. Esta transformación logarítmica dio lugar en ambos casos a una distribución normal.

Los datos obtenidos fueron analizados, con el programa estadístico Statistical Package Sciences Sociales (SPSS) y EPI Info (EPISTAT) empleando una computadora IBM-PC-AT con disco duro y de 21 MHZ de velocidad.

Se utilizó la Prueba F, para comparar promedios de los títulos transformados en forma logarítmica, Chi-cuadrado para comparar la proporción de prevalencias de títulos altos, cálculo de los intervalos de confianza(IC): de acuerdo a la distribución de Poisson para muestreo aleatorio simple y determinación del OR= odds ratio, que es un estimado del riesgo relativo para un estudio transversal ; utilizado para estimar el riesgo de un grupo con respecto a otro para una condición establecida, empleando el método de Cornfield con intervalos de confianza del 95% (42).

RESULTADOS

Se recolectaron entre el 18 de setiembre de 1989 y el 27 de noviembre de 1989, un total de 1,400 muestras de sangre capilar de escolares del distrito de San Juan de Lurigancho, localizado al Norte de la ciudad de Lima-Perú, entre hombres y mujeres de los niveles Inicial, Primaria y Secundaria provenientes de colegios nacionales y particulares. Fueron descartadas 78 muestras por ser insuficientes o perderse en el laboratorio al momento de ser centrifugadas. El número total de muestras obtenidas para el análisis de datos fue de 1,322.

El 50.8% de la muestra estudiada fue de sexo masculino y el 49.2% de sexo femenino. Respecto al grupo étnico, el 37.5% fue de 5-9.9 años, 42.5% de 10-14.9 años y el 20.0% de 15-19.9 años. Asimismo, el 75.6% de los sujetos fue de colegio nacional y el 24.4% de colegio particular.

El 25% de los colegios muestreados fueron particulares y el 75% nacionales. El 7.5% del total de los colegios fue de nivel Inicial; 50% de nivel Primario y 42.5% de nivel Secundario. La edad promedio en los colegios estatales fue de 11.5 años y de 9.7 años en los particulares. Ningún paciente había sido vacunado contra tifoidea.

Las "tasas" de prevalencia de serología positiva para el antígeno O de Salmonella typhi para un título igual o mayor a 1:20 para el sexo masculino y femenino fue de 41.1% y de 41.6% respectivamente; para el título igual o mayor a 1:40 fue de 9.1% y de 12.4% en el sexo masculino y femenino respectivamente, sin identificar diferencias significativas por sexo; sin

embargo, para el punto de corte igual o mayor a 1:80, la “tasa” de prevalencia resultó ser mayor en el sexo femenino en forma significativa ($p=0.0006$); además se determinó que el OR (estimado del riesgo relativo) fue de 3.45, demostrando que el sexo femenino es factor de riesgo para desarrollar serología O positiva para el punto de corte $\geq 1:80$. Al comparar los promedios de títulos transformados logarítmicamente mediante la Prueba F según sexo, las mujeres tuvieron 3.31 ± 0.51 que fue mayor estadísticamente al de los hombres 3.22 ± 0.41 ($p=0.02$) ([Tabla N°1](#)).

Las proporciones de prevalencia de serología O positiva de *Salmonella typhi* a diferentes títulos y grupos etáreos, se aprecian en la tabla N° 2. El pico de prevalencia para el título igual o mayor a 1:20 fue de 46.3% en el grupo de 15-19 años, observándose diferencias significativas según grupo etáreo (Prueba F=3.2307 y $p < 0.05$).

En las “tasas” o proporción de prevalencia de serología O positivas de *S. typhi* de acuerdo al tipo de colegio, observamos que la tasa de prevalencia más alta para el título igual o mayor a 1:20 fue de 43.7% en el grupo de colegio particular. Sin embargo, no existe una diferencia significativamente estadística entre ambos tipos de colegio (Prueba F=2.1917) y $p>0.05$) ([Tabla N°3](#)).

En las “tasas” de prevalencia de serología H positiva de *S. typhi* según sexo, la tasa de prevalencia de serología positiva para un título igual ó mayor a 1:20 fue de 73.1% y de 69.0% para hombres y mujeres respectivamente; para el título igual o mayor a 1:40 fue de 16.5% para hombres y 18.8% para mujeres y para el título igual ó mayor a 1:80 fue de 6.4% y 5.6% para hombres y mujeres respectivamente. Al realizar el análisis de esta tabla, observamos que no existe una diferencia estadísticamente significativamente entre sexos y serología H positiva (Prueba F= 2.7827 y $p> 0.05$) (Tabla N°1).

La “tasa” de prevalencia de serología H positiva para el título igual ó mayor a 1:20 fue de 68.6% para el grupo etáreo de 5-9.9 años; 70.2% para el grupo de 10-14.9 años y de 77.9% para los de 15-19.9 años. Asimismo, para el título igual ó mayor a 1:40 fue de 10.8% para el primer grupo y de 17.7% y de 28.5% para el segundo y tercer grupo respectivamente. Además, se observa que la tasa para el título igual ó mayor a 1:80 fueron de 2.4%, 7.4% y de 10.6% para el primer, segundo y tercer grupo. Se evidencia, que existe una diferencia significativamente estadística (Prueba F= 10,1594 y $p < 0.05$). ([Tabla N°2](#)).

La “tasa” de prevalencia de serología H positiva para un título mayor ó igual a 1:20 es de 72.0% para sujetos de colegios nacionales y de 68.6% para colegios particulares. Asimismo, para el título igual o mayor a 1:40, las tasas de prevalencia fueron de 19.6% y 12.4% para colegios nacionales y particulares respectivamente. En cambio, para el título igual o mayor a 1:80, estas tasas fueron para colegios nacionales y particulares de 7.2% y 3.10% respectivamente. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre tipo de colegio y serología H positiva (Prueba F= 4.1917 y $p> 0.05$). (Tabla N°3).

Respecto a la edad (años cumplidos) el pico de prevalencia de serología O positiva, para el título igual ó mayor de 1:20, 1:40 y 1:80 fue de 53.7% a los 15 años; 15.6% a los 16 años y 3.8% a los 17 años respectivamente. En cuanto, al pico de prevalencia de serología H positiva, para los mismos títulos fue de 78.4% a los 15 años para un título igual ó mayor a 1:20; 44.1% a los 14 años para 1:40 y 13.9% a los 16 años para un título igual ó mayor a 1:80.

La técnica de Microaglutinación en placa (40), para el diagnóstico de fiebre tifoidea, sin ser objetivo de este estudio se desarrolló previamente para hacer las determinaciones serológicas en la población escolar. Utiliza al igual que el test de Widal antígenos específicos y sensibles para la determinación de anticuerpos O y H de *Salmonella typhi* de los sueros de los sujetos. Reportamos una sensibilidad y especificidad de orden del 84% y 87% respectivamente para el punto de corte \geq 1:160.

A diferencia del test de Widal, es una microtécnica sencilla, en la que se puede emplear sangre capilar lo que la hace menos invasiva que el resto de las técnicas que requieren sangre venosa. Es de bajo costo, rápida (se puede correr por placa, 8 sueros simultáneamente) y objetiva (el título del suero ensayado está dado por la última dilución donde no se forma precipitación uniforme o en “doughnut”).

DISCUSION

El test de Widal es la técnica serológica para el diagnóstico de fiebre tifoidea (26,28,41,43,44,45). Sin embargo, la falta de estandarización de los antígenos comerciales en los laboratorios, los niveles basales de anticuerpos en un área endémica (32), el efecto de la vacunación que causa aumento en forma transitoria de las aglutininas O y aumento más duradero en las H, la evolución de la enfermedad (las aglutininas O y H se elevan recién a partir de la segunda semana de enfermedad (5,21,28,44,45,46), y la posibilidad de reacción cruzada con anticuerpos inducidos por otras enterobacterias como *E. coli* u otras salmonellas que comparten los antígenos O 9 y O 12 (47), serían los principales factores que limitan el valor de esta prueba.

Los estudios seroepidemiológicos de fiebre tifoidea, en áreas endémicas como el Perú son escasos. Levine (32), en 1978 reporta que el pico de prevalencia de serología positiva para antígeno O para *Salmonella typhi* en sujetos peruanos supuestos sanos, para títulos \geq 1:20 y \geq 1:40 se encuentran en el grupo de 15-19 años 843% y 29% respectivamente); y que en pico de prevalencia de serología positiva para el antígeno H, también se encuentran en este grupo, con tasas de 80% y 76%, para títulos \geq 1:40 y \geq 1:80 respectivamente. Sin embargo, estos datos no fueron obtenidos de una muestra representativa de la población general, sino de personas sanas de 3 ciudades del Perú que acudían al hospital, lo cual limita sus conclusiones.

Shehabi en Jordania, reporta una proporción de prevalencia general de 3% para títulos \geq 1:40 de serología positiva para antígenos O y H para 350 sujetos escolares supuestos sanos, por medio de la técnica de Widal (44) y para ellos títulos de serología positiva \geq 1:80, tienen una buena sensibilidad y especificidad para indicar fiebre tifoidea activa, sin dar a conocer estos valores.

Jamal en Malasia, otra zona endémica de fiebre tifoidea, en una población de 447 sujetos supuestos sanos entre 18 y 55 años (368 hombres y 79 mujeres), reporta una proporción de prevalencia general de 16.4% para serología O positiva y de 14% para serología H positiva para títulos \geq 1:160, utilizando un test de Widal modificado (34) y compara sus resultados con los obtenidos por Pang, quien sólo describe una proporción de prevalencia de 5% para antígeno O y de 2% para antígeno H para el mismo título \geq 1:160 en otra área endémica. También concluye, que títulos de serología positiva \geq 1:160 sugieren fiebre tifoidea activa en una área endémica. En estos estudios, no se mencionan diferencias estadísticas según sexo, grupo étnico y nivel socioeconómico.

Las tasas de serología positiva para los antígenos O y H tienen tendencia a incrementarse conforme avanzamos en años de edad. Los datos de nuestros trabajos precisan, que para el grupo etáreo de 15-19 años, se encuentran las “tasas” de prevalencia de serología positiva para el antígeno O y H similares que las reportadas por otros autores (33,36,43,48,,49); así, para el antígeno O para títulos $\geq 1:20$ y $\geq 1:40$ son alrededor de 46.3% y 2.6% respectivamente; y para el antígeno H, para títulos $\geq 1:40$ y $\geq 1:80$ son del orden de 28.5% y 10.6% respectivamente.

En nuestros estudios las tasas de prevalencia de serología positiva para antígeno O de *Salmonella typhi*, varían según sexo, identificando además diferencias significativas para el sexo femenino para el título $\geq 1:80$ por medio del cálculo del OR (riesgo relativo cruzado), para este punto de corte el sexo femenino es un factor de riesgo para infección salmonelósica. No se encuentran diferencias significativas para los otros puntos de corte. No hemos encontrado al respecto otras publicaciones en la literatura y no tenemos aún una buena explicación para este hallazgo.

Este hallazgo puede ser explicado, porque conforme avanzamos en edad, el riesgo de infectarse con *Salmonella typhi* es similar a lo descrito en la literatura (36). Igualmente, reportamos que no existen diferencias significativas en la proporción de prevalencia para el antígeno O a diferentes títulos, según tipo de colegio, siendo el tipo de colegio una variable indirecta del nivel socioeconómico, no podemos demostrar una asociación real entre éste y las “tasas” de prevalencia de serología O positiva.

Resultados similares para serología en antígeno H demuestran que no existe diferencia de sexo, por tipo de colegio, pero sí la edad más frecuentemente afectada fue 15-19 años.

Los anticuerpos contra el antígeno O de *Salmonella typhi* son del tipo Ig M y de corta vida y son debidos a infección por *S. typhi*. Asimismo, los anticuerpos del antígeno flagelar H de *S. typhi*, son de tipo Ig G y de larga vida y pueden derivar de inmunizaciones o infección subclínica (1,28,32,35,43,48). La detección de ambos en sujetos supuestos sanos no inmunizados previamente contra *Salmonella typhi*, como es el caso de los escolares del distrito de San Juan de Lurigancho (S JL), sugieren que obedecen a un patrón de infección subclínica y que nuestros resultados corresponden a “tasas” de prevalencia de serología positiva de sujetos de una área endémica de fiebre tifoidea.

Agradecimiento:

Al Dr. Miguel Campos S. por su apoyo y asesoría a las autoridades de Educación de la Unidad de Servicio Educativo USE-03-S JL.

Este proyecto fue financiado con una subvención del CONCYTEC

Correspondencia:

Dr. Luis Benavente E.
Apartado Postal 5045
Lima 100 – Perú

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Edelman R., Levine M.: Summary of an International Workshop on Typhoid Fever. *Reviews of Infectious Diseases* 1986; 8: 329-349.
2. Boletín de Enfermedades Transmisibles. Dirección de Epidemiología. Ministerio de Salud del Perú. 1983.
3. Compendio Estadístico del Perú. Instituto Nacional de Estadística (INE) Lima, 1987.
4. Gotuzzo E. Características Epidemiológicas de Fiebre Tifoidea en Lima. *Diagnóstico* 1981; 8: 76-81.
5. Gotuzzo E. Fiebre Tifoidea *Diagnóstico* 1979; 4: 35-41.
6. Guerra J, Benavente L, Gotuzzo E, Grados O, Bravo N. Predictive value of stool culture and bile culture post treatment of Typhoid Fever in the identification of relapse and chronic carrier state, 27 st, ICAAC, New York, USA, 1987.
7. Lanata C, Tafur C, Benavente L, Gotuzzo E, Carrillo C. Detección de portadores de salmonella typhi en manipuladores de alimentos mediante la serología VI en Lima, Perú. *Bol. OPS* 1988; 105(3): 283-289.
8. Gulati P, Saxena S, Bact D, Gupta P, Chutan K. Changing Pattern of Typhoid Fever. *Am J Med* 1968; 45:544-549.
9. Lange H, Ulm K, Raittig H, Huber Ch. The effect of various interventions during a thypoid epidemic. Result of a simulation study. *Infection* 1983; 11:31-37
10. Gotuzzo E, Vallenás C, Benavente L, Bracamonte P, Carrillo C, Black R. Benign Bacteremia in Typhoid Fever in a Peruvian Populatio (In press *Pedids Infecrt Dis* 1990)
11. Ferrecio C, Levine M, Manterola A, et al. Benign Bacteremia caused by Salmonella Typhi and Paratyphi in Children younger than 2 years. *J Pediatr* 1984; 104: 899-901.
12. Vallenás C, Hernández H, Gotuzzo E, Black R, Campos M, Evaluación de los Métodos de Diagnóstico Bacteriológico de Fiebre Tifoidea en Pediatría. *Bol Med Hos Infant México* 1986; 43: 204-210.
13. Gutiérrez R, Hernández H, Chaparro E, Fiebre Tifoidea en niños: Un estudio Clínico y de Laboratorio. *Diagnóstico* 1990; 26:43-48.
14. Gotuzzo E, Perfil Clínico de la Fiebre Tifoidea: Conferencia I Congreso Peruano de Infectología, 1989.
15. Benavente L, Gotuzzo E, Guerra J, Grados O, Guerra H, Bravo N. Diagnosis of Typhoid Fever using a string capsule device. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984; 78:404-406.
16. Gilman R, Hornick R. Duodenal Isolation of Salmonella typhi by String Capsule in Acute Typhoid Fever. *J Clin Microbiol* 1976; 3: 456-457.
17. Benavente L, Gotuzzo E, Guerra J, Grados O, Bravo N. Nuevos Métodos Diagnósticos de Fiebre Tifoidea. *Diagnóstico* 1981; 8:82-86.
18. Chao Chi L, John L, Tze Yin Ch A. comparative study of bile, blood, stool, stool, urine culture and Widal reaction in Typhoid and Paratyphoid Fevers. *Chiness MJ* 1948; 66:66-78.
19. Watson K. Laboratory and Clinical Investigation of Recovery of Salmonella typhi from Blood. *H Clin Microbiol* 1978; 7:122-126.
20. Guerra J, Gotuzzo E, et al Diagnostic value of bone marrow culture in typhoid fever. *Trans Royal Soc. Trop Med Hyg* 1979; 73(6): 600.683.
21. Gotuzzo E, Guerra J, Crosby E, Miró Quesada M, Carrillo C. Fiebre Tifoidea Estudio Prospectivo de los Métodos Diagnósticos *Acta Med Per* 1978; 14-19
22. Carlssons H, Lindeberg A, Hammarstrom S. Titration on antibodies to Salmonell O antigens by Enzyme Linked Inmunosorbent Assay, *infect Immunity* 1972; 6: 703-708.
23. Freter Rolf: Agglutination titration (Widal) for the diagnosis of Enteric fever an other enterobacterial infections. In : Rose N, Friedman H. (Eds): *Manual of Clinical Immunology*. Am Soc Microbiol, Washington. 1980 pp 460-463.

24. Kumate J., Villareal J., Carrillo J., Isibasi A.: Eliminación Fecal de antígenos de Salmonelas en la Fiebre Tifoidea. Encuesta Epidemiológica. Arch Invest Med (Mex) 1983; 14:51-57.
25. D'aoust J, Sewell A. Detection of Salmonella by the Enzyme Immunoassay (EIA) technique, J Food Sci 1986; 51: 484-489.
26. Lange S. Elwing H. Larsson P, Nygren H. Comparison of Diffusion in Gel Enzyme – Linked Immunosorbent Assay with Conventional Serological Methods for Detection of Class Specific Antibodies to Salmonella typhi O Antigen. J Clin Microbiol 1980; 12:637-640.
27. Lindberg Alf A. Svenson Stefan. O. Antigen Oligosaccharide Protein Conjugates. Scand J Infect Dis Suppl 1980; 24: 355-359.
28. Murphy J, Shahida B, Muñoz C, Schlesinger L, Ferreccio C, Lindberg A, Svenson S, Losonsky G, Koster F, Levine M. Characteristics of Humoral and Cellular Immunity to Salmonella typhi in Residents of Typhoid Endemic and Typhoid-Free Regions. J Inf Dis 1977; 156:1005-1009.
29. Nardiello S. Pizzella T, Russo M, Galanti B. Sero-diagnosis of Typhoid Fever by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Determination of anti-salmonella typhi Lipopolysaccharide antibodies. J Clin Microbiol 1984; 20:718-721.
30. Tsang R, Pak Ch. Serological Diagnosis of Typhoid Fever by Counterimmunoelectrophoresis. Brit Med J 1981; 282:1505-1507.
31. Gotuzzo E, Guerra J, Benavente L, Tratamiento de la Fiebre Tifoidea. Diagnóstico 1981; 8:195-202
32. Levine MM Grados O, Gilman RH, Woodward WE, Solis Plaza R, Waldman WI. Diagnosis Value of the Widal Test in Areas Endemic for Typhoid Fever. Am J Trop Med Hyg 1978; 27: 795-800
33. Hornick R, Greisman S, Woodward T, Dupont H, Dawkins A, Snyder M. Typhoid Fever: Pathogenesis and Immunologic Control. N Eng J Med 1970; 283:686-746.
34. Jamal F, Salleh Mohd M, Abdullah R. Mokhtar N. Salmonella agglutinins in normal adult sera in an endemic area. J Diarrhoeal Dis Res 1986; 4:74-76
35. Levine MM, Black R, Ferreccio C. Clements M, Lanata C, Sears S. Morris G Cisneros L, Germanier R. Interventions to Control Endemic Typhoid Fever: Field Studies in Santiago, Chile. Series de Copublicaciones OPS 1985; 1:37-66.
36. Lennette E, Ballow A, Hausler W. Shadomy H. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Am Soc Microbiol Washington D.C. 1985.
37. Wicks A, Holmer G. Davidson L, Endemic Typhoid Fever Qua J Med. New Series, 1971; 159:341-354.
38. Campos M. Software de Programas Estadísticos Computadores PC/AT/XT. Boletín Estadístico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia 1986.
39. Cochran William. Técnicas de Muestreo Poblacionales. Cuarta Edición. Fondo educativo interamericano. México 1981; pp:300-645.
40. Carrillo C, Clendenes M. Microaglutinación en placa para el Diagnóstico de Fiebre Tifoidea (Comunicación personal).
41. Piazza A. Análisis of Immunological data. In: Leifkovits I, B. Pernis (Eds) Immunological Methods. Vol I. Academic Press, New York, 1979; pp: 419-500.
42. Lilienfeld A. Fundamentos de epidemiología. Segunda edición. Editorial Fondo Educativo Interamericano. Bogotá 1983.
43. Weeramanthri T, Corrah P. Evaluation of the Widal test in the diagnostic of Enteric fever. Journal Trop Medic Hyg 1989; 92: 315-316.
44. Shehabi A. The Value of a Single Widal Test in the Diagnosis of Acute Typhoid Fever. Trop Geo Med 1981; 33:113-116.

45. Grosma R. Fiebre Tifoidea: Su diagnóstico. Bol Med Hosp Infant México 1986; 43:201-203.
46. Balakrishnasarma V, Malaviya A, Kumar R, Ghai O, Bakhtary M. Development of Immune Response During Typhoid Fever in Man. Clin Exp Immunol 1977; 28: 35-39.
47. Edwards P, Ewing W. Identification of Enterobacteriaceas. 3rd edition: Burges Pub. Co. Minn: 1972; 146
48. Sarasombath S, Banchuin N, Sukosol T, Rungpitarangsi B, Manasatit S. Systemic and Intestinal Immunities after Natural Typhoid Infection. J clin Microbiol 1987; 25: 1088-1093.
49. Premavathyrajagopalan R, Kumar R, Malaviy N. Immunological Studies in Typhoid Fever. Clin Exp Immunol 47: 1982; 269-274.