



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Comparación entre las técnicas Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa en la detección de *Salmonella typhi*

Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en Ciencias de la Salud de Laboratorio Clínico e Histopatológico

Autoras:

Fuentes Saez, Verónica Fernanda

Ramos López, Marcia Alelí

Tutora:

Dra. Ana Carolina González Romero

Riobamba, Ecuador. 2022

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotros, Marcia Alelí Ramos López y Verónica Fernanda Fuentes Saez, con números de cédula de ciudadanía, 0605802842 y 1500741531, autoras del trabajo de investigación titulado: Comparación entre las técnicas Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa en la detección de *Salmonella typhi*, certificamos que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 24/11/2022



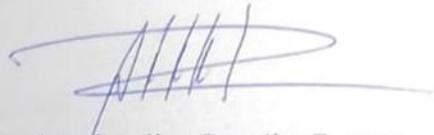
Fuentes Saez, Verónica Fernanda



Ramos López, Marcia Alelí

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, Ana Carolina González Romero, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado **“Comparación entre las técnicas Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa en la detección de *Salmonella typhi*”** presentado por Fuentes Saez, Verónica Fernanda con C.I. 150074153-1 y Ramos López Marcia Alelí con C.I. 060580284-2 egresadas de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.



Dra. Ana Carolina González Romero

Docente Tutor

DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Comparación entre las técnicas Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa en la detección de *Salmonella typhi*, presentado por Marcia Alelí Ramos López con cédula de identidad 0605802842 y Verónica Fernanda Fuentes Saez, con cédula de ciudadanía, 1500741531, certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 18/11/2022

Mgs. Yisela Ramos Campi
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE
GRADO**



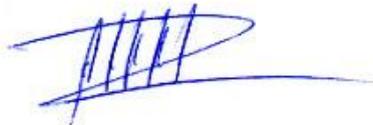
Firma

Mgs. Eliana Martínez Durán
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE
GRADO**



Firma

Dra. Ana Carolina González Romero
TUTORA



Firma



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO CID
Ext. 1133

Riobamba 09 de noviembre del 2022
Oficio N° 019-2022-2S-URKUND-CID-2022

MSc. Ximena Robalino Flores
DIRECTOR CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNACH
Presente.-

Estimado Profesor:

Luego de expresarle un cordial saludo, en atención al pedido realizado por la **Dra. Ana Carolina González Romero**, docente tutor de la carrera que dignamente usted dirige, para que en correspondencia con lo indicado por el señor Decano mediante Oficio N° 1898-D-FCS-TELETRABAJO-2020, realice validación del porcentaje de similitud de coincidencias presentes en el trabajo de investigación con fines de titulación que se detalla a continuación; tengo a bien remitir el resultado obtenido a través del empleo del programa URKUND, lo cual comunico para la continuidad al trámite correspondiente.

No	Documento número	Título del trabajo	Nombres y apellidos del estudiante	% URKUND verificado	Validación	
					Si	No
1	D- 148994895	Comparación entre las técnicas Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa en la detección de Salmonella typhi	Ramos López Marcia Alelí Fuentes Sáez Verónica Fernanda	3	x	

Atentamente,

CARLOS
GAFAS
GONZALEZ
Firmado digitalmente
por CARLOS GAFAS
GONZALEZ
Fecha: 2022.11.09
10:50:16 -05'00'

Dr. Carlos Gafas González
Delegado Programa URKUND
FCS / UNACH
C/c Dr. Gonzalo E. Bonilla Pulgar – Decano FCS

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedicamos principalmente a mi familia, quienes como guía estuvieron presentes en cada paso de nuestra vida, brindándonos su consejo y sabiduría, lo que nos ha ayudado a reunir fuerzas para continuar con el camino trazado a lo largo de nuestra formación profesional.

Verónica Fuentes – Marcia Ramos

AGRADECIMIENTO

A todos nuestros familiares y amigos que de alguna manera siempre brindaron su apoyo. A la Universidad Nacional de Chimborazo por abrir sus puertas y acogernos y llenar nuestras expectativas. A nuestra tutora de tesis por su colaboración desinteresada que brindo para la realización de este proyecto. A las personas que de una u otra manera contribuyeron con su aporte moral y científico a la culminación de este proyecto

Verónica Fuentes – Marcia Ramos

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
OBJETIVOS.....	16
General.....	16
Específicos.....	16
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	17
Fiebre tifoidea.....	17
Origen y Antecedentes.....	17
Características microbiológicas de <i>Salmonella typhi</i>	17
Epidemiología.....	18
Patología.....	18
Técnicas de diagnóstico de fiebre tifoidea: coprocultivo y reacción en cadena de la polimerasa.....	18
Diagnóstico microbiológico.....	18
Métodos basados en ácidos nucleicos.....	19
Otros métodos basados en ácidos nucleicos.....	20
Otras técnicas de diagnóstico.....	20
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	21
Tipo de Investigación.....	21
Población.....	21
Muestra.....	21
Criterios de inclusión.....	22
Criterios de exclusión.....	22
Métodos de estudio.....	22
Técnicas y procedimientos.....	22
Procesamiento estadístico.....	22
Consideraciones éticas.....	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
Conclusiones.....	42
Recomendaciones.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Comparación de técnicas de método tradicional y PCR para identificación de <i>S. typhi</i>	25
Tabla 2 Sensibilidad y especificidad del coprocultivo vs la PCR convencional para identificación de <i>S. typhi</i> según varios estudios.	30
Tabla 3 Factibilidad de las técnicas de coprocultivo y PCR para el diagnóstico de <i>S. typhi</i>	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Porcentaje de elección de técnicas (Coprocultivo y PCR) basado en literatura bibliográfica.....	54
Anexo 2 Porcentaje de valores correspondientes a sensibilidad y especificidad de coprocultivo vs PCR, obtenidos mediante revisión bibliográfica.	55
Anexo 3 Factibilidad del coprocultivo para la identificación de <i>S. typhi</i> designada por revisión bibliográfica.....	56
Anexo 4 Factibilidad de la PCR para la identificación de <i>S. typhi</i> designada por revisión bibliográfica.....	57
Anexo 5 Factibilidad del coprocultivo vs la PCR para la identificación de <i>S. typhi</i> designada por revisión bibliográfica.....	58
Anexo 6 Fracción del artículo del New York American- 20/Jun/1909, primer periódico que describió a Mary Mallon, más conocida como Mary Tifoidea.....	58
Anexo 7 Transmisión de fiebre tifoidea	59
Anexo 8 Casos de salmonelosis en los años 2014 a 2017 en España	59
Anexo 9 Esquema del protocolo a seguir para Coprocultivo de distintas bacterias, entre ellas <i>S. typhi</i>	60
Anexo 10 Colonias típicas de <i>Salmonella</i> spp. en agar S-S (<i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i>) y XTL4 (Xylose-Lysine-Tergitol 4).....	60
Anexo 11 Antibióticos empleados para el antibiograma de <i>Salmonella</i>	61
Anexo 12 Tinción Gram de <i>Salmonella typhi</i>	61
Anexo 13 Resultados de pruebas bioquímicas de identificación de especies de <i>Salmonella</i>	62
Anexo 14 Diagrama de flujo de las etapas del proceso de identificación bacteriana mediante secuenciación de ADN.....	64
Anexo 15 Diagrama de flujo del procesamiento de muestras para detección de <i>Salmonella</i> spp. mediante análisis microbiológico y molecular.....	65
Anexo 16 Formato y principio del método de enriquecimiento de ADN objetivo selectivo (STEM) para preparación de muestra en la técnica de PCR	66
Anexo 17 Comparación de sensibilidades de PCR entre las preparaciones de ADN	66

RESUMEN

Universalmente, la fiebre tifoidea es un problema de salud causado principalmente por deficiencias de saneamiento que afecta gravemente a países en vías de desarrollo. Es primordial conocer técnicas de diagnóstico adecuadas para la determinación de su agente etiológico, *Salmonella typhi*. El presente estudio tuvo como objetivo primordial validar mediante una revisión bibliográfica al coprocultivo versus la Reacción en Cadena de Polimerasa en la identificación de *S. typhi* y así reconocer la técnica óptima para brindar un diagnóstico oportuno. Esta investigación fue de enfoque cualitativo de tipo descriptivo, documental no experimental, de corte transversal y retrospectivo. Resultando una población de estudio de 150 documentos científicos que aborden la temática; los mismos que están ubicados en bases de datos científicas como PubMed, Scielo, Redalyc, Elseiver, etc., y han sido publicadas en una vigencia de 10 años, obteniendo una muestra de 79 publicaciones relacionadas con el tema a tratar. En la bibliografía consultada un 67% de los autores prefieren y recomiendan la Reacción en Cadena de Polimerasa, a diferencia del 33% correspondiente al coprocultivo. Ambas técnicas presentan características que las hacen factibles en un 70% (coprocultivo) y 74% (Reacción en Cadena de Polimerasa). Concluyendo que ambas técnicas son factibles bajo la implementación de un adecuado protocolo, equipamiento y área de trabajo permitiendo una adecuada especificidad y sensibilidad, y brindando una provechosa, idónea y acertada identificación de *S. typhi*.

Palabras claves: Fiebre tifoidea, fiebre entérica, PCR, coprocultivo, *Salmonella typhi*.

ABSTRACT

Typhoid fever is a worldwide health issue that is primarily brought on by inadequate sanitation and has a serious impact on developing countries. It is essential to know adequate diagnostic techniques for the determination of its etiological agent, *Salmonella typhi*. This study aims to validate through a literature review the stool culture versus the Polymerase Chain Reaction in the identification of *S. typhi* and thus recognize the optimal technique to provide a timely diagnosis. This was a qualitative, descriptive, non-experimental documentary, cross-sectional and retrospective research. The final outcome was a research population of 150 scientific documents covering the topic that was published during a ten-year period in databases including PubMed, Scielo, Redalyc, Elsevier, etc. This resulted in a sample of 79 publications covering the topic under study. In the bibliography consulted, 67% of the authors prefer and recommend the Polymerase Chain Reaction, as opposed to the 33% corresponding to the stool culture. Both techniques present characteristics that make them feasible in 70% (stool culture) and 74% (Polymerase Chain Reaction). As a result, both methods can be used to successfully identify *S. typhi* when the proper methodology, tools, and working conditions are used. These conditions should also allow for a sufficient level of specificity and sensitivity.

Key words: Typhoid fever, enteric fever, PCR, stool culture, *Salmonella typhi*.

Reviewed by:



Lic. Mishell Salao Espinoza

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0650151566

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La etiología de las enteritis depende según el área geográfica, en la población general en Europa y América se encuentra entre los principales agentes causales a *Salmonella* spp. La salmonelosis es provocada por bacterias del género *Salmonella*, que causan fiebre tifoidea y paratifoidea o infecciones no tifoideas, producidas por diversos serotipos de *Salmonella* que presentan un cuadro clínico y su epidemiología diferente¹.

Solía referirse a la fiebre tifoidea como “*muerte por fiebre*” y se deriva del latín *typhos* u “*oscurecimiento de los sentidos o mente turbia*” *S. typhi* al pertenecer a la familia Enterobacteriaceae y ser bacterias intracelulares facultativas, precisamente un bacilo Gram negativo, móvil, anaerobio, con temperatura óptima de crecimiento de 37°C; tienen la capacidad de fermentar glucosa, pero no la lactosa^{1,2}.

Al año 2000, a nivel mundial, la fiebre tifoidea causó alrededor de 21,7 millones de casos con 217 000 muertes, en el caso de la fiebre paratifoidea se estimaron 5,4 millones de afectados. Esta patología es más frecuente en Asia y África, aunque también tiene una prevalencia en Centro y Suramérica, debido al déficit de agua potable e higiene inadecuada, también se debe tomar en cuenta que la fiebre tifoidea endémica suele ser estacional^{3,4}.

En Chile, Ecuador y Perú, la fiebre tifoidea era altamente endémica entre la década de los 60 y 80. A inicios de la década de los 90, la carga de las fiebres tifoideas disminuyó marcadamente en América Latina, pero focos endémicos aún persisten en América Central, el Caribe y algunas regiones de América del Sur. Cuando las fiebres tifoideas eran altamente endémicas en América del Sur, *S. paratyphi* fue causante de un tercio de los casos^{4,5}.

Chile se mantiene con una endemia baja para esta enfermedad, con una incidencia en el año 2015 de 0,4 casos por 100 000 habitantes. En Ecuador, a pesar de que su incidencia había disminuido en los últimos años, han existido brotes inesperados en la zona de planificación 8 del país, abordando Guayaquil, Duran y Samborondón, que en el año 2010 se presentaron 452 personas infectadas y en 2011 un número de 163 individuos con tifoidea^{4,5,6}.

Cifras demostradas por la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica Ecuatoria en el año 2017, reportaron un número de 1 659 casos con fiebre tifoidea y paratifoidea; en 2019 hubo 1106 de personas infectadas; en 2020 y 2021 se aprecia una disminución con 766 y 267 casos de individuos con esta patología. En el último año se visualizó que la provincia de Esmeraldas presentaba gran número de casos, además, el rango de edad que presentaba la mayoría de infectados era entre 20 y 49 años a nivel nacional^{7,8}.

El diagnóstico de fiebre tifoidea es complejo debido a su prolongada evolución y la falta de signos locales, lo que resulta que su diagnóstico por clínica puede ser sospechado, pero nunca garantizado. A lo largo del tiempo, la reacción de Widal era útil para su diagnóstico y manejo; actualmente, se usa solo en países en vías de desarrollo, por ser una prueba rápida y barata, sin embargo, posee una baja sensibilidad y especificidad. Los métodos de diagnóstico primario de *S. typhi* solo pueden efectuarse mediante hemocultivo y coprocultivo, aislando al microorganismo, o detectando su ácido desoxirribonucleico (ADN) mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR)^{2,9}.

En el presente proyecto se describe una introducción, planteamiento del problema, además del objetivo general y específicos del presente proyecto. Encontramos el marco metodológico que plasma conceptos básicos, antecedentes y actualizaciones acerca de la fiebre tifoidea, su agente etiológico, diagnóstico en el laboratorio clínico, tratamiento y prevención; permitiendo un mayor entendimiento del tema. En cuanto a la metodología utilizada, se especifica el tipo de investigación, población y muestra analizada, además de las variables de estudio, entre otros aspectos. Hallamos el desarrollo del proyecto en el que se analiza la información obtenida en la revisión bibliográfica.

Finalmente, en las conclusiones se da respuesta al problema mediante la resolución de los objetivos planteados en el proyecto de investigación. Adicionalmente, hallamos la bibliografía utilizada para la recopilación de información, como también los anexos, que obtienen información importante que no pudo incluirse en el desarrollo del proyecto de investigación.

La fiebre tifoidea aún es un importante problema de salud a nivel mundial, y su infección ocurre con más frecuencia en poblaciones que tienen deficiencias de saneamiento y falta de acceso a agua potable. Por ende, estas infecciones son endémicas en muchos países en vías de desarrollo, pero de transmisión infrecuente en países industrializados. Las formas clínicas son variadas, ya que la amenaza de la infección depende de distintos factores como la dosis infectiva inicial, virulencia e inmunidad del huésped^{4,10,11,12}.

Sin tratamiento, la fiebre tifoidea presenta una tasa de mortalidad cercana al 10 o 15% y se reduce a uno o dos por ciento con tratamiento antibiótico adecuado y oportuno. Algunas revisiones informan que en niños menores de cuatro años la letalidad es 10 veces más alta que en los niños mayores. Se debe tomar en cuenta que una sospecha clínica oportuna y la implementación de un tratamiento eficaz ayuda a disminuir la presencia de cepas multirresistentes y de cepas con susceptibilidad reducida a las fluoroquinolonas, temas de gran importancia debido a la creciente resistencia a antibióticos^{13,14,15,16}.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce esta enfermedad como un importante problema de salud pública y recomienda la inmunización con la vacuna polisacárido Vi en zonas de alto riesgo. Algunos estudios reconocen la importancia de mantener una vigilancia adecuada de esta patología, determinando así su distribución geográfica y la población más afectada para llevar a cabo estrategias de vacunación selectiva^{15,16}.

En Ecuador se describe a la fiebre tifoidea en el Manual de procedimientos del subsistema alerta acción SIVE- ALERTA del Ministerio de Salud en 2014, donde se describe a la patología, se da una definición de caso (confirmado o confirmado por nexo epidemiológico), también se menciona el proceso de investigación y las medidas de control correspondientes. También se mencionan las vacunas que deben proporcionarse para la prevención de la fiebre tifoidea en el Manual de Vacunas para enfermedades inmunoprevenibles de 2019 del Ministerio de Salud Pública de Ecuador^{17,18}.

Formulación del problema: ¿Cuáles son las ventajas y desventajas del uso de la técnica de Coprocultivo versus PCR para identificación de *Salmonella typhi*?

OBJETIVOS

- **General**

Validar mediante la revisión bibliográfica de distintos estudios, los resultados obtenidos empleando la técnica de coprocultivo vs la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, y dar a conocer cuál sería la más apropiada para llegar a un diagnóstico en corto tiempo.

- **Específicos**

- Comparar las técnicas de Coprocultivo y Reacción en Cadena de la Polimerasa para identificación de *S. typhi*; mediante revisión bibliográfica.

- Determinar la sensibilidad y especificidad de la PCR convencional vs el coprocultivo, a través de revisión bibliográfica para la demostración de su funcionalidad.

- Demostrar la factibilidad de las técnicas de coprocultivo y PCR para el diagnóstico de *S. typhi* mediante revisión bibliográfica

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

FIEBRE TIFOIDEA

Origen y Antecedentes

El género *Salmonella* fue descrito a principios del siglo XX por Theobald Smith. Las salmonellas son bacterias entéricas, que se alojan en el intestino, de taxonomía compleja. El género *Salmonella* es una especie, que ha sido denominada *Salmonella entérica*. Formada por siete subespecies, dependiendo de su capacidad para realizar diferentes reacciones bioquímicas^{1,2}.

Cada subespecie, está subdividida en serotipos, de acuerdo con el tipo de antígeno H (flagelar) u O (somático). El antígeno H está conformado por la proteína más abundante del flagelo, que es la estructura que permite el movimiento. El antígeno O está conformado por una cadena repetida de polisacáridos, que forma parte del lipopolisacárido, que se genera y sobresale de la membrana externa que actúa como barrera de protección a agentes externos^{1,2,19}.

La gravedad de la infección por *S. typhi* depende de factores como virulencia de la cepa, magnitud del inóculo ingerido, lapso transcurrido hasta recibir tratamiento adecuado, edad y antecedentes de vacunación. El ser humano es el único reservorio de *S. typhi*. La fiebre tifoidea se transmite por ingestión de alimentos y de agua contaminada con heces u orina de enfermos o portadores por lo que el riesgo de transmisión aumenta en poblaciones sin acceso a agua potable y adecuado saneamiento básico. Los niños son los más afectados por fiebre tifoidea y la mayor incidencia se observa en menores de 15 años^{18,20,21}.

Características microbiológicas de *Salmonella typhi*

El género *Salmonella* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, no esporulado, anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos. Utilizan citrato como fuente de carbono y poseen metabolismo de tipo oxidativo y fermentativo. La mayor parte de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura de 5-47°C, óptima de 35-37°C; algunos pueden crecer a 2 o 4°C y hasta 54°C^{22,23}.

El pH de crecimiento oscila entre 4-9, óptimo entre 6.5 y 7.5. Se desarrollan bien a una actividad de agua de 0.99 a 0.94, pueden llegar a sobrevivir en alimentos secos con una actividad del agua de < 0.2. Su crecimiento se inhibe cuando están a temperaturas inferiores a 7°C, pH < 3.8 y una actividad del agua < 0.94. Se caracterizan por ser de amplia distribución, altamente patógenos y de difícil aislamiento, con más de 2 500 serotipos identificados^{22,23}.

Epidemiología

Salmonella es una bacteria presente en todo el mundo que va afectando a los países en vías de desarrollados y poco frecuente en los países desarrollados. Generalmente se transmite por la escasa aplicación de asepsia en la manipulación de alimentos. Existen cerca de 2.500 serotipos hasta el día de hoy, cada variación de estos serotipos es diferentes en cada país, y presentándose con mayor impacto negativo en los lugares donde las condiciones y calidad de vida está marcada por la pobreza e insalubridad²⁴.

Patología

Estas bacterias pueden dar lugar a diferentes cuadros clínicos como enterocolitis por *Salmonella*, la bien conocida fiebre tifoidea, pasando por bacteriemias y cuadros de infección localizada. También puede acantonarse en la vía biliar una vez pasado el cuadro agudo y eliminarse por heces de manera regular, dando lugar al estado de portador sano, que constituyen un factor importante en la epidemiología de la enfermedad, ya que estos no manifiestan síntomas de enfermedad, pero son capaces de transmitirlo^{2,19}.

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DE FIEBRE TIFOIDEA: COPROCULTIVO Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Diagnóstico microbiológico

Existen diferentes métodos para identificar *Salmonella* spp., pero las más empleadas son las técnicas microbiológicas. Dichas técnicas están basadas en el empleo de medios de cultivo selectivos y posterior caracterización de colonias mediante pruebas bioquímicas para aislamiento de la bacteria a partir de tejidos y materia fecal. El método estándar en clínica es el coprocultivo el cual es simple, rápido y económico. Para el aislamiento e identificación de *S. typhi* se sigue un protocolo conformado de las siguientes etapas^{2,19,24}.

- **Etapas de Pre-enriquecimiento:** se requiere de un medio de cultivo nutritivo no selectivo, para el enriquecimiento de la muestra que permite restaurar las células de *Salmonella* spp. Tiene como objetivo lograr una condición fisiológica estable, además de normalizar metabólicamente las células para su desarrollo. Ejemplos: agar sangre.
- **Etapas de Enriquecimiento selectivo:** permite beneficiar e incitar el crecimiento de *Salmonella* a partir de un medio de cultivo. Como propósito debe incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros microorganismos presentes en la muestra. Ejemplo: caldo tetrionato y caldo selenito cistina.
- **Etapas de Aislamiento en medios selectivos:** se diferencian las distintas colonias de *Salmonella*. Se toma en cuenta el crecimiento de las colonias de la *Salmonella* con aspectos característicos para diferenciarlos y aislarlos en medios de cultivo. Ejemplo: agar bismuto sulfito, agar entérico Henktoen (HE).
- **Pruebas bioquímicas diferenciales:** como su nombre lo indica se diferencia las especies de *Salmonella* por su actividad metabólica. Se debe utilizar tres medios diferenciales de cultivo. Ejemplo: agar hierro tres azúcares (TSI) (Britania), agar lisina hierro (LIA) (Britania), urea (Britania), FenilalaninaDesaminasa (FAD) (Britania), Ortonitrofenilgalactopiranosido (O.N.P.G.).

- **Identificación de mecanismos de resistencia *Salmonella* spp.:** producción de enzimas que inactivan antibióticos, siendo las betalactamasas las más importantes; modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana, generalmente se da por medio de mutaciones; y la expulsión de antibióticos como tetraciclina y cloramfenicol mediante bombas de flujo.

Métodos basados en ácidos nucleicos

Dichos métodos están basados en técnicas moleculares y son aplicables para el diagnóstico de fiebre tifoidea. Entre ellas, encontramos a la PCR siendo esta la más utilizada, debido a sus favorecedoras características. Ya que es una técnica simple, reproducible, rápida y flexible. Adicional a ello, se implementado una extensión de variantes de dicha técnica, tales como la PCR en Tiempo Real²⁵.

Para la identificación de *S. typhi* por PCR se puede recurrir al uso de varios genes diana, como los genes somáticos del antígeno O (tyv y prt), el gen flagelar del antígeno H (FLIc-d) y el gen antígeno capsular Vi (viaB). Sin embargo, estos genes no pueden ser los únicos marcadores de diagnóstico específica de *S. typhi*, ya que no son específicos de esta bacteria también se encuentran en otros serotipos de *Salmonella*. Por lo tanto, estos marcadores proporcionan un diagnóstico provisional más que diferencial de la fiebre tifoidea^{28,29}.

Para la realización de esta técnica de diagnóstico se requiere del seguimiento de los siguientes pasos^{26,27}:

1. Elección de cepas bacterias, su adecuado cultivo y pruebas de confirmación mediante métodos tradicionales de cultivo, batería bioquímica y serotificación.
2. Identificación de genes específicos de *S. typhi* mediante el uso de bioinformática, para el posterior diseño de cebadores de oligonucleótidos con codones de inicio y finalización para amplificación por PCR.
3. Extracción de ADN genómico de cepas bacterias y muestras biológicas, y su posterior determinación de concentración de ADN.
4. Protocolización de PCR en un termociclador, como ejemplo tenemos a las siguientes condiciones: un pre-ciclo a 94°C por 3 min, 35 ciclos a 94°C por 1 min c/u, 1 ciclo a 55°C por 1 min, 1 ciclo a 72°C por 1 min y una elongación final a 72°C por 10 min.
5. Los productos de amplificación por PCR o amplicones deben analizarse por electroforesis en gel 2% teñidos con bromuro de etidio y posteriormente visualizados con un trasluminador de luz UV
6. Fotodocumentación de los resultados

Otros métodos basados en ácidos nucleicos

Como se ha mencionado anteriormente, la más representativa entre estos métodos es la técnica de PCR; pero podemos encontrar una gran variedad como la pirosecuenciación, técnicas de hibridación y microensayos, y a la amplificación basada en la secuencia del ácido nucleico (NASBA)²⁵.

Otras técnicas de diagnóstico

Métodos serológicos: la unión de anticuerpos con su antígeno particular, la velocidad y la simplicidad de su interacción, han desarrollado una gran variedad de ensayos con utilización de anticuerpos y formatos basados en inmunquímica. Los resultados obtenidos siempre son considerados como presuntos positivos y se hace necesario la confirmación por métodos tradicionales. Entre las técnicas más representativas tenemos a la prueba ELISA, Ensayo de Flujo Lateral, inmunoseparación magnética (ISM) (LFAs)^{16,25}.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

Tipo de Investigación

- **Según el nivel:** de tipo descriptivo pues se extrajo información de bases de datos y revistas científicas se buscó relatar las técnicas microbiológicas para el aislamiento de *S. typhi* y por ende el diagnóstico de fiebre tifoidea.
- **Según el enfoque:** cualitativo porque se tuvo como propósitos describir y analizar técnicas microbiológicas para el aislamiento de *S. typhi* mediante la recopilación de información obtenida en bases de datos científicas.
- **Según la secuencia temporal:** de tipo transversal pues el proyecto de investigación se realizó en un periodo determinado para su desarrollo.
- **Según la cronología de los hechos:** es retrospectiva ya que el inicio del proyecto se inició después de los hechos estudiados, en los que se recopiló información acerca de las principales técnicas microbiológicas para identificación de *S. typhi*.
- **Según el diseño:** documental/bibliográfico no experimental ya que se compiló y se seleccionó información a través del análisis de artículos científicos, libros, revistas científicas, todo ello encontrado en bases de datos virtuales actualizadas en los últimos 10 años. Es decir, no hubo manipulación intencional de las variables.

Población

Para este proyecto la población que se utilizó fueron fuentes primarias y secundarias que está representada por 150 documentos científicos en los que se aborda la temática Comparación entre las técnicas Coprocultivo y PCR en la detección de *S. typhi*, trabajos divulgados en revistas científicas en los últimos 10 años e indexadas en las bases de datos PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar, repositorios de universidades, Springer, Scielo, Science Direct, Medigraphic, Lilacs, Redalyc, Latindex, Embase, Britannica Academic, Redalyc, ProQuest.

Muestra

En la presente investigación, para la selección de la muestra se siguió un muestreo no probabilístico basado en diferentes fuentes bibliográficas con una vigencia entre 5 y 10 años de ser publicadas y disponibles en la base de datos seleccionadas de información mediante el cual se escogieron 79 publicaciones que están relacionadas con la comparación entre las técnicas Coprocultivo y PCR en la detección de *S. typhi*.

Criterios de inclusión

- Documentos, artículos científicos, revisiones bibliográficas, entre otros estudios relacionados que hayan sido publicados en los últimos 10 años, es decir desde el año 2012 al 2022
- Artículos con el respectivo abordaje metodológico que contengan resumen, introducción, datos estadísticos, definiciones, causas, consecuencias que se generan frente a la comparación entre las técnicas Coprocultivo y PCR en la detección de *S. typhi*,
- Artículos científicos indexados de las bases de datos a la par con los organismos especializados en salud a nivel nacional, regional e internacional encontrados en las plataformas online.

Criterios de exclusión

- Todas aquellas publicaciones que no estaban relacionadas con la temática desarrollada.
- Artículos que no disponían de texto completo.
- Publicaciones de más de 10 años requeridos para la investigación, es decir publicadas antes de 2012.

Métodos de estudio

Métodos teóricos: se utilizó este método para la investigación de revisión bibliográfica aplicando un análisis y síntesis en documentos y artículo científicos, acorde al tema.

Técnicas y procedimientos

Técnica: observación

Procedimiento: se revisaron todas las bases de datos bibliográficos reconocidas internacionalmente, para la recolección de información descriptivamente.

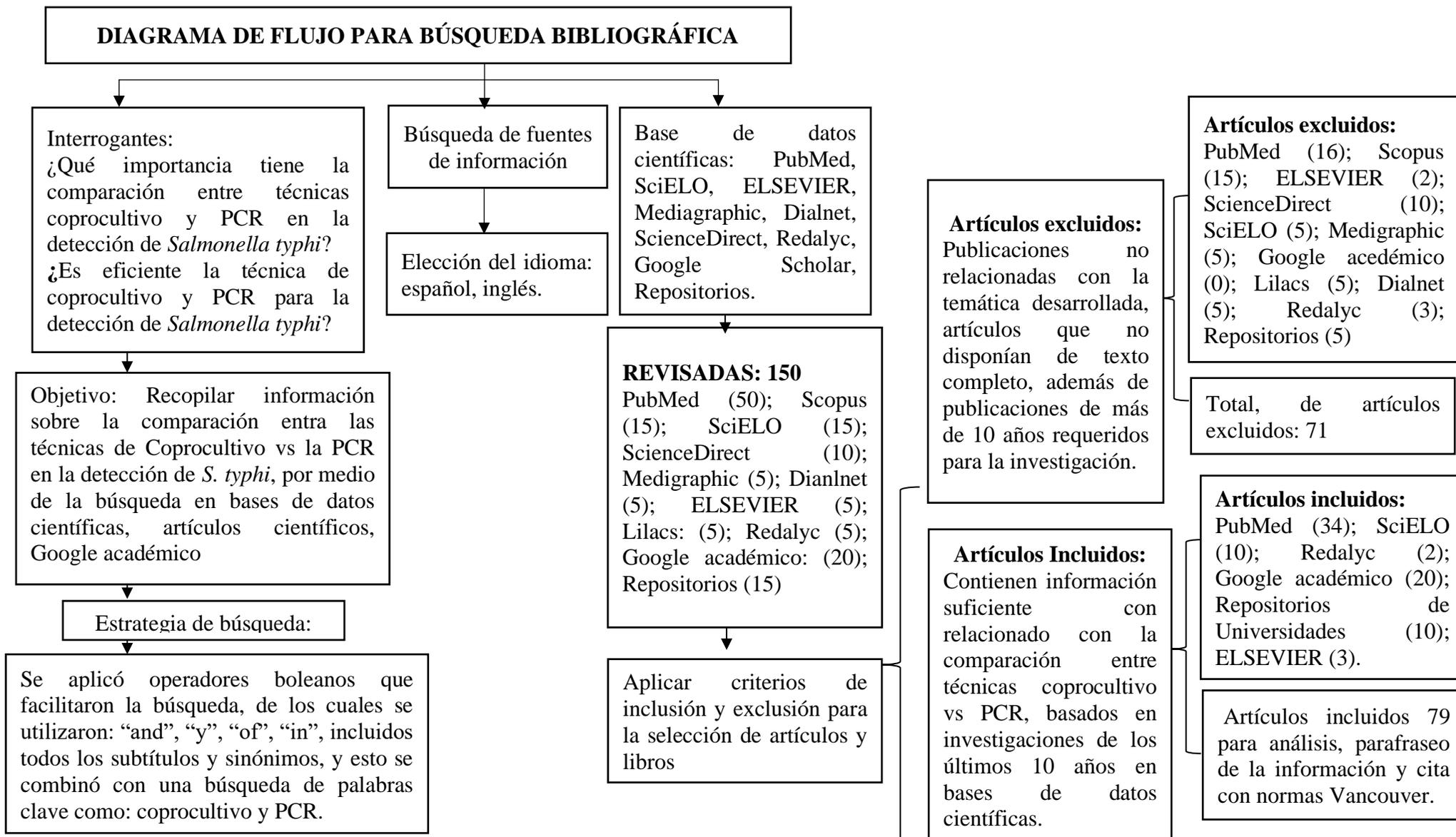
Procesamiento estadístico

Este proyecto es de carácter cualitativo - descriptivo para la recopilación de datos ya que es una investigación de revisión bibliográfica, en el cual se recopiló la información mediante un análisis de contenido seleccionado de cada fuente y autor que esté relacionado con el tema para la interpretación de resultados y acumular evidencias mediante el uso de triangulación y revisión bibliográficas.

Consideraciones éticas

El presente proyecto de investigación de tipo documental-bibliográfico se desarrolló de acuerdo con una ordenada selección, análisis y verificación de los documentos que cumplan con todos los parámetros bioéticos nacionales e internacionales, por lo cual no requirió de un comité bioético porque no infringe la integridad física de una persona. La revisión de los trabajos es propiedad privada de los autores por lo que se respeta sus derechos señalando correctamente las citas bibliográficas en normativa Vancouver.

Diagrama de flujo para la búsqueda bibliográfica y selección de la información



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1 Comparación de técnicas de método tradicional y PCR para identificación de *S. typhi*.

AUTOR	TÍTULO/AÑO DE PUBLICACIÓN	RESULTADOS
Espinoza et. al.	"Comparación del coprocultivo vs la técnica de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) convencional para la detección de <i>Salmonella typhi</i> en muestras fecales"/2013	<p>Coprocultivo: más utilizado, no complejo y tradicional, pero se debe trabajar con sumo cuidado porque puede contaminarse fácilmente. Cumple con la fase de preenriquecimiento en medio no selectivo; enriquecimiento y selectivo; inoculación en medios diferenciales; y análisis bioquímico.</p> <p>Menor costo. Los resultados tardan más.</p> <p>El uso de c-PCR mayor rapidez, eficiencia con alto grado de sensibilidad en sus resultados.</p> <p>Fase de extracción de ADN bacteriano en heces (Kit E.Z.N.A. Stool DNA kit); preparación de Master Mix; amplificación en termociclador (activación de la taq, desnaturación, hibridación, extensión, extensión final); y electroforesis en gel de agarosa.</p> <p>Mayor costo. Los resultados están de 3 a 5 días.</p>
Herrera et. al.	"Determinación de enterobacterias mediante coprocultivo y su relación con gastroenteritis no parasitaria en pacientes adultos que residen en el cantón Pujilí – Cotopaxi"/2016	<p>Coprocultivo: requiere una muestra de calidad obtenida bajo criterios de inclusión y exclusión. Se realiza un examen macroscópico, microscópico y parasitológico de la muestra. Tiene fase de cultivo en agar selectivo y diferencial; diferenciación de colonias sospechosas; y antibiograma. Resultados demorosos, pero es lo más utilizado.</p> <p>PCR es una técnica de alto impacto donde la muestra es segura, puede ser sangre, heces o algún líquido; para poder extraer de ADN para dicho análisis, es costoso, pero en la entrega de resultados es óptimo e inmediato.</p>

Khan et. al.	<p>“ Enhanced detection rate of typhoid fever among clinically suspected patients in a tertiary referral hospital in Dhaka, Bangladesh using nested polymerase chain reaction technology”/2015</p>	<p>Coprocultivo es un método de cultivo microbiológico tradicional, que a veces se dificulta por el bajo número de células, esta técnica tiene varias desventajas entre ellas el tardar entre 4-5 días para confirmar los resultados y, además requerir de muchos medios de cultivo.</p> <p>La técnica de n-PCR dirigida al gen <i>fliC</i> podría utilizarse como un nuevo método de diagnóstico de la fiebre tifoidea, especialmente en casos negativos para hemocultivos como el estudio realizado en Bangladesh, país endémico de fiebre tifoidea. Para fines del estudio antes de la n-PCR se realiza un hemocultivo por método convencional para control de las muestras de sangre</p> <p>Existe una fase de extracción de ADN de la sangre recolectada con EDTA y de las colonias sospechosas obtenidas del cultivo; realización de primers; aplicación del termociclador; y detección del producto mediante electroforesis en gel de agarosa.</p>
Tennant et al.	<p>“ Detection of Typhoidal and Paratyphoidal Salmonella in Blood by Real-time Polymerase Chain Reaction”/2015</p>	<p>Coprocultivo es una técnica que requiere un análisis microscópico y macroscópico, continuando con la siembra en diferentes medios de cultivo para aislar el agente etiológico. Obteniendo resultados en un mayor tiempo.</p> <p>La q-PCR dirigida para el gen <i>clyA</i> para detección simultánea de <i>S. typhi</i> y <i>S. paratyphi</i> A en sangre brinda sensibilidad mejorada y tiempo de detección más rápida.</p> <p>Cumple con la fase de extracción de ADN de muestras de sangre (Kit QIAamp Blood DNA mini-Qiagen); preparación de primers; aplicación de termociclador.</p> <p>La qPCR fue significativamente más rápida con una media de \pm de 2 horas 34 minutos \pm 15 minutos, que el hemocultivo (media \pm de 37 horas 40 minutos \pm 17 horas) en cuanto a la detección de fiebre tifoidea y paratifoidea.</p> <p>PCR aporta, de manera significativa, en la obtención de resultados confiables en el laboratorio.</p>
<p>c-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa convencional; ADN: ácido desoxirribonucleico; m-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa múltiple; n-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa anidada; q-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real</p>		

Análisis e interpretación

En la Tabla 1 se encuentran métodos como coprocultivo, que es tradicional y es caracterizado por ser una técnica clásica y no compleja. Realizada mediante diferentes fases compuestas por una apta recolección de la muestra; su respectivo análisis macro y microscópico; una fase de preenriquecimiento; enriquecimiento en medios selectivos; cultivo en medios diferenciales; identificación de colonias sospechosas por coloración Gram y batería bioquímica; y finalmente la aplicación de antibiograma.

La PCR y sus distintos tipos como PCR múltiplex (m-PCR), PCR anidada (n-PCR) y PCR en tiempo real (q-PCR), analizan en su mayoría muestras de sangre. Cumplen con fases de extracción de ADN bacteriano de sangre, heces o colonias sospechosas de *S. typhi*; la elaboración de primers; la aplicación de un termociclador; la electroforesis en gel de agarosa y finalmente la identificación de *S. typhi*. Dichas técnicas ofrecen resultados en menor tiempo, por ejemplo, la q-PCR brinda un resultado en \pm de 2 horas 34 minutos (\pm 15 minutos), frente al cultivo con una media \pm de 37 horas 40 minutos (\pm 17 horas).

Discusión

A través de la búsqueda bibliográfica de información relevante se comparó las técnicas de Coprocultivo y PCR (m-PCR, n-PCR y q-PCR) para la identificación de *S. typhi*. Para el diagnóstico de dicha enterobacteria varios autores concuerdan llevar a cabo el coprocultivo, abordando un 33% del total de estudios analizados. Por el contrario, un 67% refieren que la técnica de PCR cumple un papel fundamental para el diagnóstico de una serie de enfermedades, suplantando a varios métodos microbiológicos convencionales, así que sería una buena opción para la identificación *S. typhi*. Porcentaje que pueden observarse en el Anexo 1.

Gallegos F.³¹, al igual Herrera et. al²⁸ concuerdan que adicional al cultivo de heces se requiere su debido análisis mediante un examen coprológico (macro y microscópico) y coproparasitario; esto antes de dos horas de la recolección de la muestra, o por el contrario refrigerar a 4°C. Esto con el fin de descartar microorganismos patógenos de enfermedades gastrointestinales como las levaduras, parásitos, bacterias^{27,28,31}.

En lo referente al examen microbiológico o coprocultivo se recalca el inocular la muestra en medio de enriquecimiento como el caldo selenito, caldo peptonado Bufferado; una vez obtenido las colonias se debe proseguir con medios de cultivo selectivos o de diferenciación, como agar MacConkey, caldo de tetrionato (fundamental para portadores asintomáticos, pues suelen eliminar una baja concentración bacteriana en heces), agar Salmonella-Shigella o agar Hektoen, respectivamente. La inoculación en dichos medios permitirá la multiplicación de bacterias gracias a su contenido de nutrientes, además de inhibir la flora fecal competitiva^{27,28,31,32}.

Una vez realizada la inoculación se procede con la identificación de colonias sospechosas mediante coloración Gram y la aplicación de una batería bioquímica, la cual está compuesta por SIM (movilidad, ácido sulfúrico e indol), urea, citrato de Simons, rojo metilo, lisina, TSI. Adicional se realiza el antibiograma mediante el método de difusión del disco Bauer y Kirby en agar Muller Hilton, tal como describen Espinoza et. al.²⁷, Herrera et. al.²⁸ y Gallegos F.³¹.

Díaz et al.³² concuerda con los autores mencionados en referirse al coprocultivo como un método convencional de detección de *S. typhi* y lo describe como el análisis microbiológico a través de un enriquecimiento no selectivo, enriquecimiento selectivo, aislamiento en agar diferencial y confirmación mediante pruebas bioquímicas y serotipificación (ISO, 2002; FDA, 2007), procedimientos que pueden tomar hasta una semana para resultados^{31,32}.

Luigi et al.³³ refiere que la PCR es una técnica sensible de amplificación in vitro de segmentos de ADN que permite detectar genes específicos de grupos taxonómicos y genes implicados al género *Salmonella*, ya que, a pesar de las variadas medidas de salud pública desarrolladas en el siglo pasado, *Salmonella* sigue siendo el causante de una toxiinfección alimentaria por zoonosis más importante a nivel mundial. En su estudio sigue la metodología de PCR convencional descrita por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1291; para la preparación y enriquecimiento de las cepas a analizar³³.

Díaz et al.³² refiere que la técnica PCR ha ganado un lugar fundamental no solo para el diagnóstico de *S. typhi* sino para el diagnóstico de una amplia gama de enfermedades es así que se suplantán los métodos microbiológicos convencionales, basándose en que la PCR convencional es mucho más rápida y sus resultados tienen menor probabilidad de contaminación, así como Monroy et al.³⁴ refiere que la PCR al ser una técnica con un elevado costo es una de las técnicas más comunes en países desarrollados obteniendo resultados positivos y en menor tiempo^{34,35,3,37}.

Monroy et al.³⁴ menciona que la PCR es un método de copiado de ADN, utilizada por ser altamente sensible y específica en la detección de una gran variedad de microorganismos. Refiere también que, se le ha aplicado para identificación de varias especies microbiológicas sin previo aislamiento, incluyendo a *Salmonella*, a partir de muestras clínicas y de alimentos³⁴.

Ortuño³⁵ propone que la qPCR es una evolución de la PCR en la cual se suprime el paso de evaluación mediante electroforesis en gel. Se combina en un solo paso la amplificación de secuencias específicas de ADN del microorganismo tal como se hace en una PCR convencional con la utilización de un fluoróforo con afinidad por el ADN o sondas marcadas con fluorescencia, que permiten cuantificar las copias de ADN realizadas y de esta manera el número de células originales. Una de las ventajas más grandes que tiene esta variación de la PCR es la realización en condiciones libres de contaminación y poco o nada manipulación del operario en el caso de ser automatizado el ensayo^{38,39,40,41,42,43,44,45,46,47}.

Khanam et al.⁴⁸ al realizar la investigación para la detección de fiebre tifoidea, la PCR se puede utilizar como una prueba de diagnóstico rápido para diagnosticar la fiebre tifoidea, teniendo en cuenta el requisito de tiempo, la PCR tarda un día, mientras que el hemocultivo tarda 3 o más días en confirmar el diagnóstico. Tennant et al.³⁰ mediante una extracción de ADN y un método basado en qPCR pudo detectar de manera confiable 1UFC de *S. Typhi* por mililitro de sangre, diagnosticando fiebre tifoidea con una sensibilidad mejorada. Ngan et al.³⁷ propone a la PCR multiplex como una herramienta de diagnóstico útil para la detección y diferenciación de los serovares Typhi y Paratyphi A^{30,36,37}.

Con dichos resultados se obtiene que existen diferentes métodos para identificar *S. typhi*, entre ellos están la técnica de coprocultivo nombrada como una técnica tradicional y simple de realizar; además tenemos al análisis por PCR utilizado para la identificación de muchas especies, ya que ha demostrado ser más rápida y confiable porque incrementa la sensibilidad con respecto a la prueba tradicional, permite un diagnóstico oportuno²⁷.

Tabla 2 Sensibilidad y especificidad del coprocultivo vs la PCR convencional para identificación de *S. typhi* según varios estudios.

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD EN COPROCULTIVO Y PCR PARA DIAGNÓSTICO DE <i>S. TYPHI</i>								
COPROCULTIVO								
Grupo de edad estudiado	# casos estudiados	Fase de enriquecimiento	Medio de cultivo inoculados/ Temperatura y tiempo de incubación		Identificación de colonias sospechosas de <i>S. typhi</i> /Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana	S	E	Ref
ND	372 muestras de pacientes febriles	Caldo selenito F (Oxoid, Reino Unido) y se incubó durante 24 horas a 37 °C	Subcultivo en XLD (Oxoid, Reino Unido) y agar MacConkey (Oxoid)	37 °C. durante 24 h	Crecimiento detectado por apariencia en agar XLD (colonias rojas con un centro negro) y en agar MacConkey (colonias pálidas). Pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos en agar Mueller-Hinton (Oxoid, Reino Unido), por método difusión de disco de Kirby-Bauer	80%	44,5%	38
5 a 82 años	158 con sospecha de fiebre tifoidea	ND	MacConkey y XLD	37 °C durante 48 h	Tinción Gram, batería bioquímica (Kligler Iron Agar (Difco™), prueba de ureasa (Himedia ltd. India), indol, citrato de oxidasa, motilidad)	31,3%	91,5%	39

Mayores a 1 año	112 pacientes febriles	ND	Inoculación en Salmonella-Shigella ⁴⁴	37°C por 18 a 24 horas.	Tinción Gram, batería bioquímica (Kligler Iron Agar, prueba de ureasa, indol, citrato de oxidasa, motilidad)	100%	100%	40
ND	144 (25 muestras inoculadas artificialmente con <i>S. Typhi</i>)	Inoculación en medio Muller Kauffman	Subcultivo en agar Hectoenk y tetracionato	37°C por 18 a 24 horas.	ND	81, 25%	73,58%	27
PCR								
Grupo de edad	# de casos estudiados	Tipo de muestra biológica utilizada	Tipo de PCR	Cepa, genes objetivo o Cebadores utilizados		S	E	Ref
ND	13	Sangre total	C-PCR	Gen tyv; gen flag , gen viaB y gen ratA		100%	100%	41
ND	41(23 pos y 18 neg)	Hemocultivo de Sangre Total heparinizada	C-PCR	Cebadores H-for y Hd-rev dirigidos al gen de la flagelina (fliC-d)		100%	100%	42

ND	60	Sangre (30 de pacientes con hemocultivo positivo para <i>Salmonella</i> spp. y 30 con sospecha clínica salmonelosis, pero hemocultivo negativo)	C-PCR	Gen fliC-d (cebadores ST3 (5'-ACTGCTAAAACCACTACT -3') y ST4 (5'-TGGAGACTTCGGTTGCGTAG- 3')) y gen iroB (cebadores que incluyen oligonucleótidos (5'-TGCGTATTCTGTTTGTCCGGTCC-3') y (5'TACGTTCCCACCATTCTTCCC-3'))	95,6% (fliC) 96,6% (iroB)	93,3% (para ambos genes)	43
OTRO TIPO DE PCR							
3 a 45 años	80 (60 sospechosos de FT, 20 afebriles)	Sangre (3-5mL), orina centrifugada (15 mL) y heces (3g)	N-PCR	Cebadores ST1 y ST2 (1° ronda) y oligonucleótidos ST3 y ST3 (N-PCR) dirigidos al gen de la flagelina (fliC-d)	90,9% (Sangre) 95,5 (orina) 68,1 (heces)	100% (Sangre) 100% (orina) 85 % (heces)	44
<p><i>S: sensibilidad; E: especificidad; ND: no describe; XLD: agar xilosa-lisina-desoxichocolato; FT: fiebre tifoidea; CN: controles negativos; CP: controles positivos; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; C-PCR: reacción en cadena de la polimerasa convencional; RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; N-PCR: reacción en cadena de la polimerasa anidada (siglas en inglés)</i></p>							

Análisis e interpretación

En la Tabla 2 se resalta tanto la sensibilidad como especificidad del coprocultivo y C-PCR. Se visualizan condiciones relevantes de los estudios consultados, como grupo de edad y número de casos estudiados; en el caso del coprocultivo se identificó si el estudio realizado cumplió con fase de enriquecimiento de la muestra, medio de cultivo inoculado, temperatura y tiempo de incubación; método de identificación de colonias sospechosas de *S. typhi* y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. En el caso de PCR convencional se analizó el tipo de muestra utilizada, el tipo de cepa o gen objetivo y los cebadores utilizados para su identificación.

En el método de coprocultivo se evidenció fluctuación en los valores de sensibilidad y especificidad entre los estudios analizados, si bien las condiciones en las que se realizó cada investigación varían. Se aprecia un descenso de hasta el 30% en sensibilidad y 40% en especificidad. Por el contrario, en el método por C-PCR, aunque también se evidencia variación en las condiciones de cada estudio, los valores de sensibilidad y especificidad no son tan cambiantes, además estos solo descienden hasta 95% y 93% respectivamente.

Discusión

El diagnóstico de laboratorio de *S. Typhi* requiere el aislamiento e identificación del organismo a partir de la sangre o las heces del paciente, entre estas muestras las heces son las más comúnmente enviadas a los laboratorios. Debido a esto es importante analizar aspectos como la sensibilidad y especificidad del coprocultivo, ya que los mismos se ven influidos de distintas condiciones en las que se realiza esta prueba^{38,42}.

De acuerdo con la revisión bibliográfica En el caso del PCR, presenta una sensibilidad y especificidad del 100%, y a diferencia del coprocultivo, la PCR no sufre un descenso tan drástico en sus valores de sensibilidad, y en especificidad, pues se mantienen en un margen de excelencia a pesar de analizarse muestras de pacientes que anteriormente se les ha suministrado terapia antibiótica. Información sintetizada en un gráfico correspondiente al Anexo 2^{45,46,47,48,49,50}.

Entre los factores que pueden influir en la sensibilidad y especificidad del coprocultivo se encuentran el momento de la enfermedad, el análisis en portadores crónicos, pacientes con terapia antibiótica o cantidad de la muestra. En cuanto al momento en que se recolecta la muestra, Sultana et al.⁴⁶ señala que en la segunda y tercera semana de infección puede reflejarse resultados positivos, además indica que usualmente se inocula la muestra de heces en un medio de enriquecimiento; para luego subcultivarlo en un medio apropiado de identificación. Posterior a ello, con las colonias sospechosas se procede con su identificación específica y su sensibilidad a antimicrobianos^{45,51,52,53,54,55,56}.

Bhandari et al.⁴⁷ refleja que se obtiene un resultado positivo en coprocultivo en solo 37% de los pacientes con terapia con antibióticos. Khanam et al.⁵⁷ refiere que es desconocida la tasa de excreción de la carga bacteriana de *S. typhi* en portadores crónicos y con cuerda con Bhandari et al.⁴⁷ al señalar que en los portadores crónicos que expulsan patógenos de forma intermitente en la materia fecal durante mucho tiempo es necesario tomar varias muestras⁴⁶.

En los resultados de investigación existe una gran fluctuación de valores en cuanto a sensibilidad y especificidad del coprocultivo, Wam et al.⁴¹ coloca a este método como estándar de oro para el diagnóstico de *S. typhi* e indica una sensibilidad y especificidad de 100%. Al igual que Minjibir et al.⁴⁹ que además de colocarlo en tan alta estima lo utilizan como un método ideal y fiable al compararse con métodos serológicos como la prueba de Widal⁴¹.

Los resultados obtenidos también reflejan una sensibilidad de 30,3%, al igual que Andrews et al.⁵⁰ que indica que los cultivos de heces y los hisopos rectales tienen una sensibilidad más baja (<40 %). Aunque se pueden mejorar cultivando tres muestras o realizando cultivos múltiples a partir de una sola muestra de heces. Señalando que su sensibilidad depende de la cantidad de muestra de heces y de la duración de la enfermedad^{47, 48,58,59}.

También existen ciertas variaciones en el coprocultivo como la fase de enriquecimiento de la muestra, en aquellos estudios que sí estuvo presente esta fase la sensibilidad se mantuvo en un 80% y la especificidad en 73,58%. Otra variación concierne a la identificación de colonias sospechosas, donde se utiliza métodos como tinción Gram y la aplicación de una batería bioquímica lo que mejora la sensibilidad y especificidad del coprocultivo^{27,39,40,47}.

Parry et al.⁵¹ señala que, un coprocultivo positivo requiere una interpretación cautelosa, ya que puede indicar infección de fiebre entérica aguda, estado de portador crónico, o síndrome de infección aguda de diferente agente etiológico. Al igual que Mogosale et al.⁵² señala que existen otro tipo de cultivos más eficaces como el de médula ósea (concentración de organismos viables aprox. diez veces mayor que en sangre) y el hemocultivo (volumen suficiente de sangre). Ambos ofrecerían una sensibilidad y especificidad de hasta el 98%^{50,51,52}.

Datos comparados con Siba et al.⁵³ colocan a las técnicas de cultivo bacteriológico como el estándar de oro para la identificación de *S. typhi*, concordando con Ajibola et al.⁵⁴ Este último, menciona al coprocultivo con una sensibilidad menor al 50% y una especificidad de 93%, la sensibilidad puede mejorarse al cultivar a partir de tres muestras o realizando múltiples cultivos a partir de una sola muestra^{53,54}.

Distintos estudios han evaluado el rendimiento de la PCR convencional para el diagnóstico de fiebre entérica. En dichos estudios los genes de flagelina (fliC-d para *S. Typhi*) han sido los objetivos más comunes y han demostrado un porcentaje elevado de sensibilidad y especificidad. También puede proporcionar una identificación genética basada en el ADN de varios serotipos, como el gen del antígeno H y el gen del antígeno O^{27, 38,39}.

Andrews et al.⁵⁰ coincide con lo mencionado anteriormente, y al igual que Parry et al.⁵¹ refieren que la ventaja principal de la PCR es la rapidez al obtener el resultado (1-3 horas), brinda una especificidad excelente (100%) y aunque posee una sensibilidad variable, pero muy buena, >90 %., en comparación con el cultivo y métodos de identificación convencionales^{50,51}.

Zhou y Pollard⁵⁵ describen que, en teoría, la PCR solo puede amplificar el ADN de *S. typhi* y debería detectar cantidades bajas de células bacterianas viables o no. Para asegurar una mayor sensibilidad se utiliza cebadores anidados dirigidos al gen fliC-d. Sin embargo, un paciente en el estadio de bacteremia, posee 1 UFC/ml de sangre, provocando que las preparaciones clínicas estén dominadas por el ADN humano, causando problemas en la detección de patógenos y resultando en falsos negativos. Adicionando que se utilizan pequeños volúmenes de sangre para la extracción de ADN, se reduce significativamente la sensibilidad⁵⁵.

Se desarrolló un método para enriquecer el ADN bacteriano objetivo de *S. typhi* denominado STEM (selective target DNA enrichment method) que consiste en la eliminación selectiva del ADN humano por lisis de bilis de buey y nucleasa microcócica de las muestras de sangre, mejorando la sensibilidad de la PCR al detectar el gen fliC-d de *S. Typhi* en sangre. Un sistema de captura de ADN bacteriano o incluso un paso de enriquecimiento del cultivo antes de la amplificación puede mejorar la sensibilidad molecular de los ensayos basados en PCR⁵⁵.

El uso de otro tipo de PCR puede ser una opción viable para el diagnóstico de fiebre tifoidea. Resultados obtenidos por Kumar A. et al.⁴² en la aplicación de RT-PCR para detección del gen clyA en sangre demostró una sensibilidad de 98% y especificidad de 96%. Kumar A. et al.⁴² en su estudio analiza sangre, orina centrifugada y heces por N-PCR para la búsqueda del gen fliC-d demostrando sensibilidad de 90,9% (sangre), 95,5 (orina) y 68,1 (heces); y especificidad de 100% (Sangre y orina) y 85 % (heces)⁴².

Munir et al.⁵⁶ en su estudio de comparación de la PCR frente al hemocultivo y Widal para el diagnóstico de fiebre tifoidea pacientes con terapia de antibióticos, demostró que la tasa de positividad de la PCR fue significativamente mayor (97,1%) de las demás técnicas, superando incluso al hemocultivo, considerado una prueba estándar de oro⁵⁶.

En el caso de la técnica de PCR, se compararon los datos obtenidos con Huertas et al.⁶⁰ colocan a la PCR convencional con alta especificidad y sensibilidad para identificar no solo *S. typhi*, si no también otras especies de *Salmonella*, microorganismos como *Escherichia coli* o *Campylobacter* spp., tanto en muestras clínicas o en alimento. Ajibola et al.⁷⁴ menciona que al aplicarse una PCR sin enriquecimiento en hemocultivo se obtiene una sensibilidad de 90-100% y una especificidad de 100%, dependiendo de la amplificación del gen de interés. Con estos resultados se comprueba que la técnica de PCR es la mejor opción para obtener un diagnóstico rápido y confiable de fiebre tifoidea^{56,57}.

Tabla 3 Factibilidad de las técnicas de coprocultivo y PCR para el diagnóstico de *S. typhi*.

	Autor/Ref.	Año	Factible	No factible
COPROCULTIVO	Gunn et al.	2015	ND	En portadores crónicos asintomáticos tiene limitaciones, pues se necesita muestras seriadas para obtener resultados positivos
	Oliva J.	2020	No es invasivo a diferencia del mielocultivo o hemocultivo. Es positivo a partir de la segunda semana de evolución y es útil para la terapia antibiótica	Puede ser obsoleta cuando el paciente tuvo antibioticoterapia previa a la toma de muestra
	RENAVE	2020	Es factible con el uso de medios de enriquecimiento es hábil para el estudio en portadores asintomáticos	Debe realizarse a partir de heces recién tomadas o mantenidas refrigeradas en medio de transporte Brinda resultados de 24 a 36 horas para ser factible
	Khanam et al.	2021	Demuestra alta proporción de pacientes que arrojan <i>S. typhi</i> en sus heces durante las etapas agudas de la fiebre tifoidea haciendo factible la técnica	Límite en el rendimiento diagnóstico en portadores asintomáticos
	Pérez et al.	2021	Útil para el diagnóstico de infecciones bacterianas intestinales. Tiene un bajo costo	Se sugiere realizarse a partir de heces recién tomadas. Mayor tiempo de obtención de resultados

PCR	Gunn et al.	2014	La detección del gen fimbrial <i>staA</i> o <i>fliC</i> en bilis o vesícula biliar de portadores crónicos de <i>S. typhi</i> han mostrado resultados positivos	La identificación de <i>S. typhi</i> en heces no es muy exitosa
	Pouzol et al.	2019	Mayor eficiencia, rapidez y requiere menor cantidad bacteriana presente en la muestra clínica, eliminando el problema de bacterias muertas o no cultivables debido a tratamiento con antibióticos. Útil para diagnóstico de fiebre tifoidea con sospecha clínica y cultivo negativo. Con sensibilidad y especificidad superior al 95 %	Alto costo Requiere tecnología y equipamiento avanzado
	Nair et al	2019	Ensayo 100% fiable que proporciona un tiempo de respuesta rápido (2-h) con potencial de acelerar la notificación de los resultados. Además de ser fiable para vigilancia epidemiológica y distinción entre fiebre tifoidea y no tifoidea	Equipamiento de los laboratorios
	Oliva J.	2020	Posee una sensibilidad y especificidad igual o mayor al 95%. Mejor opción que el hemocultivo por ser rápida y requerir menor cantidad de muestra	Por su alto costo y tecnología solicitada es difícil aplicarla en países de escasos recursos o en vías de desarrollo
	Pérez et al.	2021	Es una buena alternativa rápida y específica	Posee un elevado costo
<i>ND: no describe; RENAVE: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.</i>				

Análisis e interpretación

En la Tabla 3 se demuestra la factibilidad de realización del coprocultivo y PCR para identificación de *S. typhi*; además de ciertas características que afectan dicha factibilidad. Ambas técnicas son utilizadas para el diagnóstico de *S. typhi*; una de ellas es un método tradicional, el coprocultivo que lleva más tiempo para su detección, con menor costo, a diferencia del método actual, la técnica de PCR que es más eficaz, sensible y rápida, pero con un mayor costo.

Discusión

Se demuestra la factibilidad de coprocultivo y PCR para el diagnóstico de *S. typhi* mediante revisión bibliográfica al exponer varias características para su análisis. El coprocultivo resalta al ser una técnica no compleja, con generación de antibiograma, que es de bajo rendimiento y necesita mayor tiempo de respuesta, a pesar de ser de bajo costo. La PCR resalta tanto en rapidez, sensibilidad y especificidad >95% y con menor variabilidad en el resultado. Siendo su desventaja ser de alto costo y requerir un laboratorio adecuado, compensándose con ser viable en tratamiento antibiótico. Dichos resultados se encuentran mejor detallados en el Anexo 3 y 4^{60,61,62,63,64,65}.

Varios autores concuerdan que tanto la técnica de Coprocultivo y PCR son factibles, si bien tienen características diferentes que apoyan esta mención todo dependerá principalmente la adecuación del laboratorio en el que se realice la técnica. A contraparte, del coprocultivo (factible en 70%), la PCR (factible 74%) posee más características favorecedoras. Su representación gráfica se demuestra en el Anexo 5^{60,61,62,63,64,65,66}.

Latinoamérica ha sido foco endémico en la década de los 90's; en el año 2018 se reporta que cada 10 de 100 000 habitantes en Latinoamérica tiene fiebre tifoidea, y para 2019-2020 países como Ecuador reportan 2 781 casos de fiebre tifoidea y paratifoidea. Dichos datos al ser comparados con cifras obtenidas de la OMS⁶⁷ indican que cada año enferman de fiebre tifoidea entre 11 y 21 millones de personas y mueren entre 128 000 y 161 000. Siendo las perjudicadas comunidades sin medidas de salubridad, ni sistemas de saneamiento adecuados. Dicha organización recalca la importancia de la práctica de medidas de prevención^{66,67,68,69}.

En el artículo "Alerta Epidemiológica, *Salmonella entérica serovar Typhi* haplotipo H58", la OMS⁷⁰, relata la aparición de *S. Typhi* resistente a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación. Si bien, en Latinoamérica y el Caribe no se ha notificado la circulación de dicha cepa, es necesaria capacidad de diagnóstico óptimo y temprano por parte del laboratorio, vigilancia de la resistencia antimicrobiana, un manejo clínico óptimo, además de un refuerzo en medidas de prevención^{66,67}.

Verma et al.⁷¹ refiere que, un diagnóstico de fiebre tifoidea fiable se fundamenta en el cultivo microbiológico de muestras biológicas, como sangre, médula ósea y heces; a pesar de ser desventajoso al requerir un mayor tiempo para la generación de resultados y así provoca un retraso en el diagnóstico. Pero al no realizarse el cultivo conduciría a un mayor costo del tratamiento por gastos innecesarios, exposición a efectos secundarios o adquisición de resistencia a antibióticos debido al uso indebido de los mismos^{70,71}.

Varios autores como Satar et al.⁷² y Ameya et al.⁷³ señalan que el coprocultivo requiere de un entrenamiento técnico para su lectura, además de una adecuada esterilización y equipamiento del laboratorio microbiológico, entrega de resultados en mínimo 24-48 horas. Ameya et al.⁷³ refiere que el coprocultivo presenta una relativa facilidad y costo-eficiencia a comparación del hemocultivo. Finalmente, al compararlo con la prueba de Widal, a pesar de presentar un buen porcentaje de especificidad (84,2%), en la sensibilidad decrece a un 35,5% y es superado por el test de Widal^{73,74}.

Luigi et al.³³ y Palomino y González⁷⁵ describen al coprocultivo como un método clásico, es usado apropiadamente con el cumplimiento de fases de enriquecimiento, aislamiento en medios selectivos y diferenciales, pruebas bioquímicas morfológicas y/o serológicas. Todo ello es tardío, esforzado y de baja sensibilidad, aunque es oportuno para la confirmación de diagnóstico^{33,75}.

Por el contrario, se expresa que la PCR al ser una técnica sensible de amplificación in vitro de segmentos de ADN permite detectar genes específicos de grupos taxonómicos y genes implicados en la virulencia de bacterias patógenas, y así conducir a la identificación del microorganismo de interés como *S. typhi*. Además, dichos métodos son rápidos, en general 2-3 horas y otros más avanzados que generan resultados en cuestión de minutos. También ofrecen niveles elevados de sensibilidad y especificidad. La desventaja de este método esta son equipos y reactivos muy costos, en relación con los requeridos en el cultivo^{33,73}.

Datos comparados con Zhou et al.⁷⁶ colocan a la PCR como una alternativa para el diagnóstico rápido de fiebre tifoidea, debido a ventajas como el requerir muestras que contienen una carga bacteriana baja, ofreciendo resultados sensibles y específicos y con menor variabilidad. Dichos resultados son viables para el estudio epidemiológico en zonas endémicas⁷⁶.

Nair et al.⁶⁶ la técnica de PCR en tiempo real puede distinguir rápidamente entre tifoidea, es decir, *S. Typhi*, Paratyphi A, Paratyphi B y Paratyphi C, y serovares de *Salmonella* no tifoideos. El método por PCR no solo es eficaz para el diagnóstico, además ayuda en el estudio de la enfermedad en zonas endémicas, situación que relata Blohmke et al.⁷⁷. Lo que es valiosa para reducir la transmisión, particularmente en países en transición que avanzan hacia la eliminación de la fiebre entérica endémica⁷⁷.

Datos ofrecidos por Wilairatana et al.⁷⁸ refieren que el coprocultivo es una prueba estándar de oro para identificación de *S. typhi* que requiere de buenas instalaciones de un laboratorio microbiológico, además de profesionales altamente capacitados para la aplicación e interpretación de esta prueba, estas características no opacan las ventajas que ofrecen como el ser de bajo costo y el ofrecer un antibiograma. Zhou et al.⁷⁶ recalca que la PCR es una prueba que requiere un menor volumen de muestra (5ml de sangre) para ofrecer resultados más rápidos (9 horas), sensibles y específicos; a pesar de su elevado costo y equipamiento de laboratorio actualizado⁷⁶.

Con estos resultados se demuestra la factibilidad de ambas técnicas, deduciéndose que el método tradicional, es decir el coprocultivo, conlleva más tiempo para su realización, pero tiene la ventaja de ayudar en la antibioticoterapia y ser menos costosa, a diferencia del método actual, como lo expresado con Khan et al.²⁹ la PCR es más utilizada, la técnica de PCR que es más eficaz, sensible y rápida que los métodos convencionales como coprocultivo, pero cuentan con un mayor costo^{51,58,59,60,61,78,79}.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Luego de una ardua revisión bibliográfica se logró la comparación de las técnicas de Coprocultivo y PCR para de identificación de *S. typhi* demostrándose se presenta una variabilidad en tiempo y resultados obtenidos por cada técnica de interés investigativo, el coprocultivo sigue siendo la técnica de referencia por su bajo coste, aunque haya un mayor tiempo de obtención de resultados y la PCR es rápida, pero tiene como desventaja su elevado coste, por lo tanto, es necesario realizar técnicas complementarias para poder detectar a la mayor brevedad al microorganismo concomitante evitando así la propagación de la enfermedad a la población.

- Una vez procesada información bibliográfica de relevancia se obtuvo datos sobre la sensibilidad y especificidad de coprocultivo y C-PCR de varios artículos científicos. En el coprocultivo se apreció un descenso tanto en sensibilidad (31,3%) y especificidad (44,5%); en oposición la C-PCR oscila entre 93-100% para la sensibilidad y 87-100% en especificidad. Se recalcaron factores influyentes en la sensibilidad y especificidad como el momento de la enfermedad, análisis en portadores crónicos, pacientes con terapia antibiótica o cantidad de la muestra. A pesar de todos estos factores la C-PCR superaba con creces al coprocultivo.

Además, es importante recalcar que los estudios analizados se enfocan en la innovación de la PCR con el objetivo de alcanzar una mayor sensibilidad y especificidad. Adicional a ello, se incentiva a la implementación del método STEM, el uso de otro tipo de PCR (RT-PCR, M-PCR y N-PCR); y el análisis de otras muestras biológicas (médula ósea, orina centrifugada y heces). Todas estas variaciones en la técnica de PCR muestran porcentajes favorecedores tanto para sensibilidad como especificidad de mostrándose su funcionalidad en la identificación de *S. typhi*.

- Posterior al análisis de distintos artículos científicos y revisión bibliográfica se demostró la factibilidad de coprocultivo y PCR para la detección de *S. typhi*. En el caso del coprocultivo resaltan características como menor complejidad, valor en estudios epidemiológicos, bajo costo y ser esencial para tratamiento antimicrobiano. Por el contrario, le perjudican características como el requerir mínimo 24 horas, personal experimentado para la lectura de resultados.

En el caso de la PCR que ofrece una mayor eficiencia, sensibilidad y especificidad, rapidez, menos variabilidad en el ensayo e interpretación que en el método convencional. Estas características frente al alto costo y el requerimiento de tecnología y equipamiento avanzado en laboratorios, la PCR es una herramienta factible para la identificación de *S. typhi*, además es una alternativa para la confirmación en caso de obtenerse cultivos microbiológicos negativos.

RECOMENDACIONES

- Tanto el coprocultivo como la PCR, técnicas utilizadas para la identificación de *S. typhi*, tienen variaciones en su protocolo que dependen de las condiciones del laboratorio, el alcance de suministros y tecnología de la región, o hasta del país en el que se realice. Por ello, se sugiere la elaboración de una guía que contenga un protocolo estándar para cada técnica, procurando que dicho protocolo asegure fiabilidad al momento de entregar resultados.
- El diagnóstico erróneo de fiebre tifoidea es un grave problema de salud mundial, pues resulta en una mala gestión clínica de pacientes, mal uso de antimicrobianos y estimaciones inexactas de la carga de la enfermedad. Por lo que es importante realizar un control de calidad interno y externo en cada laboratorio y nivel regional o nacional. En dicho control se debe dar importancia a la sensibilidad y especificidad del Coprocultivo y PCR para el diagnóstico de *S. typhi* y así evitar perjudicar el diagnóstico del paciente.
- El coprocultivo y PCR son técnicas factibles para el diagnóstico de fiebre tifoidea. Es significativo implementar el desarrollo de sistemas alternativos para el uso adecuado de las técnicas, conseguir un menor costo, requerir menos consumibles y aumentar la capacidad de diagnóstico. Se debe tener que las técnicas moleculares no remplazaran a las técnicas microbiológicas tradicionales o viceversa, ya que ambas son necesarias para propósitos epidemiológicos y el desarrollo de antibiogramas, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prats G. Microbiología Clínica. 1st. ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005.
2. Ryan K. Ray G. Ahmad N. Drew W. Plorde J. Microbiología Médica. 5th. Ed. México: Mc Graw Hill; 2011.
3. Crump J. Mintz E. Global Trends in Typhoid and Paratyphoid Fever. Clin Infect Dis [Internet] 2010 [Consultado 29 Dic 2021]; 50(2): 6-241. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20014951/>
4. SABIN Vaccine Institute. Vacunología en América Latina [Internet]. 2018 [Consultado 29 Dic 2021]. Disponible en: https://www.sabin.org/app/uploads/2022/05/la_vacunologia_en_america_latina_un_recurso_para_los_gerentes_de_inmunizacion_0.pdf#page=143
5. Departamento de Epidemiología Chile. Boletín Epidemiológico Trimestral Enero a Septiembre. Fiebre tifoidea y paratifoidea [Internet]. 2015. [Consultado 29 Dic 2021]. Disponible en: http://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2016/01/FT_BET4_2015.pdf
6. Mata C. Las infecciones estomacales son frecuentes en Guayaquil [Internet]. 2011 [Consultado 29 Dic 2021]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/guayaquil/1/las-infecciones-estomacales-son-frecuentes-en-guayaquil>
7. Ministerio de Salud Pública. Subsistema de vigilancia SIVE-Alerta enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador, SE 01, 2021 [Internet] 2021 [Consultado 22 Ene 2022]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-01.pdf>
8. Ministerio de Salud Pública. Subsistema de vigilancia SIVE-Alerta enfermedades transmitidas por agua y alimentos. Infecciones debidas a *Salmonella* Ecuador, SE 25, 2021 [Internet] 2021 [Consultado 22 Mar 2022]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/07/GACETA-SEM-25-ETAS.pdf>
9. Andualem G. Abebe T. Kebede N. Gebre S. Mihret A. Alemayehu H. A comparative study of Widal test with blood culture in the diagnosis of typhoid fever in febrile patients. BMC Res Notes [Internet] 2014 [Consultado 29 Dic 2021];7(653):1-6. Disponible en: <https://bmresnotes.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1756-0500-7-653.pdf>
10. Connor B. Schwartz E. Typhoid and paratyphoid fever in travellers. Lancet Infect Dis [Internet] 2005 [Consultado 5 Ene 2022];5(10):623-628. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1473309905702395>
11. Sanhueza N. Farías S. Calzadilla J. Hermoso A. Fiebre tifoidea: reporte de caso y revisión de la literatura. Medwave [Internet] 2016 [Consultado 5 Ene 2022]; 16(5):1-5. Disponible en: <https://www.medwave.cl/medios/medwave/Junio2016/PDF/medwave-2016-05-6474.pdf>
12. Karkey A. Aryjal A. Basnyat B. Baker S. Kathmandu, Nepal: still an enteric fever capital of the world. J Infect Dev Ctries [Internet] 2008 [Consultado 5 Ene

- 2022];2(6):461-465. Disponible en: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/19745524/80>
13. Azmatullah A, Qamar FN, Thaver D, Zaidi AK, Bhutta ZA. Systematic review of the global epidemiology, clinical and laboratory profile of enteric fever. *J Glob Health* [Internet] 2015 [Consultado 5 Ene 2022];5(2):20-407. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4672836/>
 14. Parry C, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. *N Engl J Med* [Internet] 2002 [Consultado 5 Ene 2022];347(22):1770-1782. Disponible en: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra020201?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov
 15. Bhan MK, Bahl R, Bhatnagar S. Typhoid and paratyphoid fever. *Lancet* [Internet] 2005 [Consultado 5 Ene 2022];366(9487):749-762. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(05\)67181-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(05)67181-4/fulltext)
 16. OMS. Typhoid vaccines: WHO position paper- paper March 2018. *Wkly Epidemiol Rec* [Internet] 2018 [Consultado 5 Ene 2022];93(13):153-172. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/whio-wer9313>
 17. Municipio de Salud Pública del Ecuador. Manual de procedimiento del subsistema alerta acción SIVE-ALERTA [Internet]. 2014 [Consultado 5 Ene 2022]. Disponible en: <https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dn/n/archivos/MANUAL%20DE%20PROCEDIMIENTOS%2016%20de%20Octubre%20de%202014.pdf>
 18. Municipio de Salud Pública del Ecuador. Manual de vacunación de enfermedades inmunoprevenibles. *Calidad Salud* [Internet] 2019 [Consultado 5 Ene 2022]. Disponible en: http://www.calidadsalud.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2020/Doc/inmunizaciones/ACUERDO%20MINISTERIAL%2063_2019%20MANUAL%20DE%20VACUNAS%20PARA%20ENFERMEDADES%20INMUNOPREVENIBLES.pdf
 19. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. *Microbiología médica*. 25th. Ed. México: Mc Graw Hill; 2011.
 20. Calva E. Salmonella typhi y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. *Instituto de Biotecnología, UNAM* [Internet] 2002 [Consultado 24 Ene 2022]. Disponible en: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/>
 21. Ecuador Explorer. Hepatitis A y Fiebre tifoidea en Ecuador. [Internet] 2013 [Consultado 5 Ene 2022]. Disponible en: <https://www.ecuadorexplorer.com/es/html/hepatitis-a-y-fiebre-tifoidea.html>
 22. Grimont P, Weill F, et al. Antigenic formulae of the salmonella serovars. [Internet] 2007 [Consultado 24 Ene 2022]. Disponible en: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
 23. Hyeon JY, Chon JW, Park JH, et al. Corrigendum to “A Comparison of Subtyping Methods for Differentiating Salmonella enteric Serovar Enteritidis Isolates Obtained from Food and Human Sources”. *Osong Public Health Res Perspect*.

- [Internet] 2007 [Consultado 24 Ene 2022];4(1):27-33. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787536/>
24. Mantilla J. Prueba de sensibilidad antimicrobiana de cepas de salmonella grupo D (móviles e inmóviles) aislada de ponedoras comerciales en Colombia Rev. Med. Vet. Zoot [Internet] 2010 [Consultado 22 Ene 2022];57:168-177 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v57n3/v57n3a02.pdf>
 25. González J. Pereira N. Soto Z. Aislamiento microbiológico de *Salmonella spp.* y herramientas moleculares para su detección. Salud Uninorte. Barranquilla (Col.) [Internet] 2014 [Consultado 22 Ene 2022];30(1):73-94. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/817/81730850009.pdf>
 26. Molina E. Factores epidemiológicos en pacientes con infección por *Salmonella typhi* hospitalizados en el hospital general, durante el periodo de 2013 – 2017. [Internet] 2013 [citado 2022 Feb 21]. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/03/1151219/581-11106290.pdf>
 27. Espinoza D. Iza E. Comparación del coprocultivo vs la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional para la detección de *Salmonella Typhi* en muestras fecales [Internet] 2013 [Consultado 21 Feb 2022]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/12111/Comparacion%20Coproculativo%20vs%20la%20PCR%20para%20la%20identificacion%20de%20Salmonella%20typhi%203.pdf?sequence=1>
 28. Herrera M. Determinación de enterobacterias mediante coprocultivo y su relación con gastroenteritis no parasitaria en pacientes adultos que residen en el cantón Pujilí - Cotopaxi. [Internet] 2016 [Consultado 10 May 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24271/2/Herrera%20Dur%C3%A1n%20Magaly%20Johana.pdf>
 29. Khan S. Miah M. Khatun S. Enhanced detection rate of typhoid fever among clinically suspected patients in a tertiary referral hospital in Dhaka, Bangladesh using nested polymerase chain reaction technology. Bangladesh Med Res Counc Bull. [Internet] 2015 [Consultado 24 Abr 2022];41(3):138-143. Disponible en: <https://www.readcube.com/articles/10.3329/2Fbmrbc.v41i3.29971>
 30. Tennant S. Toema D. Qamar F. Iqbal N. Adetinke M. Marshall J. et al. Detection of Typhoidal and Paratyphoidal Salmonella in Blood by Real-time Polymerase Chain Reaction. Clin Infect Dis. Clin Infect Dis. [Internet] 2015 [Consultado 30 Jun 2022];4(4):241-2520. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279176/>
 31. Gallegos F. Resistencia bacteriana en pacientes atendidos con gastroenteritis por Salmonella spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María, del Cantón el Chaco. Repositorio UTA. [Internet]. 2014. [Consultado 10 May 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8709/1/Gallegos%20Torres%20c%20Franklin%20Iv%C3%A1n.pdf>
 32. Díaz G. Rosadio R. Geraldine M. Chero A. Jiménez R. Reyna I. et- al. Evaluación de una Técnica de PCR-Múltiple para la Detección Rápida de *Salmonella Typhimurium* y Enteritidis en Cuyes (*Cavia porcellus*) Naturalmente Infectados.

- Rev Invest Veter Peru. [Internet] 2017 [Consultado 10 May 2022];28(3):713-722 Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371853133025.pdf>
33. Luigi T. Rojas L. Valbuena O. Reacción en cadena de la polimerasa para la identificación de *Salmonella* spp. usando el gen invA. Salus [Internet] 2015 [Consultado 02 Mar 2022];19(3):41-46. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375944211008>
 34. Monroy I. Ledesma N. Sánchez F. Ruiz G. Urquiza O. Determinación, por PCR, de *Salmonella* Enteritidis FT 13 A y *Salmonella* Issatschenko en muestras de pollitos infectados experimentalmente. Vet. Méx [Internet] 2012 [Consultado 10 May 2022];43(4):257-271. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922012000400001
 35. Ortuño R. Nueva técnica de análisis de *Salmonella* viable en un solo paso. [Internet]. AINIA. 2017. [Consultado 10 May 2022]. Disponible en: <https://www.ainia.es/ainia-news/nueva-tecnica-analisis-salmonella-viable/>
 36. Martínez I. Paglietti B. Rementeria A. Laorden L. García M. Bikandi J. et. al. Intra- and inter-laboratory evaluation of an improved multiplex-PCR method for detection and typing of *Salmonella*. J Infect Developing Countries. [Internet] 2012 [Consultado 30 de Julio 2022];6(5):443-451. Disponible en: <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=83865>
 37. Ngan G. Ng L. Lin R. Teo J. Development of a novel multiplex PCR for the detection and differentiation of *Salmonella* enterica serovars Typhi and Paratyphi A. Res Microbiol. [Internet] 2010 [Consultado 10 Jun 2022];161(4):243-248. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0923250810000586?via%3Dihub>
 38. Ranjbar R. Mortazavi S. Mehrabi A. Sarshar M. Najafi A. Soruri R. Simultaneous Molecular Detection of *Salmonella* enterica Serovars Typhi, Enteritidis, Infantis, and Typhimurium. Iran J Public Health. [Internet] 2017 [Consultado 30 de Julio 2022];46(1):111-103. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5401918/>
 39. Deksissa T. Gebremedhin E. A cross-sectional study of enteric fever among febrile patients at Ambo hospital: prevalence, risk factors, comparison of Widal test and stool culture and antimicrobials susceptibility pattern of isolates. BMC Infect Dis. [Internet] 2019 [Consultado 10 Jun 2022];19(388):1-12. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437987/pdf/12879_2019_Article_3917.pdf
 40. Mawazo A. Bwire G. Matee M. Performance of Widal test and stool culture in the diagnosis of typhoid fever among suspected patients in Dar es Salaam, Tanzania. BMC Res Notes. [Internet] 2019 [Consultado 11 Jun 2022]; 12(316):1-5. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6551910/pdf/13104_2019_Article_4340.pdf

41. Wam E. Arrey C. Sama L. Agyingi L. Wam A. Comparative Study on the Use of Widal Test to Stool Culture in the Laboratory Diagnosis of Typhoid Fever in Holy Family Hospital Akum, North West Region of Cameroon. *Ope Microbiol Journa*. [Internet] 2019 [Consultado 12 Jun 2022];13:73-80. Disponible en: <https://openmicrobiologyjournal.com/volume/13/page/73/#r7>
42. Kumar A. Balachandran Y. Gupta S. Khare S. Suman. Quick PCR based diagnosis of typhoid using specific genetic markers. *Biotechnol Lett*. [Internet] 2010 [Consultado 19 Jun 2022];32(5):707-712. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10529-010-0211-2>
43. Darton TC, Zhou L, Blohmke CJ, et al. Blood culture-PCR to optimise typhoid fever diagnosis after controlled human infection identifies frequent asymptomatic cases and evidences of primary bacteraemia. *J Infect*. [Internet] 2017 [Consultado 12 Jun 2022];74(4):358-366. Disponible en [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(17\)30025-7/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(17)30025-7/fulltext) [elsevier:](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(17)30025-7/fulltext)
44. Ganesan V. Harish B. Menezes G. Parija S. Detection of Salmonella in Blood by PCR using iroB gene. *J Clin Diagn Res*. [Internet] 2014 [Consultado 12 Jun 2022];8(11):01-03. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290232/>
45. Kumar G. Pratap C. Mishra O. Kumar K. Nath G. Use of urine with nested PCR targeting the flagellin gene (fliC) for diagnosis of typhoid fever. *J Clin Microbiol*. [Internet] 2012 [Consultado 19 Jun 2022]; 50(6): 1964-1967. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372149/>
46. Sultana S. Maruf M. Sultana R. Jahan S. Laboratory Diagnosis of Enteric Fever: A Review Update. *Bangladesh J. Infect. Dis*. [Internet] 2017 [Consultado 20 Jun 2022];3(2):43-51. Disponible en: <https://www.banglajol.info/index.php/BJID/article/view/33834>
47. Bhandari J. Thada PK. DeVos E. Typhoid Fever. *StatPearls*. [Internet] 2022 [Consultado 20 Jun 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557513/>
48. Khanam F, Darton TC, Meiring JE, et al. Salmonella Typhi Stool Shedding by Patients with Enteric Fever and Asymptomatic Chronic Carriers in an Endemic Urban Setting. *J Infect Dis*. [Internet] 2021 [Consultado 30 Jun 2022]; 224(7): 759-763. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8687075/pdf/jiab476.pdf>
49. Minjibir A. Diso S. Ibrahim I. Abdallah M. Comparative Study of Widal test Against Stool Culture in Diagnosis of Typhoid Fever Suspected Cases in Kano, Northern Nigeria. *South Asian Res J Eng Tech*. [Internet] 2020 [Consultado 1 Jul 2022];2(5):39-44. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/344595977_Comparative_Study_of_Widal_test_Against_Stool_Culture_in_Diagnosis_of_Typhoid_Fever_Suspected_Cases_in_Kano_Northern_Nigeria
50. Andrews J. Ryan E. Diagnostics for invasive Salmonella infections: Current challenges and future directions. *Vaccine*. [Internet] 2015 [Consultado 1 Jul

- 2022];33(3):8-15. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469564/#R97>
51. Parry C. Wijedoru L. Arjyal A. Baker S. The utility of diagnostic tests for enteric fever in endemic locations. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. [Internet] 2014 [Consultado 5 Jul 2022];9(6):711-725. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eri.11.47?scroll=top&needAccess=true>
 52. Mogasale V. Ramani E. Mogasale V. Park J. What proportion of Salmonella Typhi cases are detected by blood culture? A systematic literature review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. [Internet] 2016 [Consultado 10 Jul 2022];15(32):1-8. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4869319/pdf/12941_2016_Article_147.pdf
 53. Siba V. Horwood PF. Vanuga K. Wapling J. Sehuko R. Siba P. et al. Evaluation of serological diagnostic tests for typhoid fever in Papua New Guinea using a composite reference standard. *Clin Vaccine Immunol*. [Internet] 2012 [Consultado 16 Ago 2022];19(11):1833-1837. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3491554/>
 54. Ajibola O. Mshelia MB. Gulumbe BH. Eze AA. Typhoid Fever Diagnosis in Endemic Countries: A Clog in the Wheel of Progress?. *Medicina (Kaunas)*. [Internet] 2018 [Consultado 16 Ago 2022];54(2):23. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6037256/pdf/medicina-54-00023.pdf>
 55. Zhou L. Pollard A. A novel method of selective removal of human DNA improves PCR sensitivity for detection of Salmonella Typhi in blood samples. *BMC Infect Dis*. [Internet] 2012 [Consultado 1 Jul 2022]; 12(14):1-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482578/pdf/1471-2334-12-164.pdf>
 56. Munir T. Lodhi M. Ali S. Hussain S. Razak S. Early Diagnosis of Typhoid By PCR For fliC-d Gene of Salmonella Typhi in Patients Taking Antibiotics. *J Coll Physicians Surg Pak*. [Internet] 2015 [Consultado 1 Jul 2022];25(9):662-666. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26374362/>
 57. Khanam J. Paul S. Kobayashi N. Nasreen S. Ahmed S. Haque N. et.al.. Early and Rapid Detection of Typhoid Fever by Nested PCR in Blood. *Mymensingh Med J*. [Internet] 2021 [Consultado 24 May 2022];30(4):986-990. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34605467/>
 58. Tarupiwa A. Tapera S. Mtapuri S. Gumbo P. Ruhanya V. Gudza M. et. al. Evaluation of TUBEX-TF and OnSite Typhoid IgG/IgM Combo rapid tests to detect Salmonella enterica serovar Typhi infection during a typhoid outbreak in Harare, Zimbabwe. *BMC Res Notes*. [Internet] 2015 [Consultado 30 Jul 2022];8(50):1-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4344803/>
 59. Das S. Ray U. Akhter I. Chattopadhyay A. Paul D. Dutta S. Evaluation of fliC-d based direct blood PCR assays for typhoid diagnosis. *BMC Microbiol*. [Internet].

- 2016 [Consultado 30 Jul 2022]; 16(1): 1-8. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4906692/pdf/12866_2016_Article_723.pdf
60. Huertas C. Urbano E. Torres M. Diagnóstico molecular una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. Rev haban cienc méd [Internet] 2019 [Consultado 16 Ago 2022];18(3):513-528. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2019000300513&lng=es
 61. Gunn JS, Marshall JM, Baker S, Dongol S, Charles RC, Ryan ET. Salmonella chronic carriage: epidemiology, diagnosis, and gallbladder persistence. Trends Microbiol. [Internet] 2014 [Consultado 30 de Julio 2022];22(11):648-655. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4252485/>
 62. Oliva J. Fiebre tifoidea, el arte del diagnóstico por laboratorio. Rev Cient del Insti Naci de Sal. [Internet]. 2020 Ene [Consultado 29 Dic 2021];3(1):33-37. Disponible en: <https://alerta.salud.gob.sv/fiebre-tifoidea-el-arte-del-diagnostico-por-laboratorio/>
 63. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Protocolo de Vigilancia de Salmonelosis: Salmonella spp. Distinta de S. typhi y S. paratyphi. [Internet] 2022 [Consultado 30 Jul 2022] Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/PROTOCOLOS/Protocolo%20de%20Vigilancia%20de%20Salmonelosis.pdf>
 64. Pérez N. Elu M. Berrocal A. Pedregosa V. Cándala D. Sánchez G. Técnicas de detección y diagnóstico de *Salmonella* spp. Revista Sanitaria de Investigación. [Internet]. 2021. [Consultado 30 Jul 2022] Disponible en: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/tecnicas-de-deteccion-y-diagnostico-de-salmonella-spp/>
 65. Pouzol S. Tanmoy A. Ahmed D. Khanam F. Brooks W. Bhuyan G. et al. Clinical Evaluation of a Multiplex PCR for the Detection of Salmonella enterica Serovars Typhi and Paratyphi A from Blood Specimens in a High-Endemic Setting. Am J Trop Med Hyg. [Internet] 2019 [Consultado 30 Jul 2022];101(3):513-520. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6726943/>
 66. Nair S. Patel V. Hickey T. Maguire C. Greig D. Lee W. et al. Real-Time PCR Assay for Differentiation of Typhoidal and Nontyphoidal *Salmonella*. J Clin Microbiol. [Internet] 2019 [Consultado 30 Jul 2022];57(8):1-9 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6663909/pdf/JCM.00167-19.pdf>
 67. OMS. Alerta Epidemiológica, 10 de octubre de 2018: *Salmonella* entérica serovar Typhi haplotipo H58 [Internet] 2018 [Consultado 30 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-10-octubre-2018-salmonella-enterica-serovar-typhi-haplotipo-h58>
 68. MSP. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador. SE 11, 2021. Salud. [Internet]. 2021. [citado 2021 Abr 10]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/03/Etas-SE-11.pdf>

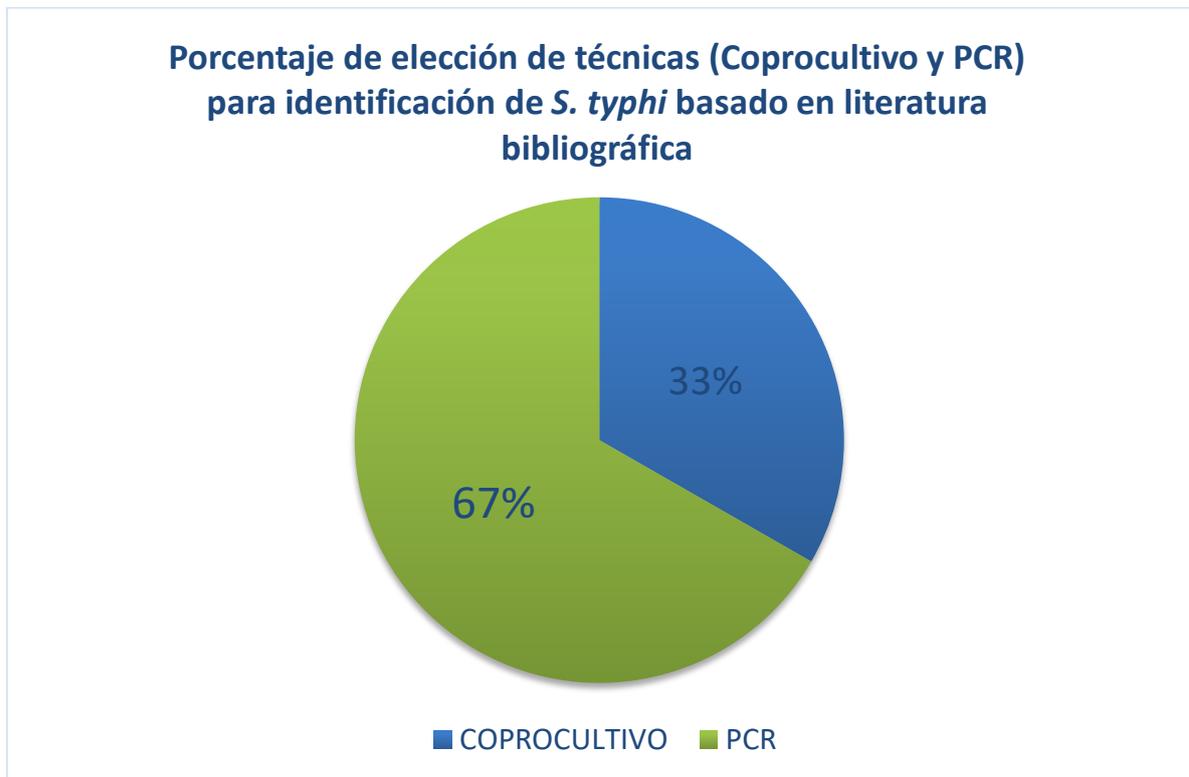
69. MINSAL. Boletín Epidemiológico Semana 22 [Internet]. 2020. [Consultado 30 Jul 2022]. Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/06/1099793/boletin_epidemiologico_se222_020.pdf
70. OMS. Fiebre tifoidea. [Internet] 2020 [Consultado 30 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/typhoid-fever#:~:text=La%20fiebre%20tifoidea%20es%20una,abdominal%20y%20estre%C3%B1imiento%20o%20diarrea>
71. Verma D. Kishore S. Siddique ME. Comparative evaluation of various tests for diagnosis of concurrent malaria and typhoid Fever in a tertiary care hospital of northern India. J Clin Diagn Res. [Internet] 2014 [Consultado 10 Jul 2022];8(5):41-44. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4080004/>
72. Satar A. Yusuf A. Islam B. Ajter W. Different diagnostic Procedure of Typhoid Fever: A review Update. J Curr Adv Med Res [Internet] 2014 [Consultado 25 Jul 2022];1(2):35-41. Disponible en: <https://www.banglajol.info/index.php/JCAMR/article/view/20517>
73. Ameya G. Atalel E. Kebede B. Yohannes B. Comparative study of Widal test against stool culture for typhoid fever suspected cases in southern Ethiopia. J Patho Lab Med Intern. [Internet] 2017 [Consultado 30 de Julio 2022];9: 1-7. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/124e/f9d2e5835433cd8288acac084355592c6282.pdf>
74. Rahman M. Antimicrobial Resistance Patterns of Salmonella Typhi Isolated from Stool Culture. Chatt Maa Shi Hosp Med Coll J [Internet] 2015 [Consultado 29 Jul 2022];14(1):26-30. Disponible en: <https://www.banglajol.info/index.php/CMOSHCJ/article/view/22876>
75. Palomino C. González Y. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. Rev Peru Med Exp Salud Publica. [Internet] 2014 [Consultado 10 Jul 2022];31(3): 535-546. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/2014.v31n3/535-546/es>
76. Zhou L. Jones C. Gibani MM. Dobinson H. Thomaidis H. Shrestha S. et al. Development and Evaluation of a Blood Culture PCR Assay for Rapid Detection of Salmonella Paratyphi A in Clinical Samples. PLoS One. [Internet] 2016 [Consultado 16 Ago 2022];11(3):1-14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4773247/pdf/pone.0150576.pdf>
77. Blohmke C. Muller J. Gibani M. Dobinson H. Shrestha S. Perinparajah S. et. al. Diagnostic host gene signature for distinguishing enteric fever from other febrile diseases. EMBO Mol Med. [Internet] 2019 [Consultado 10 Jul 2022];11(10):1-16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6783646/pdf/EMMM-11-e10431.pdf>
78. Wilairatana P. Mala W. Klangbud WK. Kotepui KU. Rattaprasert P. Kotepui M. Prevalence, probability, and outcomes of typhoidal/non-typhoidal Salmonella and malaria co-infection among febrile patients: a systematic review and meta-analysis.

Sci Rep. [Internet] 2021 [Consultado 16 Ago 2022];11(21889):1-34. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8576030/pdf/41598_2021_Article_611.pdf

79. Encinas J. Flores M. Ortega B. Alarcón J. Estudios preliminares para el desarrollo de un reactivo diagnóstico serológico de fiebre tifoidea. Univer Technolog. [Internet] 2014 [Consultado 30 de Julio 2022];7(19):16-18. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Universodelatecnologica/2014/no19/4.pdf>

ANEXOS

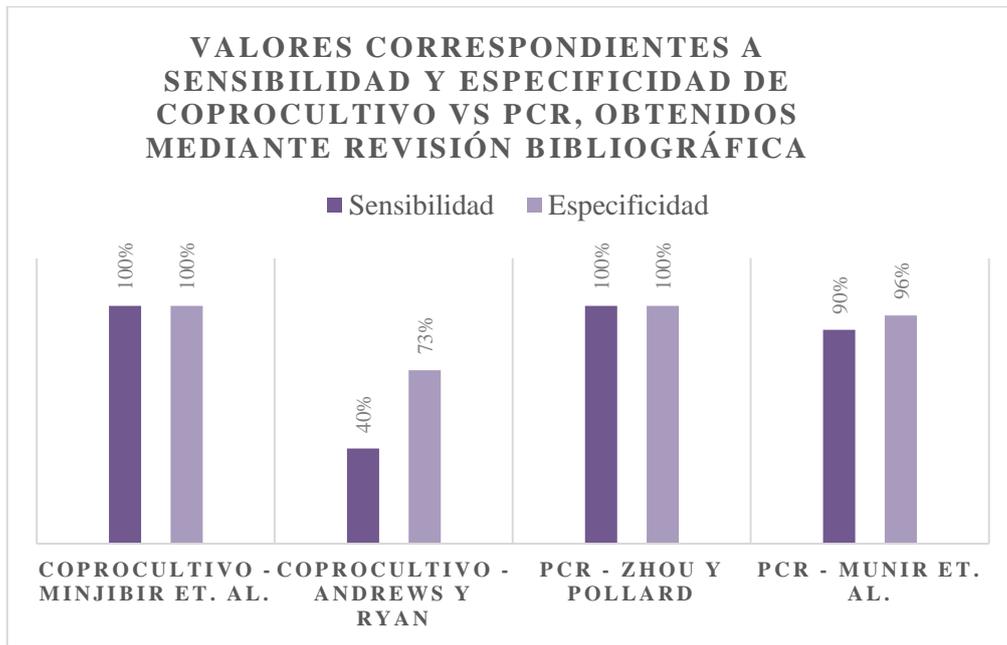
Anexo 1 Porcentaje de elección de técnicas (Coprocultivo y PCR) basado en literatura bibliográfica.



Un 33% del total de estudios analizados concuerdan llevar a cabo el coprocultivo bajo condiciones aptas. Un 67% mencionan que la PCR cumple un papel fundamental y pueden suplantar a varios métodos microbiológicos convencionales.

Fuente: Gráfico creado por las autoras.

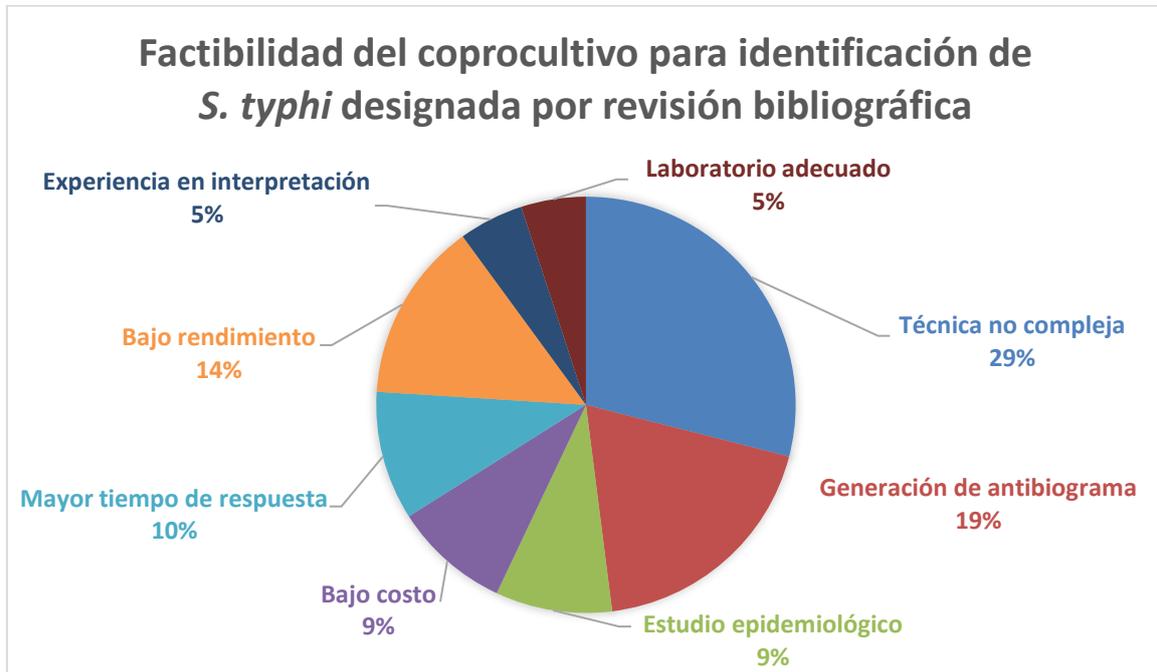
Anexo 2 Porcentaje de valores correspondientes a sensibilidad y especificidad de coprocultivo vs PCR, obtenidos mediante revisión bibliográfica.



El coprocultivo solo alcanza una sensibilidad y especificidad del 100%, al ser utilizado como control positivo en estudios comparativos en el diagnóstico de *S. typhi*. Y al evaluarse directamente su sensibilidad y especificidad se observa un descenso drástico de sus porcentajes. En el caso del PCR, su sensibilidad y especificidad es del 100%, y a diferencia del coprocultivo, la PCR no sufre un descenso tan drástico en sus porcentajes. Dichos valores se mantienen en un margen de excelencia a pesar de analizarse muestras de pacientes que anteriormente se les ha suministrado terapia antibiótica.

Fuente: Gráfico creado por las autoras

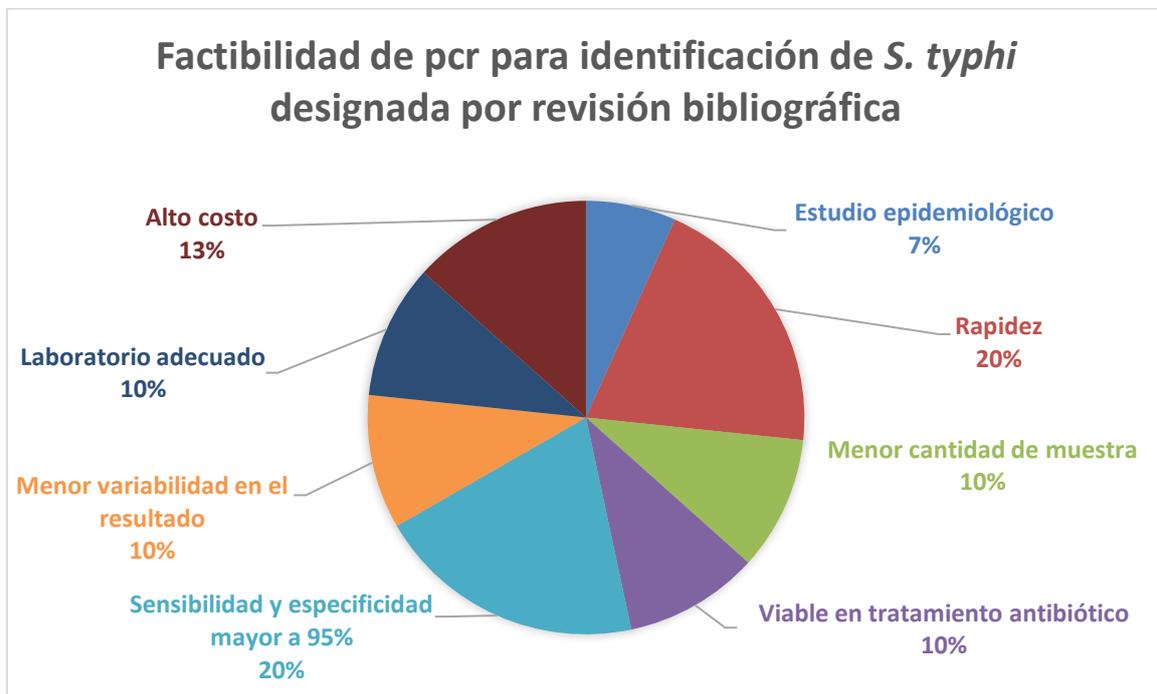
Anexo 3 Factibilidad del coprocultivo para la identificación de *S. typhi* designada por revisión bibliográfica.



Varias características han sido expuestas para el análisis de factibilidad de coprocultivo para la identificación de *S. typhi*, entre ellas resalta el ser una técnica no compleja, siguiéndole la generación de antibiograma, pero en contraparte varios autores concuerdan el ser de bajo rendimiento y necesitar mayor tiempo de respuesta, a pesar de ser de bajo costo y servir para el estudio epidemiológico.

Fuente: gráfico creado por las autoras

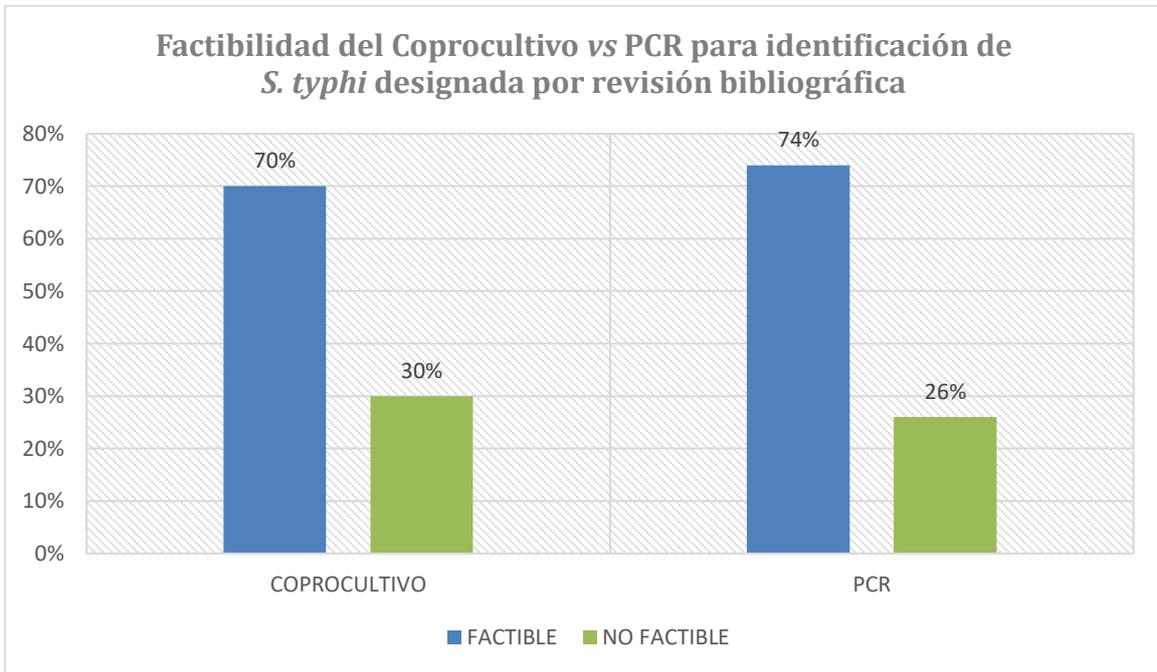
Anexo 4 Factibilidad de la PCR para la identificación de *S. typhi* designada por revisión bibliográfica.



Varias características de la PCR se ilustran en el presente gráfico, entre ellas se resalta tanto su rapidez y su sensibilidad y especificidad mayor al 95%, siguiéndole una menor variabilidad en el resultado. Por el contrario, su desventaja es ser una prueba de alto costo y el requerir un laboratorio adecuado, aunque se compensa con el ser viable en tratamiento antibiótico, tener menor viabilidad en el resultado y servir para el estudio epidemiológico.

Fuente: Gráfico creado por las autoras

Anexo 5 Factibilidad del coprocultivo vs la PCR para la identificación de *S. typhi* designada por revisión bibliográfica.



Varios autores concuerdan que tanto la técnica de Coprocultivo y PCR son factibles, si bien tienen características diferentes que apoyan esta mención todo dependerá principalmente la adecuación del laboratorio en el que se realice la técnica. A contraparte, del coprocultivo la PCR posee más características favorecedoras.

Fuente: Gráfico creado por las autoras

Anexo 6 Fracción del artículo del New York American- 20/Jun/1909, primer periódico que describió a Mary Mallon, más conocida como Mary Tifoidea

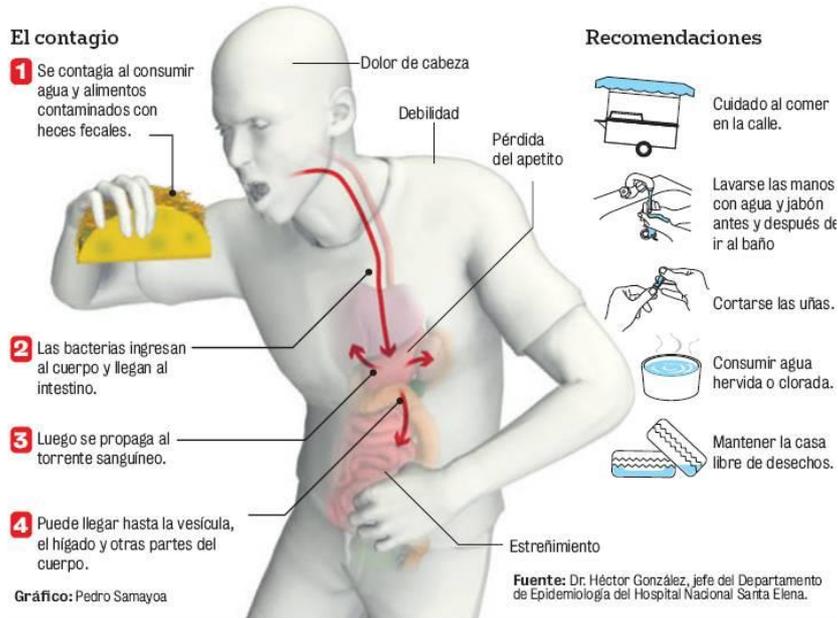


Fuente: Principia. Mary Tifoidea. [Internet] 2020 [Consultado 12 Jul 2022]; Disponible en: <https://principia.io/2020/05/21/historias-de-cuarentena-maria-tifoidea.ljExODYi/>

Anexo 7 Transmisión de fiebre tifoidea

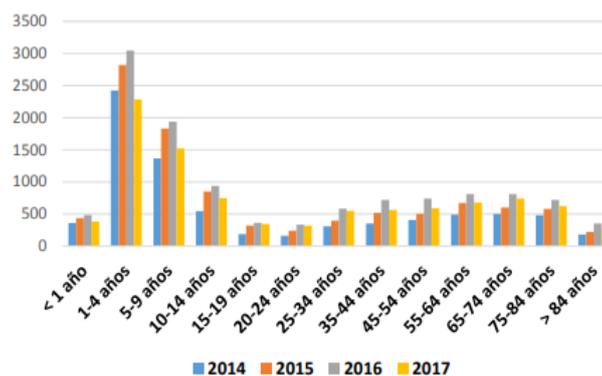
La enfermedad

Es un mal infeccioso producido por la *Salmonella typhi* (bacilo de Eberth) o *Salmonella paratyphi* A, B o C, bacterias del género *Salmonella*.



Fuente: González H. Transmisión de fiebre tifoidea. [Internet] 2016 [Consultado 12 Jul 2022]; Disponible en: <https://www.escuelapedia.com/la-fiebre-tifoidea/>

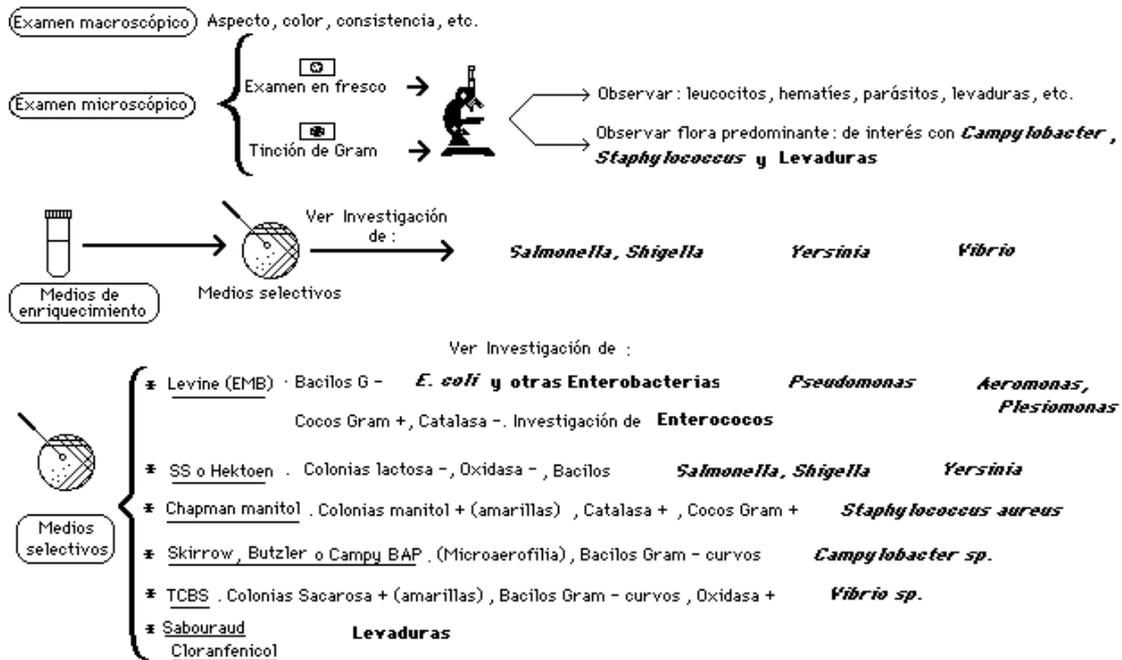
Anexo 8 Casos de salmonelosis en los años 2014 a 2017 en España



Fuente: Salmonelosis. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. [Internet] 2014 [Consultado el 30 junio del 2022]; Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/resultados%20vigilancia/Salmonelosis-RENAVE%202014-2017.pdf>

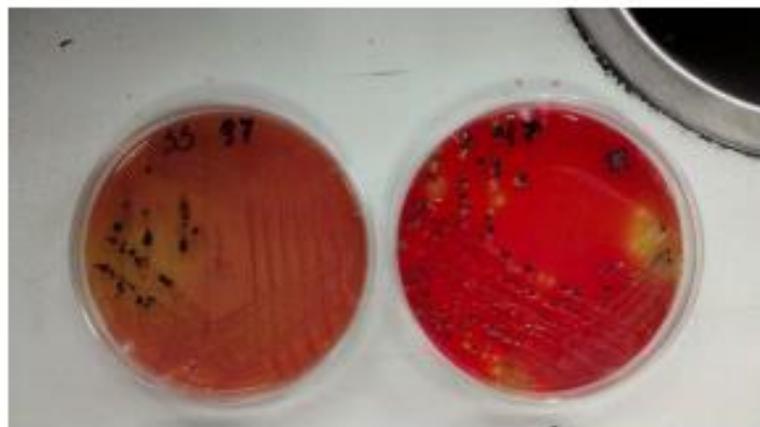
Anexo 9 Esquema del protocolo a seguir para Coprocultivo de distintas bacterias, entre ellas *S. typhi*

Coprocultivo : Protocolo de rutina



Fuente: USAL. Estudio microbiológico de heces. Coprocultivo. [Internet] 2001 [Consultado 28 Sep 2022]; Disponible en: http://webcd.usal.es/web/educativo/m_especial/35apincipal.htm

Anexo 10 Colonias típicas de *Salmonella* spp. en agar S-S (*Salmonella-Shigella*) y XTL4 (Xylose-Lysine-Tergitol 4)



Fuente: Ruíz MA. Colonias típicas de *Salmonella* spp. [Internet] 2018 [Consultado 12 Jul 2022]; Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v20n2/0123-3475-biote-20-02-117.pdf>

Anexo 11 Antibióticos empleados para el antibiograma de *Salmonella*.

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACIÓN
Amikacina	30 mcg
Ampicilina	10 mcg
Cefalotina	30 mcg
Ceftriaxona	30 mcg
Cloranfenicol	30 mcg
Dicloxacilina	1 mcg
Enoxacina	10 mcg
Eritromicina	15 mcg
Gentamicina	10 mcg
Netilmicina	30 mcg
Penicilina	10 U
Trimetoprim-Sulfametoxazol	25 mcg

Fuente: Ramírez A. Antibiograma para *Salmonella*. [Internet] 2019 [Consultado 12 Jul 2022]; Disponible en:

<http://www.repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/3643/1/Identificaci%C3%B3n%20Bioqu%C3%ADmica%20de%20los%20Diversos%20Tipos%20de%20Salmonella%20en%20el%20C3%81rea%20Natural%20Protegida%20%E2%80%9CLas%20Musas%E2%80%9D%20en%20Manuel%20Doblado%2C%20Guanajuato.pdf>

Anexo 12 Tinción Gram de *Salmonella typhi*



Fuente: Universe. Tinción Gram de *Salmonella typhi*. [Internet] 2019 [Consultado 12 Jul 2022]. Disponible en: <https://universe84a.com/collection/salmonella-typhi-gram-stain/>

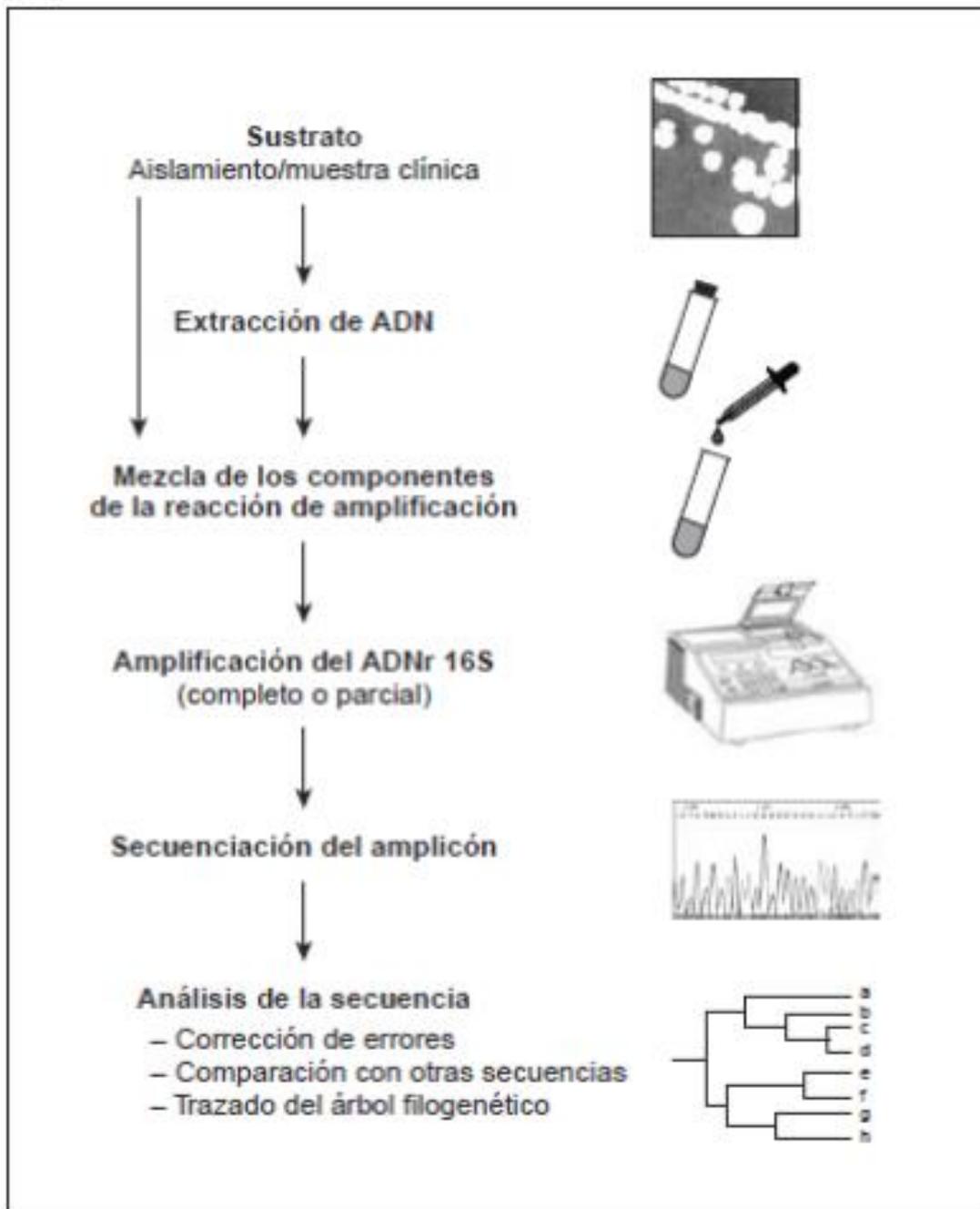
Anexo 13 Resultados de pruebas bioquímicas de identificación de especies de *Salmonella*

MEDIO / ESPECIE	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>	<i>Salmonella paratyphi B o C</i>
TSI - (color rojo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)
	Producción de gas (-)	Producción de gas (-)	Producción de gas (+)
	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+) (negro débil)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (-)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): (negro débil)
LIA - (color púrpura rojizo - tenue)	Descarboxilación de Lisina (fondo) (+): color púrpura	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color púrpura) /reacción ácida (color amarillo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color púrpura) /reacción alcalina (color púrpura)
	Desaminación de Lisina (-): color púrpura	Producción de gas (-)	Producción de gas (+)
	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): (color negro)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (-)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): (negro débil)

KIA - (color rojo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)	Superficie/Profundidad: reacción alcalina (color rojo) /reacción ácida (color amarillo)
	Producción de gas (-)	Producción de gas (-)	Producción de gas (+)
	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): (negro débil)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (-)	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): (negro débil)
SIM	Motilidad (+): presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra	Motilidad (+): presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra	Motilidad (+): presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra
	Indol (-): el color del reactivo permanece incoloro-amarillento	Indol (-): el color del reactivo permanece incoloro-amarillento	Indol (-): el color del reactivo permanece incoloro-amarillento
	Producción de ácido sulfhídrico H ₂ S (+): ennegrecimiento del medio	Motilidad positiva, indol positivo y sulfuro negativo	Motilidad positiva, indol y sulfuro positivos

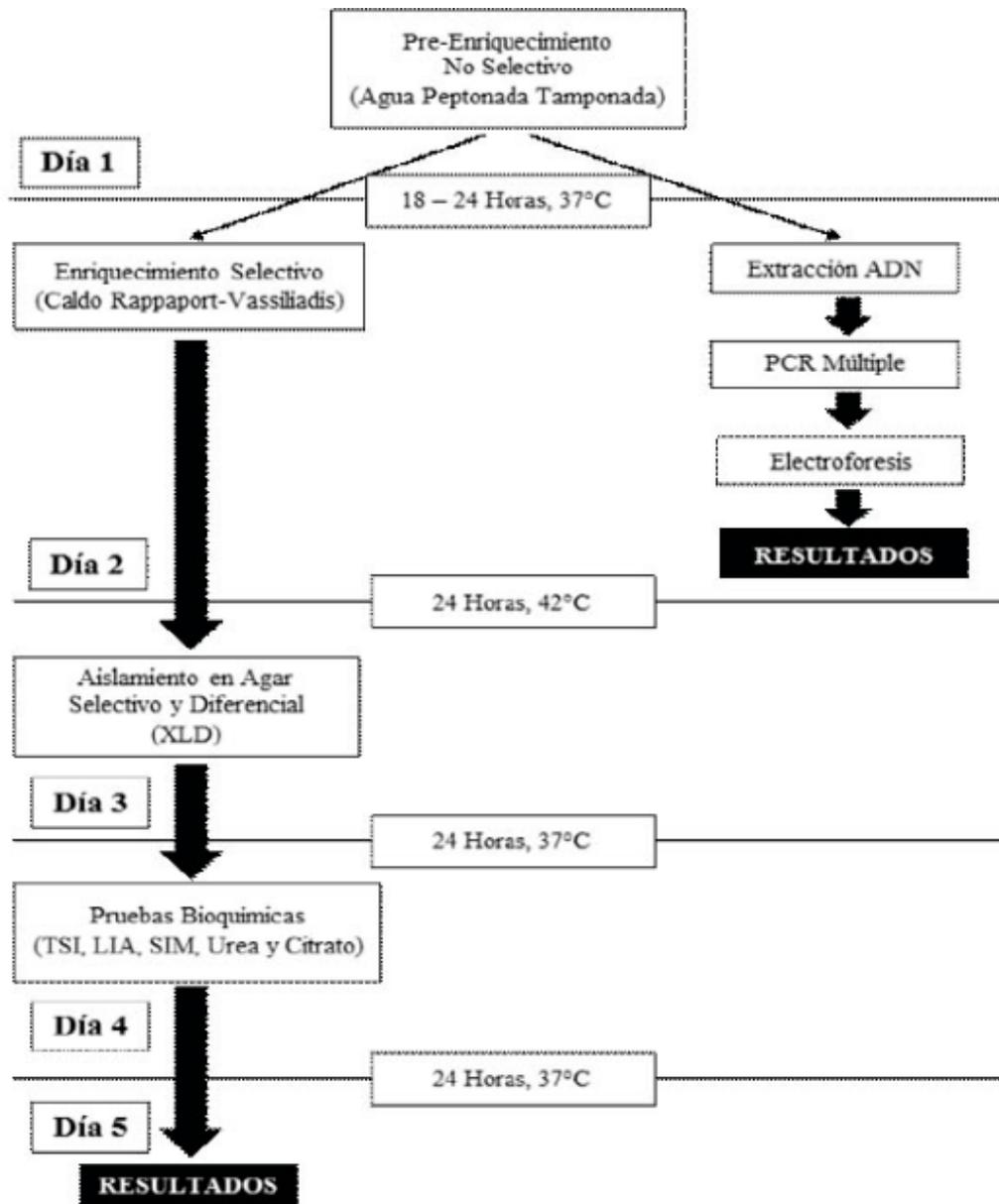
Fuente: Ramírez A. Pruebas bioquímicas para Salmonella. [Internet] 2019 [Consultado 12 Jul 2022]; Disponible en: <http://www.repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/3643/1/Identificaci%C3%B3n%20Bioqu%C3%ADmica%20de%20los%20Diversos%20Tipos%20de%20Salmonella%20en%20el%20C3%81rea%20Natural%20Protegida%20%E2%80%9CLas%20Musas%E2%80%9D%20en%20Manuel%20Doblado%2C%20Guanajuato.pdf>

Anexo 14 Diagrama de flujo de las etapas del proceso de identificación bacteriana mediante secuenciación de ADN.



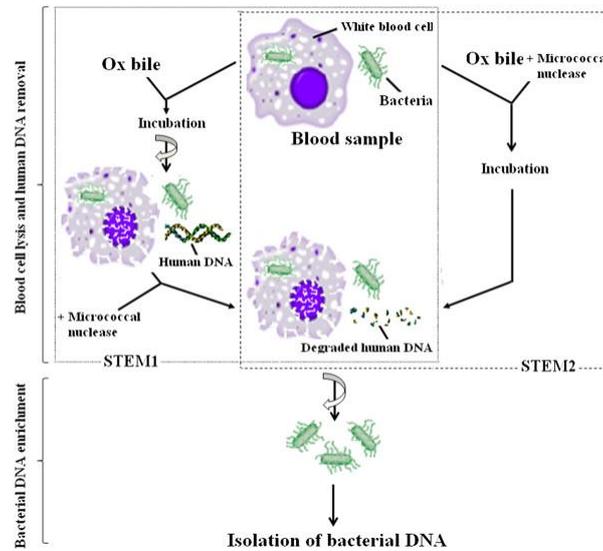
Fuente: SEIMC. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología [Internet] 2010 [Consultado 28 Sep 2022]; Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Anexo 15 Diagrama de flujo del procesamiento de muestras para detección de *Salmonella* spp. mediante análisis microbiológico y molecular.



Fuente: Díaz A. Evaluación de una Técnica de PCR-Múltiple para la Detección Rápida de *Salmonella* [Internet] 2017 [Consultado 28 Sep 2022]; Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000300025

Anexo 16 Formato y principio del método de enriquecimiento de ADN objetivo selectivo (STEM) para preparación de muestra en la técnica de PCR



Fuente: Principio del Modelo STEM. A novel method of selective removal of human DNA improves PCR sensitivity for detection of *Salmonella Typhi* in blood samples. BMC Infect Dis. [Internet] 2012 [Consultado 1 Jul 2022]; 12:164. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482578/>

Anexo 17 Comparación de sensibilidades de PCR entre las preparaciones de ADN

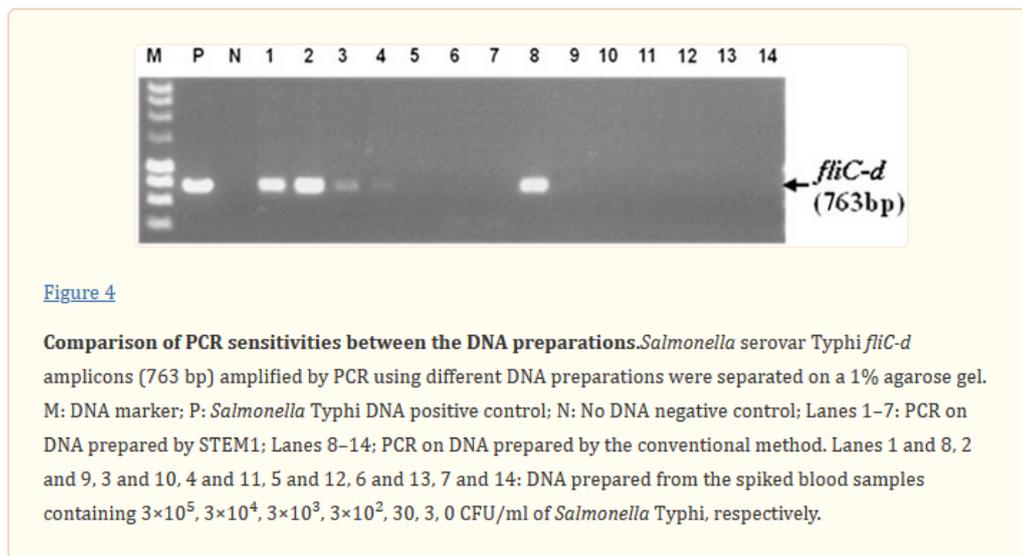


Figure 4

Comparison of PCR sensitivities between the DNA preparations. *Salmonella* serovar Typhi *fliC-d* amplicons (763 bp) amplified by PCR using different DNA preparations were separated on a 1% agarose gel. M: DNA marker; P: *Salmonella* Typhi DNA positive control; N: No DNA negative control; Lanes 1–7: PCR on DNA prepared by STEM1; Lanes 8–14: PCR on DNA prepared by the conventional method. Lanes 1 and 8, 2 and 9, 3 and 10, 4 and 11, 5 and 12, 6 and 13, 7 and 14: DNA prepared from the spiked blood samples containing 3×10^5 , 3×10^4 , 3×10^3 , 3×10^2 , 30, 3, 0 CFU/ml of *Salmonella* Typhi, respectively.

Fuente: Electroforesis de Muestra con el modelo STEM. A novel method of selective removal of human DNA improves PCR sensitivity for detection of *Salmonella Typhi* in blood samples. BMC Infect Dis. [Internet] 2012 [Consultado 1 Jul 2022]; 12:164. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482578/>