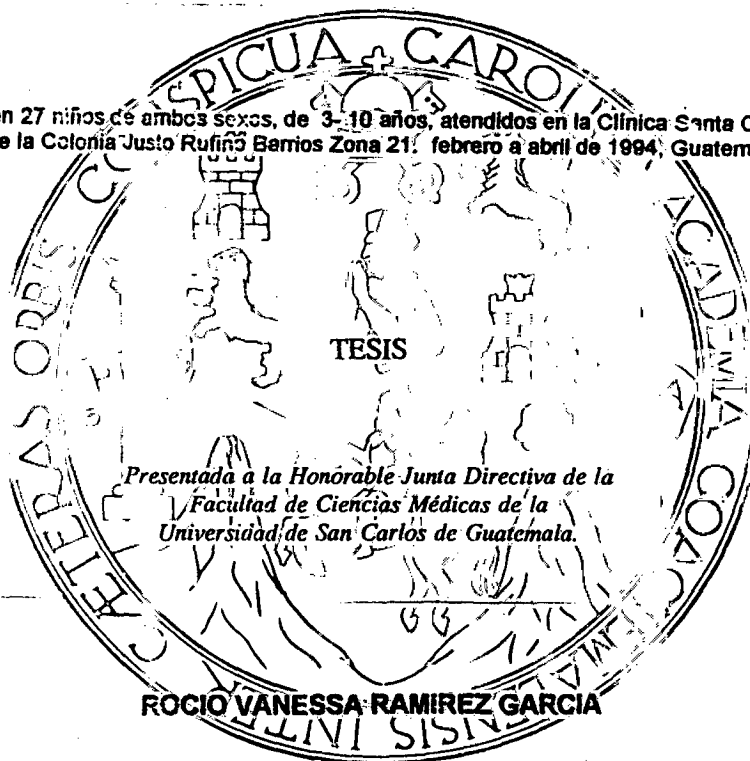


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**

**TITULACION DE ANTICUERPOS PARA FIEBRE TIFOIDEA POST- VACUNA  
ORAL TY21a**

Estudio en 27 niños de ambos sexos, de 3-10 años, atendidos en la Clínica Santa Clara de Asis de la Colonia Justo Rufino Barrios Zona 21, febrero a abril de 1994, Guatemala.



**ROCIO VANESSA RAMIREZ GARCIA**

*En el acto de investidura de:*

**MEDICO Y CIRUJANO**

Guatemala, noviembre de 1995

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central



FORMA C

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS  
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala, 31 de Octubre de 1955

Director Unidad de Tesis  
Centro de Investigaciones de las  
Ciencias de la Salud - Unidad de Tesis

Se informa que el: BACHILLER EN CIENCIAS Y LETRAS, Rocío Vanessa  
Título o diploma de diversificado, Nombres y ape-

Ramírez García Carnet No. 8712812  
llidos completos

Ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:

Titulación de anticuerpos para Fiebre Tifoidea por vacuna

oral TV21a.

y cuyo autor, asesor(es) y revisor nos responsabilizamos de los conceptos metodología, confiabilidad y validez de los resultados, pertinencia de las conclusiones y recomendaciones, así como la calidad técnica y científica del mismo, por lo que firmamos conformes:

  
Firma del estudiante

  
Asesor  
Firma y sello personal

DR. SALVADOR GRANADOS GANDAZA  
MEDICO Y CIRUJANO  
COLEGIADO 3107

  
Revisor  
Firma y sello

Registro Personal 8827

Dr. Roberto Pineda

MEDICO Y CIRUJANO  
COLEGIADO No. 1701

DL  
OS  
T (2975)

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FORMA D

HACE CONSTAR QUE:

El (La) Bachiller: ROCIO VANESSA RAMIREZ GARCIA

Carnet Universitario No. 87-12812

Ha presentado para su Branch General Publico, previo a optar al  
Titulo de Medico y Cirujano, el trabajo de Tesis titulado:

TITULACION DE ANTICUERPOS PARA FIEBRE TIFOIDEA POR

VACUNA ORAL TY21a.

Trabajo asesorado por: DR. SALVADOR GRANADOS GANDARA

y revisado por: DR. MARIO ROBERTO PINTO M.  
quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se lemite,  
firma y sella la presente

ORDEN DE IMPRESION:

Guatemala, 6 de noviembre de 1995

DR. EDGAR DE LEON BARILLOS  
Por Unidad de Tesis

DR. RAUL CASTILLO RODAS  
DIRECTOR  
CENTRO DE INVESTIGACIONES  
DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD

IMPRIMASE:



Dr. Edgar Axel Oliva Gonzalez  
DECANO

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

# INDICE

	PAG. No.
I. INTRODUCCION	1
II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA	2
III. JUSTIFICACION	3
IV. OBJETIVOS	4
V. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
VI. METODOLOGIA	11
VII. PRESENTACION DE RESULTADOS	15
VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	22
IX. CONCLUSIONES	23
X. RECOMENDACIONES	24
XI. RESUMEN	25
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
XIII. ANEXOS	29

## I. INTRODUCCION

En los países en vías de desarrollo, la Fiebre Tifoidea es una enfermedad que afecta a una parte de la población, siendo esta una enfermedad sistémica aguda resultante de la infección por *Salmonella Typhi*, adquirida casi siempre de la ingestión de comida o agua contaminada con excretas de pacientes con Fiebre Tifoidea o portadores de la enfermedad.

La mortalidad por Fiebre Tifoidea se ha reducido a un 2% en países desarrollados, sin embargo en países subdesarrollados se han reportado tasas de mortalidad que varían de 12-32% (5,6,7,9,15)

Actualmente existen vacunas contra Fiebre Tifoidea, las que ayudan a disminuir la morbilidad especialmente en áreas de endemidad, además de generar inmunidad a personas o grupos que estarán expuestos a riesgos elevados de adquirir la enfermedad (9).

Con el objeto de conocer la inmunidad que nos puede dar la vacuna oral contra la Fiebre Tifoidea TY21a (vivo tif) que consisten en una suspensión de acetona inactiva con calor y fenol, que contiene en cada cápsula al menos 10 a la 9 gérmenes vivos atenuado de la cepa *Salmonella Typhi Ty21a*, se tuvo la inquietud de realizar un estudio en niños que son susceptibles a padecer Fiebre Tifoidea.

Se tomó como sujeto de estudio a 27 pacientes de sexo masculino y femenino comprendidos entre 3 - 10 años de edad que asistieron a la Clínica Santa Clara de Asís, Zona 21 a los cuales se le determinó la presencia de anticuerpos antitíficos IgG post- vacuna por medio de la técnica de ELISA después de tres años de ingerida la vacuna oral.

Los resultados obtenidos fueron satisfactorios pues aún después de tres años de ingerida la vacuna, aún se encontraban los anticuerpos en los rangos establecidos para dar protección.

Todas las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

En conclusión es evidente la inmunidad que confiere la vacuna oral contra la Fiebre Tifoidea a los tres años de su administración, ningún caso presentó algún tipo de reacción adversa.

## II. DEFINICIÓN Y ANALISIS DEL PROBLEMA

A causa de que en Guatemala persisten enfermedades y muertes por causas prevenibles y controlables, podemos mencionar por ejemplo: las enfermedades infecciosas y parasitarias, especialmente aquellas que se transmiten por las malas condiciones del medio ambiente y por las malas prácticas higiénicas que se traducen en infecciones gastrointestinales (7), tal como la Fiebre Tifoidea que representan del 12-32% de la morbimortalidad en nuestro medio (5,6,7,9,15), y tomando en cuenta que la salud en nuestro país no se presta en forma suficiente y oportuna para mantener en niveles la salud de la población y preservación del medio ambiente en niveles adecuados; las jornadas de educación sanitaria y la práctica de la inmunización contra la Fiebre Tifoidea, llevando esta como último objetivo el de erradicar la enfermedad y la meta inmediata la prevención en los grupos de riesgo; se han elaborado vacunas tanto por vía oral como sistémicas, en las cuales se han observado que la inmunización oral proporciona protección (titulación de anticuerpos anti-Salmonella Typhi sostenida) sin dar efectos secundarios(1,2,3,8,13,14). Teniendo en consideración que la solución real al problema es el desarrollo de la atención primaria en salud.

En el año de 1991 se efectuó una inmunización por vía oral en la Clínica Santa Clara de Asis administrando 3 cápsulas de vacuna oral Ty21a durante tres días consecutivos a una población de 30 niños, comprendidos entre las edades de 3 a 10 años; al mes de haberseles administrado la tercera dosis, se les midieron anticuerpos en sangre (IgG), obteniéndose que el 100% estaba protegido. En el siguiente estudio se evaluó la persistencia de dichos anticuerpos tres años después de realizada la inmunización; considerando de suma importancia la validación de dicha vacuna para proponerla dentro del esquema tradicional de inmunización con vigilancia intensa y medidas adecuadas de control de salud pública.

### III. JUSTIFICACION

En Guatemala la Fiebre Tifoidea representa el 12-32% de morbimortalidad (5,6,7,9,15), y tomando en cuenta que dos de cada cinco defunciones corresponden a niños menores de cinco años; en más de la mitad de estos casos la muerte se debe a causas evitables, Diarrea en un 30.6% y además de la baja cobertura de los servicios de salud, existe la situación de que la población cubierta no goza de una buena calidad de servicios básicos (18).

Una de las alternativas que permitiría parcialmente aliviar el problema sería incorporar la inmunización contra la Fiebre Tifoidea por medio de la vacuna oral Ty21a, siendo esta una herramienta efectiva de Salud Pública para el control de dicha enfermedad, y así estaríamos contribuyendo a disminuir la tasa de morbimortalidad por Fiebre Tifoidea, no sustituyendo esta la necesidad de promover la salud y prevenir enfermedades en acciones integrales dirigidas a personas y a el ambiente de generar la educación higiénico-sanitaria.

#### IV. OBJETIVOS

##### OBJETIVO ESPECIFICO:

a) Determinar TITULACION DE ANTICUERPOS ANTI - FIEBRE TIFOIDEA y duración de la protección de la vacuna oral Ty21a, a los tres años de la administración.

##### OBJETIVOS GENERALES:

a) Determinar si la vacuna oral TY21a confiere protección contra la Fiebre Tifoidea.

b) Evaluar la efectividad de la vacuna después de tres años de administrada.



## V. REVISION BIBLIOGRAFICA

### A. Fiebre Tifoidea

#### A. Fiebre Tifoidea:

##### 1. Definición:

La fiebre tifoidea es una enfermedad febril de duración prolongada que se caracteriza por fiebre delirio, esplenomegalia, dolor abdominal y diversas manifestaciones generales, la cual afecta a niños como a adultos, siendo la mayoría de los individuos menores de 20 años.

##### 2. Etiología:

Los microorganismos del genero *Salmonella typhi*, son bacilos gram-negativos, no esporulados anaerobios, de longitud variable . Se conocen mas de 1,600 serotipos. Crecen en medios de cultivo pero no fermentan la lactosa ni sacarosa. Sobreviven en forma libre en agua durante largos períodos, son resistentes a la congelación.

##### 3. Clasificación:

Se clasifica en tres especies principales:

- Salmonella typhi tipo 1
- Salmonella Choleraesuis
- Salmonella Enteritidis

##### 4. Epidemiología:

La enfermedad se registra prácticamente en todas partes del mundo, en las zonas templadas se observa con mayor frecuencia a fines de verano y en los primeros días de invierno. La tifoidea es típicamente una enfermedad de la niñez y adulto joven. (5)

El bacilo tífico solo infecta al ser humano y los pacientes infectados eliminan *salmonella typhosa* a través de secreciones respiratorias , orina, heces, durante periodos variables de tiempo. La larga supervivencia de la *Salmonella* facilita la transmisión . (5,7)

Entre los factores de contaminación tenemos:

- Agua, contaminación con heces.
- Leche y derivados, contaminación heces por pasteurización inadecuada.
- Mariscos.
- Huesos secos o congelados de gallina infectada.
- Carne y sus productos de animales contaminados.
- Medicamentos sociales, drogas.
- Animales domésticos, tortugas , perros, gatos.
- Colorantes artificiales como el carmín.

##### 4. Anatomía Patológica:

Las bacterias pueden observarse en todos los organos. Los ganglios mesentericos, higado y bazo estan inflamados y muestran area de necrosis focal. El hallazgo predominante es hiperplasia del tejido reticuloendotelial con proliferacion de celulas mononucleares. Es frecuente la ulceracion que cura sin cicatriz.(5,7)

## 5. Manifestaciones Clínicas:

En niños se puede describir como un cuadro de gastroenteritis leve o el de una septicemia severa, son frecuentes los vomitos, diarrea y distension abdominal, la temperatura puede llegar hasta 40o C la ictericia, hepatomegalia, anorexia y perdida de peso pueden ser intensas. (5,7)

El periodo de incubacion promedio es de 10-20 dias, siguiendo por un curso irregular caracterizado por fiebre, malestar, mialgia, cefalea y dolor abdominal, mas frecuentes diarreas que estreñimiento y la tos es común. En una semana el cuadro se hace mas severo, el niño se ve agudamente enfermo, hay esplenomegalia y dolor abdominal, roncus y estertores diseminados en ambos campos pulmonares. Hay un rash maculo papular en un 80% de pacientes que dura 2-3 días.

## 6. Tratamiento:

### Medidas generales:

Nutricion adecuada, reposición de liquidos y reposo.

Tratamiento antimicrobiano con Cloranfenicol de 25 mg/kg/dia, o 50 a 100 mg/kg/dia en 4 dosis por 10 a 14 dias.

## VACUNA ORAL ANTI-FIEBRE TIFOIDEA TY21a

### 1. DEFINICION:

La vacuna oral TY21a es una suspensión de acetona inactiva con calor y fenol, conteniendo en cada cápsula al menos 10 a la 9 gérmenes vivos atenuados de la cepa Salmonella Typhi(8).

Esta vacuna está en experimentación en condiciones naturales, para evitar la infección por Salmonella Typhi en seres humanos. La eficacia de la vacuna va en el rango de 51% al 67%, sin embargo es conocido que el grado de producir resistencia por diferentes vacunas puede ser fácilmente incrementado por la inoculación .

La Fiebre Tifoidea es seguida por el incremento de la resistencia para la reinfección, pero el segundo ataque de Fiebre Tifoidea puede ocurrir bajo condiciones asociados con gran exposición al microorganismo (16,19).

Estudios experimentales con vacuna oral atenuada preparados con la cepa Ty21a de Salmonella Typhi tiende a ser seguro; es una vacuna fácilmente administrada y libre de efectos secundarios (1,2,3,6,13,14).

Un reciente estudio, en donde fue manejado adecuadamente la vacuna, utilizando Ty21a en cápsulas entericas administradas en tres dosis durante una semana, demostró que esta vacuna es tan efectiva como la vacuna parenteral, aunque esta última si da algunos efectos secundarios (16).

La fórmula de la vacuna Ty21a ha demostrado ser libre y efectiva como herramienta de Salud Pública para control de la Fiebre Tifoidea, vacunación que confiere altos niveles de protección con duración de tres años, sin las reacciones adversas que nos da la vacuna parenteral (7,9,16,21).

Hay también revisiones interesantes de la cápsula polisacárido de Salmonella Typhi Vi antígeno, como una vacuna parenteral para Fiebre Tifoidea, los estudios en Nepal tienden a demostrar la eficacia de esta en un 75%, después de una sola inyección (10).

## **2. OBJETIVOS DE LA IMUNIZACION:**

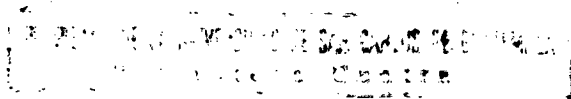
Los objetivos de la inmunización contra la Fiebre Tifoidea pueden describirse de la siguiente manera:

- a) Disminuir las tasas de morbilidad por fiebre tifoidea; en las áreas de endemidad y evitar la enfermedad en los visitantes de estas zonas.
- b) Reducir el riesgo de la enfermedad y sus complicaciones.
- c) Combatir el peligro de brote epidémico con motivo de catástrofes naturales o provocadas.
- d) Conferir protección ante el recrudecimiento o aparición de un brote epidémico de grandes proporciones.
- e) Sostener el estado de protección durante el mayor tiempo posible.
- f) Generar inmunidad a personas o grupos que estarán expuestos a riesgos elevados de contraer la enfermedad, comparativamente a su país de origen (20).

El objetivo principal de la vacunación reside en provocar en el niño, en forma activa y específica y sin consecuencias adversas, un grado de resistencia eficaz frente a la enfermedad.

En términos generales de la inmunización se alcanza mediante la introducción artificial de un antígeno constituido ya sea por un agente bacteriano vivo o muerto y por productos microbianos solubles.

Es importante saber que el éxito del procedimiento de la vacunación depende de varios factores:



- a) Calidad de la vacuna
- b) Conservación de la vacuna
- c) Manipulación
- d) Fecha de vencimiento de la vacuna
- e) Efectos secundarios
- f) Aceptación de la colectividad
- g) Desarrollo de los servicios de salud encargados de su aplicación (7,20).

### 3. VACUNAS CON GERMENES VIVOS

Son de administración oral. En fecha reciente se ha logrado obtener una vacuna nueva atenuada a partir de la denominada cepa TY21a, su administración requiere tres cápsulas, administradas en tres dosis, 1 cápsula cada 48 horas que contienen el bacilo atenuado (10 a la 9 gérmenes vivos).

Algunas presentaciones de la vacuna requiere la ingestión de 2 cápsulas de bicarbonato de sodio minutos antes de la ingestión de la cápsula de la vacuna, se hace para disminuir la acidez del estómago o sea que se usan como neutralizadores de la acidez gástrica (13,20,21).

El efecto protector de las vacunas orales se inician pocos días después de iniciada la última dosis y se mantiene durante tres años. Los efectos secundarios son inexistentes, solamente manifestaciones gastrointestinales leves (6,7,13).

La inmunidad que proporciona la vacuna es humoral aunque fue observada inmunidad celular contra *Salmonella Typhi* usando una prueba antibacteriana *in vitro*, en voluntarios vacunados oralmente con cepa mutante de *Salmonella Typhi* TY21a, demostrando con ello que se induce la inmunidad celular.(13,20,21)

La vacuna es capaz de inducir producción de INMUNOGLOBULINA IgG contra la bacteria, además de Ig A contra los antígenos somáticos O y H. Se han realizado diferentes estudios con las vacunas orales contra la Fiebre Tifoidea en Chile en un , Egipto , Indonesia y USA; obteniendo resultados satisfactorios (13,20,21).

Desde 1925 se han hecho ensayos en humanos con cepas atenuadas, los resultados no fueron alentadores ya que hubo muertes de militares vacunados y los estudios que se prosiguieron en niños no fueron concluyentes. Por los años 60 se dió un nuevo impulso a las investigaciones sobre la inmunidad a nivel intestinal , una consecuencia de ello ha sido el ensayo con vacunas de *Salmonella Typhi* inactivada que se administra por vía oral (9).

Las vacunas orales que necesitan de 1 cápsula de bicarbonato de sodio, son debido a la acidez gástrica, lo cual ayuda para neutralizar la acidez, no disminuye la efectividad en un estudio realizado en Egipto (11,21).

Se realizaron estudios en ratones inoculados por vía oral y subcutánea, demostrando que los ratones que recibieron la vacuna subcutánea tuvieron mayor incidencia de septicemia y mortalidad que los ratones inoculados oralmente (9).

#### **4. INMUNIDAD INNATA:**

El cuerpo humano tiene capacidad para resistir casi todos los tipos de organismos o toxinas que tienden a lesionar tejidos y órganos. Esta capacidad se llama inmunidad. Gran parte de la inmunidad depende, en general, de un especial sistema productor de anticuerpos y linfocitos sensibilizados que atacan y destruyen los organismos específicos a las toxinas. Este tipo de inmunidad es la inmunidad adquirida.

Sin embargo, una parte adicional de inmunidad resulta de procesos generales, más que de procesos dirigidos contra organismos patológicos específicos. Esta es la llamada inmunidad innata.(1).

#### **5. INMUNIDAD ADQUIRIDA:**

Esta es la inmunidad específica muy poderosa contra agentes invasores como bacterias, Virus, toxinas e incluso tejidos extraños de otros animales; hay dos tipos de inmunidad adquirida estrechamente relacionadas; en una de ellas, el cuerpo produce anticuerpos circulantes, moléculas de globulina capaces de atacar al agente invasor. Este tipo de inmunidad se llama inmunidad humoral. El segundo tipo de inmunidad adquirida se logra por la formación de gran número de linfocitos muy especializados, específicamente sensibilizados contra el agente extraño. Estos linfocitos sensibilizados poseen la capacidad especial de fijarse al agente extraño y destruirlo. Este tipo de inmunidad se llama inmunidad humoral. (1)

#### **6. NATURALEZA DE LOS ANTICUERPOS:**

Los anticuerpos son globulinas gamma llamadas inmunoglobulinas, de pesos moleculares entre aproximadamente 150,000 y 900,000. Todas las inmunoglobulinas están formadas por combinación de cadenas polipeptídicas pesadas y ligeras.

muestra un extremo de cada una de las cadenas ligeras y pesadas, llamadas la porción constante. La porción variable es diferente para cada especificidad del anticuerpo y es esta porción la que permite que el anticuerpo se una específicamente a un tipo particular de antígeno. La porción constante del anticuerpo originado como movilidad del anticuerpo en los tejidos, adherencia del anticuerpo a estructuras específicas dentro de los tejidos, facilidad con la cual los anticuerpos atraviesan las membranas, y otras propiedades biológicas del anticuerpo.

## **7. CLASES DE ANTICUERPOS:**

Hay cinco clases generales de anticuerpos llamados respectivamente IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Ig significa inmunoglobulinas; las otras cinco letras simplemente denominan las diferentes clases de inmunoglobulinas.

Para la exposición actual tienen importancia especial dos de estas clases de anticuerpos: IgG, que constituye aproximadamente el 75% de los anticuerpos de una persona normal, e IgE que sólo constituye un pequeño porcentaje. (1)

## VI. METODOLOGIA:

### A. TIPO DE ESTUDIO:

Observacional, Descriptivo transversal.

### B. SUJETO DE ESTUDIOS:

Veinti siete niños de sexo masculino y femenino comprendidos entre las edades de 3 a 10 años, los cuales no presentaron cuadro compatible con Fiebre tifoidea y fueron inmunizados hace tres años en la Clínica Santa Clara de Asís con la vacuna Ty21a, a los cuales se les extrajeron 5cc de sangre . los que se centrifugaron y se obtuvo 2 centímetros de suero necesario para la medición de anticuerpos antitíficos IgG por medio de la Técnica de ELISA, las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Multidisciplinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### C. UNIVERSO A ESTUDIAR:

Veinti siete niños de ambos sexos, comprendidos entre las edades de 3-10años que se les administró vacuna oral Ty21a de Fiebre Tifoidea.

### D. MARCO MUESTRAL:

Se realizó el muestreo con veinti siete niños de un total de 30 que fueron estudiados en el año de 1991 en la Clínica Santa Clara de Asís, debido a que no fue posible la localización de tres. sin embargo la muestra es representativa ya que a los veinti siete se les aplico en esa oportunidad la vacuna oral Ty21a anti Fiebre Tifoidea.

### E. CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION:

- a. **INCLUSION:** Pacientes comprendidos entre las edades de 3-10 años de edad que hayan sido inmunizados hace tres años con la vacuna Ty21a en la Clínica Santa Clara de Asís.
- b. **EXCLUSION:** Pacientes que hayan presentado cuadro de Fiebre Tifoidea post- inmunización. Pacientes que hayan presentado cuadro intestinal y fiebre de etiología a determinar. Pacientes que no fueron encontrados en las direcciones habitacionales.

### F. VARIABLES A ESTUDIAR:

Titulación de anticuerpos antitíficos IgG.

### DEFINICION CONCEPTUAL:

Pertenece a un grupo de inmunoglobulina (IgG) específico para Salmonella Typhi.

## DEFINICION OPERACIONAL:

Mediante la técnica de ELISA se determinó la titulación de anticuerpos anti Salmonella Typhi, postvacunación oral con TY21a contra la Fiebre Tifoidea.

Todos los resultados se obtuvieron de la lectura en el lector de ELISA, es un aparato como un espectrofotometro, con un filtro de 405 nanómetros. Fueron leídos todos los pozos con sueros de pacientes vacunados. Los valores que se utilizaron para la media ( $\bar{X}$ ) y desviación Standar(S) fueron de los pacientes control no vacunados

Las fórmulas utilizadas fueron:

$$\text{MEDIA ARITMETICA: } \bar{X} = \frac{\sum FX}{N} = 0.12$$

$$\text{DESVIACION STANDAR: } S = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X)^2}{N}} = 0.009$$

$$\text{RESULTADO POSITIVO: } \bar{X} = 3S$$

$$\text{RESULTADO NEGATIVO: } < 0.15$$

$$\text{RESULTADO POSITIVO: } \geq 0.15$$

## G. MATERIAL DE ESTUDIO:

- a. Cincuenta jeringas descartables de 5cc.
- b. Cien frascos esteriles de vidrio de 5cc para recolección y conservación de sueros.
- c. Un termo con hielo.
- d. Un refrigerador.
- e. Papel parafinado
- f. Gradillas de metal
- g. Cien tubos de ensayo
- h. Tres vacunas orales para cada paciente contra la Fiebre Tifoidea (Ty21a)
- i. Aparato Lector de ELISA
- j. Técnica de ELISA
- k. Pipetas de un centésimo, un décimo y un centímetro
- l. Un rollo de maskin tape.

## H. EJECUCION DE LA INVESTIGACION

Para el desarrollo del estudio se realizó primero una revision bibliografica de literatura sobre inmunizaciones de vacunas contra la Fiebre Tifoidea y reacciones inmunologicas para tener mayor orientación, luego se procedió a elegir una muestra significativa ya establecida, sin embargo se procedió de nuevo a sacar la muestra significativa mediante la fórmula descrita anteriormente obteniendo una muestra de veinti siete pacientes.

Al obtener el número de la muestra se elaboró la boleta necesaria para la recolección de datos basados en los objetivos del estudio que se establecieron, los datos de la boleta



importantes fueron: Datos Generales, Antecedentes Personales, Inmunizaciones (especialmente contra la Fiebre Tifoidea) Administradas, Titulación de Anticuerpos post vacuna oral TY21a.

Se procedió a ubicar a los niños que habían sido sujeto de estudio anteriormente y se recolectaron los datos y se obtuvieron las muestras de sangre de los veinte y siete pacientes, a los cuales se les extrajo cinco centímetros cúbicos de sangre, luego se procede a colocarse en un frasco estéril debidamente tapado y rotulado con el nombre de cada paciente, estas muestras de sangre se fueron depositando en una hielera para conservarla a temperatura adecuada y no existiera margen de error en el procedimiento.

Luego de haber obtenido los sueros de los veinte y siete pacientes vacunados anteriormente con la vacuna oral vivotif (TY21a), se procedió a realizar la técnica de ELISA, para medir los niveles de anticuerpos anti Salmonella Typhi post- vacuna oral TY21a (vivotif).

a. Para fijar el Antígeno:

Para la fijación del antígeno Salmonella Typhi, se utilizó Buffer carbonato con un ph de 9.6.

Para la sensibilización de la placa se diluyó al antígeno en el Buffer carbonato 1:1000. Luego se colocó en cada pozo 200 microlitros de la dilución (27 pozos) y se cubre con papel parafina y se deja 24 horas.

b. Técnica de ELISA:

A las 24 horas después de fijado el antígeno, se drenó y se lavó con solución de lavado por 3 veces colocando 200 microlitros de solución de lavado a cada pozo. Se drenó nuevamente y se colocó a cada pozo 100 microlitros del suero de cada paciente diluido 1:100 luego se encuba en una caja húmeda a treinta y siete grados centígrados durante una hora.

Al terminar la hora se drenó nuevamente a la placa y se lavó por 3 veces con solución de lavado 200 microlitros en cada pozo y se drenó. Luego se le agregó solución de conjugado de inmunoglobulina (IgG) anti humana diluido 1:1000, colocando 100 microlitros a cada pozo. Luego se encubó en una caja húmeda a treinta y siete grados centígrados.

Al terminar 1 hora, se drenó y se lavo la placa con 200 microlitros de solución de lavado a cada pozo 3 veces y se drenó. Luego se le agregó el sustrato (Fosfatasa alcalina) 100 microlitros a cada pozo, y se dejó en cámara húmeda a temperatura ambiente durante treinta minutos.

Pasados los 30 minutos se le agregó solución de par preparado para el color (NaOH 2 normal) a cada pozo.

Se hizo la misma técnica para los 27 pacientes post-vacuna oral TY21a vivotif.

Para la lectura de los resultados se utilizó el aparato lector de ELISA y el filtro que se utilizó fue 405 nanómetros (densidad óptica).

Densidad Óptica: en este estudio se determinó la densidad óptica como la intensidad del color que mide a través del lector de ELISA con un filtro de 405 nanómetros en un espectrofotómetro. Se consideraron como valores positivos todos los niveles de anticuerpos antitíficos con densidad óptica mayor de 0.15 y como negativa todos los valores menores de 0.15.

El valor de 0.15 se obtuvo de la media de los valores controles o sea a los pacientes antes de ser vacunados más tres desviaciones Standar.

**VII PRESENTACION DE RESULTADO**

**CUADRO No. 1**

Distribución de 27 pacientes estudiados según edad y sexo.  
Clínica Sta. Clara de Asís Zona 21. Abril 94

EDAD AÑOS	SEXO		TOTAL	%
	F	M		
3				
4				
5	1	2	3	11.10
6	2	1	3	11.10
7	1	5	6	22.20
8	2	2	4	14.80
9	2	1	3	11.10
10	5	3	8	29.62
<b>TOTAL</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>27</b>	<b>100%</b>

**FUENTE:** Boleta de recolección de datos

## CUADRO No.2

Determinación de anticuerpos Antisalmonella Típhi en suero de 27 pacientes 3 años después de ingerir la vacuna oral Ty21a. Clínica Sta. Clara de Asis. Abril de 1994

	RESULTADO POST-VACUNA		3 AÑOS DESPUES	
	AÑO 1991		AÑO 1994	
	No.	%	No.	%
POSITIVO	27	100	27	100
NEGATIVO	—	—	—	—

FUENTE: Boleta de recolección de datos

\*Densidad óptica positiva

**CUADRO No. 3**

Densidad óptica en la determinación de anticuerpos. Antisalmonella Typhi en suero de 27 pacientes antes de la vacunación. Clínica Sta. Clara de Asis zona 21. Abril 1994

Densidad Óptica	FRECUENCIA	
	Antes de Vacuna	Control de Buffer
0.11	10	1
0.12	8	
0.13	7	
0.14	1	
0.15	1	
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>1</b>

FUENTE. Boleta de recolección de datos

**CUADRO No. 4**

Densidad óptica en la determinación de anticuerpos. Antisalmonella Typhi en suero de 27 pacientes post-vacuna oral. Ty21a Clínica Sta. Clara de Asis zona 21. Abril 1994

Densidad Óptica	FRECUENCIA Post-Vacuna
0.30	4
0.40	7
0.50	6
0.60	10
0.70	
0.80	
0.90	
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>

FUENTE. Boleta de recolección de datos

\* Densidad óptica positiva  $\geq 0.15$

## Cuadro No. 5

Índice de densidad óptica por la técnica de Elisa en la determinación de anticuerpos, antígenos en 27 pacientes, estudiados en la clínica Sta. Clara de Asís. Abril/94

No. de Pacientes	No vacunados	Índice del año 1991	Índice del año 1994
1	0.122	0.598	0.505
2	0.121	0.499	0.669
3	0.112	0.602	0.632
4	0.112	0.602	0.687
5	0.118	0.554	0.543
6	0.132	0.533	0.275
7	0.127	0.584	0.487
8	0.119	0.662	0.380
9	0.132	0.708	0.403
10	0.138	0.637	0.815
11	0.142	0.646	0.628
12	0.147	0.716	0.656
13	0.118	0.659	0.591
14	0.116	0.674	0.620
15	0.125	0.615	0.570
16	0.133	0.811	0.542
17	0.130	0.686	0.469
18	0.136	0.660	0.643
19	0.117	0.633	0.634
20	0.115	0.679	0.497
21	0.118	0.634	0.600
22	0.127	0.569	0.490
23	0.130	0.547	0.475
24	0.132	0.311	0.213
25	0.128	0.637	0.618
26	0.120	0.638	0.462
27	0.113	0.603	0.300

\* FUENTE: Boleta de recolección de datos y resultados de laboratorio multidisciplinario. CCOM-USAC

## GRAFICA DE GANTT

TIPO DE ACTIVIDAD	FEB				MAR				ABR				MAY				JUN			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Selección del tema a investigar																				
2. Elección de asesor y Revisor																				
3. Recopilación Bibliografica																				
4. Elaboración de protocolo																				
5. Aprobación de protocolo por USAC																				
6. Trabajo de campo																				
7. Tabulación de resultados																				
8. Elaboración de informe																				
9. Presentación de informe final																				
10. Aprobación de informe Final																				
11. Fecha de Graduación																				



## VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En este estudio de seguimiento a los niños vacunados hace tres años de administrada la vacuna se encontro que el 100% de los pacientes vacunados presentaron anticuerpos IgG anti Salmonella typhi, comparativamente con otros estudios realizados en otros países los resultados nuestros son satisfactorios.

Algo muy importante fue que durante el tiempo que duro el estudio, ningun paciente presentó cuadro similar a Fiebre Tifoidea, lo que posiblemente correlacione con la respuesta inmune humoral anti S. Typhi, observada en la determinación de anticuerpos IgG.

Por lo tanto contando con este estudio y con la medición de los anticuerpos IgG si se mantienen en niveles para dar protección por lo que se considera que se debe recomendar al Ministerio de Salud Pública que esta vacuna puede ser utilizada en grupos de personas susceptibles a padecer la Fiebre tifoidea o en casos de epidemias.

Además podemos agregar que dicha vacuna oral Ty21a confiere protección sin causar reacciones adversas. Tambien podemos decir que este estudio no se puede comparar con los estudios realizados en otros países ya que las condiciones del medio ambiente varian tanto de un país a otro.

### **IX. CONCLUSIONES:**

- 1. De los 27 pacientes a quines se les administro la vacuna TY21a contra la Fiebre Tifoidea el 100% presento después de tres años después de administrada la misma anticuerpos IgG antitíficos en suero, en niveles protectores..**
- 2. Durante los tres años consecutivos a la vacunación ningún paciente presento alguna reaccion adversa.**
- 3. Para los niños de este estudio se considera como efectiva la vacuna oral TY21a contra la Fiebre Tifoidea a los tres años de administrada.**

## X. RECOMENDACIONES:

1. Promover la vacunación contra la fiebre Tifoidea en grupos susceptibles a padecer la enfermedad en caso de epidemia
2. Hacer investigaciones más amplias sobre la vacuna oral TY21a contra fiebre tifoidea en otros grupos etareos sujetos a riesgo.
3. Dar seguimiento a este grupo de pacientes para realizarles una nueva medición de anticuerpos.
4. Promover la salud , previniendo enfermedades en acciones integrales generando la educación higiénico sanitaria.

## XI. RESUMEN

La Fiebre Tifoidea es una enfermedad endémica en Guatemala, la cual sigue causando gran morbilidad y mortalidad entre un 12%-32%, siendo la población infantil la más susceptible y asociada a las inadecuadas condiciones de saneamiento ambiental que existen, especialmente por agua contaminada, por heces de pacientes con Fiebre Tifoidea (15). y tomando en cuenta que en el año de 1991, se realizó un estudio, se decidió dar seguimiento a éste, el cual tomó como sujeto de estudio a niños de ambos sexos comprendidos entre las edades de 3 a 10 años, los cuales se retomaron trabajando con 27, quienes son originarios de la Aldea Loma Blanca, zona 21 que asistieron a la Clínica familiar Sta. Clara de Asís.

El estudio consistió en la inmunización de 30 pacientes con la vacuna oral TY21a (vivotif), en marzo de 1991, a quienes por medio de la técnica de ELISA se les determinó anticuerpos antitíficos IgG en suero. Se elaboró una boleta de la cual se obtuvieron datos con los cuales se ubicó a cada niño y se procedió a realizar dicho estudio.

Teniendo en consideración que la solución real al problema es el desarrollo de atención primaria, promoviendo la salud, previniendo enfermedades en acciones integrales dirigidas a personas y al ambiente, de generar la educación higiénico-sanitaria, producir cambios en hábitos, actitudes y orientando los servicios básicos de la salud para atender las necesidades más apremiantes de la población generando así la atención integral a la salud.

Muy importante fue que el 100% de los pacientes vacunados presentaron a los tres años de administrada la vacuna, anticuerpos IgG antisalmonella Typhi, comparativamente con otros estudios realizados en Chile con un , Egipto , Indonesia , los resultados nuestros son satisfactorios confirmando que la vacuna TY21a es capaz de inducir anticuerpos IgG anti Salmonella Typhi (20,21, 4, 23).

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arthur c. Guyton. Dr. TRATADO DE FISIOLOGIA MEDICA. Interamericana, 6a. edición, pp 94-95.
2. Clinicas Pediatricas de Norteamerica, Vacunas Pediatricas; actualización 1990. Vol 37; 3ero en ingles pp797
3. Edelma R Levine MM. Summary of an Intenational workshop pon typhoid fever. Rev infec d dis 1986; 8: 329-49.
4. Gupta SP. Gupta ms, Bhardway s, et 5 al. Current clinical patters of typhoid fever; o prospective study. J trop medhgy. 1985.
5. Gorbach, S.L. Fiebre Tifoidea y Salmonelosis. Cecil, Tratado de Medicina Interna. 17a. México Interamericana 1986. T II. pp 1771-1774.
6. Guerrante, R.L. Salmonella Infections. Harrison Principles of Internal Medicine. 11a. Ed. Mc Graw Hill Book. 1987. pp 592 -596.
7. Jawetz, E. Las Salmonellas. Microbiología Médica 9a. Ed. México. El Manual Moderno 1981. pp226-229.
8. Krugman, s et al. Infecciones por Salmonella y Fiebre Tifoidea enfermedades infecciosas. México, Interamericana, 1980. pp 267-676.
9. Icumate, Jesus. Fiebre Tifoidea. Inmunidad- Inmunización vacunas. 39 Ed. México, Editor 1983 pp 229-248.
10. Levine MM, Ferreccio C, Black re, et al. Chilean Tiphoid Committee large-scale field trial or Ty21a live oral typhoid vaccine in enteric-coated capsule formulation, lancet 1987.
11. Ministerios de Salud Pública y Asistencia social, Plan Operativo Anual 1994, Instrumento de Negociación, Noviembre de 1993.
12. Meneghello, R. Julio Inmunización contra la fiebre Tifoidea, Pediatría; 39 Ed. Santiago, Mediterraneo 1985 pp 350.
13. Martinez, Mario Luis. Incidencia de Fiebre Tifoidea. Tesis (Médico y Cirujano), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala 1982.
14. Nikaido, H. Further. Characterization or the salmonella typhi TY21a vaccine strain. J Infections dis 1988 jun; 157 (6): 1276-1277.
15. Nelson, E.W. Fiebre Tifoidea. Tratado de Pediatría, 10 Ed. México, Interamericana, 1985. T.L. pp 671-689.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

16. Ochoa Barrios Marisol. Titulacion de Anticuerpos contra Salmonella Typhi pos vacuna oral, vivotif. Tesis (Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Médicas 1991.
17. Principles and practices of Infectious Diseases/edited by gerald 1. Mandell, R Gordon Douglas, Jr. John e. Bennett. 3rd. Ed 1990; 199:1711.
18. Pether Jus, Scott RJD. Salmonella carriers, are they dangerous. A study to identify finger contamination with salmonella by convalescenths carrier. J infect 1982 5:51-8.
19. Public Health Service advisory committee on immunization practices. Typhoid vaccine. MMWR. 1978; 27:231.
20. Silva, B. A. Genetic Characterization of the Salmonella Typhi strain. vaccine Ty21a. Infection dis 1987 jul; 155:1077-1078.
21. Tagliaba, Aldo et al. Iga-Driven T Cell Mediated Antibacterial Immunity in monkey after live oral Ty21a vaccine. J. immunology 1987 sat; 37(5):1504-1510.
22. Hook, EW. Typhoid, Fever today. N. Englad J. med 1934. jan 15. 311(2):681-692.
23. Robbin S.L. et al Salmonella. Patología estructural y Funcional. 2a Ed. Médico Interamericana.

XIII ANEXO

**ANEXO No. 1**

**BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS.**

**FECHA:**

**NOMBRE:**

**EDAD:**

**SEXO:**

**DIRECCION:**

**NOMBRE DE LOS PADRES:**

**ANTECEDENTES:**

**PERSONALES  
INMUNIDAD:**

**MEDICOS:**

**TITULACION DE ANTICUERPOS PREVIO A LA VACUNA:**

**TITULACION DE ANTICUERPOS POST VACUNA ORAL TY21a EN EL AÑO  
DE 1991.**

**TITULACION DE ANTICUERPOS TRES AÑOS DESPUES DE ADMINISTRADA  
LA VACUNA ORAL TY21a (1994).**



