

Prevalencia de anticuerpos anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi en individuos de Culiacán, Sinaloa, México

Prevalence of anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi antibodies in individuals from Culiacan, Sinaloa, Mexico

Casal-Rodríguez, K.A.¹, González-Orozco, M.J.¹, Beltrán-López, E.^{1,2}, Uribe-Beltrán, M.J.³, Osuna-Ramírez, I.³, López-Moreno, H.S.^{1*}

¹Laboratorio de Biomedicina Molecular, CAC Biotecnología Biomédica UAS-264, Posgrado en Ciencias Biomédicas y Posgrado en Biotecnología en Salud, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC. Héctor Cuén Ojeda", Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, ³Unidad de Investigación en Salud Pública, Louis Pasteur, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de anticuerpos específicos anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi en individuos de Culiacán, Sinaloa, México. Se llevó a cabo un estudio transversal en el Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC Héctor Cuén Ojeda" de Culiacán, Sinaloa, México, durante el periodo 2009-2010. En este estudio participaron 366 individuos que se acudieron al laboratorio para la obtención de un certificado médico. A los sueros de cada uno de los participantes se les realizó la reacción de Widal. Las muestras Widal-positivas (dilución $\geq 1:160$), fueron analizadas mediante *Western blot* empleando un extracto antigénico de *Salmonella* Typhi (EAST). De los 366 sueros analizados, el 10.11% (n=37) fueron Widal-positivos. La técnica *Western blot* realizada con estos sueros permitió evidenciar los 4 antígenos más inmunorreactivos; 35 (94.6%) detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) la de 24 kDa e igual número la de 30 kDa; adicionalmente, 33 (89.2%) la de 60 kDa. En conclusión, se obtuvo una seroprevalencia anti-S. Typhi del 10.11%, se identificaron 4 proteínas del EAST con inmunoreactividad elevada (>89%), el antígeno de 25 kDa fue el inmunodominante. Es necesario continuar estudiando las proteínas detectadas, además de ampliar la estimación de la seroprevalencia de S. Typhi, cuya infección mantiene a Sinaloa dentro de los 5 estados con mayor incidencia de Fiebre Tifoidea en México.

Palabras clave: Antígenos, Fiebre Tifoidea, Seroprevalencia, Antígeno Inmunodominante.

ABSTRACT

To estimate the prevalence of specific antibodies against *Salmonella enterica* serovar Typhi (S. Typhi) in individuals from Culiacan, Sinaloa, Mexico. A cross-sectional study was conducted at the University Clinical Analysis Laboratory "MC Héctor Cuén Ojeda" in Culiacán, Sinaloa, Mexico, during the period 2009-2010. In this study, 366 individuals attended the laboratory to obtain a medical certificate. The serum of each individual was obtained and analyzed by Widal agglutination. Positive samples to Widal (dilution 1:160), were tested by Western blotting using an antigenic extract of S. Typhi (AEST). Of 366 sera analyzed, 10.11% (n=37) were Widal-positive. The Western blot developed using these sera revealed four prominent antigens: a 25 kDa protein was recognized by 35 sera (94.6%), 24 kDa and 30 kDa proteins were reactive to the same number of sera, with 34 (91.9%), and 33 (89.2%) recognized a 60 kDa protein. In conclusion, the anti-S. Typhi seroprevalence obtained was 10.11%, and four proteins derived from AEST were identified with high immunoreactivity (>89%), the 25 kDa antigen was the immunodominant. It is necessary to continue studying these detected antigens and increase our knowledge about the estimation of seroprevalence of S. Typhi, whose infection keeps Sinaloa within the 5 states with the highest incidence of Typhoid Fever in Mexico.

Keywords: Antigens, Typhoid Fever, Seroprevalence, Immunodominant antigen

*Autor de correspondencia: Héctor Samuel López Moreno

E-mail: hslmoreno@uas.edu.mx

ORCID ID: [0000-0001-7391-205X](https://orcid.org/0000-0001-7391-205X)

Registro ORCID Autores: CRK: [0000-0002-8907-4035](https://orcid.org/0000-0002-8907-4035), GOM: [0000-0001-7299-3361](https://orcid.org/0000-0001-7299-3361), EBL: [0000-0002-8604-2847](https://orcid.org/0000-0002-8604-2847),

ORI: [0000-0002-4419-0710](https://orcid.org/0000-0002-4419-0710)

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

INTRODUCCIÓN

La Fiebre Tifoidea (FT) es una enfermedad infecciosa sistémica causada principalmente por la bacteria intracelular *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*), que afecta exclusivamente al ser humano (Stürchler, 2023; Zhang *et al.*, 2008). Es uno de los principales problemas de salud en el mundo, con mayor impacto en morbilidad y mortalidad en países en vías de desarrollo, donde el acceso al agua potable es limitado, los sistemas sanitarios deficientes y los hábitos higiénico-alimenticios son inadecuados (Farooqui *et al.*, 2009; Mweu & English, 2008; Parry *et al.*, 2011). En este escenario, *S. Typhi* se disemina a través del agua (Farooqui *et al.*, 2009), alimentos u objetos contaminados con heces u orina de personas portadoras de la bacteria (Crump *et al.*, 2004; Crump & Mintz, 2010; Sharma *et al.*, 2009; Stürchler, 2023). Se estima que FT afecta anualmente a unos 27 millones de personas causando 216 mil muertes en el mundo, presentándose con incidencia elevada en países de Asia e intermedia en África y Latinoamérica (Crump *et al.*, 2004; Crump & Mintz, 2010; Ghenghesh *et al.*, 2009; Jadav *et al.*, 2023; Mweu & English, 2008; Stürchler, 2023).

Latinoamérica está catalogada como una región de incidencia media de la FT (10-100/100,000 casos anuales) (Crump & Mintz, 2010). En Estados Unidos la FT es una enfermedad rara con aproximadamente 300 casos clínicos reportados anualmente (Lynch *et al.*, 2009). En México se ha presentado un incremento en la incidencia de *S. Typhi*. Según la Secretaría de Salud en el 2022 se registraron 11,762 casos de FT; sólo en el estado de Sinaloa se registraron 1908 del total de casos reportados ese año a nivel nacional (ubicándolo en 3^{er} lugar nacional), y para la semana 41 del 2023 la cifra acumula 11,433 casos (Boletín Epidemiológico, 2023). El grupo etario más afectado es el de adultos jóvenes de 19 a 44 años (Boletín Epidemiológico, 2023). Esto sugiere que es imperante incrementar nuestro conocimiento sobre la epidemiología de esta enfermedad en México y en especial en el estado de Sinaloa, lo cual puede contribuir a mejorar las estrategias para la prevención y control de la FT. Para esto se requieren estudios de seroprevalencia, mediante la detección de anticuerpos específicos, para obtener información complementaria a la reportada por la Secretaría de Salud sobre esta enfermedad que en México afecta a miles de individuos cada año. En el presente trabajo se estimó la prevalencia de anticuerpos anti-*S. Typhi* en individuos que acudieron a realizarse estudios al laboratorio de análisis clínicos de la Universidad Autónoma de Sinaloa durante el año 2009.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se incluyeron los sueros de 366 individuos aparentemente sanos que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC. Héctor Cuén Ojeda", UAS, ubicado en Culiacán, Sinaloa, a practicarse el certificado médico y que hayan tenido la prueba de VDRL (por sus siglas en inglés Venereal Disease Research Laboratory) negativa, la cual se realiza de manera rutinaria en el examen referido. Los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para ingresar a este estudio, conservando el anonimato de su identidad y datos personales que fueron excluidos del presente estudio, de acuerdo con el H. Comité de Investigación de la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms" de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS. Las muestras fueron obtenidas durante el año 2009 y almacenadas a -20 °C hasta su uso.

Técnica de Widal

El total de los sueros fueron analizados mediante la técnica de Widal, empleando un kit comercial (Bio-Rad), siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, se mezcló una gota del reactivo tífico "O" (o tífico "H"), con 10 µL de suero sobre una placa de vidrio. Las micrografías fueron tomadas a 40X en un microscopio triocular Primo Star, Carl Zeiss, empleando una cámara digital Canon de 10 megapíxeles, después de una incubación de 4 min a temperatura ambiente en un agitador orbital (Daigger). La muestra se consideró positiva, si desarrolló aglutinación a un título $\geq 1:160$, como lo sugiere la Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento para la Fiebre Tifoidea del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), basado en los criterios descritos en 2014 por Andualet *et al.* (2014).

Extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST)

El extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST), se obtuvo mediante sonicación de la biomasa del cultivo en fase logarítmica de un aislado clínico de *S. Typhi* 00190 (gentilmente donado por el Dr. Vianney Ortiz del CINESTAV-IPN), disuelta en amortiguador salino de fosfatos (PBS, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 1.76 mM, pH 7.2), suplementado con 20% de un coctel de inhibidores de proteasas (Sigma). El sonificado se centrifugó durante 5 min a 1200 x g en una microcentrífuga (Hettich Mikro 120). Al sobrenadante obtenido se le determinó la concentración de proteínas mediante el método de Bradford

(Bio-Rad), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. El número de bandas proteicas del EAST se contabilizó en un gel de poliacrilamida al 12 % teñido con azul de Coomassie R-250 (Bio-Rad), siguiendo protocolos estándar.

Western blot

El *Western blot* fue realizado con base en el protocolo descrito por (Salazar-Mejía *et al.* 2010), con algunas modificaciones. Brevemente, 400 µg del EAST fueron separados electroforéticamente a 100 V por 2 h en geles de poliacrilamida al 12 %, en una cámara de electroforesis Mini-Protean Tetra (Bio-Rad), empleando amortiguador de corrida TGS (Tris 25 mM, Glicina 192 mM, SDS 0.1% p/v, pH 8.3; Bio-Rad); las proteínas en el gel fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa de 0.22 µm (Hybond-ECL, Amersham), y estas últimas fueron bloqueadas con leche descremada (Nestlé), al 5 %. A continuación, fueron incubadas con los sueros de individuos positivos a Widal, diluidos 1:400, o con los sueros de los testigos a la misma dilución. Posteriormente, las membranas fueron incubadas con anticuerpos anti-IgG humana conjugada a peroxidasa (Bio-Rad) y finalmente, la reacción fue revelada con diaminobencidina (Research Organics) y H₂O₂ (JT Baker) (Salazar-Mejía *et al.*, 2010).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos donde la media, mediana y porcentaje, fueron calculados, así como sus respectivos intervalos de confianza del 95% (IC95%). La distribución de prevalencia de anticuerpos anti-S. Typhi por género y rango de edad se analizó mediante el estadístico Ji-cuadrado de *Pearson* o prueba exacta de *Fisher*, según la distribución de los datos. Un valor *p* menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software Stata Intercooled 13.1.

RESULTADOS

Seroprevalencia de S. Typhi

Un total de 366 individuos fueron incluidos en este estudio, de los cuales 167 (45.63%, IC95%: 40.44-50.89) correspondieron al género femenino. La edad promedio general fue de 19.6 años (IC95%: 19.22-20.01). Con base en la edad se generaron dos grupos, uno de 15 a 17 con el 30.33% (n=111) de los participantes y otro de 18 o más años (n=255) (Tabla I). A todos los participantes se les colectaron muestras séricas, las cuales fueron analizadas mediante la técnica de Widal (Figura 1), obteniéndose

una prevalencia de anticuerpos anti-S Typhi del 10.11% (n=37), 35 sueros positivos al tífico "O", distribuidos por grupo de edad como sigue: de 15-17 años el 1.64 % (n=6); y de 18 o más años, el 7.92 % (n=29); 2 sueros resultaron positivos al tífico "H", ambos del grupo de edad de 18 o más (0.54 %) (Tabla 2). Al comparar los grupos de edades, se observó que en el de adultos jóvenes (18 o más), hubo un mayor número de sueros positivos al tífico "O" de S. Typhi (n=29), no existió evidencia suficiente en los datos que demuestre que la prevalencia de anticuerpos específicos anti-S. Typhi sea diferente entre adultos jóvenes y menores de 18 años, p=0.698.

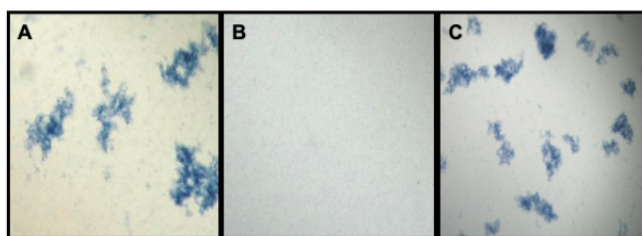


Figura 1. Reacción de Widal para antígeno "O" de S. Typhi. A) Testigo Positivo (Bio-Rad), B) Suero de uno de los individuos sin reactividad, C) Suero de un individuo con reactividad. Los sueros problema y testigo positivo fueron analizados por duplicados a una dilución 1:160. Las micrografías fueron tomadas a 40X en un microscopio triocular Primo Star, Carl Zeiss, empleando una cámara digital Canon de 10 Megapíxeles.

Identificación de antígenos de S. Typhi

Los 37 sueros positivos a Widal fueron evaluados mediante *Western blot* empleando EAST, compuesto de al menos 30 proteínas evidenciadas mediante tinción con azul de Coomassie, cuyos pesos moleculares oscilan desde 180 kDa hasta 15 kDa (Figura 2). Los sueros fueron empleados a una dilución de 1:400. En la Figura 3 se muestra el perfil antigénico del EAST obtenido al revelar las membranas de la técnica de *Western blot* se pudo contabilizar un total de 22 antígenos presentes en el EAST y éstos fueron reconocidos por uno o más de los 37 sueros, pudiendo definir la frecuencia de inmunorreactividad (Figura 3A). Un grupo de 4 antígenos mostraron una elevada inmunorreactividad (>89%), jerarquizados de mayor a menor frecuencia como sigue: 35 (94.6%) sueros detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) sueros reconocieron a la de 24 kDa; igual número de sueros (34) reaccionaron con la de 30 kDa; y 33 (89.2%) de los sueros con la de 60 kDa (Figuras 3A y 3B).

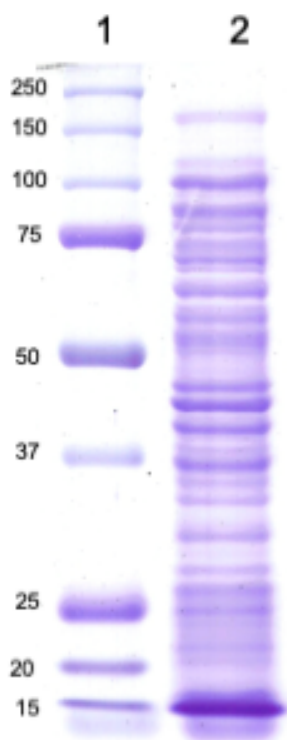


Figura 2. Extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST). Perfil proteico resuelto en un gel de poliacrilamida al 12 % teñido con azul brillante de Coomassie R-250. En 1) marcador de peso molecular (Bio-Rad), en 2) EAST donde se pueden observar aproximadamente 30 bandas proteicas individuales con pesos moleculares del rango de 180 hasta 15 kDa.

DISCUSIÓN

La FT, a diferencia de otras enfermedades bacterianas como la brucelosis, en México carece de una normatividad sanitaria oficial que unifique los criterios para su diagnóstico, y aunque el diagnóstico de certeza incluye el aislamiento, identificación bioquímica y serológica de *S. Typhi*, esta resulta una estrategia poco accesible desde el punto de vista técnico-económico en algunas áreas endémicas de países en vías de desarrollo como México; esto hace que la principal alternativa diagnóstica para esta enfermedad sea la técnica de Widal (Parry *et al.*, 2011), que se basa en poner en evidencia anticuerpos séricos anti-*S. Typhi*. Es una prueba de aglutinación de estos anticuerpos dirigidos contra antígenos somáticos (tífico "O") o flagelares (tífico "H"), considerando como clínicamente relevante una reactividad a una dilución sérica de $\geq 1:160$ (Andualet *et al.*, 2014).

Actualmente se carece de estudios que indiquen la seroprevalencia de la FT en México y en particular en Sinaloa. Los estudios de seroprevalencia permiten estimar el contacto de la población estudiada y la bacteria mediante la detección de anticuerpos específicos, contribuyendo al avance de la información reportada por las autoridades de salud, pudiendo impactar en la reducción de la incidencia de la FT en nuestro país. En este contexto, se estimó la prevalencia de anticuerpos anti-*S. Typhi* en personas adultas jóvenes sinaloenses, atendidas en uno de los laboratorios de análisis clínicos de nuestra universidad, que no presentaban síntomas de la enfermedad, bajo los criterios diagnósticos de la guía clínica del IMSS para el diagnóstico de la FT (Andualet *et al.*, 2014). De las 366 muestras séricas analizadas por Widal, 37 resultaron positivas equivalentes a una seroprevalencia del 10.11%, más de 3 veces el porcentaje reportado para individuos sanos de Nepal (Pokhrel *et al.*, 2009). Es relevante destacar que el 94.59% ($n=35$) de los individuos presentaron anticuerpos aglutinantes al antígeno "O", lo que sugiere que pudieron haber estado en contacto con la bacteria recientemente (Andualet *et al.*, 2014; White *et al.*, 1999). En el análisis de la distribución por género, no se observó diferencia estadística significativa, lo que difiere con los datos mostrados por la SSA, donde el género femenino es el más afectado, registrando prácticamente el doble de casos que el masculino (Boletín Epidemiológico, 2023). Al analizar los resultados por grupo de edad, se observó aproximadamente 5 veces más seropositividad en el grupo de 18 años o más, dato que coincide con lo reportado por la Secretaría de Salud de México, donde los adultos jóvenes son el grupo etario más afectado por la FT, como lo muestra el anuario de morbilidad 2022 de la SS consultado en octubre de 2023.

A fin de conocer el perfil antigénico de *S. Typhi* que sirva de base para un estudio inmunoproteómico más amplio, se analizó la inmunorreactividad mediante *Western blot*, con un 73.3% de reactividad general, esta reducción puede deberse a que en Widal se emplea el suero total que incluye a todos los isotipos de anticuerpos y en el *Western blot* solo se detectan las inmunoglobulinas G (o IgG), destacando un grupo de 4 antígenos con una inmunorreactividad superior al 89%, y que no mostraron inmunorreactividad al incubarlos con sueros negativos a la técnica de Widal, niveles de reactividad comparables a los detectados en pacientes con FT mediante ELISA, reportada por Fadeel y cols., (2011). Jerarquizando de mayor a menor la frecuencia la inmunorreactividad se observó que 35 (94.6%) sueros detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) sueros reconocieron a la de 24 kDa; igual número de sueros (34) (89.2%), reaccionaron con la de 30 kDa; y 33

(89.2%) de los sueros con la de 60 kDa. Basados en el peso molecular de los antígenos detectados en este trabajo se puede considerar que no hubo reactividad contra las porinas (OmpC y OmpF) (Verma *et al.*, 2009), sin embargo, es necesario realizar más estudios para confirmar o descartar este dato. Aunque existe cierta semejanza con los pesos moleculares de las proteínas antigénicas de *S. Typhi* ty2 con pesos moleculares de 66, 55, 35, 33, 18, y 9 kDa reportadas por (Park JH *et al.*, 2002), ninguna coincide con el peso molecular de 25 kDa, que es el antígeno más prominente detectado en nuestro trabajo. Es importante señalar que los sueros evaluados por estos autores provenían de ratones BALB/c inmunizados y no de seres humanos como en nuestro caso.

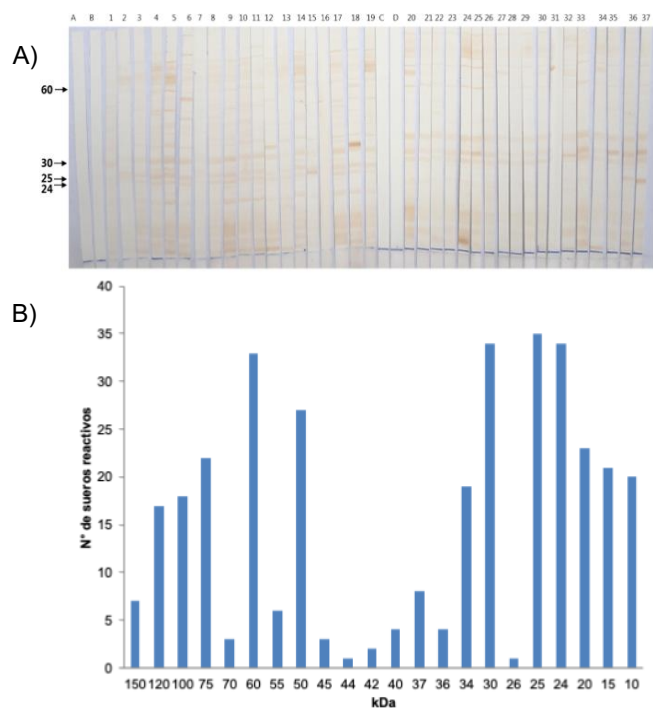


Figura 3. Perfil antigénico del EAST. A) La antigenicidad del extracto proteico de *S. Typhi* muestra 4 bandas antigénicas principales señaladas con flechas, con pesos moleculares de 24, 25, 30 y 60 kDa. Los sueros se evaluaron mediante *Western blot* a una dilución de 1:400. A) 1^{er} blanco; B) 1^{er} testigo negativo sin 1^{er} Anticuerpo (Ab); líneas de la 1 a la 19 corresponden a los sueros de personas positivas a la técnica de Widal; C) 2^o Blanco; D) 2^o testigo negativo sin 1^{er} Ab; líneas de la 20 a la 37 segundo grupo de sueros positivos a Widal. Este resultado es representativo de tres experimentos independientes. B) Frecuencia de reconocimiento antigénico del EAST definida por *Western blot* empleando los 37 sueros positivos a Widal, de ellas las de mayor inmunoreactividad fueron los antígenos de 24 kDa, 25 kDa, 30 kDa y 60 kDa, destacando el antígeno de 25 kDa. Resultado representativo de 3 experimentos independientes.

Este estudio aporta información reciente sobre la prevalencia de anticuerpos específicos contra *S. Typhi* en Culiacán, Sinaloa, México, que

puede servir de base para futuras investigaciones. Es necesario continuar los estudios de esta enfermedad en otras poblaciones o comunidades del estado; además, podrían implementarse otras metodologías, como ELISA, para un mayor tamizaje de muestras. Asimismo, es interesante realizar estudios de proteómica para identificar nuevos antígenos que pudieran servir de base para el diseño de un método de diagnóstico óptimo que sea más sensible, específico y asequible que los actuales.

Tabla I. Distribución de los individuos estudiados por género y grupo de edad

	Muestra	%
Total de individuos	366	100
Género		
Masculino	199	54.37
	15 - 17	31.66
	18 - +	68.34
Femenino	167	45.63
	15 - 17	28.74
	18 - +	71.26
En general		
15 - 17	111	30.33
18 - +	255	69.67

CONCLUSIÓN

Se obtuvo una seroprevalencia anti-*S. Typhi* del 10.11%, se identificaron 4 proteínas del EAST con inmunoreactividad elevada (>89%), donde el antígeno de 25 kDa fue el más prominente, ello sugiere una exposición previa con la bacteria vinculada tanto a factores ambientales como a las cálidas temperaturas la mayor parte del año, junto a deficientes hábitos higiénicos y pobres medidas sanitarias en la preparación de alimentos y bebidas consumidas fuera de casa. Es necesario continuar estudiando las proteínas detectadas, además de ampliar la estimación de la seroprevalencia de *S. Typhi*, cuya infección ha posicionado al estado de

Sinaloa entre los cinco primeros lugares, consolidando a la FT como un problema de salud pública en México.

Tabla 2. Distribución de los sueros por grupo de edad y resultado positivo a la técnica de Widal (título de anticuerpos \geq 1:160)

Grupo de edad en años	Positivos "O" n (%)*	Positivos "H" n (%)
15 - 17	6 ^a (1.64)	0 (0)
18 - +	29 ^b (7.92)	2 ^c (0.54)
Total	35 (9.56)	2 (0.54)

^a3 del género femenino y 3 del masculino; ^b15 del género femenino y 14 del género masculino; ^cLos 2 individuos eran del género masculino; *Sin significancia estadística.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAP)-UAS 2010/75 y al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) Ciencia Básica 2008 N° 107050 por el financiamiento otorgado.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Aprobación de comité de investigación y de ética

H. Comité de Investigación de la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms" de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS.

REFERENCIAS

Andualem, G., Abebe, T., Kebede, N., Gebre-Selassie, S., Mihret, A. and Alemayehu, H. (2014). A comparative study of Widal test with blood culture in the diagnosis of typhoid fever in febrile patients. *BMC Research Notes*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-653>

Boletín Epidemiológico, E. (n.d.). *Índice 2 Vigilancia Epidemiológica Semana 41, (2023)*. <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general>

Crump, J. A., Luby, S. P. and Mintz, E. D. (2004). The global burden of typhoid fever. In *Bulletin of the World Health Organization* (Vol. 82, Issue 5).

Crump, J. A. and Mintz, E. D. (2010). Global trends in typhoid and paratyphoid fever. In *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 50, Issue 2, pp. 241–246). <https://doi.org/10.1086/649541>

Fadeel, M. A., House, B. L., Wasfy, M. M., Klena, J. D., Habashy, E. E., Said, M. M., Maksoud, M. A., Rahman, B. A. and Pimentel, G. (2011). Evaluation of a newly developed ELISA against Widal, TUBEX-TF and Typhidot for typhoid fever surveillance. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 5(03), 169-175. <https://doi.org/10.3855/jidc.1339>

Farooqui, A., Khan, A. and Kazmi, S. U. (2009). Investigation of a community outbreak of typhoid fever associated with drinking water. *BMC Public Health*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-476>

Ghenghesh, K. S., Franka, E., Tawil, K., Wasfy, M. O., Ahmed, S. F., Rubino, S. and Klena, J. D. (2009). Enteric Fever in Mediterranean North Africa. 3(10), 753-761. <https://doi.org/10.3855/jidc.606>

Jadav, P. K., Sukharamwala, P. H., & Mehta, N. T. (2023). Drug Utilization Study in Pediatric Patients with Typhoid Fever. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(2), 241–247. <https://doi.org/10.55544/jrasb.2.2.34>

Lynch, M. F., Blanton, E. M., Bulens, S., Polyak, C., Vodjdani, J., Stevenson, J., Medalla, F., Barzilay, E., Joyce, K., Barret, T. and Mintz, E. D. (2009). Typhoid fever in the United States, 1999–2006. *Journal of American Medical Association*, 302(8), 859–865. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1229>

Mweu, E. and English, M. (2008). Typhoid fever in children in Africa. In *Tropical Medicine and International Health* (Vol. 13, Issue 4, pp. 532–540). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2008.02031.x>

Park JH, Hong JJ, Choi ES, Lee JW. and Park JH. (2002). Efficacy of purified Vi polysaccharide typhoid vaccine. *Journal of Veterinary Science*, 3(2), 67-70. <https://doi.org/10.4142/jvs.2002.3.2.67>

Parry, C. M., Wijedoru, L., Arjyal, A. and Baker, S. (2011). The utility of diagnostic tests for enteric fever in endemic locations. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 9, Issue 6, pp. 711–725). Expert Reviews Ltd. <https://doi.org/10.1586/eri.11.47>

Pokhrel, B. M., Karmacharya, R., Mishra, S. K. and Koirala, J. (2009). Distribution of antibody titer against Salmonella enterica among

- healthy individuals in nepal. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-8-1>
- Salazar-Mejía, P. G., Tejeda-Aguirre, C. R. and López-Moreno, H. S. (2010). Reaction of *Leishmania (Leishmania) mexicana* antigens by sera of patients with cutaneous leishmaniasis from Sinaloa, Mexico. *Salud Pública de México*, 52(2), 165–169. <https://www.saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/6964>
- Sharma, P. K., Ramakrishnan, R., Hutin, Y., Manickam, P. and Gupte, M. D. (2009). Risk factors for typhoid in Darjeeling, West Bengal, India: Evidence for practical action. *Tropical Medicine and International Health*, 14(6), 696–702. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02283.x>
- Stürchler, D. (2023). Infections transmitted via the faecal–oral route: a simple score for a global risk map. *Journal of Travel Medicine*. <https://doi.org/10.1093/jtm/taad069>
- Verma, S. K., Gautam, V., Balakrishna, K. and Kumar, S. (2009). Overexpression, purification, and immunogenicity of recombinant porin proteins of *Salmonella enterica* serovar Typhi (S. Typhi). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(9), 1034–1040. <https://doi.org/10.4014/jmb.0812.675>
- White, N. J., Farrar John Wain, J. J., Tran Chinh, N., Vinh, H., Tinh Hien, T., Parry, C. M., Thi Tuyet Hoa, N., Song Diep, T., Wain, J. and Farrar, J. J. (1999). Diagnosis of Typhoid Fever in Vietnam Value of a Single-Tube Widal Test in Value of a Single-Tube Widal Test in Diagnosis of Typhoid Fever in Vietnam. In *J. Clin. Microbiol. Downloaded from Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 37, Issue 9). <https://doi.org/10.1128/jcm.37.9.2882-2886.1999>
- Zhang, X.-L., Jeza, V. T. and Pan, Q. *Salmonella Typhi: from a Human Pathogen to a Vaccine Vector. Cell Mol Immunol* 5,91-97(2008). <https://doi.org/10.1038/cmi.2008.11>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2016). Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento para la Fiebre Tifoidea. Ciudad de México. Disponible en: https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/259GR_R.pdf
- Secretaría de Salud. (2022). Anuario de Morbilidad 2022. Distribución de casos nuevos de enfermedad por grupo de edad. Disponible en: https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2022/morbilidad/enfermedad/distribucion_casos_nuevos_enfermedad_grupo_edad.pdf