

Vacunas para Evitar la Fiebre Tifoidea

MYRON M. LEVINE Y RAPHAEL SIMON

Vacunas Para Evitar la Fiebre Tifoidea

Myron M. Levine, M.D., D.T.P.H

Profesor Distinguido de la Cátedra Simon y Bessie Grollman; Decano Adjunto de Salud Mundial, Vacunología y Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina de la Universidad de Maryland, Baltimore, MD 21201, EE, UU

Raphael Simon, Ph.D.

Profesor Asistente, Departamento de Medicina; Jefe, Laboratorio de Purificación de Antígenos, Centro para el Desarrollo de Vacunas, Facultad de Medicina de la Universidad de Maryland, Baltimore, MD 21201, EE, UU

Introducción

En el siglo XX, las fiebres tifoidea y paratifoidea fueron altamente endémicas en muchos países de América Latina. En este capítulo se analiza la fiebre tifoidea y las vacunas en el mercado para prevenirla.

Agentes etiológicos

Las fiebres tifoidea y paratifoidea, las "fiebres tifoideas", son infecciones agudas generalizadas del sistema reticuloendotelial, el tejido linfático intestinal y la vesícula. La *Salmonella enterica* serovariedad *Typhi* (*Salmonella Typhi*) es el agente etiológico de la fiebre tifoidea, mientras que la *Salmonella Paratyphi A* o la *Salmonella Paratyphi B* (o inusualmente, la *Salmonella Paratyphi C*) son los agentes etiológicos de la fiebre paratifoidea.

Epidemiología

La transmisión superficial de los agentes que producen las fiebres tifoidea y paratifoidea ocurre en zonas en que las poblaciones tienen deficiencias de saneamiento y falta de acceso a agua potable. De este modo, estas infecciones son endémicas en muchos países en desarrollo, pero de transmisión infrecuente en los países industrializados. En regiones del sur y sudeste asiático, el Oriente Medio, el noreste de África, África Subsahariana y algunas islas del Pacífico la endemicidad es alta. En las zonas endémicas, la fiebre tifoidea por lo general comprende entre ~70 y 80% de las fiebres tifoideas, y la fiebre paratifoidea, el resto¹, pero en algunas zonas del sur de Asia, *S. Paratyphi A* es prácticamente tan común como *S. Typhi*^{2,3}. A partir de 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* (principalmente B) fue causante de ~ un tercio de los casos⁴.

La fiebre tifoidea endémica suele ser estacional. En Chile, Ecuador y Perú, donde la fiebre tifoidea era altamente endémica entre la década de los 60 y los 80, hubo un pico estival⁵.

Los portadores vesiculares crónicos constituyen el reservorio a largo plazo de *S. Typhi* y *S. Paratyphi A* y B^{6,7}. En zonas endémicas, en especial durante la "temporada de la fiebre tifoidea", las personas con infección asintomática e infección clínica excretoras a corto plazo constituyen otro reservorio importante del que se transmite la enfermedad a los que tienen propensión. En casos en que las infecciones por *Schistosoma haematobium* o *Schistosoma mansoni* de las vías urinarias son coendémicas con la fiebre tifoidea, los portadores crónicos de *S. Typhi* en la vejiga urinaria actúan como reservorio⁸.

La infección por las fiebres tifoidea y paratifoidea casi siempre se adquiere por ingestión de vectores alimenticios o del agua contaminados por excrementos humanos que contienen *S. Typhi* o *S. Paratyphi A* o B. A finales del siglo XIX y principios del XX, en la mayoría de las grandes ciudades de América del Norte y Europa, el tratamiento del abastecimiento de agua por cloración o filtración con arena (o ambos) interrumpieron el ciclo de endemidad y disminuyeron la incidencia de la fiebre tifoidea, si bien la prevalencia de los portadores crónicos en las poblaciones continuó siendo alta durante décadas a partir de entonces^{9,10}. Una excepción a este patrón en América del Sur fue Santiago de Chile, donde la endemidad alta persistió a pesar de que el 96% de la población tiene acceso a agua potable y el 80% está conectado a un sistema cloacal. En Santiago, las aguas cloacales no se trataban y durante el verano (cuando no llovía) se usaban en la irrigación de cultivos (en particular, verduras para ensaladas) que se llevaban a los mercados de la ciudad, comercializaban y consumían sin cocinar^{11,12}.

Las fiebres tifoideas se transmiten por la vía fecal-oral de ciclo corto o largo. El ciclo corto comprende un portador individual que contamina los vectores alimenticios consumidos en proximidad por miembros de una familia o los asistentes a una reunión comunal (por ejemplo, una boda), o por manipuladores de alimentos en un restaurante¹³. Los ejemplos de casos y brotes esporádicos de ciclo corto incluyen a familias atendidas por el reconocido chef, "Typhoid Mary"¹⁴, y los brotes en restaurantes de Texas¹⁵, Maryland¹³ y Nueva York¹⁶. Ejemplos de la transmisión por medio del ciclo largo son la contaminación del suministro de agua por aguas cloacales¹⁷, la irrigación de los cultivos con aguas servidas sin tratamiento¹¹, la contaminación de agua municipal distribuida ampliamente por cañerías^{17,18}, y la diseminación de la salmonela tífica en alimentos procesados que se transportan grandes distancias¹⁹. Los microbiólogos clínicos han aumentado la exposición potencial a *Salmonella Typhi* en el entorno laboral y constituyen así también un grupo especial de alto riesgo^{20,21}.

La enfermedad

Las manifestaciones clínicas de la fiebre tifoidea aguda varían de alguna manera según el hospedero, la cepa específica, el tamaño del inóculo y el vector de transmisión. El niño mayor o el adulto con fiebre tifoidea clínica grave presentan temperatura alta persistente, malestar general, molestias abdominales y cefalea frontal. En la era previa a los antibióticos, la enfermedad clínica avanzaba en el curso de varias semanas y culminaba con una tasa de letalidad del ~10 a 20%^{22,23}. La confusión mental o el delirio acompañan la naturaleza prolongada y debilitante de esta enfermedad febril en casos no tratados (o tratados indebidamente).

En pacientes individuales es imposible diferenciar sobre una base clínica si las fiebres tifoideas son causadas por *S. Typhi* o *S. Paratyphi*^{24,25}. Los casos avanzados comienzan con malestar general, anorexia, fiebre (que aumenta paulatinamente hasta alcanzar 39° o 40° C), molestia abdominal y cefaleas^{23,26,27}. Sin los antimicrobianos apropiados, la temperatura elevada persiste durante al menos 10 a 14 días (y algunas veces durante semanas, si el paciente sobrevive). Los antibióticos apropiados disminuyen la fiebre gradualmente en el lapso de varios días. Durante el período de fiebre constante, ~20% de la población caucásica manifiesta "manchas rosadas", exantema observado en el tórax, el abdomen y la espalda que se manifiesta como máculas sutiles de color rosa

salmón, de 2 a 4 mm de diámetro, que palidecen con la aplicación de presión y a partir de las cuales se puede cultivar *S. Typhi*²⁸. En niños de edad más avanzada y en adultos es posible que se manifieste constipación o diarrea y, en niños de corta edad con fiebre tifoidea, la diarrea ocurre en ~20% de los casos. Si bien los lactantes pueden manifestar formas clínicas graves de fiebre tifoidea, la infección bacteriémica por *S. Typhi* en menores de 2 años de edad puede ser con frecuencia notablemente leve y no reconocerse clínicamente como una de las fiebres tifoideas sino, más bien, como síndrome febril indefinido^{29,30}. La tos bronquítica es común al comienzo de la enfermedad en todas las edades. Ocasionalmente una forma especialmente grave de fiebre tifoidea se manifiesta con disfunción cerebral, incluso con obnubilación, delirio o coma, y choque, que requiere tratamiento complementario con corticoesteroides más antibióticos adecuados para evitar una tasa de letalidad que exceda el 20%³¹.

En los tiempos que precedieron la administración de antibióticos se observaron recidivas en aproximadamente el 8% de los pacientes con fiebre tifoidea. La tasa de recidiva en pacientes tratados con antibióticos de primera (cloranfenicol) y segunda (ampicilina, amoxicilina y trimetoprima/sulfametoxazol) generación utilizados para el tratamiento antitifoideo osciló entre el 10% y el 25%. La salmonela tífica se puede recuperar de la bilis y la médula ósea muchas semanas después de que la recuperación total de los síntomas por parte del paciente. Por lo general, las recidivas ocurren aproximadamente tres semanas después del último día con fiebre o dos semanas después de la interrupción de los antibióticos y son clínicamente más moderadas, de menor duración que la enfermedad inicial y responden de inmediato a los antibióticos adecuados. Al cabo del tratamiento de la fiebre tifoidea aguda que responde a los medicamentos con fluoroquinolonas o azitromicina de administración oral o después de la administración de ceftriaxona por vía parenteral, la recidiva es poco común.

Dos complicaciones temidas de la fiebre tifoidea, la perforación y la hemorragia intestinales, ocurren en ~0,5 a 1,0% de los casos, en especial los que han estado enfermos durante varias semanas sin el tratamiento adecuado con antibióticos³². Estas complicaciones son resultado de las lesiones prominentes en el tejido linfático intestinal. La fiebre tifoidea puede provocar complicaciones en cualquier sistema de órganos²³. Las complicaciones inusuales comprenden hepatitis, empiema, osteomielitis, psicosis, artritis infecciosa, meningitis, miocarditis y empiema de la vesícula^{22,23}.

Aproximadamente entre el 1% y el 5% de los pacientes con una de las fiebres tifoideas, dependiendo de la edad y el sexo, se torna portador crónico del organismo en la vesícula (definido como excreción del agente patógeno durante >12 meses tras la infección aguda)^{33,34}.

Patogenia e inmunidad

S. Typhi y *S. Paratyphi A* y *B* son bacterias invasivas que se transfieren eficientemente de la luz intestinal por la mucosa, hasta llegar finalmente al sistema reticuloendotelial, en el que tras una incubación de entre 8 y 14 días, inician la enfermedad sistémica. *S. Typhi* y *S. Paratyphi A* y *B* son agentes patógenos altamente adaptados al hospedero, dado que los seres humanos constituyen el único hospedero y reservorio natural de la infección.

En el ayuno, el ácido gástrico estomacal normoclorídrico mata la salmonela tífica que se ingiere, pero algunos alimentos amortiguan efectivamente esta barrera ácida. Tras atravesar el píloro y llegar al intestino delgado, la salmonela tífica penetra la mucosa hasta llegar a la lámina propia. *S. Typhi* se centra en las células M (micropliegue) superpuestas a las placas de Peyer y otro tejido linfático intestinal³⁵ y que luego son ingeridas por las células dendríticas y los macrófagos subyacentes a las células M. Los bacilos pueden invadir también los

enterocitos (células absorbentes) del intestino delgado e ingresar a las vacuolas endocíticas que transitan las bacterias para liberarse a la lámina propia sin destruir el enterocito³⁶; la salmonela también se puede transferir paracelularmente entre los enterocitos³⁷.

Tras llegar a la lámina propia en el hospedero no inmune, la salmonela tífica suscita la entrada de macrófagos y células dendríticas que ingieren los organismos pero que, normalmente, no los pueden matar. Algunos bacilos permanecen aparentemente dentro de los macrófagos del tejido linfático del intestino delgado, mientras que otros drenan a los ganglios linfáticos mesentéricos donde tienen lugar la multiplicación y la ingestión adicionales.

Las autopsias han documentado las respuestas inflamatorias que ocurren en las placas de Peyer del íleon distal y otras colectividades linfáticas organizadas. Más adelante en el curso de la enfermedad, estas lesiones pueden producir hemorragia. La hemorragia marcada se suscita en vasos erosionados en las manchas de Peyer o en sus proximidades. La perforación de la pared intestinal ocurre en las mismas secciones del intestino que las hemorragias.

Brevemente después de la invasión de la mucosa intestinal, se manifiesta bacteriemia primaria por la que *S. Typhi* es filtrada desde la circulación por fagocitos fijos del sistema reticuloendotelial. Tras lograr la protección intracelular en todos los órganos del sistema reticuloendotelial, el microbio patógeno reside allí durante el período de incubación (por lo general, entre 8 y 14 días) hasta el comienzo de la fiebre tifoidea. La enfermedad clínica se manifiesta con un nivel bastante constante, si bien bajo, (1–10 organismos/ml), de bacteriemia "secundaria". Durante la bacteriemia, el polisacárido capsular Vi protege las bacterias de los efectos líticos del anticuerpo O (de estar presente) y complemento³⁸. Las cepas de *S. Typhi* que carecen Vi son inusuales³⁹, en cierto modo, menos virulentas que las cepas que expresan Vi⁴⁰. La bacteriemia de la fiebre tifoidea puede persistir durante varias semanas de no administrarse tratamiento antibiótico. Los síntomas e indicios de fiebre tifoidea no se deben a la endotoxina circulante.

Durante la bacteriemia primaria, la fiebre tifoidea llega también a la vesícula, órgano por el cual la *S. Typhi* tiene una predilección notoria^{41,42} y *S. Typhi* se puede cultivar fácilmente a partir de la bilis o el líquido duodenal teñido por la bilis en pacientes con fiebre tifoidea aguda⁴³⁻⁴⁵. En ~2 a 5% de los pacientes, la infección de la vesícula biliar se torna crónica. La propensión a tornarse un portador crónico es mayor en las mujeres y aumenta con la edad al momento de la infección aguda por *S. Typhi*, con lo cual se asemeja a la epidemiología de la colecistopatía. La infección se torna crónica en individuos que tienen patología vesicular preexistente al momento de la infección aguda por *S. Typhi*. Los portadores eliminan hasta 10⁹ organismos/g de heces pero estos organismos recorren la longitud del tubo gastrointestinal sin penetrar ni provocar la enfermedad⁴⁶.

Tras la infección aguda por *S. Typhi*, surgen los anticuerpos séricos a antígenos O somáticos (lipopolisacárido) y H flagelar pero, curiosamente, la mayoría de los pacientes con fiebre tifoidea aguda no manifiesta aumentos en el anticuerpo sérico anti Vi^{47,48}. En cambio el anticuerpo Vi sérico es altamente elevado en los portadores crónicos vesiculares^{47,48}. También se pueden detectar las respuestas a *S. Typhi* de los anticuerpos IgA intestinales secretores.

Las mediciones de la inmunidad celular (CMI) en pacientes con infección del tipo natural han sido limitadas en los tiempos modernos pero las respuestas de la inmunidad celular se han analizado extensamente en sujetos vacunados con cepas atenuadas administradas en vacunas orales, lo cual demuestra la aparición de linfocitos T citotóxicos restringidos por moléculas de clase I del complejo principal de histocompatibilidad y linfocitos T que secretan citocinas tras la exposición a los antígenos de *S. Typhi*⁴⁹.

Diagnóstico

La confirmación del diagnóstico de fiebre tifoidea suele exigir la recuperación de *S. Typhi* o *S. Paratyphi* en un espécimen clínico adecuado. Son necesarios múltiples hemocultivos en pacientes en quienes se sospecha el diagnóstico clínicamente. La tasa de aislamiento de *S. Typhi* o *S. Paratyphi* en hemocultivos depende de muchos factores, como el volumen del hemocultivo, la relación del volumen de sangre a volumen de caldo de cultivo (idealmente, la relación debería ser > 1:8), la inclusión de sustancias anticomplementarias en el caldo (por ejemplo, polianetol sulfonato de sodio o bilis), y si el paciente ya fue tratado con antibióticos a los que responde *S. Typhi*. De obtenerse tres hemocultivos de 5 ml, se puede recuperar *S. Typhi* de la sangre en aproximadamente el 65% al 70% de los casos sospechosos no tratados.

El criterio de referencia de la confirmación bacteriológica para la fiebre tifoidea es el cultivo de la médula ósea, que es positivo en un 85% a 95% de los casos, incluso cuando se administraron antibióticos al paciente^{28,43,44,50}. El empleo de dispositivos de cuerda en el duodeno para obtener líquido duodenal teñido por la bilis para cultivo también es bastante útil⁴³. La combinación de una cuerda duodenal y dos hemocultivos, por lo general, brinda una sensibilidad de confirmación bacteriológica equivalente a la alcanzada con cultivos de la médula ósea, pero sin el carácter invasivo de la segunda⁴³. El cultivo de secciones cutáneas tomadas de las manchas de color rosado también tiene un alto rendimiento²⁸. Los cultivos de heces suelen ser positivos en sólo el 45% al 65% de los casos (porcentaje un tanto mayor en los niños). La confirmación bacteriológica de cepas aisladas de *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* y *S. Paratyphi B* se puede realizar por aglutinación de la cepa aislada con serotipia o el análisis de su ADN por reacción múltiple en cadena de la polimerasa (RCP)⁵¹.

Con el transcurso de los años se realizaron muchos intentos por formular pruebas para la detección de los antígenos de *S. Typhi* en sangre, orina o humores corporales, a manera de prueba diagnóstica rápida de la fiebre tifoidea. Con contadas excepciones, estas pruebas han sido decepcionantes y no justificaron el entusiasmo plasmado en informes iniciales. Con los métodos de RCP se procuró realizar varias copias de los genes de *S. Typhi* provenientes de la sangre⁵²⁻⁵⁶. Sin embargo, incluso estos ensayos sensibles están limitados por el nivel bajo de bacteriemia en la fiebre tifoidea (~1 a 10 organismos por ml de sangre). Hasta este momento, estos métodos son aptos sólo para laboratorios de investigación y, en la actualidad, no están disponibles para el uso sistemático en laboratorios clínicos en países en desarrollo o en transición. Se deberán superar obstáculos importantes para adaptar estas pruebas a fin de que se conviertan en pruebas prácticas para la atención clínica en países industrializados para el diagnóstico de la fiebre tifoidea en los viajeros.

En 1896, Widal y Sicard⁵⁷ describieron el serodiagnóstico de la fiebre tifoidea e informaron que el suero de los pacientes con fiebre tifoidea aglutinaba salmonela Typhi. Las pruebas de Widal se usan en la actualidad en muchos países en desarrollo para medir aglutininas en el suero del paciente sospechado de padecer fiebre tifoidea. La prueba es más precisa cuando se realiza con antígeno en tubos más que en portaobjetos. Al escoger minuciosamente el antígeno, tanto los anticuerpos O como H se pueden medir de manera selectiva. Con el uso de la cepa O901 de *S. Typhi* (que carece de antígenos flagelares y Vi), el anticuerpo O de *S. Typhi* se puede medir selectivamente. Una cepa como *Salmonella* Virginia, que posee el antígeno flagelar H:d en la fase 1 idéntico a *S. Typhi* pero que no comparte antígenos somáticos O con la serovariedad Typhi, se puede usar para medir las aglutininas H⁵⁸. La mayoría de los pacientes con fiebre tifoidea tiene niveles elevados de los anticuerpos O y H al inicio de la enfermedad clínica⁵⁸. En términos generales, la prevalencia de los anticuerpos H en los adultos que residen en zonas endémicas es demasiado elevada para que el análisis sea útil en ese grupo etario pero puede ser útil como prueba diagnóstica en niños <10 años de edad en zonas endémicas y en personas de cualquier edad provenientes de zonas no endémicas^{58,59}. En un estudio realizado en Indonesia se respaldó el uso del análisis en portaobjetos para las aglutininas O de *S. Typhi*, incluso para adultos en esa zona endémica⁶⁰.

Tratamiento

El primer antibiótico para tratamiento de la fiebre tifoidea, cloranfenicol, notificado en 1948⁶¹, se utilizó satisfactoriamente durante un cuarto de siglo a partir de entonces y continúa siendo útil en lugares en que las cepas de *S. Typhi* son sistemáticamente susceptibles. Sin embargo, la epidemia a gran escala de fiebre tifoidea resistente al cloranfenicol ocurrió repentinamente, primero en México (1972)^{62,63}, luego en el sudeste asiático (1974)⁶⁴ y posteriormente en el Perú⁶⁵ (1979–1980). Los genes de resistencia a los antibióticos se codificaron en plásmidos del grupo de incompatibilidad HI1^{62,65}. Tras ~2 años las cepas resistentes en México y Perú fueron reemplazadas por *S. Typhi* que responde al cloranfenicol. A partir de finales de la década de los 80, las cepas de *S. Typhi* resistentes al cloranfenicol, la amoxicilina y la trimetoprima–sulfametoxazol se diseminaron ampliamente en toda Asia⁶⁶⁻⁶⁸. Inicialmente, los antibióticos efectivos alternativos comprendían la ciprofloxacina y la ceftriaxona administrada por vía parenteral pero el uso generalizado de ciprofloxacina y otras fluoroquinolonas, con frecuencia en dosis y duraciones inadecuadas, propiciaron el surgimiento de cepas resistentes a las fluoroquinolonas.

El tratamiento de las fiebres tifoidea y paratifoidea es complicado, en especial cuando la carga de morbilidad es alta, son escasas las instalaciones de microbiología clínica para confirmar el diagnóstico y brindar susceptibilidad antimicrobiana y es alta la prevalencia de cepas multirresistentes⁶⁹⁻⁷⁴. Las fiebres tifoidea y paratifoidea sin complicaciones, susceptibles a los antibióticos se pueden tratar de forma ambulatoria con cloranfenicol, amoxicilina, ciprofloxacina u ofloxacina. La ciprofloxacina tiene la ventaja de una dosificación más apropiada y tasas más bajas de recidiva clínica^{70,75}.

La OMS recomienda el uso de cefixima como opción⁷⁶ para el tratamiento de la fiebre tifoidea multirresistente pero informes de tasas altas de ineficacia en Nepal y Vietnam despiertan preocupación^{77,78}. La azitromicina oral es otro tratamiento de primera línea que se emplea cada vez más en zonas de fiebre tifoidea altamente multirresistente⁷⁹. De ser posible, la fiebre tifoidea grave o complicada se debe tratar en hospitales con antibióticos administrados por vía parenteral (preferentemente ceftriaxona por vía intravenosa) y controlar minuciosamente para garantizar resultados clínicos buenos. El cambio a un agente oral al que sea susceptible la cepa (o cuya susceptibilidad se presume) se puede realizar una vez que el paciente deja de tener fiebre. La administración rápida de dexametasona en dosis altas reduce la letalidad en pacientes con fiebre tifoidea grave sin aumentar la manifestación de complicaciones o la recidiva entre los sobrevivientes^{31,80}.

Vacunas contra las fiebres tifoidea y para tifoidea

Vacuna oral Ty21a elaborada con virus vivos. La Ty21a, cepa atenuada de *S. Typhi* que es inocua y confiere protección como una vacuna oral elaborada con virus vivos, fue creada a principios de la década de los 70 por mutagénesis química de la cepa patogénica Ty2⁸¹. Las mutaciones en esta cepa incluyen la incapacidad para expresar el polisacárido vi y la inactivación del gen *gale* (codificación de una enzima que participa en la síntesis de LPS), junto con aproximadamente dos decenas de mutaciones adicionales. En ensayos en el terreno a gran escala con Ty21a en aproximadamente 465.000 niños en edad escolar en Chile y 32.000 en Egipto, y cerca de 20.000 sujetos cuyas edades oscilaban entre los 3 años hasta la edad adulta en Indonesia, la vigilancia pasiva no logró identificar reacciones adversas atribuibles a la vacuna u otras cuestiones de inocuidad⁸²⁻⁸⁷.

Los ensayos comparativos en el terreno de la eficacia de Ty21a destacan que la formulación de la vacuna, el número de dosis administradas y el espaciamento entre dosis repercutieron marcadamente en el nivel de protección que se puede alcanzar^{83-86,88,89}. Se autorizaron dos formulaciones, comprimidos gastrorresistentes

y una formulación líquida (en la cual la vacuna liofilizada se reconstituye con una solución amortiguadora en una mezcla de la vacuna); pero en los últimos años sólo se ha elaborado la formulación de los comprimidos gastrorresistentes. De conformidad con un ensayo en el terreno realizado en Chile que demostró que tres dosis de Ty21a en cápsulas gastrorresistentes administradas día de por medio confirieron una eficacia del 67% al cabo de tres años de seguimiento y el 62% de protección al cabo de siete años de seguimiento^{83,90}, esta formulación y régimen se usan en todo el mundo (excepto para los EE. UU. y Canadá donde se emplea un régimen con cuatro dosis). Esto se basó en resultados de un ensayo aleatorizado a gran escala realizado en Santiago de Chile, donde los receptores de cuatro dosis de comprimidos gastrorresistentes de Ty21a (régimen día de por medio) tuvieron una incidencia marcadamente inferior de la fiebre tifoidea que los que fueron asignados a recibir dos o tres dosis⁸⁹. Ty21a confiere protección cruzada marcada contra *S. Paratyphi B*⁸⁶ pero no contra *S. Paratyphi A*⁸⁶.

A mediados de la década de los 80, una formulación del tipo "suspensión líquida" de Ty21a que podía fabricarse a gran escala se preparó en dos sobres, uno con la vacuna liofilizada y otro con la solución amortiguadora⁸⁵, a fin de mezclarlas en un recipiente que contenía 100 ml de agua para ingestión. Ensayos en el terreno con placebo aleatorizados en Santiago de Chile⁸⁵ y Plaju, Indonesia⁸⁶, probaron que la formulación líquida de Ty21a confería más protección (marcadamente en el ensayo realizado en Santiago) que la formulación en cápsulas gastrorresistentes^{85,86}, y protegía tanto a niños de corta edad como a niños mayores. En un ensayo en el terreno aleatorizado que se realizó en el Área Suroriente de Santiago, la formulación líquida de Ty21a confirió una eficacia vacunal del 78% al cabo de cinco años de seguimiento⁹¹. Lamentablemente, esta formulación eficiente de Ty21a, que también se presta para la vacunación de lactantes mayores y niños en edad preescolar⁹², ya no se fabrica.

Vacuna de polisacárido Vi por vía parenteral. En la década de los 70 y comienzos de la década de los 80, se fabricó polisacárido capsular Vi purificado que estaba libre en un 99,8% de LPS contaminante y no estaba desnaturalizado^{38,93-96}. Este fue un descubrimiento importante porque tan solo un 5% de impurezas con LPS puede provocar reacciones adversas sistémicas en cierto porcentaje de los vacunados⁹⁴. Por el contrario, la vacuna de Vi altamente purificada se tolera bien y sólo en un 1 a 2% de los sujetos se observan reacciones febriles. En ensayos clínicos, dosis únicas bien toleradas de 25 mcg y 50 mcg administradas por vía parenteral de Vi purificada estimularon incrementos en los anticuerpos Vi séricos en la gran mayoría de los adultos y los niños en edad escolar vacunados⁹⁴⁻⁹⁶. La administración de las dosis subsiguientes por vía parenteral no reforzó las concentraciones de anticuerpos⁹⁷. Esto se debe a que el polisacárido Vi, al igual que otras vacunas de polisacáridos no conjugadas (por ejemplo, las vacunas antineumocócica y antimeningocócica) no estimulan los linfocitos T cooperadores que llevan a la memoria inmunológica y la capacidad de aumentar las concentraciones de anticuerpos aún más mediante la administración de dosis de refuerzo. La vigilancia pasiva realizada durante los ensayos en el terreno mostró que la vacuna de Vi era tan bien tolerada como la vacuna (antimeningocócica y antineumocócica) de polisacáridos autorizada que se utilizó como preparaciones de control en estos ensayos^{95,96}.

En Nepal y Sudáfrica se realizaron dos ensayos en el terreno con doble enmascaramiento aleatorizados a fin de evaluar la eficacia de una dosis única de 25 mcg de la vacuna de Vi purificada sin desnaturalizar. En el lapso de 17 meses de vigilancia en Nepal, la vacuna de Vi confirió una eficacia del 72%⁹⁶. En Sudáfrica, la vacuna de Vi brindó 64% de protección tras 21 meses de seguimiento⁹⁵ y 55% de protección en el curso de 3 años⁹⁸. El ensayo en Nepal incluyó desde participantes en edad preescolar hasta adultos, mientras que el ensayo en Sudáfrica se realizó en niños en edad escolar. Un tercer ensayo comparativo en el terreno se realizó en sujetos cuyas edades oscilaron entre los 3 y los 50 años en Guangxi, China, en el que se evaluó la eficacia protectora de una dosis única de 30 mcg de una vacuna de polisacáridos Vi fabricada en China⁹⁹. La vacuna confirió una eficacia del 69% (IC del 95%, 28%–87%) tras 19 meses de seguimiento.

Si bien la vacuna de Vi confiere protección tras una dosis única, los valores contra Vi no se pueden reforzar y la eficacia no parece persistir más de tres años. Se profundizó la preocupación en torno a la duración relativamente breve de la protección de Vi tras la investigación epidemiológica de un brote de fiebre tifoidea que ocurrió entre soldados franceses vacunados con Vi que se encontraban en la Costa de Marfil¹⁰⁰. Antes del brote, el procedimiento de operación estándar había sido inmunizar a los soldados franceses con la vacuna de Vi cada cinco años. La investigación del brote reveló que la administración de Vi más de tres años antes guardó relación con el aumento marcado del riesgo de padecer fiebre tifoidea durante el brote¹⁰⁰.

Las observaciones epidemiológicas que la eficacia de Vi perdura sólo ~3 años se condice con un informe en el que se controló la duración de los anticuerpos Vi séricos al cabo de una inoculación única de adultos en una zona no endémica. El porcentaje de sujetos con un supuesto nivel de protección (1,0 mcg/ml) del anticuerpo Vi cayó de 87% un mes después de la vacunación a 46% al cabo de 2 años y a sólo 35% al cabo de 3 años de la vacunación¹⁰¹.

En un ensayo de la eficacia aleatorizado por conglomerados en Kolkata, Vi confirió protección indirecta a sujetos no vacunados¹⁰², pero la misma vacuna de Vi evaluada en Karachi en un ensayo de diseño similar no suministró protección indirecta. En la tabla 1 se resumen las características sobresalientes de Ty21a, vacunas de Vi no conjugadas y dos vacunas de Vi conjugadas autorizadas (en la India).

Tabla 1. Características sobresalientes de la vacuna antitifoidea Ty21a oral elaborada con virus vivos autorizada y la vacuna antitifoidea de polisacárido Vi para administración por vía parenteral y de polisacárido Vi conjugada

Parámetro de comparación	Ty21a	Polisacárido Vi	Vi conjugado con un vector proteico
Vía de administración	oral	parenteral	parenteral
N.º de dosis	3 (4 en EE. UU. y Canadá)	1	1–2
Intervalo entre dosis	~ 48 horas	–	1–2 meses
Buena tolerancia	sí	sí	sí
Eficacia	~ 65%	~ 65%	89–100%
Duración de la eficacia	7 años	máximo de 3 años	4 años
Inmunidad colectiva	sí	sí	desconocida
IgG sérica contra Vi	no	sí	sí
Respuestas inmunitarias reforzables	sí	no	sí
CMI (incluso linfocitos citotóxicos)	sí	no	sin notificar
Apta para vacunación infantil	no ^a	no ^b	sí
Protege de cepas negativas a Vi	presuntamente	no	no
Protege de <i>S. Paratyphi</i> .	<i>S. Paratyphi</i> B exclusivamente	no ^c	no ^c
Recomendada para embarazadas	no	sí	seguramente
Vacunación escolar a gran escala	sí	sí	sí
Eficaz en población endémica	sí	sí	sí
Eficaz para viajeros	sí	sí	no se evaluó

^a No es posible administrar comprimidos gastroresistentes a lactantes.

^b El polisacárido Vi es un antígeno independiente de T con inmunogenia deficiente en lactantes.

^c *S. Paratyphi* A y B no expresan Vi.

Vacunas antitifoideas de nueva generación

Conjugados de Vi. El polisacárido Vi se ha conjugado para transportar proteínas como exotoxina A recombinada de *Pseudomonas aeruginosa* (rEPA)^{103,104}, toxina diftérica CRM₁₉₇^{105,106} y toxoide tetánico,¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ para aumentar la inmunogenia de estas vacunas administradas por vía parenteral que confieren propiedades dependientes de los linfocitos T al antígeno, como la inducción de la memoria inmunológica. Los ensayos previos a la autorización han demostrado diferencias en los patrones de las respuestas contra Vi de las distintas vacunas experimentales de Vi conjugadas, lo cual sugiere que las diferencias entre las vacunas en la proteína portadora y el método de conjugación utilizado, la cantidad de polisacáridos y otros factores pueden repercutir en la inmunogenia. Las dosis de refuerzo por vía parenteral de algunas vacunas conjugadas de Vi que se administran a adultos y niños en zonas endémicas han aumentado las concentraciones de anticuerpos en relación con las suscitadas por una primovacuna, lo cual sugiere la inducción de memoria inmunológica^{104,110,111}.

Se cuenta con datos de eficacia tomados de evaluaciones en el terreno para dos conjugados de Vi. Un ensayo en el terreno aleatorizado, previo a la autorización, de un régimen de dos dosis (con un intervalo de 6 semanas) de Vi-rEPA en niños de entre 2 y 4 años de edad en el Delta del río Mekong de Vietnam demostró una eficacia vacunal del 91,5% (IC del 95%, 77,1–96,6%) al cabo de 27 meses de vigilancia activa¹¹⁰ y 82% de eficacia (IC del 95%, 22,3–99,1%) durante otros 19 meses de seguimiento en los que se utilizó un sistema de vigilancia pasiva¹¹¹. También hubo una evaluación de la eficacia tras la autorización de Pedatyph™ Vi-TT¹¹² conjugada. El diseño del segundo ensayo no fue riguroso y se omitieron muchos detalles. Sin embargo, en esta comparación, no se confirmaron casos de fiebre tifoidea durante 12 meses de vigilancia entre 765 vacunados con 2 dosis de la vacuna (con un intervalo de 6 semanas), mientras que se registraron 11 casos confirmados de fiebre tifoidea en 860 niños no vacunados en edad escolar.

Dos conjugados de Vi que comprenden Vi vinculado al toxoide tetánico, Pedatyph™ y Typbar-TCV®, producidos en la India, han sido autorizados por el organismo regulador nacional. Para ambas vacunas se cuenta con datos de inmunogenia¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ y para Pedatyph™, algunos datos de eficacia¹¹². El Comité Asesor sobre Vacunas y Prácticas de Inmunización de la Academia de Pediatría de la India ha recomendado el uso del conjugado Typbar-TCV en niños de tan solo seis meses de vida¹¹³.

Los datos extensos de inmunogenicidad de los ensayos clínicos con Typbar-TCV documentan la inmunogenicidad de este conjugado en los lactantes de hasta seis meses de edad, su capacidad de provocar títulos de anticuerpos anti-Vi significativamente más altos, duraderos y de mayor avidéz que los registrados en vacunados de virus no conjugados de Vi polisacárido.¹⁰⁹ Typbar-TCV confirió también a voluntarios adultos de Oxford una protección notablemente superior (87,1% EV) frente a la exposición experimental con *S. Typhi* virulenta que la protección conferida por polisacárido Vi no conjugado (EV 52,3%) en un ensayo aleatorio controlado con placebo cuando la lectura de salida fue fiebre (38°C) seguida de un hemocultivo positivo.¹¹⁴ Se presentó una solicitud de precalificación de Typbar-TCV a la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2017. También en 2017, el Grupo de Expertos Científicos Asesores de la OMS (SAGE) comité votó que la vacuna conjugada Vi se debe administrar a los lactantes de tan solo seis meses de edad como una dosis única y que el se deben alentar, cuando sea factible, las “campañas de puesta al día” en niños de 6 meses a la edad escolar. En la tabla 2 se resumen las poblaciones beneficiarias por edad y las estrategias y regímenes de vacunación para vacunar a esas subpoblaciones mediante la armonización de la administración del conjugado de Vi con las visitas o campañas actuales del PAI.

Tabla 2. Estrategias para la vacunación de subpoblaciones con carga de morbilidad alta con vacunas conjugadas de Vi y regímenes de inmunización

Carga de morbilidad y población destinataria	Estrategia de inmunización para administrar la vacuna conjugada de Vi	Cronograma de vacunación
Incidencia alta en lactantes mayores y niños en edad preescolar (de 12 a 59 meses de edad)	Programa Ampliado sobre Inmunización.(PAI)	<p>Opción 1. Dos dosis: la primera administrada a ~9 meses de vida junto con la vacuna que contiene el sarampión 1 (MCV1) y la segunda a los 15 a 18 meses de vida junto con MCV2</p> <p>Opción 2. Dos o tres dosis a lactantes de corta edad junto con la vacuna pentavalente^a</p> <hr/> <p>Opción 3^b. Dos dosis: una administrada junto con la pentavalente 2 o la pentavalente 3 y la segunda junto con MCV1</p>
Incidencia alta en niños de edad escolar	Vacunación escolar o combinada con campañas de vacunación antisarampionosa	Dosis única
Incidencia alta en adultos jóvenes	Campañas de vacunación colectiva junto con otras vacunas ^c	Dosis única

^aLa vacuna pentavalente (o DPT en lugares en los que no se usa la pentavalente) se administra a las 6, 10 y 14 semanas en África Subsahariana y a los 2, 4 y 6 meses de vida en muchos países del sur de Asia y en América Latina.

^bSi bien esta opción es viable para ciertas poblaciones pediátricas donde la incidencia de la enfermedad es alta entre los lactantes mayores y los niños de corta edad en etapa preescolar, no se notificó ningún ensayo clínico en el que se ponga a prueba este régimen.

^cPor ejemplo, junto con las campañas de vacunación contra el virus de la encefalitis japonesa en Asia o con las campañas de MenAfrivac en África.

Vacunas orales de dosis única. Se demostró que las cepas recombinadas genotecnológicas de *S. Typhi* que contienen mutaciones atenuantes precisas son bien toleradas e inmunogénicas tras la ingestión de una dosis oral única en ensayos clínicos de fase 1 y 2. Las vacunas experimentales orales elaboradas con virus vivos incluyen las cepas M01ZH09¹¹⁵⁻¹¹⁷, Ty800¹¹⁸, CVD 908-*htrA*^{119,120} y CVD 909^{121,122}.

Prevención y control

Agua potable y alimentos. Dado que los patógenos de la fiebre tifoidea suelen adquirirse por medio de la ingestión de agua o alimentos contaminados, se deben tomar precauciones entéricas cuando se reside en zonas endémicas o se viaja a ellas. Sólo se debe consumir agua tratada (ya sea hervida o tratada con sustancias químicas) y se deben evitar alimentos que podrían estar contaminados con heces (por ejemplo, verduras sin cocinar en ensaladas).

Conclusión

Tanto para la prevención de enfermedades en poblaciones de países con tifoidea endémica como para viajeros de países industrializados a regiones del mundo donde la fiebre tifoidea es endémica o epidémica, actualmente existen vacunas parenterales (incluida una nueva vacuna conjugada Vi) y oral para proteger contra la fiebre tifoidea. El uso generalizado de estas vacunas puede disminuir la carga de la fiebre tifoidea en todo el mundo. Los conjugados Vi adicionales y las nuevas vacunas orales vivas para prevenir la fiebre tifoidea se encuentran en desarrollo clínico. Además, los conjugados parenterales y las vacunas orales vivas para prevenir la fiebre paratifoidea también están en desarrollo clínico.

Referencias

1. Crump JA, Luby SP, Mintz ED. The global burden of typhoid fever. *Bull World Health Organ* 2004;82:346–353.
2. Ochiai RL, Wang X, von SL y colegas. *Salmonella paratyphi* A rates, Asia. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1764–1766.
3. Karkey A, Aryjal A, Basnyat B, Baker S. Kathmandu, Nepal: still an enteric fever capital of the world. *J Infect Dev Ctries* 2008;2:461–465.
4. Levine MM, Ferreccio C, Black RE, Lagos R, San MO, Blackwelder WC. Ty21a live oral typhoid vaccine and prevention of paratyphoid fever caused by *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B. *Clin Infect Dis* 2007;45 Suppl 1:S24–S28.
5. Medina E, Yrarrazaval M. Fiebre tifoidea en Chile: Consideraciones epidemiológicas. *Rev Med Chile* 1983;111:609–615.
6. Levine MM, Black RE, Lanata C. Precise estimation of the numbers of chronic carriers of *Salmonella typhi* in Santiago, Chile, an endemic area. *J Infect Dis* 1982;146:724–726.
7. Khatri NS, Maskey P, Poudel S y colegas. Gallbladder carriage of *Salmonella paratyphi* A may be an important factor in the increasing incidence of this infection in South Asia. *Ann Intern Med* 2009;150:567–568.
8. Farid Z. Chronic urinary salmonella carriers with intermittent bacteraemia. *J Egypt Public Health Assoc* 1970;45:157–160.
9. Wolman A, Gorman A. *The significance of waterborne typhoid fever outbreaks*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1931.
10. Anonymous. Typhoid in the large cities of the United States in 1919. *JAMA* 1920;672–675.
11. Sears SD, Ferreccio C, Levine MM y colegas. The use of Moore swabs for isolation of *Salmonella typhi* from irrigation water in Santiago, Chile. *J Infect Dis* 1984;149:640–642.
12. Sears SD, Ferreccio C, Levine MM. Sensitivity of Moore sewer swabs for isolating *Salmonella typhi*. *Appl Environ Microbiol* 1986;51:425–426.
13. Lin FY, Becke JM, Groves C y colegas. Restaurant-associated outbreak of typhoid fever in Maryland: identification of carrier facilitated by measurement of serum Vi antibodies. *J Clin Microbiol* 1988;26:1194–1197.
14. Soper GA. The curious career of Typhoid Mary. *Bull N Y Acad Med* 1939;15:698–712.
15. Taylor JP, Shandera WX, Betz TG y colegas. Typhoid fever in San Antonio, Texas: an outbreak traced to a continuing source. *J Infect Dis* 1984;149:553–557.
16. Birkhead GS, Morse DL, Levine WC y colegas. Typhoid fever at a resort hotel in New York: a large outbreak with an unusual vehicle. *J Infect Dis* 1993;167:1228–1232.
17. Mermin JH, Villar R, Carpenter J y colegas. A massive epidemic of multidrug-resistant typhoid fever in Tajikistan associated with consumption of municipal water. *J Infect Dis* 1999;179:1416–1422.
18. Egoz N, Shihab S, Leitner L, Lucian M. An outbreak of typhoid fever due to contamination of the municipal water supply in northern Israel. *Isr J Med Sci* 1988;24:640–643.

19. Walker WE. The Aberdeen typhoid outbreak of 1964. *Scott Med J* 1965;10:466–479.
20. Blaser MJ, Hickman FW, Farmer JJ, Brenner DJ, Ballows A, Feldman RA. *Salmonella typhi*: The laboratory as a reservoir of infection. *J Infect Dis* 1980;142:934–938.
21. Blaser MJ, Lofgren JP. Fatal salmonellosis originating in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 1981;13:855–858.
22. Stuart BM, Pullen RL. Typhoid. *Arch Int Med* 1946;78:629–661.
23. Osler W. Typhoid Fever. In: Osler W, ed. *The Principles and Practice of Medicine*. New York: D Appleton; 1892;2–43.
24. Vollaard AM, Ali S, Widjaja S y colegas. Identification of typhoid fever and paratyphoid fever cases at presentation in outpatient clinics in Jakarta, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005;99:440–450.
25. Maskey AP, Day JN, Phung QT y colegas. *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A and *S. enterica* serovar Typhi cause indistinguishable clinical syndromes in Kathmandu, Nepal. *Clin Infect Dis* 2006;42:1247–1253.
26. Huckstep R. *Typhoid fever and the other Salmonella infections*. Edinburgh: E & S Livingstone, 1962.
27. Hoffman T, Ruiz C, Counts G, Sachs J, Nitzkin H. Waterborne typhoid fever in Dade County, Florida. *Am J Med* 1975;59:481–487.
28. Gilman R, Termino M, Levine M, Hernandez-Mendoza P, Hornick R. Relative efficacy of blood, urine, rectal swab, bone-marrow, and rose-spot cultures for recovery of *Salmonella typhi* in typhoid fever. *Lancet* 1975;1:1211–1213.
29. Ferreccio C, Levine MM, Manterola A y colegas. Benign bacteremia caused by *Salmonella typhi* and *paratyphi* in children younger than 2 years. *J Pediatr* 1984;104:899–901.
30. Mahle WT, Levine MM. *Salmonella typhi* infection in children younger than five years of age. *J Pediatr* 1993;124:627–631.
31. Hoffman S, Punjabi N, Kumala S, y colegas. Reduction of mortality in chloramphenicol-treated severe typhoid fever by high-dose dexamethasone. *N Engl J Med* 1984;310:82–88.
32. Neil KP, Sodha SV, Lukwago L y colegas. A large outbreak of typhoid fever associated with a high rate of intestinal perforation in Kasese District, Uganda, 2008–2009. *Clin Infect Dis* 2012;54:1091–1099.
33. Ames W, Robins M. Age and sex as factors in the development of the typhoid carrier state and a method of estimating carrier prevalence. *Am J Public Health* 1943;33:221–230.
34. Ledingham J, Arkwright J. *The Carrier Problem in Infectious Diseases*. London: Arnold, 1912.
35. Kohbata S, Yokoyama H, Yabuchi E. Cytopathogenic effect of *Salmonella typhi* GIFU 10007 on M cells of murine ileal Peyer's patches in ligated ileal loops: an ultrastructural study. *Microbiol Immunol* 1986;30:1225–1237.
36. Takeuchi A. Electron microscope studies of experimental *Salmonella* infection. I. Penetrations into the intestinal epithelium by *Salmonella typhimurium*. *Am J Pathol* 1967;50:109–136.
37. Kops SK, Lowe DK, Bement WM, West AB. Migration of *Salmonella typhi* through intestinal epithelial monolayers: an in vitro study. *Microbiol Immunol* 1996;40:799–811.
38. Robbins J, Robbins J. Reexamination of the protective role of the capsular polysaccharide Vi antigen of *Salmonella typhi*. *J Infect Dis* 1984;150:436–449.
39. Baker S, Sarwar Y, Aziz H y colegas. Detection of Vi-negative *Salmonella enterica* serovar typhi in the peripheral blood of patients with typhoid fever in the Faisalabad region of Pakistan. *J Clin Microbiol* 2005;43:4418–4425.
40. Hornick RB, Greisman SE, Woodward TE, DuPont HL, Dawkins AT, Snyder MJ. Typhoid fever; pathogenesis and immunologic control. *N Eng J Med* 1970;283:686–691, 739–746.
41. Gaines S, Sprinz H, Tully J, Tigertt W. Studies on infection and immunity in experimental typhoid fever. VII. The distribution of *Salmonella typhi* in chimpanzee tissue following oral challenge and the relationship between the numbers of bacilli and morphologic lesions. *J Infect Dis* 1968;118:293–306.
42. Gilman RH, Young C, Bulger R, Hornick RB, Greenberg B. Anatomical and immunological responses of rabbit gallbladders to bacterial infections. *Infect Immun* 1982;36:407–416.
43. Avendano A, Herrera P, Horwitz I y colegas. Duodenal string cultures; Practicality and sensitivity for diagnosing enteric fever in children. *J Infect Dis* 1986;153:359–362.

44. Hoffman S, Punjabi N, Rockhill R, y colegas. Duodenal string-capsule culture compared with bone-marrow, blood and rectal swab cultures for diagnosing typhoid and paratyphoid fever. *J Infect Dis* 1984;149:157–161.
45. Benavente L, Gotuzzo E, Guerra J, Grados O, Guerra H, Bravo N. Diagnosis of typhoid fever using a string capsule device. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984;78:404–406.
46. Merselis JG, Jr., Kaye D, Connolly CS, Hook WE. Quantitative bacteriology of the typhoid carrier state. *Am J Trop Med Hyg* 1964;13:425–429.
47. Losonsky GA, Ferreccio C, Kotloff KL, Kaintuck S, Robbins JB, Levine MM. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for serum Vi antibodies for detection of chronic *Salmonella typhi* carriers. *J Clin Microbiol* 1987;25:2266–2269.
48. Lanata CF, Levine MM, Ristori C y colegas. Vi serology in detection of chronic *Salmonella typhi* carriers in an endemic area. *Lancet* 1983;2:441–443.
49. Szein MB. Cell-mediated immunity and antibody responses elicited by attenuated *Salmonella enterica* Serovar Typhi strains used as live oral vaccines in humans. *Clin Infect Dis* 2007;45 Suppl 1:S15–S19.
50. Guerra-Caceres J, Gotuzzo-Herencia E, Crosby-Dagnino E, Miro-Quesada M, Carill-Paredi C. Diagnostic value of bone marrow culture in typhoid fever. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1979;73:680–683.
51. Levy H, Diallo S, Tennant SM y colegas. A PCR Method to Identify *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi A and Paratyphi B Among *Salmonella* Isolates from the Blood of Patients with Clinical Enteric Fever. *J Clin Microbiol* 2008;46:1861–1866.
52. Song JH, Cho H, Park MY, Na DS, Moon HB. Detection of *Salmonella typhi* in the blood of patients with typhoid fever by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:1439–1443.
53. Ali A, Haque A, Haque A y colegas. Multiplex PCR for differential diagnosis of emerging typhoidal pathogens directly from blood samples. *Epidemiol Infect* 2009;137:102–107.
54. Zhu Q, Lim CK, Chan YN. Detection of *Salmonella typhi* by polymerase chain reaction. *J Appl Bacteriol* 1996;80:244–251.
55. Tennant SM, Toema D, Qamar F y colegas. Detection of Typhoidal and Paratyphoidal Salmonella in Blood by Real-time Polymerase Chain Reaction. *Clin Infect Dis* 2015;61 Suppl 4:S241–50. doi: 10.1093/cid/civ726.:S241-S250.
56. Al-Emran HM, Hahn A, Baum J y colegas. Diagnosing *Salmonella enterica* Serovar Typhi Infections by Polymerase Chain Reaction Using EDTA Blood Samples of Febrile Patients From Burkina Faso. *Clin Infect Dis* 2016;62 Suppl 1:S37–41. doi: 10.1093/cid/civ770.:S37-S41.
57. Widal G, Sicard A. Rescherches de la reaction agglutinate dans le sang et le serum desseches des typhiques et dans la serosite des vesications. *Bull Soc Med Paris (3rd ser)* 1896;13:681–682.
58. Levine MM, Grados O, Gilman RH, Woodward WE, Solis Plaza R, Waldman W. Diagnostic value of the Widal test in areas endemic for typhoid fever. *Am J Trop Med Hyg* 1978;27:795–800.
59. Levine MM, Black RE, Ferreccio C y colegas. Interventions to control endemic typhoid fever: Field studies in Santiago, Chile. Washington, D.C.: PAHO Copublication Series No. 1; 1986;37–53.
60. Hoffman S, Flanigan TP, Klaucke D, y colegas. The Widal slide agglutination test, a valuable rapid diagnostic test in typhoid fever patients at the infectious diseases hospital of Jakarta. *Am J Epidemiol* 1986;123:869–875.
61. Woodward TE, Smadel JE, Ley HL, Green R, Mankakan DS. Preliminary report on the beneficial effect of chloromycetin in the treatment of typhoid fever. *Ann Intern Med* 1948;29:131–134.
62. Anderson ES. The problem and implications of chloramphenicol resistance in the typhoid bacillus. *J Hyg (Lond)* 1975;74:289–299.
63. Gilman RH, Terminel M, Levine MM y colegas. Comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole and amoxicillin in therapy of chloramphenicol-resistant and chloramphenicol-sensitive typhoid fever. *J Infect Dis* 1975;132:630–636.
64. Butler T, Linh NN, Arnold K, Pollack M. Chloramphenicol-resistant typhoid fever in Vietnam associated with R factor. *Lancet* 1973;2:983–985.
65. Goldstein FW, Chumpitaz JC, Guevara JM, Papadopoulou B, Acar JF, Vieu JF. Plasmid-mediated resistance to multiple antibiotics in *Salmonella typhi*. *J Infect Dis* 1986;153:261–266.
66. Gupta A. Multidrug-resistant typhoid fever in children: epidemiology and therapeutic approach. *Pediatr Infect Dis* 1994;13:124–140.

67. Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ. Spread of multiresistant *Salmonella typhi*. *Lancet* 1990;336:1065–1066.
68. Bhutta ZA. Impact of age and drug resistance on mortality in typhoid fever. *Arch Dis Child* 1996;75:214–217.
69. Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. *N Engl J Med* 2002;347:1770–1782.
70. Thaver D, Zaidi AK, Critchley J, Azmatullah A, Madni SA, Bhutta ZA. A comparison of fluoroquinolones versus other antibiotics for treating enteric fever: meta-analysis. *BMJ* 2009;338:b1865.
71. Parry CM, Beeching NJ. Treatment of enteric fever. *BMJ* 2009;338:b1159. doi: 10.1136/bmj.b1159.:b1159.
72. Threlfall EJ, Fisher IS, Berghold C y colegas. Trends in antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica* serotypes Typhi and Paratyphi A isolated in Europe, 1999–2001. *Int J Antimicrob Agents* 2003;22:487–491.
73. Parry CM, Ho VA, Phuong IT y colegas. Randomized controlled comparison of ofloxacin, azithromycin, and an ofloxacin-azithromycin combination for treatment of multidrug-resistant and nalidixic acid-resistant typhoid fever. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:819–825.
74. Dolecek C, Tran TP, Nguyen NR y colegas. A multi-center randomised controlled trial of gatifloxacin versus azithromycin for the treatment of uncomplicated typhoid fever in children and adults in Vietnam. *PLoS ONE* 2008;3:e2188.
75. Thaver D, Zaidi AK, Critchley JA, Azmatullah A, Madni SA, Bhutta ZA. Fluoroquinolones for treating typhoid and paratyphoid fever (enteric fever). *Cochrane Database Syst Rev* 2008;CD004530.
76. Department of Vaccines & Biologicals, Acosta C, Albert MJ, Bhan MK, Bhutta Z, Breiman B y colegas. Background Document: The diagnosis, treatment, and prevention of typhoid fever. 1–38. 2003. Geneva, World Health Organization. Ref Type: Report
77. Pandit A, Arjyal A, Day JN y colegas. An open randomized comparison of gatifloxacin versus cefixime for the treatment of uncomplicated enteric fever. *PLoS ONE* 2007;2:e542.
78. Cao XT, Kneen R, Nguyen TA, Truong DL, White NJ, Parry CM. A comparative study of ofloxacin and cefixime for treatment of typhoid fever in children. The Dong Nai Pediatric Center Typhoid Study Group. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:245–248.
79. Effa EE, Bukirwa H. Azithromycin for treating uncomplicated typhoid and paratyphoid fever (enteric fever). *Cochrane Database Syst Rev* 2008;CD006083.
80. Punjabi NH, Hoffman SL, Edman DC y colegas. Treatment of severe typhoid fever in children with high dose dexamethasone. *Pediatr Infect Dis J* 1988;7:598–600.
81. Germanier R, Furer E. Isolation and characterization of gal E mutant Ty21a of *Salmonella typhi*: A candidate strain for a live oral typhoid vaccine. *J Infect Dis* 1975;141:553–558.
82. Levine MM, Ferreccio C, Black RE, Tacket CO, Germanier R. Progress in vaccines against typhoid fever. *Rev Infect Dis* 1989;11 Suppl 3:S552-S567.
83. Levine MM, Ferreccio C, Black RE, Germanier R, Chilean Typhoid Committee. Large-scale field trial of Ty21a live oral typhoid vaccine in enteric-coated capsule formulation. *Lancet* 1987;1:1049–1052.
84. Black RE, Levine MM, Ferreccio C y colegas. Efficacy of one or two doses of Ty21a *Salmonella typhi* vaccine in enteric-coated capsules in a controlled field trial. Chilean Typhoid Committee. *Vaccine* 1990;8:81–84.
85. Levine MM, Ferreccio C, Cryz S, Ortiz E. Comparison of enteric-coated capsules and liquid formulation of Ty21a typhoid vaccine in randomised controlled field trial. *Lancet* 1990;336:891–894.
86. Simanjuntak C, Paleologo F, Punjabi N y colegas. Oral immunisation against typhoid fever in Indonesia with Ty21a vaccine. *Lancet* 1991;338:1055–1059.
87. Wahdan MH, Serie C, Germanier R, y colegas. A controlled field trial of live oral typhoid vaccine Ty21a. *Bull WHO* 1980;58:469–474.
88. Wahdan MH, Serie C, Cerisier Y, Sallam S, Germanier R. A controlled field trial of live *Salmonella typhi* strain Ty21a oral vaccine against typhoid: Three year results. *J Infect Dis* 1982;145:292–296.
89. Ferreccio C, Levine MM, Rodriguez H, Contreras R. Comparative efficacy of two, three, or four doses of Ty21a live oral typhoid vaccine in enteric-coated capsules: a field trial in an endemic area. *J Infect Dis* 1989;159:766–769.
90. Levine MM, Ferreccio C, Abrego P, Martin OS, Ortiz E, Cryz S. Duration of efficacy of ty21a, attenuated *salmonella typhi* live oral vaccine. *Vaccine* 1999;17 Suppl 2:S22-S27.

91. Levine MM, Ferreccio C, Abrego P, Martin OS, Ortiz E, Cryz S. Duration of efficacy of Ty21a, attenuated *salmonella typhi* live oral vaccine. *Vaccine* 1999;17 Suppl 2:S22-S27.
92. Bhuiyan TR, Choudhury FK, Khanam F y colegas. Evaluation of immune responses to an oral typhoid vaccine, Ty21a, in children from 2 to 5 years of age in Bangladesh. *Vaccine* 2014;32:1055–1060.
93. Wong KH, Feeley JC, Northrup RS, Forlines ME. Vi antigen from *Salmonella typhosa* and immunity against typhoid fever. I. Isolation and immunologic properties in animals. *Infect Immun* 1974;9:348–353.
94. Tacket CO, Ferreccio C, Robbins JB y colegas. Safety and immunogenicity of two *Salmonella typhi* Vi capsular polysaccharide vaccines. *J Infect Dis* 1986;154:342–345.
95. Klugman K, Gilbertson IT, Kornhoff HJ y colegas. Protective activity of Vi polysaccharide vaccine against typhoid fever. *Lancet* 1987;2:1165–1169.
96. Acharya VI, Lowe CU, Thapa R y colegas. Prevention of typhoid fever in Nepal with the Vi capsular polysaccharide of *Salmonella typhi*. A preliminary report. *N Engl J Med* 1987;317:1101–1104.
97. Keitel WA, Bond NL, Zahradnik JM, Cramton TA, Robbins JB. Clinical and serological responses following primary and booster immunization with *Salmonella typhi* Vi capsular polysaccharide vaccines. *Vaccine* 1994;12:195–199.
98. Klugman KP, Koornhof HJ, Robbins JB, Le Cam NN. Immunogenicity, efficacy and serological correlate of protection of *Salmonella typhi* Vi capsular polysaccharide vaccine three years after immunization. *Vaccine* 1996;14:435–438.
99. Yang HH, Wu CG, Xie GZ y colegas. Efficacy trial of Vi polysaccharide vaccine against typhoid fever in south-western China. *Bull World Health Organ* 2001;79:625–631.
100. Michel R, Garnotel E, Spiegel A, Morillon M, Saliou P, Boutin JP. Outbreak of typhoid fever in vaccinated members of the French Armed Forces in the Ivory Coast. *Eur J Epidemiol* 2005;20:635–642.
101. Froeschle JE, Decker MD. Duration of Vi antibodies in participants vaccinated with Typhim Vi (Typhoid Vi polysaccharide vaccine) in an area not endemic for typhoid fever. *Vaccine* 2009;28:1451–1453.
102. Sur D, Ochiai RL, Bhattacharya SK y colegas. A cluster-randomized effectiveness trial of Vi typhoid vaccine in India. *N Eng J Med* 2009;361:335–344.
103. Szu SC. Development of Vi conjugate — a new generation of typhoid vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2013;12:1273–1286.
104. Kossaczka Z, Lin FY, Ho VA y colegas. Safety and immunogenicity of Vi conjugate vaccines for typhoid fever in adults, teenagers, and 2- to 4-year-old children in Vietnam. *Infect Immun* 1999;67:5806–5810.
105. Van DP, Kafaja F, Anemona A y colegas. Safety, immunogenicity and dose ranging of a new Vi-CRM(1)(9)(7) conjugate vaccine against typhoid fever: randomized clinical testing in healthy adults. *PLoS ONE* 2011;6:e25398.
106. Bhutta ZA, Capeding MR, Bavdekar A y colegas. Immunogenicity and safety of the Vi-CRM₁₉₇ conjugate vaccine against typhoid fever in adults, children, and infants in south and southeast Asia: results from two randomised, observer-blind, age de-escalation, phase 2 trials. *Lancet Infect Dis* 2014;14:119–129.
107. Chinnasami B, Mangayarkarasi V, Prema A, Sadasivam K, Davis MJ. Safety and immunogenicity of *Salmonella Typhi* Vi conjugate vaccine (Peda Typh™) in children up to 5 years. *International Journal of Scientific and Research Publications* 2013;3:1–5.
108. Chinnasami B, Sadasivam K, Vivekanandhan A, Arunachalam P, Pasupathy S. A Study on Longevity of Immune Response after Vaccination with *Salmonella Typhi* Vi Conjugate Vaccine (Pedatyph) in Children. *J Clin Diagn Res* 2015;9:SC01-SC03.
109. Mohan VK, Varanasi V, Singh A y colegas. Safety and Immunogenicity of a Vi Polysaccharide-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine (Typbar-TCV) in Healthy Infants, Children, and Adults in Typhoid Endemic Areas: A Multicenter, 2-Cohort, Open-Label, Double-Blind, Randomized Controlled Phase 3 Study. *Clin Infect Dis* 2015;61:393–402.
110. Lin FYC, Ho VA, Khiem HB y colegas. The efficacy of a *Salmonella Typhi* Vi conjugate vaccine in two-to-five-year-old children. *N Eng J Med* 2001;344:1263–1268.
111. Mai NL, Phan VB, Vo AH y colegas. Persistent efficacy of Vi conjugate vaccine against typhoid fever in young children. *N Engl J Med* 2003;349:1390–1391.
112. Mitra M, Shah N, Ghosh A y colegas. Efficacy and Safety of Vi-Tetanus Toxoid conjugated Typhoid vaccine (PedaTyph) in Indian Children: School Based Cluster Randomized Study. *Hum Vaccin Immunother* 2016;0.

113. Vashishtha VM, Choudhury P, Kalra A y colegas. Indian Academy of Pediatrics (IAP) recommended immunization schedule for children aged 0 through 18 years—India, 2014 and updates on immunization. *Indian Pediatr* 2014;51:785–800.
114. Jin C, Gibani MM, Moore M et al. Efficacy and immunogenicity of a Vi-tetanus toxoid conjugate vaccine in the prevention of typhoid fever using a controlled human infection model of *Salmonella Typhi*: a randomised controlled, phase 2b trial. *Lancet* 2017;10–6736.
115. Hindle Z, Chatfield SN, Phillimore J y colegas. Characterization of *Salmonella enterica* derivatives harboring defined *aroC* and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system (*ssaV*) mutations by immunization of healthy volunteers. *Infect Immun* 2002;70:3457–3467.
116. Kirkpatrick BD, McKenzie R, O'Neill JP y colegas. Evaluation of *Salmonella enterica* serovar Typhi (Ty2 *aroC*-*ssaV*-) M01ZH09, with a defined mutation in the *Salmonella* pathogenicity island 2, as a live, oral typhoid vaccine in human volunteers. *Vaccine* 2006;24:116–123.
117. Kirkpatrick BD, Tenney KM, Larsson CJ y colegas. The novel oral typhoid vaccine M01ZH09 is well tolerated and highly immunogenic in 2 vaccine presentations. *J Infect Dis* 2005;192:360–366.
118. Hohmann EL, Oletta CA, Killeen KP, Miller SI. *phoP/phoQ*-deleted *Salmonella typhi* (Ty800) is a safe and immunogenic single-dose typhoid fever vaccine in volunteers. *J Infect Dis* 1996;173:1408–1414.
119. Tacket CO, Sztein MB, Losonsky GA y colegas. Safety of live oral *Salmonella typhi* vaccine strains with deletions in *htrA* and *aroC aroD* and immune response in humans. *Infect Immun* 1997;65:452–456.
120. Tacket CO, Sztein MB, Wasserman SS y colegas. Phase 2 clinical trial of attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhi oral live vector vaccine CVD 908-*htrA* in U.S. volunteers. *Infect Immun* 2000;68:1196–1201.
121. Tacket CO, Pasetti MF, Sztein MB, Livio S, Levine MM. Immune responses to an oral typhoid vaccine strain that is modified to constitutively express Vi capsular polysaccharide. *J Infect Dis* 2004;190:565–570.
122. Wang JY, Noriega FR, Galen JE, Barry E, Levine MM. Constitutive expression of the Vi polysaccharide capsular antigen in attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhi oral vaccine strain CVD 909. *Infect Immun* 2000;4647–4652.