Adenosina deaminasa en fiebre tifoidea y otras enfermedades febriles

Víctor Casanueva E.¹; Ximena Cid C.²; Gilda Cavicchioli B.²;
Margarette Oelker B.¹; Julián Cofré C.³

Adenosine deaminase: activity in typhoid fever and other febrile conditions

The contribution of serum adenosine deaminase (ADA) activity to the diagnosis of typhoid fever was assessed in 246 children and in 46 adults, by Giusti's original technique⁵. Children included otherwise healthy patients admitted for elective surgical conditions or under follow up for epilepsy which were considered to be a control group (n: 81), presumptive viral diseases (n: 31), miscellaneous febrile diseases except for typhoid fever (n: 41), different kinds of bacteremia (n: 6), diarrhea due to *Salmonella typhimurium* (n: 14), viral hepatitis (n: 24), and culture proven typhoid fever (n: 49). Adult's group included 39 healthy controls and 7 patients with culture proven typhoid fever. Among children mean ADA activity was as follows: control group 28 ± 7.8 , viral disease 35.3 ± 13.1 , miscellaneous febrile disease 36.1 ± 15.6 , bacteremia group: 30.3 ± 10.3 , salmonellosis group 51.6 ± 9 , hepatitis group 68.3 ± 34.5 , typhoid fever group 124.4 ± 40.8 U/l 37°C. Among adults, values were 18.4 ± 7.5 for controls and 112.8 ± 19.2 U/l 37°C in typhoid fever patients. In both adults and children ADA activity was significantly higher in the typhoid fever group ($p < 0.0001$). Untreated typhoid fever patients had their higher ADA activity between 10th and 15th day of illness. When ADA cut point was set at 80 U/l, sensitivity of the test was 91.8% and specificity was 91.4% as a preliminary clue to the recognition of typhoid fever.

(Key words: Adenosine deaminase, serum, typhoid fever.)

La enzima adenosina deaminasa (ADA) actúa en el catabolismo de las purinas, catalizando la transformación de adenosina en inosina y de 2-desoxiadenosina en 2-desoxinosina respectivamente¹. En el suero existen dos isoenzimas, ADA 1 y ADA 2². Su mayor actividad se encuentra en el tejido linfóide, especialmente en los linfocitos T, variando según la diferenciación de ellos, por lo que sirve como marcador de actividad de la inmunidad celular³. En todas las enfermedades que presentan ese tipo de respuesta inmunitaria la ADA sérica está aumentada: fiebre tifoidea⁴, mononucleosis infecciosa, hepatitis vírica, brucelosis⁵ y derrame pleural tuberculoso, el cual ha sido ampliamente estudiado en nuestro país^{6, 7}.

Muchas veces se encuentran pacientes con fie-

bre de curso prolongado, cuya etiología no es posible determinar por la anamnesis y el examen físico. Por su prevalencia y las condiciones de nuestro país, una primera hipótesis es la fiebre tifoidea; sin embargo, su confirmación precoz no es fácil ya que los métodos clásicos presentan ciertas desventajas, como demora de los resultados, rendimiento variable de los cultivos⁸⁻¹¹; poca especificidad de las reacciones de aglutinación¹², y por último, en pacientes tratados con antibióticos, disminución de aislamientos positivos en los cultivos¹³. Es necesario investigar un método rápido, de bajo costo, que no sea afectado por los antibióticos, que tenga buen rendimiento y permita orientar el diagnóstico en los pacientes con fiebre. En un informe preliminar nos hemos referido a la utilidad de la ADA en fiebre tifoidea y a sus valores de referencia en niños y adultos¹⁴. El objetivo de este trabajo es describir su actividad sérica en diversas enfermedades febriles, determinar su sensibilidad, especificidad y valor predictivo en el diagnóstico de fiebre tifoidea y mostrar su evolución en pacientes que han recibido tratamiento específico.

1. Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción.
2. Laboratorio Central, Hospital Guillermo Grant Benavente, Concepción.
3. Servicio de Pediatría, Hospital Guillermo Grant Benavente.

Material y Método

Se determinó la actividad de la enzima adenosina deaminasa en un estudio prospectivo de caso y control en el suero de 292 pacientes, 246 niños y 46 adultos, de edades entre 1 a 14 y 19 a 45 años, respectivamente, ingresados al Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción, entre los meses de marzo de 1988 y junio de 1990. Las muestras fueron enviadas al laboratorio sin expresión del diagnóstico.

Los niños se dividieron en 7 grupos: un grupo control formado por 81 pacientes que ingresaron para ser operados en otorrinolaringología y cirugía infantil o epilépticos en tratamiento. El segundo grupo comprendía 31 niños, cuyo diagnóstico de egreso fue infección presuntamente viral, por descarte de otras afecciones y en base a hechos clínicos y evidencia de laboratorio. En el tercero se incluyeron 41 niños con síndrome febril, en los cuales se descartaron infecciones por *Salmonella typhi* mediante cultivo y estaba constituido por infecciones urinarias (n: 10), shigelosis (n: 2), gastroenteritis (n: 3), diarrea aguda (n: 1), bronconeumonías (n: 10), artritis (n: 3), sarampión (n: 1), meningoencefalitis (n: 2), varicela (n: 1), quiste hidatídico (n: 1), apendicitis (n: 5), tuberculosis (n: 2). El cuarto correspondía a 6 niños que presentaban septicemia por germen gram positivo (n: 3) y gram negativo (n: 3). El quinto grupo estaba formado por 14 niños afectados por un brote hospitalario de diarrea debida a *Salmonella typhimurium*, comprobada con hemocultivos, mielocultivos o coprocultivos. En el grupo seis se incluyeron 24 niños cuyo diagnóstico clínico y de laboratorio era hepatitis viral. El séptimo grupo comprendía 49 niños con diagnóstico de fiebre tifoidea, comprobado con sus respectivos cultivos en todos los casos.

Los adultos se dividieron en 2 grupos: control, compuesto por 39 donantes del banco de sangre del mismo hospital, y otro de 7 pacientes hospitalizados con fiebre tifoidea confirmada mediante hemocultivos.

La actividad de la adenosina deaminasa sérica se determinó mediante la técnica original de Giusti⁵, modificando la longitud de onda de medición de 630 a 578 nm. Este es un método colorimétrico en el que la adenosina es transformada en inosina por la acción de ADA, produciéndose NH_3 que reacciona con hipoclorito de sodio y fenol (empleando nitroprusiato de sodio en medio alcalino como catalizador) para formar indofenol. Las lecturas se realizaron en un fotómetro Clinicon 4.010 frente a un blanco de reactivo y la actividad de la ADA sérica se expresó en U/l a 37°C. En el análisis de la significación estadística de las diferencias observadas se utilizó la prueba de Students.

Resultados

En la figura 1 se muestra la distribución y al pie de ella se expresan los valores promedio de actividad de ADA en los grupos estudiados. En los niños controles la concentración de ADA en el suero fue $28,0 \pm 7,8$ U/l y en controles adultos

$18,4 \pm 7,5$ U/l, diferencia que resultó estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Los promedios de actividad sérica de ADA fueron significativamente mayores en los pacientes con fiebre tifoidea ($124,4 \pm 40,8$ en niños y $112,8 \pm 19,2$ U/l en adultos) que en pacientes con las demás enfermedades ($p < 0,0001$). Considerando 80 U/l como límite de actividad para diferenciar fiebre tifoidea de otras afecciones, 4 pacientes (8,1% de la muestra) que en momento de la determinación llevaban 25 días de evolución presentaron valores inferiores a esta cifra, 9 (18,4%) tenían concentraciones séricas entre 80 y 100 U/l y 36 (73,5%) sobre 100 U/l. En hepatitis se dieron algunos casos con actividad sérica de ADA sobre el límite de 80, pero la enfermedad es fácil de descartar con las transaminasas y el estudio de función hepática.

En la tabla 2 se muestra un intento para reconstruir la evolución de la actividad de ADA en el tiempo transcurrido desde el comienzo de los síntomas clínicos de la fiebre tifoidea. En las mediciones realizadas en la primera semana su concentración ya estaba aumentada y el máximo de actividad de la enzima se produjo aproximadamente a los 15 días de evolución, comenzando su descenso gradual alrededor de los 25 días en pacientes sin tratamiento. En la figura 2 se muestra la actividad de la enzima en 7 pacientes en tratamiento por fiebre tifoidea, observándose que en pocos días estaba bajo 80 U en la mayoría de ellos.

La sensibilidad y especificidad de la respuesta enzimática de ADA para la identificación de fiebre tifoidea entre las causas estudiadas en esta serie fueron 91,8% y 91,4%, respectivamente, al considerar como valor límite 80 U/l a 37°C. El valor predictivo de la prueba positiva fue de 81% y el de la prueba negativa 96%.

Discusión

La diferencia de la actividad sérica de ADA entre niños y adultos sanos podría deberse a la mayor actividad del timo en el niño. Los valores de ADA en fiebre tifoidea parecen ser una buena ayuda en el diagnóstico de esta enfermedad, por su diferencia altamente significativa con los valores de referencia y los obtenidos en enfermedades presuntamente virales, afecciones febriles de diversas causas, otras salmonelosis y hepatitis. Estas dos últimas mostraron, en algunas ocasio-

Diagnóstico	n	ADA sérica U/l 37°C x ± DE	p respecto al control
Niños			
Controles	81	28,0 ± 7,8	
Septicemia	6	30,3 ± 10,3	NS
Virosis presuntas	31	35,3 ± 13,1	p < 0,001
Cuadros febriles diversos	41	36,1 ± 15,6	p < 0,001
Diarrea por salmonellas	14	51,6 ± 9,0	p < 0,001
Hepatitis	24	68,3 ± 34,5	p < 0,001
Fiebre tifoidea	49	124,4 ± 40,8	p < 0,0001
Adultos			
Controles	39	18,4 ± 7,5	
Fiebre tifoidea	7	112,8 ± 19,2	p < 0,0001
Total	292		

* p < 0,0001 fiebre tifoidea respecto a salmonelosis y hepatitis.

Figura 1: Actividad sérica de la adenosina deaminasa (ADA) en niños y adultos sanos y con fiebre tifoidea y en niños con otras enfermedades febriles.

Tabla 1

ADA sérica en pacientes con fiebre tifoidea sin tratamiento

n días desde comienzo de enfermedad	n pacientes	Actividad ADA U/l 37°C x ± DE	
4 - 9	23	127,2	38,9
10 - 15	8	143,8	49,4
16 - 21	4	116,8	32,7
22 - +	5	79,8	30,1
Total	40

Figura 2: Seguimiento de ADA sérica de siete pacientes con tratamiento para fiebre tifoidea. 0 = comienzo del tratamiento.

nes, actividades séricas de ADA similares a las de la fiebre tifoidea, pero son fácilmente identificables, la primera por sus manifestaciones clínicas de diarrea, que obedecía, además, en todos los casos de esta serie, a infecciones intrahospitalarias y la segunda por sus signos, síntomas y las concentraciones séricas de transaminasas y bilirrubina.

La confirmación del diagnóstico de fiebre tifoidea por hemocultivos y mielocultivos adolece de ciertas dificultades, entre ellas la tardanza

en el informe de los resultados con las consiguientes demoras del tratamiento y prolongación de las molestias de los pacientes, la variabilidad de su rendimiento en diferentes circunstancias y los riesgos de complicaciones inherentes a la toma de muestras para mielocultivos¹⁵⁻²⁰. Las reacciones de aglutinación basadas en la aparición de aglutininas contra antígenos O y H de *Salmonella typhi* son poco confiables ya que, entre otras cosas, han sido descritas hasta en más de 40% de niños aparentemente sanos. Otros

métodos inmunológicos más recientes y de mejor rendimiento como la búsqueda de anticuerpos IgM e IgG contra las porinas (proteínas antigénicas de la membrana celular de la *S. typhi*)¹⁶, el empleo de sondas DNA específicas y los inmunoensayos enzimáticos con anticuerpos monoclonales para los antígenos O, H y Vi¹⁷ y ELISA¹⁹, están aún en fases experimentales o carecen de la sensibilidad necesaria o, simplemente, están fuera de nuestro alcance.

En estas circunstancias, la medición de la actividad sérica podría ser de utilidad para orientar más precozmente hacia el diagnóstico de fiebre tifoidea, que en todo caso requiere, por el momento, de confirmación por cultivos.

La respuesta inmune del huésped a la *Salmonella typhi* es mediada por células, ya que es posible transmitir la protección mediante linfocitos, pero no mediante suero²⁰, y se ha propuesto el empleo de la actividad de ADA como marcador de la actividad inmune mediada por células²¹.

Las salmonellas, en general, penetran hasta la lámina propia de la mucosa intestinal, desencadenando una respuesta celular a base de polimorfonucleares. La infección no se disemina más y, si ocurre, la bacteremia es transitoria y sin focos metastásicos en los pacientes inmunocompetentes. En cambio, la *Salmonella typhi* pasa rápidamente a la circulación general, probablemente a través de los linfáticos, para localizarse en las células del sistema reticuloendotelial, donde se multiplica, para volver desde ahí a la circulación. En la lámina propia la *S. typhi* origina una reacción celular a base de mononucleares, al parecer por inhibición de los mecanismos oxidativos de la fagocitosis en los polimorfonucleares, lo que le permite resistir la destrucción en el interior de estos leucocitos. Los monocitos, entonces, transportan los bacilos a los ganglios mesentéricos y al sistema reticuloendotelial²⁰ donde se multiplican, produciéndose hepatomegalia, esplenomegalia e hiperplasia de las placas de Peyer. El contacto intracelular sostenido explicaría el aumento de la actividad de la ADA en la fiebre tifoidea.

Existe una correlación positiva entre la actividad de la ADA y la población de linfocitos T₄, llamados también CD₄ o auxiliares. En un estudio de pacientes con tuberculosis pleural, utilizando anticuerpos monoclonales, la actividad de ADA aumentó en forma paralela a la estimulación antigénica de los linfocitos T. Al disminuir los antígenos, los linfocitos quedan en

reposo, como sería el caso en el transcurso de la fiebre tifoidea²².

En resumen, la determinación de la actividad de adenosina deaminasa puede ser de ayuda en el diagnóstico de la fiebre tifoidea. Se trata de un examen de fácil ejecución, al alcance de cualquier laboratorio de mediana complejidad y de bajo costo; no obstante estas ventajas, no reemplaza a los métodos clásicos, sino que los refuerza, residiendo su mayor utilidad en la orientación precoz del diagnóstico y en el caso de pacientes con manifestaciones clínicas sugerentes de fiebre tifoidea y cultivos negativos.

Resumen

Con el propósito de evaluar su contribución en el diagnóstico diferencial precoz de la fiebre tifoidea se midió la actividad de adenosina deaminasa, mediante la técnica de Giusti, en el suero de 292 pacientes: 246 niños y 46 adultos. Entre los niños se incluyeron 81 pacientes sanos como control, 31 cuyo diagnóstico de egreso fue presunta infección a virus, 41 sujetos con síndrome febril de diversas etiologías, 6 niños con septicemias bacterianas, 14 con diarrea intrahospitalaria causada por *Salmonella thiphimurium*, 24 niños con hepatitis y 49 pacientes con fiebre tifoidea. La muestra de adultos estaba formada por 39 controles sanos y 7 pacientes con fiebre tifoidea. Los resultados de la actividad de ADA ($\pm$ y DE, en U/l a 37°C) en los niños fueron los siguientes: controles $28,0 \pm 7,8$; presuntas virosis $35,3 \pm 13,1$, síndrome febril $36,1 \pm 15,6$, sepsis $30,3 \pm 10,3$, salmonelosis $51,6 \pm 9$, hepatitis $68,3 \pm 34,5$, fiebre tifoidea $124,4 \pm 40,8$. En los adultos: controles $18,4 \pm 7,5$ y fiebre tifoidea $112 \pm 19,2$. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre controles niños y adultos y entre los pacientes con fiebre tifoidea y todos los demás grupos estudiados, incluyendo controles y pacientes con diarrea por *Salmonella thiphimurium* en la actividad sérica de adenosina deaminasa ($p < 0,0001$). En pacientes con fiebre tifoidea no tratada la actividad máxima de la enzima se registró entre los días 10 y 15 de evolución de la enfermedad. La sensibilidad de la determinación de la enzima para orientar el diagnóstico hacia fiebre tifoidea fue de 91,8% y su especificidad 91,4% si se consideran sólo los pacientes con actividad de adenosina deaminasa de 80 o más U/l. Si bien este método no reemplaza a los cultivos bacterianos, es de utilidad

para orientar precozmente la identificación de pacientes con fiebre tifoidea.

(Palabras claves: fiebre tifoidea, diagnóstico, adenosina deaminasa sérica.)

Referencias

- Hoffman, E.; Kopp, W.; Moat, A.: Enhanced antibody response in the presence of partial adenosine deaminase inhibition. *Proc Soc Biol Med* 1990; 194: 36-42.
- Muraoka, T.; Katsumari, T.; Shiraishi, H.; Yokoyama, M.: Automated enzymatic measurement of adenosine deaminase iso enzyme activities in serum. *Anal Biochem* 1990; 187: 268-272.
- Ribera, G.; Martínez, J.; Ocaña, I.; Segura, R.; Pascual, C.: Activity of ADA in CSF for diagnosis and follow up of tuberculous meningitis in adults. *J Inf Dis* 1987; 155: 603-607.
- Galanzi, B.; Nardiello, S.; Russo, M.; Fiorentino, F.: Increased Lymphocyte Adenosine deaminase in Typhoid Fever. *Scand J Inf Dis* 1981; 13: 47-50.
- Giusti, G.: Adenosine deaminase. In Bergmeyer, H.U. Edit. *Methods of enzymatic analysis*. New York Academic Press Inc. 1974; 1092-1099.
- Mendoza, J.; May, J.; Gutiérrez, M.; Faccin, A.: Determinación de adenosina deaminasa (ADA) en líquido pleural. Utilidad en el diagnóstico de tuberculosis pleural. *Boletín del Hospital San Juan de Dios (Santiago)* 1989; 36: 12-15.
- Rodríguez, E.; Soto, F.; Velásquez, C.: Adenosina deaminasa como test diagnóstico de tuberculosis pleural. *Enferm Respir Cir Torác* 1987; 3: 182-186.
- Drobnic, L.; Torné, J.: Salmonellosis tifoparatóficas. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. 1986; 4: 3117-3128.
- Salcedo, M.; Jiménez, L.: Conductas Clínico-Terapéuticas en la Fiebre Tifoidea y Paratífus 1era parte. *Revista Chilena de Infectología* 1984; 1: 54-57.
- Butler, T.; Bell, W.; Levin, J.; Linh, N.: Typhoid fever. *Arch Int Med* 1978; 138: 407-410.
- Laval, E.; Vitalic, J.: Fiebre paratifoidea A y B. Estudio clínico de 666 casos. *Revista Chilena de Infectología* 1984; 2: 89-99.
- Bancalari, A.; Banfi, A.: Fiebre tifoidea, experiencia en 831 casos pediátricos. *Rev Med Chile* 1978; 106: 609-612.
- Gilman, R.; Termini, M.; Levine, M.; Hornick, R.: Relative Efficacy of Blood, Urine, Rectal Swab, Bone and Rose Spot cultures for Recovery of *Salmonella Typhi* in Typhoid Fever. *Lancet* 1975; 1: 1211-1213.
- Casanueva, V.; Cid, X.; Cavicchioli, G.; Oelker, M.; Cofre, J.; Amigo, L.: Adenosina deaminasa sérica como ayuda diagnóstica en fiebre tifoidea. Estudio preliminar. *Revista Chilena de Infectología* 1990; 7: 71-75.
- Herrera, P.; Tregnaghi, M.; Valenzuela, R.; Prenzel, I.; Topelberg, S.: Cultivo de sangre (microhemocultivo) en fiebre tifoidea y en meningitis bacteriana aguda. *Pediatría (Santiago)* 1978; 21: 119-121.
- Ortiz, V.; Isibasi, A.; García-Ortigoza, E.; Kumate, J.: Immunoblot detection of class-specific humoral immune response to outer membrane proteins isolated from *Salmonella typhi* in humans with typhoid fever. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1640-1645.
- Rubin, F.A.; McWhirter, P.D.; Punjabi, N.H.; Lane, E.; Sudarmono, P.; Pulungsi, S.P.: Use of a DNA probe to detect *Salmonella typhi* in the blood of patients with typhoid fever. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1112-1114.
- Qadri, A.; Ghosh, S.; Prakash, K.; Kumar, R.; Moudgil, K.D.; Talwar, G.P.: Sandwich enzyme immunoassays for detection of *Salmonella typhi*. *J Immunoassay* 1990; 11: 251-269.
- Sadallah, F.; Brighthouse, G.; Del Giudice, G.; Drager-Dayal, R.; Hocine, M.; Lambert, P.H.: Production of specific monoclonal antibodies to *Salmonella typhi* flagellin and possible application to immunodiagnosis of typhoid fever. *J Infect Dis* 1990; 161: 59-64.
- Feygin and Cherry: *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. Philadelphia WB Saunders and Co 1981; 1: 455-464.
- Baganha, M.F.; Pego, A.; Lima, M.A.; Gaspar, E.V.; Cordeiro, A.R.: Serum and pleural adenosine deaminase correlation with lymphocytic populations. *Chest* 1990; 97: 605-610.
- Gentilini Marc *Medicina Tropicale*: 3 Ed. Paris Flammarion Med-Science 1982; 628 págs.

Esta publicación está disponible en copias de microfilms de 16 y 35 mm y microfichas de 105 mm, las que pueden solicitarse a:

University Microfilms International
300 North Zeeb Road
Ann Arbor, Michigan 48106, USA.

This journal is also available in 16 mm microfilm, 35 mm microfilm and 105 mm microfilm copies through University Microfilms International, 300 North Zeeb Road, Ann Arbor, Michigan 48106, USA.