

SEROEPIDEMIOLOGIA DE LA AMIBIASIS EN EL ESTADO ZULIA.
I. ESTUDIO PRELIMINAR EN UNA MUESTRA DE LA POBLACION
ADULTA DE LA CIUDAD DE MARACAIBO.

Leonor Chacín de Bonilla y Neuro Guanipa*

RESUMEN

Se realizó un estudio seroepidemiológico de amibiasis invasora en una muestra de la población adulta de la ciudad de Maracaibo. Se recogieron sueros y especímenes fecales de 300 personas que acudieron a la Unidad Sanitaria. Del total de personas examinadas, sólo una presentó antecedentes de amibiasis invasora y ninguna presentaba manifestaciones clínicas atribuibles al parásito, para el momento de la encuesta.

Los sueros se examinaron con la prueba de hemaglutinación encontrándose una positividad de 1,6% con una prevalencia de *Entamoeba histolytica* de 5,1%. Los casos seropositivos mostraron títulos muy bajos (1:128-1:256) y no se consiguió correlación entre seropositividad y positividad en heces.

Se concluye que la frecuencia de la amibiasis invasora no es significativa en la muestra estudiada, y es menos frecuente que la amibiasis no invasora.

INTRODUCCION

En un importante estudio sobre la epidemiología de la amibiasis a nivel mundial, Elsdon Dew (14) concluye que la mayoría de los datos publi-

* Sección de Estudios Clínicos, Instituto de Investigación Clínica, Apartado 1151, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

cados acerca de la prevalencia de la infección por *Entamoeba histolytica*, no son confiables, debido al fracaso en apreciar la correcta relación huésped-parásito, a los muestreos y métodos inadecuados, y a los diagnósticos incorrectos del parásito. Sin embargo, el autor expresa su esperanza de que la aplicación de los métodos serológicos será de gran valor y que la serología basada en procedimientos uniformes, rendirá estimaciones comparables de la frecuencia de la amibiasis invasora en varias partes del mundo. Como puede notarse, en base a la revisión hecha por el autor mencionado, no tenemos una visión clara de la verdadera prevalencia del parásito, ni de la frecuencia de la enfermedad amibiana, por lo que es necesario hacer estudios epidemiológicos en todos los países, como lo sugiere la Organización Mundial de la Salud (60).

La prueba de fijación de complemento popularizada por Craig (7) se ha usado en el diagnóstico de la amibiasis durante muchos años; sin embargo, la ausencia de un antígeno satisfactorio ha impedido el uso general de esta prueba, la cual ha sido utilizada principalmente en la amibiasis hepática.

En los últimos años, una gran variedad de pruebas serológicas se han desarrollado y evaluado para el diagnóstico de la amibiasis invasora (1-3, 9, 17, 18, 20, 21, 26, 27, 32-35, 40, 41, 44, 46-49, 52, 55, 58) y la aplicación de la serología en estudios epidemiológicos de amibiasis cuenta ahora con el gran avance que ha representado el descubrimiento de los cultivos axénicos por Diamond (13), lo cual ha hecho posible la obtención de antígeno amibiano puro y de composición uniforme, con el cual podrían hacerse estimaciones comparables en diferentes partes del mundo.

Maddison y col. (39) en Durban, Africa, fueron los primeros en usar la serología en la epidemiología de la amibiasis. Utilizando la prueba de inmunodifusión, consiguieron correlación entre la prevalencia de anticuerpos y la incidencia de amibiasis invasora.

La técnica de hemaglutinación indirecta desarrollada por Kessel, Lewis y col. (33, 34) para el diagnóstico de amibiasis, ha sido evaluada por muchos autores y se ha demostrado que es altamente específica y sensible (21-24, 28, 30, 41, 49, 54). Esta técnica fue utilizada por vez primera en estudios seroepidemiológicos por Cuadrado y Kagan (10, 11, 31) y posteriormente por otros autores (8, 22, 29, 37, 42, 43, 57).

Los métodos serológicos son, probablemente, los más seguros con los cuales contamos para estimar la frecuencia de la amibiasis invasora en cualquier área. El mejor índice para saber su importancia es la tasa de enfermedad amibiana. La confirmación de que las tasas de prevalencia

con la prueba de hemaglutinación sirven como índice de amibiasis invasora, sería de gran significado en salud pública.

La ausencia casi total de información acerca de la infección amibiana y la no existencia de datos seroepidemiológicos de la misma en nuestro medio, así como la necesidad de tener información a nivel mundial de su verdadera frecuencia e importancia, nos despertó el interés en realizar estos estudios en varias muestras de la población en nuestra región.

MATERIAL Y METODOS

Sueros.— Se seleccionó la Unidad Sanitaria de esta ciudad como centro piloto para la recolección de los sueros, ya que a este centro acuden individuos de todas partes del área metropolitana de la ciudad y del Estado Zulia, para obtener su certificado de salud.

La recolección de sueros se realizó durante el lapso comprendido entre abril y septiembre de 1976. Se escogieron 300 personas adultas oriundas de la ciudad o que tuvieran un mínimo de 2 años de residencia en la misma; estas últimas personas representaron solamente el 11% de la muestra. No se incluyeron en el estudio personas provenientes de los barrios periféricos. Para la selección no se tomó en cuenta ningún otro parámetro, aparte de la procedencia.

El 49% de los individuos pertenecía al sexo masculino y 51% al sexo femenino. Las edades fluctuaron entre 15 y 62 años. En cada caso se investigaron antecedentes de amibiasis y condiciones sanitarias.

Los sueros obtenidos fueron inactivados a 56°C por 30 minutos y se almacenaron a -20°C sin preservativo, hasta el momento de procesarlos, cuando se inactivaron nuevamente durante 10 minutos.

Antígeno.— Este fue preparado a partir de cultivos axénicos de la raza HK9 de *E. histolytica*, en los laboratorios del Centro para el Control de Enfermedades, Atlanta, U.S.A. Se tomaron amibas de 72 horas, se concentraron por centrifugación y se lavaron 3 veces en solución salina fría. Las amibas se resuspendieron en un volumen apropiado de agua destilada fría (1 ml x 10⁶ amibas) y manteniéndolas en frío, se sonicaron durante 5 minutos. La solución se centrifugó a 9000 rpm a 4°C durante 30 minutos y el sedimento fue descartado. El sobrenadante se diluyó con agua destilada fría para asegurar 2 x 10⁶ amibas por 0,5 ml y se dividió y liofilizó en pequeñas cantidades (0,5 ml).

La dilución óptima del antígeno se determinó utilizando como controles un suero positivo y uno negativo conocidos. Se hicieron varias diluciones del antígeno en buffer salino pH 6,4. La dilución óptima fue aquella que dió el título más alto con el suero control positivo, y negativo con el suero control negativo.

Prueba de hemaglutinación indirecta.— Se usó el método de Kessel y col. (33, 34) modificado por Milgram, Healy y Kagan (41). La prueba se realizó con otras variantes introducidas en el Centro para el Control de Enfermedades, Atlanta U.S.A.

Se colectó sangre de carnero en citrato de sodio al 3,8%, en condiciones asépticas, y en proporción de 10:12. Los glóbulos rojos se lavaron de 3 a 5 veces en buffer salino pH 7,2 y luego se suspendieron al 2,5% en el mismo buffer. Se tomaron volúmenes iguales de esta suspensión de glóbulos rojos y ácido tánico diluído (1:20.000) y se incubaron a 37°C en baño María durante 15 minutos. Las células tanicadas se lavaron una vez con buffer salino pH 7,2, se suspendieron al 2,5% en el mismo buffer y se sensibilizaron a 37°C en baño María durante 15 minutos con igual volumen del antígeno a dilución óptima en buffer salino pH 6,4. Las células sensibilizadas se lavaron luego 2 veces con suero normal de conejo 1,5% en buffer salino pH 7,2 y luego se suspendieron al 1,5% en la misma solución.

El examen se realizó en placas de microtitulación con fondo en U. Se utilizó 0,05 ml del diluyente (suero normal de conejo al 1,5% en buffer salino pH 7,2) en cada celdilla. Se hicieron diluciones seriadas de los sueros hasta 1:256. Las tres primeras diluciones del suero (1:2-1:8) se examinaron con glóbulos rojos no sensibilizados para detectar cualquier reacción heterófila. Se agregaron células sensibilizadas a los sueros diluídos a partir de la dilución 1:16. Los sueros que presentaron título de 1:64 ó más se reexaminaron para determinar el punto final de la hemaglutinación.

Un suero se consideró positivo si el título era 1:128 ó más, ya que ese título es el más bajo aceptado como clínicamente significativo, basándose en las curvas de distribución bimodal de los títulos obtenidos por Healy (23) y Juniper y col. (29, 30).

Exámenes parasitológicos.— De las 300 personas estudiadas sólo 136 (45,3%) suministraron especímenes fecales. Las muestras se preservaron en fijador de alcohol polivinilo (PVA) (4) y en formol al 10%. Los especímenes preservados en fijador PVA se usaron para preparar frotis y hacer tinciones según la técnica de Wheatley (59). Los fijados en formol

se usaron para concentración y examen con el método del formol-éter de Ritchie (50).

RESULTADOS

La figura 1 muestra la distribución de la frecuencia de los títulos de hemaglutinación para *E. histolytica* en los 300 sueros estudiados. Cinco personas (1,6%) presentaron títulos significativos y de éstas, 4 presentaron títulos de 1:128 y 1, título de 1:256.

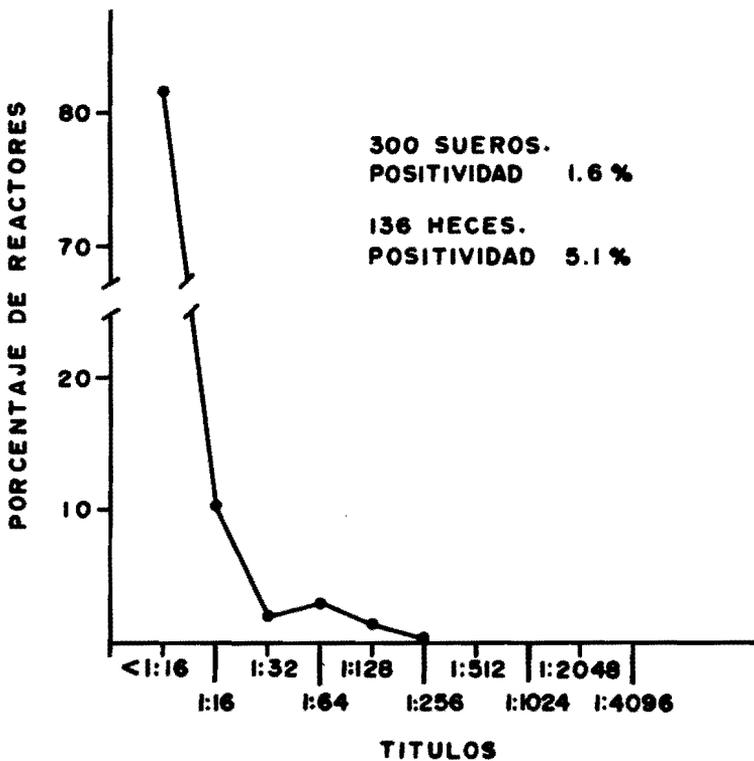


Fig. 1.— Distribución de la frecuencia de los títulos de hemaglutinación para *E. histolytica* en una muestra de la población adulta en la ciudad de Maracaibo

La distribución de los reactivos por grupo de edad, se presenta en la tabla I. Todos quedaron comprendidos en los grupos más jóvenes. De estos 5 reactivos, sólo 1 presentó *E. histolytica* en heces y sólo 1 acusó antecedentes amibianos, específicamente absceso hepático, el cual había

TABLA I

DISTRIBUCION POR GRUPOS ETARIOS DE REACTIVOS POSITIVOS A LA PRUEBA DE HEMAGLUTINACION CON ANTIGENO AMIBIANO AXENICO

Grupo de Edad (Años)	Sueros Investigados		Sueros Positivos	
	Nº	%	Nº	%
15-24	174	58,0	2	0,6
25-34	83	27,6	2	0,6
35-44	30	10,0	1	0,3
45-54	9	3,0	0	0,0
55-64	4	1,3	0	0,0

sido diagnosticado y tratado años atrás (tabla II). Para el momento de la recolección de los sueros ningún individuo presentaba manifestaciones clínicas atribuibles al parásito.

TABLA II

CASOS SEROPOSITIVOS: RELACION CON DIAGNOSTICO DE *E. HISTOLYTICA* EN HECES Y ANTECEDENTES AMIBIANOS

Nº	Edad	Sexo	Título	<i>E. histolytica</i>	
				en heces	Antecedentes amibianos
1	27	F	128	Eh (quistes)	No
2	21	M	128	neg	Absceso hepático
3*	27	F	128	—	No
4	20	M	128	neg	No
5	35	F	256	neg	No

* No se le hizo examen de heces.

Siete personas (5,1%) presentaron *E. histolytica*; de éstas, seis tenían quistes y una trofozoítos, sin signos de hematófagia. De las personas parasitadas, sólo una presentó un título de hemaglutinación positivo. La prevalencia de parásitos intestinales en estas muestras puede verse en la tabla III.

TABLA III

**PREVALENCIA DE PARASITOS INTESTINALES EN ESPECIMENES
FECALES DE 136 PERSONAS**

Especies	Especímenes Positivos	
	Número	Porcentaje
Protozoos		
<i>Entamoeba coli</i>	13	9,5
<i>Entamoeba histolytica</i>	7	5,1
<i>Endolimax nana</i>	4	2,9
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1	0,7
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0,7
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1	0,7
<i>Giardia lamblia</i>	3	2,2
Helmintos		
<i>Trichuris trichiura</i>	39	28,6
<i>Ascaris lumbricoides</i>	12	8,8
<i>Ancilostomídeos</i>	4	2,9
<i>Hymenolepis nana</i>	3	2,2
Prevalencia de infección parasitaria	66	48,5

DISCUSION

La parasitosis por *E. histolytica* tiene distribución mundial, pero es más frecuente en áreas tropicales, donde las condiciones socioeconómicas son más propicias para la transmisión del parásito. Sin embargo, generalmente sólo una minoría de los parasitados presenta evidencia de invasión tisular (56). En muchas comunidades donde la infección es endémica, la enfermedad amibiana no existe. Menos frecuentemente ocurre en grupos de población con una tasa de infección parasitaria baja (45)

Los resultados de nuestro estudio apoyan la tesis, de que sólo una minoría de los parasitados presenta evidencia de invasión tisular y por lo tanto las tasas de infección parasitaria no siempre representan un índice de enfermedad amibiana. En efecto, de las personas examinadas, el 5,1% mostró *E. histolytica* en heces y sólo el 1,6% presentó serología positiva. Este hallazgo demuestra que aunque la prueba de hemaglutinación es buena para detectar anticuerpos resultantes de invasión tisular, no detecta infección por *E. histolytica*; de allí la importancia de su aplicación para investigar la amibiasis invasora en cualquier área.

La frecuencia de distribución de los títulos mostrada en la Fig. 1 indica pocos reactores positivos y a muy bajos títulos. Como puede observarse en la gráfica, se obtuvo una curva unimodal la cual nos indica que prácticamente no se detectaron anticuerpos amibianos. Estos resultados no son sorprendentes, si tomamos en cuenta que las condiciones sanitarias de la población estudiada eran muy buenas: el 98% poseía agua potable, y el 100% tenía una correcta disposición de excretas (84% poseía cloacas y 16% pozo séptico) y sabemos que las tasas de infección parasitaria guardan relación con las condiciones sanitarias. Por otro lado, estudios realizados por otros autores (22) demuestran que es de esperar una seropositividad del 2-4% con la prueba de hemaglutinación en poblaciones "normales". Además nuestros resultados se correlacionan bastante bien con la estimación hecha por Burrows (6) de que la prevalencia de *E. histolytica* en los EE UU y Canadá es de un 3-5%.

Si tomamos en cuenta que la infección por el parásito es generalmente más frecuente que la invasión por el mismo, nuestros resultados son de esperarse. Es probable que la impresión que se tiene en nuestro medio de que la amibiasis invasora es muy frecuente depende en parte de que se tiende a establecer, en la gran mayoría de los casos, una relación causa-efecto entre el parásito y las manifestaciones intestinales presentes en el paciente; sin tener en cuenta que el parásito generalmente es un comensal y no un agente patógeno (14, 15, 25, 60) y que los síntomas pueden obedecer a otras causas. En México la amibiasis representa un gran problema de Salud Pública y sin embargo, sólo el 6% de la población general presenta amibiasis invasora (38) y sólo el 3% de todos los pacientes con amibas desarrolla absceso hepático (53). En encuesta realizada en niños hospitalizados en nuestro medio, conseguimos que 2 de 17 casos parasitados presentaban amibiasis invasora, tomando en cuenta como criterio de invasión la presencia de hematofagia por parte de los trofozoítos (12).

Juniper consiguió 1,1% de seropositividad en pacientes hospitalizados (29), siendo el porcentaje de infección por el parásito en la población general de 3,4% (5). En nuestro caso la seropositividad conseguida de

1,6% se correlaciona bastante bien con la prevalencia del parásito en la misma población (5,1%).

Sólo un caso de los seropositivos mostró el parásito en heces (quistes), ninguno presentaba manifestaciones clínicas para el momento de la encuesta y todos tuvieron títulos muy bajos, por lo que consideramos que se trataba de individuos que en el tiempo pasado habían padecido la amibiasis invasora y que los títulos positivos se debían a los anticuerpos amibianos persistentes de esa invasión anterior. Si suponemos ésto así, debemos aceptar que todos esos casos debían haber reportado antecedentes de un cuadro clínico de amibiasis. Sin embargo, no fué así. Es muy probable, que los 4 casos que no reportaron antecedentes, olvidaron el cuadro clínico o éste pasó inadvertido por haberse confundido con diarrea simple; ya que en ocasiones el parásito puede causar solamente ese signo y no ocasionar un cuadro clínico florido (19). Además, hay que tener en cuenta que existen evidencias clínicas y serológicas de que el parásito a veces invade sin producir manifestaciones clínicas (60). No nos inclinamos a considerar nuestros reactores como falsos positivos por varias razones. Primero, no hay evidencias en la literatura de pruebas falsas positivas en pacientes con otras infecciones parasitarias ni otras enfermedades (24). Segundo, las pruebas serológicas pueden permanecer positivas por varios años después de la cura (20, 30, 36, 37, 51), de allí que sea factible conseguir un examen serológico positivo y no hallar el parásito en heces.

Es de notar en nuestro estudio, que de 7 pacientes que albergaban el parásito, sólo 1 tenía título positivo y ninguno antecedentes amibianos, y de los 5 pacientes que tenían títulos positivos, sólo 1 tenía el parásito en las heces; o sea, no hubo correlación entre la presencia o ausencia del parásito en las heces y la seropositividad.

En relación a la distribución por edad de los reactores, se observa (tabla I) que todos fueron personas jóvenes; el de mayor edad tenía 35 años. Esto corrobora el concepto de que los adultos jóvenes muestran característicamente una incidencia mayor de amibiasis invasora (16).

A causa de la forma de la curva epidemiológica obtenida, podemos deducir que la amibiasis invasora no es muy significativa en la muestra de la población adulta estudiada. Sin embargo, no sabemos si esta observación es valedera para toda la población de Maracaibo. A fin de dilucidar lo anterior, se harán estudios en varias muestras de la población, para tener una visión global de su frecuencia e importancia.

Agradecimiento

Al Dr. George Healy por el suministro de los sueros controles y algunos reactivos; al personal de la Unidad Sanitaria de Maracaibo por su colaboración en la obtención de los sueros, y al Br. Miguel Conde por su asistencia técnica.

ABSTRACT

Seroepidemiology of amebiasis in Zulia State. I. Serologic studies of a sample of the adult population in Maracaibo City. *Chacín-Bonilla L., Guanipa N. (Instituto de Investigación Clínica, Apartado 1151, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela). Invest. Clín. 18(1): 48-62, 1977.*— A sero-epidemiologic survey of amebiasis was made on 300 adults in Maracaibo, Venezuela. Sera and fecal specimens were studied. Hemagglutination test was done on the sera. A seropositivity of 1.6% and a prevalence of *E. histolytica* of 5.1% was found. Only one person referred a history of amebic disease and none presented gastrointestinal symptoms at the time when the survey was done. The positive sera presented very low titles (1:128-1:256) and no correlation between seropositivity and stool positivity was found.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— AMBROISE-THOMAS P, TRUONG TK: Le diagnostic serologique de l'amibase humaine par la technique des anticorps fluorescents. Bull WHO 40: 103-112, 1969.
- 2— BIAGI F, BUENTELLO L: Immobilization reaction for the diagnosis of amebiasis. Exp Parasit 11: 188-190, 1961.
- 3— BOONPUCKNAVIG S, NAIIN RC: Serological diagnosis of amebiasis by immunofluorescence. J Clin Path 20: 875-878, 1967.
- 4— BROOKE M, GOLDMAN M: Polyvinyl alcohol-fixation as a preservative and adhesive for protozoa in dysenteric stools and other liquid media. J Lab Clin Med 34: 1554-1560, 1949.
- 5— BROOKE MM, HEALY GR, LEVY P, KAISER RL, BUNCH WL: A sample survey of selected areas in and near Little Rock, Arkansas, to assess the prevalence of *Entamoeba histolytica*. Bull Wld Hlth Org 29: 813-822, 1963.
- 6— BURROWS RB: Prevalence of amebiasis in the United States and Canada. Am J Trop Med Hyg 10: 172-184, 1961.

- 7= CRAIG CF: Observations upon the practical value of the complement-fixation test in the diagnosis of amebiasis. Am J Pub Hlth 27: 689-693, 1937.
- 8= CREVENNA P: Pruebas inmunológicas de amibiasis en un grupo de población de la ciudad de México. Rev Gastroenter Méx 36: 100, 1971.
- 9= COUDERT J, GARIN JP, AMBROISE-THOMAS T, GEORGET JP: Diagnostic serologique de l'amebiasis par immune-fluorescence. Resultats de 160 examens. Bull Soc Path Exot 60: 44-52, 1967.
- 10= CUADRADO R, DU U FLOREY C, WALLS KV, KAGAN IG: A comparative study of New England and native Cape Verdeans. Amer J Epidemiol 86: 637-682, 1967.
- 11= CUADRADO R, KAGAN IG: The prevalence of antibodies to parasitic diseases in sera of young army recruits from the United States and Brazil. Amer J Epidemiol 86(2): 330-340, 1967
- 12= CHACIN DE BONILLA L, GUANIPA N, ARAPE GARCIA R: Prevalencia de *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba hartmanni* y otros parásitos intestinales en niños hospitalizados. Invest Clín 17(1): 25-41, 1976.
- 13= DIAMOND LS: Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amebae. J Parasit 54: 1047-1056, 1968.
- 14= ELSDON DEW R: The epidemiology of amebiasis. Adv Parasit 6: 1-62, 1968.
- 15= ELSDON DEW R: Amebiasis as a world problem. Bull NY Acad Med 47(5): 438-447, 1971.
- 16= FAUST EC, BEAVER PC, JUNG RC: Animals agents and vectors of human disease. Lea & Febiger, Philadelphia, p 76, 1968.
- 17= GOLDMAN M: Evaluation of a fluorescent antibody test for amebiasis using two widely different ameba strains as antigen. Am J Trop Med 15: 694-700, 1966.
- 18= GORE RW, SADUN EH: Soluble antigen fluorescent antibody test for amebiasis. Exp Parasit 22: 316-320, 1968.
- 19= GUTIERREZ G: Aspectos clínicos de la amibiasis invasora en niños. I. Amibiasis intestinal. Arch Inv Med (Méx) 2 (Supl 1): 349, 1971.

- 20- HALPERN B, YOUNG JJ, DOLKART J, ARMOUR PD, DOLKART RE: The serologic response of patients with amebiasis compared by geldiffusion, hemagglutination and phagocytosis techniques with a common *Entamoeba histolytica* antigen preparation. J Lab Clin Med 69: 647-471, 1967.
- 21- HEALY GR: The use of and limitations to the indirect hemagglutination test in the diagnosis of intestinal amebiasis. Health Lab Sci 5: 174-179, 1968.
- 22- HEALY GR, KAGAN IG, GLEASON N: Use of indirect hemagglutination test in some studies of seroepidemiology of amebiasis in the Western hemisphere. Hlth Lab Sci 7(3): 109-116, 1970.
- 23- HEALY GR, GLEASON NN: The seroepidemiology of amebiasis. Arch Inv Med (Méx) 3(2): 449-458, 1972.
- 24- HEALY GR, KRAFT SC: The indirect hemagglutination test for amebiasis in patients with inflammatory bowel disease. Am J Dig Dis 17(2): 97-104, 1972.
- 25- HOARE CA: Consideration sur l'etiologie de l'amibiase d'apres le rapport hoteparasite. Bull Soc Path Exot 54: 429, 1961.
- 26- JEANES AL: Indirect fluorescent antibody in diagnosis of hepatic amoebiasis. Brit Med J 1: 1464, 1966.
- 27- JEANES AL: Evaluation in clinical practice of the fluorescent amoebic antibody test. J Clin Pathol 22: 427-429, 1969.
- 28- JUNIPER K Jr., MINSHEW CM: The indirect hemagglutination test in amebiasis. Gastroenterology 54: 1248, 1969.
- 29- JUNIPER K Jr., WORREL CL, MINSHEW CM, ROTH LS, CYPERT H, LLOYD RE: Seroepidemiology of amebiasis in Arkansas. Arch. Inv Med (Méx) 2 (Supl 1): 445, 1971.
- 30- JUNIPER K Jr., WORREL CL, MINSHEW CM, ROTH LS, CYPERT H, LLOYD RE: Serologic diagnosis of amebiasis. Am J Trop Med Hyg 21(2): 157-168, 1972.
- 31- KAGAN IG, CAHILL KM: Parasitic serologic studies in Somaliland. Am J Trop Med Hyg 17: 392-396, 1968.
- 32- KASLIWAL RM, KENNEY M, GUPTA ML, SETHI JP, TATZ JS, ILLES CH: Significance of the complement fixation test in diagnosis of amebiasis in an endemic area. Brit Med J 1: 837-838, 1966.

- 33- KESSEL JF, LEWIS WP, MAS, KIM H: Preliminary report on a hemagglutination test for entamoebae. *Proc Soc Exp Biol Med* 106: 409-413, 1961.
- 34- KESSEL JF, LEWIS WP, MOLINA-PASQUEL C, TURNER JA: Indirect hemagglutination and complement fixation tests in amebiasis. *Am J Trop Med Hyg* 14: 540-551, 1965.
- 35- KRUPP IM: Antibody response in intestinal and extraintestinal amebiasis. *Am J Trop Med* 19: 57-62, 1970.
- 36- KRUPP IM, POWELL SJ: Antibody response to invasive amebiasis in Durban, South Africa. *Am J Trop Med Hyg* 20: 414-420, 1971.
- 37- KRUPP IM, POWELL SJ: Comparative study of the antibody response in amebiasis. Persistence after successful treatment. *Am J Trop Med Hyg* 20: 421-424, 1971.
- 38- LANDA L, AUBANEL M, SEGOVIA E, SEPULVEDA B: Sero-epidemiología de la amebiasis en adultos. *Arch Inv Méd (Méx)* 3 (Suppl 2): 377-380, 1972.
- 39- MADDISON SE, POWELL SJ, ELSDON-DEW R: Application of serology to the epidemiology of amebiasis. *Amer J Trop Med Hyg* 14: 554-557, 1965.
- 40- MADDISON SE, KAGAN IG, ELSDON-DEW R: Comparison of intradermal and serologic tests for the diagnosis of amebiasis. *Am J Trop Med* 17: 540-547, 1968.
- 41- MILGRAM E, HEALY G, KAGAN IG: Studies on the use of the indirect hemagglutination test in the diagnosis of amebiasis. *Gastroenterology* 50: 645-649, 1966.
- 42- MILLER MJ, SCOTT F: The intradermal reaction in amebiasis. *Can Med Assoc J* 103: 253-257, 1970.
- 43- MILLER MJ, SCOTT F, FOSTER EF: An evaluation of immunological indicators for amebic disease prevalence. *Am J Trop Med Hyg* 22(3): 331-336, 1973.
- 44- MORRIS MN, POWELL SJ, ELSDON-DEW R: Latex agglutination test for invasive amebiasis. *Lancet* 1: 1362-1363, 1970.
- 45- MORTON TC, STAMM WP, SEIDELIN R: Indigenous amoebiasis: A recent outbreak in England. *Br Med J* 2: 114-116, 1952.

- 46- POWELL SJ, MADDISON SE, WILMOT AJ, ELSDON-DEW R: Amoebic gel diffusion precipitin test. Clinical evaluation in amoebic liver abscess. *Lancet* 2: 602-603, 1965.
- 47- POWELL SJ, MADDISON SE, HODGSON RG, ELSDON-DEW R: Amoebic gel diffusion precipitin test. Clinical evaluation in acute amoebic dysentery. *Lancet* 1: 566-567, 1966.
- 48- POWELL SJ: The capillary tube precipitin test. A rapid serological aid to clinical diagnosis in invasive amebiasis. *Am J Trop Med Hyg* 17: 840-843, 1968.
- 49- PRAKASH O, TANDON BN, BHALLA INDU, RAY AK, VINAYAK VK: Indirect hemagglutination and ameba-immobilization tests and their evaluation in intestinal and extraintestinal amebiasis. *Am J Trop Med* 18: 670-675, 1969.
- 50- RITCHIE L: An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull US Army Med Dept* 8: 326, 1948.
- 51- SAHA A, GARVEY JS, CAMPBELL DH: Studies on RNA-antigen complex. *Fed Proc* 21: 31, 1962.
- 52- SAVANT T, CHAICUMPA W: Immuno-electrophoresis test for amoebiasis. *Bull WHO* 40: 343-353, 1969.
- 53- SEPULVEDA B, JINICH H, BASSOLS F, MUÑOZ R: Amebiasis of the liver. Diagnosis, prognosis and treatment. *Am J Dig Dis (New Series)* 4: 43, 1959.
- 54- SEPULVEDA B: Reacciones de hemaglutinación y de precipitación con antígeno amibiano axénico en amibiasis invasora. *Arch Inv Med (Méx)* 1 (Supl): 111-116, 1970.
- 55- SEPULVEDA B, LEE E, DE LA TORRE M, LANDA L: El diagnóstico de la amibiasis invasora con la técnica de la inmuno-electroforesis cruzada. *Arch Inv Méd (Méx)* 2 (Supl 1): 263-268, 1971.
- 56- STAMM WP: *Entamoeba histolytica* in man. In: *The Pathology of Parasitic Diseases*, edited by A.E.R. Taylor. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 4: 1, 1966.
- 57- STAMM WP, ASHLEY MJ, BELL K: The value of amoebic serology in an area of low endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 70(1): 49-53, 1976.

- 58- TUPASI TE, HEALY GR: Adaptation of the Bozicevich trichinella bentonite flocculation test for the diagnosis of amebiasis. Am J Trop Med Hyg 19: 43-48, 1970.
- 59- WHEATLEY WB: A rapid staining procedure for intestinal amebae and flagellates. Amer J Clin Path 21: 990-991, 1951.
- 60- WORLD HEALTH ORGANIZATION: Amoebiasis. Report of a WHO Expert Committee. Wld Hlth Org Techn Rep Ser 421, 1969.
-