

F. 302827
24



UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A. C.

ESCUELA DE QUIMICA

Con Estudios Incorporados a la UNAM

“ESTUDIO DE CAMPO REALIZADO EN
TIZAYUCA, EDO. DE HIDALGO, CON
EL OBJETO DE INVESTIGAR LA
PREVALENCIA DE E. histolytica, EN
UNA POBLACION SUBURBANA”.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

LAURA ALICIA ORTIZ OCAMPO



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

| CAPITULO I | PAGINA |
|--|--------|
| INTRODUCCION..... | 1 |
| CAPITULO II | |
| INFORMACION GENERAL SOBRE EL TEMA..... | 4 |
| CAPITULO III | |
| PARTE EXPERIMENTAL. | |
| 3.1. DIAGRAMA..... | 7 |
| 3.2. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO. | |
| 3.2.1. MATERIAL..... | 8 |
| 3.2.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO; DESCRIPCIÓN DE LA COMUNIDAD ESTUDIADA..... | 8 |
| 3.2.1.2 MATERIAL DE LABORATORIO..... | 8 |
| 3.2.2. REACTIVOS..... | 9 |
| 3.2.3. PREPARACIÓN DE REACTIVOS..... | 9 |
| 3.2.4. EQUIPO..... | 13 |
| 3.3. METODOLOGÍA..... | 13 |
| 3.3.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y SU RELACION CON LA PARASITOSIS Y AMIBIASIS..... | 13 |
| 3.3.1.1. EVALUACIÓN DEL EXAMEN COPROPARA_ SITOSCÓPICO POR TÉCNICA DE FAUST Y CULTIVO DE LAS AMIBAS EN LAS HECES DE LOS PACIENTES..... | 14 |
| 3.3.1.1.1. CULTIVO DE ROBINSON..... | 14 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.3.1.2. | INVESTIGACION DEL GRUPO ISOENZIMATICO DE TROFOZOITOS DE AMIBAS ---- AISLADAS DE HECEs DE PACIENTES..... | 15 |
| 3.3.1.3. | SINTOMATOLOGIA MAS FRECUENTE EN -- LOS PACIENTES PARASITADOS Y LOS NO PARASITADOS..... | 15 |
| 3.3.1.4. | EXPLORACION DE LA REACCION INMUNOLOGICA DEL HUESPED PARASITADO CON <u>E.histolytica</u> | 16 |
| 3.3.2. | DETERMINACION DEL NIVEL SOCIOECONOMICO Y SU RELACION CON LA PRESENCIA DEL PARASITO.. | 16 |
| 3.4. | ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO: | |
| 3.4.1. | CUANTIFICACION DE LA TASA DE PREVALENCIA.... | 16 |
| 3.4.2. | DETERMINACION DE LA INCIDENCIA ACUMULADA.... | 16 |
| 3.4.3. | VALORACION DE LA TASA DE ATAQUE..... | 17 |
| 3.5. | METODOS ESTADISTICOS..... | 17 |

CAPITULO IV

| | |
|-----------------------------|----|
| RESULTADOS Y DISCUSION..... | 18 |
|-----------------------------|----|

CAPITULO V

| | |
|-------------------|----|
| CONCLUSIONES..... | 34 |
|-------------------|----|

CAPITULO I.

INTRODUCCION

La amibiasis causada por E.histolytica es una de las enteroparasitosis de distribución universal de mas alta -- prevalencia (12,32,39). Para México representa un problema de salud muy importante, puesto que se encuentra dentro de las diez primeras causas de muerte (48). Sin embargo, los - estudios epidemiológicos de amibiasis en nuestro país son - poco confiables debido a que los resultados de prevalencia van de 0 hasta 55% (9,23,34,45).

Esta enorme variación se explica por diferentes factores: 1) los estudios se han realizado en poblaciones no --- comparables ni representativas entre si (1,4,11,14,24,25), - sin embargo, es indudable que este padecimiento predomina - en los medios pobres y mal saneados, así como su asociación con la urbanización, hábitos de higiene personal, alimentación, y escolaridad entre otros (6), haciéndonos inferir -- que es un problema de orden cultural y económico.

A pesar de que existe una gran proporción de indivi--- duos que se encuentran infectados, sólo una minoría presenta síntomas (5,21); la patología es aún poco comprendida debido a que la presencia del protozoario no siempre indica la existencia de enfermedad, ya que se le puede encontrar en - individuos con sintomatología y sin ella (5), lo que hace - suponer que existen otros factores que determinan el grado

de patogenicidad, entre ellos el parásito "per se", el huésped o bien una relación huésped-parásito independiente de los factores ya mencionados. Los estudios propuestos por Sargeant (36) se han inclinado a considerar que el parásito es el responsable de la patogenicidad, señalando diferencias entre las cepas de E. histolytica, estas diferencias han sido determinadas por medio de corrimiento electroforético de 4 enzimas de la vía glicolítica que son: fosfoglucoisomerasa, fosfoglucomutasa, málica y hexoquinasa; tales diferencias permiten distinguir las cepas patógenas de las que no lo son.

En el Edo. de Hidalgo los estudios de prevalencia en amibiasis y parasitosis realizados por los Servicios Coordinados de Salud muestran valores entre 10.7 y 31% (28). Sin embargo, el diagnóstico en muchas ocasiones es puramente clínico, y no confirmado por el laboratorio lo cual está indicando que posiblemente se incluyeron enfermedades diarreicas de otra índole, y además no se incluyó a la población de Tizayuca, que de acuerdo a los informes estadísticos (12), tiene un alto porcentaje de enfermedades parasitarias y por otro lado es el principal proveedor de leche para el Distrito Federal "La Cuenca Lechera", lo que hace importante a esta población.

El objetivo de este trabajo es investigar en pacientes con patología digestiva, la prevalencia de E.histolytica y su relación con: el parásito "per se"; las características demográficas y biológicas; el nivel socioeconómico y los servicios públicos de una población de alto riesgo. La hipótesis de este trabajo es considerar hasta que punto los factores intrínsecos y extrínsecos ya mencionados influyen en el nivel de prevalencia de E.histolytica de esta población.

CAPITULO II.

INFORMACION GENERAL SOBRE EL TEMA.

Entamoeba histolytica es un parásito que se localiza frecuentemente en el intestino del humano (3,41,43), desarrollándose una amibiasis intestinal. De acuerdo a 175 casos de necropsia del Hospital General de la ciudad de México, la localización preferencial de la colitis amibiana fue el colon descendente con el 44.5% y la invasión a órganos se presentó: en hígado el 28.5%, pulmones 1.7% y cerebro 2.8% (15), lo que señala la capacidad invasora de este protozoario.

No obstante, la mayoría de los portadores son asintomáticos, (5) haciendo de este hecho un problema de salud difícil de resolver.

Dentro del ciclo biológico de este protozoario se describen tres fases: la forma activa o trofozoito, el prequiste intermedio y el quiste inactivo (21).

El trofozoito es la única forma presente en tejidos y en ocasiones también se le encuentra en las heces líquidas de la disentería amibiana (16,47). su tamaño es de 15 a 30 μm . El citoplasma es granuloso y puede contener eritrocitos; mostrando así su capacidad invasora, está morfológicamente fácilmente visible por medio de la tinción de hematoxilina férrica o el tricromo de Gomori, en donde el núcleo muestra bien definida su membrana nuclear, así como

la cromatina que se localiza en la periferia; el cariosoma es central y pequeño.

Los quistes se encuentran solamente en el lumen del colon y en las heces semipastosas con moco y en ocasiones sangre, con un diámetro entre 20 y 30 μm . La pared del quiste tiene un grosor de 0.5 μm , es hialina y puede contener de 2 a 4 núcleos con una vacuola de glucógeno y ciertas barras o cuerpos cromatoides característicos en esta etapa biológica que se tiñen marcadamente en sus extremos redondeados (21).

La división nuclear se lleva a cabo en el interior del quiste para que al final este sea cuadrinuclear. Durante el desenquistamiento los cuerpos cromatoides y las vacuolas de glucógeno desaparecen. La multiplicación entre trofozoitos ocurre por fisión binaria, el metaquiste se observa después de la activación del proceso de desenquistamiento en el estómago y el duodeno. El metaquiste se divide rápidamente, produciendo 4 amébulas (una por cada núcleo del quiste) que a su vez se dividen en dos para formar ocho trofozoitos por cada quiste infectante. Estos pasan al ciego produciendo una población de trofozoitos cuya permanencia es el lumen (21).

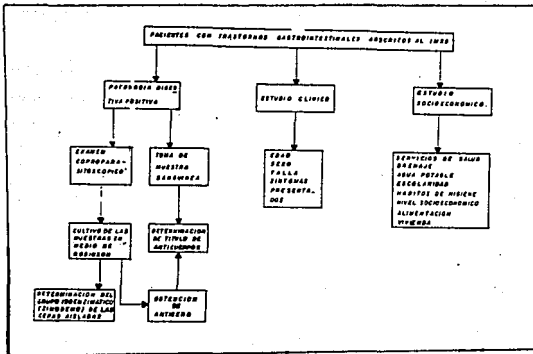
Dentro de los mecanismos de patogenicidad se describe el de adherencia en la cuál participan azúcares como la -- N-acetil glucosamina o la galactosa (10,30), unidas a una proteína llamada adhesina, además de una quitosa que son -- polímeros de N- acetil glucosamina (31). Estos azúcares -- tienen receptores para las células del epitelio intestinal correspondiendo esto al inicio de la destrucción celular, y la invasión de la mucosa por amibas se lleva a cabo con la ayuda de las enzimas proteolíticas y ocurre a través de las criptas de Lieberkuhn, formando úlceras discretas por las cuáles pasan moco, células necróticas y amibas.

Los patrones isoenzimáticos (zimodemo) de Entamoeba histolytica propuestos por Sargeant (36) sugieren que unos están asociados exclusivamente con portadores asintomáticos y otros con la amibiasis invasora. Sin embargo, -- existen otros factores que determinan la invasión de las amibas, como son: cantidad de amibas ingeridas, capacidad patogénica de la cepa parasitaria (17,35,36,37,38,45), estado del huésped como: motilidad intestinal, inmunocompetencia, medio ambiente que lo rodea y lo que se considera más importante son otros factores epidemiológicos relacionados con las condiciones sanitarias, nivel socioeconómico y educación.

CAPITULO III.

PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. DIAGRAMA.



3.2. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO.

3.2.1. MATERIAL.

3.2.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO: DESCRIPCIÓN DE LA POBLACION

ESTUDIADA: La población de Tizayuca se localiza en el Edo. de Hidalgo, y constituye una de las cuencas lecheras importantes para nuestro país.

El número de habitantes oscila entre los 400.000 predominando los niños entre 5 y 10 años de acuerdo a la gráfica porcentual del censo de 1987 (13).

Durante los meses de Marzo a Octubre de 1987 acudieron a la Unidad de Medicina Familiar No. 18 del IMSS, 1837 derechohabientes, de todas las edades con antecedentes de trastornos gastrointestinales. En 1226 individuos se realizó una encuesta probabilística en la que se investigaron signos de patología digestiva positivos tales como: diarrea, dolor abdominal etc. Siendo estas personas las tomadas en cuenta para este estudio.

La muestra estudiada correspondió al 67% del total de asegurados con problemas gastrointestinales que acudieron en esas fechas.

3.2.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO. Se empleó todo tipo de material de cristal de uso rutinario en un laboratorio de Para_

sitología, tales como:

- Frascos con tapón de rosca 2.5 ml.
- Tubos de ensayo de 13x100
- Gradillas de metal
- Tela de asbesto
- Embudos de plástico
- Pipetas Pasteur
- Pipetas de 2, 5 y 10 ml.
- Vasos de Precipitado
- Matraz Erlenmeyer
- Matraz aforado de 100, 500 y 1000 ml.
- Tubos cónicos de plástico.
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Frascos con tapón de rosca 100 y 200 ml.
- Frascos ambar esmerilados.
- Asa de platino.
- Cajas Petri.
- Espátulas de metal

3.2.2. REACTIVOS.

- Agar Bacteriológico 1.5% (Bioxon)
- Almidón de arroz (Drug Houses de Inglaterra)

- Eritromicina en polvo 0.05%
- Peptona de carne (Bioxon)
- Ftalato de potasio (Baker Analyzed)
- Cloruro de Sodio 0.7% (Baker Analyzed)
- Azul de bromotimol 0.04% (Productos Quimicos Monterrey)
- Hidróxido de Sodio 40% (Baker Analyzed)
- Acido cítrico monohídratado. (Baker Analyzed)
- Fosfato monobásico de potasio. (Baker Analyzed)
- Fosfato dibásico de potasio. (Baker Analyzed)
- Sulfato de amonio (Baker Analyzed)
- Sulfato de magnesio heptahidratado. (Baker Analyzed)
- Ácido láctico (Baker Analyzed)
- Suero bovino (Rastro Ferreria)
- Yodo (Técnica Química)
- Yoduro de potasio (Técnica Química)
- Sulfato de zinc densidad 1.180 (Productos Quimicos Monterrey)

3.2.3. PREPARACION DE RACTIVOS.

AGAR SALINO: Preparar agar al 1.5% con NaCl al

0.7%, y distribuirlo en frascos de vidrio con tapón de rosca en alicuotas de 2.5 ml. cada uno, esterilizar a 15 lb. durante 15 min. dejando enfriar en forma inclinada.

SOLUCION DE ERITROMICINA: Preparar una solución de eritromicina a una concentración de 5 mg/ml. usando agua estéril para su preparación. Colocar en frascos de vidrio con tapón de rosca en alicuotas de 2.5 ml. cada uno, conservar en refrigeración hasta su uso.

ALMIDON EN POLVO: El almidón es surtido por la casa Drug Houses de Inglaterra.

BACTOPEPTONA: Preparar una solución de peptona al 20%, después esterilizar a 15 lb. por 15 min. colocarlo en frascos de vidrio con tapón de rosca en alicuotas de 2.5 ml.

SOLUCION DE NaOH al 40%: Pesar 200 gr. de NaOH y disolver en 500 ml. de agua destilada estéril.

SOLUCION DE AZUL DE BROMOTIMOL al 0.04%: Pesar 0.04 gr. de azul de bromotimol y disolver con una pequeña cantidad de alcohol, llevar a un volumen de 100 ml. con agua destilada estéril.

SOLUCION DE FTALATO DE POTASIO: Pesar 204 gr. de ftalato de potasio, disolver con 100 ml. de NaOH al 40%, ajustar el pH a 6.3 y llevar a un volumen de 2000 ml., esterilizar a 15 lb. por 15 min. Utilizar la solución de trabajo, llevando a cabo una dilución 1:10 con agua destilada estéril.

MEDIO "R": Preparar una solución concentrada de la siguiente manera: 125 gr. de NaCl; 50 gr. de Ácido cítrico monohidratado; 12.5 gr. de fosfato dibásico; 25 gr. de sulfato de amonio; 1.25 gr. de sulfato de magnesio heptahidratado y 100 ml. de ácido láctico.

Disolver esto para llevar a un volumen de 2500 ml. con agua destilada. De esta solución tomar 100 ml. y adicionar 7.5 ml. de NaOH al 40% y -- 2.5 ml. de azul de bromotimol al 0.04%, ajustar previamente el pH a 7.3 y aforar a 1000 ml. con agua destilada. esterilizar a 15 lb. por 15 min.

SOLUCION DE PEPTONA AL 10%: Utilizar este medio de cultivo para hacer crecer la cepa "B" de -- Escherichia coli.

MEDIO "BR": A 100 ml. de medio "R" agregar una gota de cultivo de la cepa "B" de E. coli, --

dejar incubar en la estufa a una temperatura - de 37°C durante 48 horas. Despues de este --- tiempo guardar a temperatura ambiente por dos meses.

MEDIO DE CULTIVO "BRS": utilizar "BR", al cual adicionar el mismo volumen de suero bovino --- filtrado e inactivar a 56°C durante 30 minutos.

SOLUCION YODOYODURADA: Mezclar 1 gr. de yodo - con 2 gr. de yoduro de potasio y disolver en - 300 ml. de agua destilada.

3.2.4. EQUIPO.

- Balanza Analitica Bosh.
- Potenci6metro Corning Mod.3.
- Congelador Revco Freezer Ultra-low.
- Centrifuga Refrigerada Sorvall FT-6000 B Du Pont.
- C6mara de Enfriamiento LKB.
- Celdas de electrofor6sis con alambre de Platino.
- Fuente de Poder IMESA.

3.3. METODOLOGIA:

3.3.1. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS Y SU RELACION CON LA -- PARASITOSIS Y AMIBIASIS: En todos los pacientes se

consideró sexo, edad, así como la presencia de parásitos en sus heces por dos métodos:

Coproparasitoscópico de Faust (21) y Cultivo de Robinson específico para amibas (33).

3.3.1.1. EVALUACION DEL EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO POR TECNICA DE FAUST Y CULTIVO DE AMIBAS EN LAS HECES DE LOS PACIENTES.: Todas las muestras fueron cultivadas en el Medio de Robinson, específico para amibas, con el fin de evaluar la veracidad -- del método coproparasitoscópico utilizado.

3.3.1.1.1. CULTIVO DE ROBINSON:

SIEMBRA: Al frasco que contiene agar salino, adicionar 4 gotas de solución de eritromicina, 5 mg. de almidón en polvo, 2 ml. del medio "BR" y aproximadamente 50 mg de materia fecal en estudio (de las partes mas sospechosas como: moco, sangre, etc.) Dejar incubar en la estufa a 37°C durante 24 horas.

CULTIVO: Al frasco que contiene la siembra de materia fecal, eliminar el sobrenadante con una pipeta Pasteur, teniendo precaución de no eliminar el sedimento y adicionar 2 gotas de eritromicina, 5 mg. de almidón en polvo, 2 gotas de peptona al 20%, 1.5 ml. de -- ftalato de potasio y 1.5 ml. de medio "BRS". Dejar cultivar durante 24 horas a 37°C.

SUBCULTIVO: Con mucho cuidado del fondo del frasco que contiene el cultivo de la materia fecal, tomar con una pipeta Pasteur, una gota y colocarla en un portaobjetos, adicionar una gota de lugol colocando un cubreobjetos para realizar la observación microscópica del crecimiento del cultivo, las amibas viables se observan teñidas por el lugol.

3.3.1.2. INVESTIGACION DEL GRUPO ISOENZIMATICO EN LOS TROFOZOITOS DE AMIBAS AISLADAS DE LAS HECES DE LOS PACIENTES: A todos los cultivos positivos para amiba se les determinó el grupo isoenzimático por electroforesis mediante la técnica de Wraxal y Culliford (49) utilizada por Sargeant, con el objeto de investigar el grado de patogenicidad de dichas cepas.

3.3.1.3. SINTOMATOLOGIA MAS FRECUENTE EN LOS PACIENTES PARASITADOS Y EN LOS NO PARASITADOS. Se elaboró la historia clínica de los pacientes con el propósito de investigar cuáles eran los síntomas más frecuentes entre las personas que presentaron amibiasis así como otros parásitos y los que no mostraron ningún tipo de parásito.

3.3.1.4. EXPLORACION DE LA REACCION INMUNOLOGICA DEL HUESPED PARASITADO CON E.histolytica. Sólo a 77 de los 240 pacientes parasitados con E.histolytica se les tomó 2 ml. de sangre con el objeto de determinar el título de anticuerpos contra su cepa de amibas aislada de sus heces, mediante la técnica de Hemaglutinación Pasiva.

3.3.2. DETERMINACION DEL NIVEL SOCIOECONOMICO Y SU RELACION CON LA PRESENCIA DEL PARASITO: Llevar a cabo un estudio socioeconómico que permita conocer los factores que podrían influir en la prevalencia de la parasitosis tales como: hábitos de higiene, servicios públicos, grado de escolaridad, tipo de alimentación, etc.

3.4. ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO:

3.4.1. CUANTIFICACION DE LA TASA DE PREVALENCIA: Calcular la Tasa de Prevalencia de Amibiasis en el periodo antes descrito --- considerando el número de casos de amibiasis encontrados y relacionándolo con el número total de derechohabientes.

3.4.2. DETERMINACION DE LA INCIDENCIA ACUMULADA.- Esta ---- corresponde al número de personas que presentan amibiasis relacionadas al número total de la población estudiada.

$$\text{INCIDENCIA ACUMULADA} = \frac{\text{No. de casos de amebiasis}}{\text{No. de población estudiada.}}$$

3.4.3. VALORACION DE LA TASA DE ATAQUE: Esta se obtiene dividiendo el número de personas parasitadas entre el número total de personas estudiadas por barrio, multiplicando el resultado por 100 y dando así el porcentaje de infección de esa área.

$$\frac{x_1}{x_3} \times 100$$

donde x_1 = número de personas parasitadas por barrio.

x_3 = número total de personas estudiadas por barrio.

3.5. METODOS ESTADISTICOS.: Para determinar la diferencia entre los resultados obtenidos, se utilizarón la prueba "t" de student así como la χ^2 (19) en donde el valor de $p = 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo. La razón de momios nos indica el número de veces en que está más frecuentemente expuesta la población, en relación al parámetro evaluado.

CAPITULO IV.

4.1. RESULTADOS Y DISCUSION.

Se estudiaron 1226 Individuos. de los cuales 849 presentaron parásitos intestinales en el examen coproparasitoloscópico dando esto el 69.25% de prevalencia en parasitosis, en donde el sexo no se relacionó con la edad desde el punto de vista estadístico ($p = 0.77$) (Cuadro I).

Los resultados de los exámenes coproparasitoloscópicos positivos se agruparon por edad y sexo, con el fin de ver que parte de la población era más vulnerable a la infección (Cuadro II).

La incidencia de amibiasis causada por E.histolytica es de 19.5%, dado que de 1226 pacientes estudiados, sólo 240 presentaron la parasitosis mencionada, siendo el grupo más afectado el de 5 a 14 años, sin mostrar diferencia estadística significativa en cuanto al sexo ($p = 0.65$) (Gráfica 1).

El Cuadro III muestra la frecuencia de parasitosis encontradas en la población, distribuidas de acuerdo a la edad.

En relación al Cultivo de Robinson, todas las muestras de materia fecal fueron sembradas en éste, con el objeto de corroborar la confiabilidad del método coproparasitoloscópico de Faust; así como para obtener las cepas de E.histolytica y poder determinar su patrón isoenzimático, y con este el grado de virulencia de dicha cepa, mediante electroforesis.

Un punto importante respecto a este medio de cultivo es que el 51.1% de las muestras negativas en el examen copro__ parasitológico dieron un cultivo positivo, lo que hace de este hecho que el cultivo mencionado pueda tener una aplica__ ción diagnóstica en el problema de la parasitosis causada por este protozooario (Cuadro IV).

En relación a la respuesta inmunológica sólo 77 de los 240 individuos con amebiasis presentaron títulos de anticuer__ pos que van desde 1:2 hasta 1:4096, siendo negativos los res__ tantes (Cuadro V).

Por otro lado a todos los pacientes estudiados se les elaboró su historia clínica para saber cuáles eran los sín__ tomas más frecuentes en el momento de la infección, los re__ sultados se muestran en el (Cuadro VI).

Simultáneamente se llevó a cabo un estudio socioeconómi__ co con el fin de investigar que factores influyen directamen__ te en el nivel de prevalencia de parasitosis y/o amebiasis, determinándose la Tasa de Ataque de ambas, en los diferentes barrios de procedencia de los pacientes, mostrando los resul__ tados en los Cuadros VII y VIII.

CUADRO 1.

FRECUENCIA Y PORCENTAJE DE LOS EXAMENES
COPROPARASITOSCOPICOS.

| | POSITIVOS | NEGATIVOS | TOTAL |
|-----------------|-----------|-----------|-------|
| NUMERO DE CASOS | 849 | 377 | 1226 |
| % | 69.25 | 30.75 | 100 |

CUADRO II.

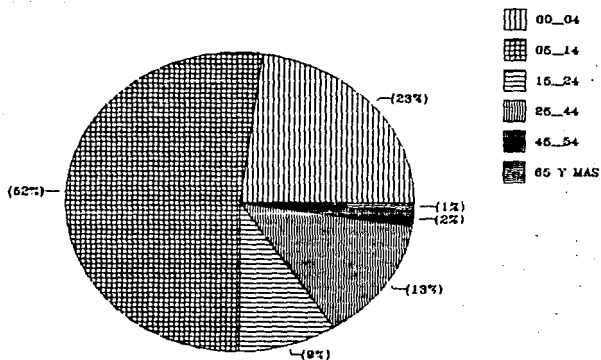
FRECUENCIA DE INDIVIDUOS PARASITADOS EN RELACION A
EDAD Y SEXO.

MARZO - OCTUBRE 1987.

EXAMENES COPROPARASITOSCOPICOS POSITIVOS.

| EDAD (AÑOS) | FEMENINOS | | MASCULINOS | | TOTAL | |
|----------------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | FRECUENCIA | % | FRECUENCIA | % | FRECUENCIA | % |
| 00-04 | 85 | 21.9 | 107 | 23.1 | 192 | 22.6 |
| 05-14 | 178 | 45.9 | 194 | 41.9 | 392 | 43.8 |
| 15-24 | 72 | 18.6 | 91 | 19.6 | 163 | 19.1 |
| 25-44 | 39 | 10.0 | 49 | 10.6 | 88 | 10.3 |
| 45-54 | 11 | 2.8 | 18 | 3.8 | 2 | 3.4 |
| 55-64 | 1 | 0.25 | 1 | 0.21 | 2 | 0.2 |
| 65 Y + | 1 | 0.25 | 2 | 0.43 | 3 | 0.3 |
| TOTAL | 387 | 99.70 | 462 | 99.64 | 849 | 99.70 |

GRAFICA 1. FRECUENCIA DE *E. histolytica* EN INDIVIDUOS DE DIFERENTES EDADES.



CUADRO III.

DISTRIBUCION DE PARASITOSIS EN DIFERENTES EDADES

| PARASITOS | EADAES | | | | | | | TOTAL | |
|--|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|------|
| | 00-04 | 05-14 | 15-24 | 25-44 | 45-54 | 55-64 | 65 Y + | N | % |
| <u>E.histolytica</u> | 55 | 125 | 22 | 32 | 4 | 0 | 2 | 240 | 19.5 |
| <u>G.lambliia</u> | 30 | 59 | 43 | 16 | 0 | 2 | 0 | 150 | 12.2 |
| <u>E.histolytica y Otro Parasito</u> | 35 | 46 | 26 | 10 | 9 | 0 | 1 | 150 | 12.2 |
| <u>G.lambliia y Otro Parasito</u> | 28 | 61 | 17 | 28 | 8 | 0 | 0 | 132 | 10.7 |
| Otro tipo de Amibas | 10 | 16 | 5 | 2 | 4 | 0 | 0 | 37 | 3.1 |
| Otras Parasitosis | 34 | 63 | 50 | 0 | 4 | 0 | 0 | 140 | 11.4 |
| Negativas | 22 | 149 | 51 | 71 | 36 | 48 | 0 | 377 | 30.7 |
| TOTAL | 214 | 521 | 214 | 159 | 65 | 50 | 3 | 1226 | 99.8 |

CUADRO IV.

EXAMENES COPROPARASITOSCOPICOS Y CULTIVO DE ROBINSON.

| | COPROPARASITOSCOPICOS CON <u>E. histolytica</u> | COPROPARASITOSCOPICOS NEGATIVOS | TOTAL |
|----------------------------|--|------------------------------------|-------|
| CULTIVO DE ROBINSON (+) | 178 | 193 | 371 |
| CULTIVO DE ROBINSON (-) | 62 | 184 | 246 |
| TOTAL | 240 | 377 | 617 |

CUADRO V.

REACCION INMUNOLOGICA DEL HUESPED AL PARASITO DETERMINADA POR
EL TITULO DE ANTICUERPOS.

| TITULO DE ANTICUERPOS | No. DE CASOS |
|--------------------------|--------------|
| 1:2 | 9 |
| 1:4 | 10 |
| 1:8 | 3 |
| 1:16 | 2 |
| 1:32 | 1 |
| 1:64 | 1 |
| 1:128 | 2 |
| 1:256 | 17 |
| 1:512 | 13 |
| 1:1024 | 7 |
| 1:2048 | 2 |
| 1:4096 | 1 |
| NEGATIVOS | 163 |

CUADRO VI.

ASOCIACION ENTRE AMIBIASIS Y SINTOMATOLOGIA
MAS FRECUENTE.

| SINTOMA | IDENTIFICACION DE <i>E. histolytica</i> | | | | R.M. | p |
|-----------------|---|----|----------|----|------|------|
| | POSITIVA | | NEGATIVA | | | |
| | % | n | % | n | | |
| DIARREA | 39.5 | 55 | 13.79 | 32 | 1.4 | 0.26 |
| DOLOR ABDOMINAL | 15.8 | 22 | 11.8 | 12 | 1.3 | 0.49 |
| DIST. ABDOMINAL | 17.2 | 24 | 16.8 | 17 | 0.57 | 0.10 |
| EVAC./MOCO | 13.6 | 19 | 20.7 | 21 | 0.60 | 0.19 |
| EVAC./SANGRE | 5.7 | 8 | 4.9 | 5 | 1.1 | 0.88 |
| ASINTOMATICOS | 7.9 | 11 | 13.8 | 14 | 0.53 | 0.20 |

R.M. = Razón de Miosos.

p = Probabilidad.

n = Número de casos.

CUADRO VII.

TASA DE ATAQUE DE PARASITOSIS.

| BARRIOS | No. TOTAL DE PERSONAS | CASOS POSITIVOS | TASA DE ATAQUE % |
|------------------------------|-----------------------|-----------------|------------------|
| PEDREGAL y HUICALCO | 305 | 135 | 22.1 |
| CUZTITLA y EL TEPEYAC | 308 | 140 | 22.9 |
| NACOZARI y CUENCA LECHERA | 128 | 52 | 8.5 |
| ROJO GOMEZ y TEPOJACO | 172 | 95 | 15.5 |
| NUEVO TIZAYUCA y SAN BARTOLO | 147 | 102 | 16.7 |
| ATERPA | 166 | 102 | 16.7 |
| T O T A L | 1226 | 609 | 99.6 |

CUADRO VIII.

TASA DE ATAQUE DE E. histolytica

| BARRIOS | No. TOTAL DE PERSONAS ESTUDIADAS | CASOS POSITIVOS | TASA DE ATAQUE % |
|------------------------------|----------------------------------|-----------------|------------------|
| PEDREGAL y HUICALCO | 305 | 48 | 20.0 |
| CUZTITLA y EL TEPEYAC | 308 | 46 | 19.1 |
| NACOZARI y CUENCA LECHERA | 128 | 61 | 25.4 |
| ROJO GOMEZ y TEPOJACO | 172 | 24 | 10.0 |
| NUEVO TIZAYUCA y SAN BARTOLO | 147 | 32 | 13.3 |
| ATEMPA | 166 | 29 | 12.0 |
| TOTAL | 1226 | 240 | 99.8 |

Cabe mencionar que en la interpretación de los reportes epidemiológicos se debe ser muy cauteloso, puesto que el médico no siempre hace el diagnóstico con la comprobación del laboratorio y es el diagnóstico clínico el que prevalece o bien solamente el método coproparasitológico y este en ocasiones no es confiable por diversas razones.

En este caso la precisión y eficiencia del cultivo para amibas sobre el examen coproparasitológico dió veracidad a los resultados en amibiasis por E. histolytica, siendo el grupo más afectado el de los niños, coincidiendo esto con los resultados reportados por algunos autores (13,27).

Se debe señalar que la prevalencia para E. histolytica (19.58%) no implica que todos los individuos con cultivo positivo para amibas, tuviesen amibiasis invasora puesto que la sintomatología de los pacientes mostró que sólo el 28.7% tuvieron diarrea; y el 67% presentaron síntomas en forma parcial (8,13) y finalmente el 11.5% correspondió a portadores asintomáticos.

La respuesta inmunológica del huésped contra el parásito se manifiesta sólo cuando la amibiasis es invasora (39,45). Las amibas ingeridas en gran número, aún si se trata de cepas relativamente invasoras pueden tener suficientes oportunidades para invadir pasando sobre la resistencia normal del huésped. En forma semejante pequeñas ---

4.2. DISCUSION

El estudio realizado tiene validez epidemiológica para la población de Tizayuca, Hgo., adscrita a la U.M.F. No. 18 del IMSS, en razón de que los casos estudiados se encuentran incluidos dentro de la pirámide poblacional de esta -- (13).

Si se considera que la prevalencia de parasitosis --- encontrada fuè del 69.25%, este resultado da apoyo para --- clasificarla como una entidad con serios problemas de salud principalmente enfocados hacia trastornos gastrointestina___ les, en donde la mayor frecuencia se observò en los niños de 5 a 14 años (30.3%).

Al comparar estos resultados con los de otras series - (16,23,24, 25,44) se advierte que presentaron valores más - altos, lo cual no es de sorprender, si se considera que los estudios no eran comparables entre si y más aun en el caso concreto de amibiasis, los resultados (20,29,42) de preva___ lencia fueron muy diferentes entre si.

Es indudable que en esta población el nivel de parasi___ tosis fue alto, en donde se encontrò: Entamoeba, Giardia, Ascaris, Hymenolepis, etc. Por lo que no fue sorprendente - que los síntomas más frecuentes en los individuos parasi___ dos fueran: diarrea, moco, sangre y distenciòn abdominal -- todos ellos incluidos (24.42) dentro de las parasitosis --- intestinales.

Cabe mencionar que en la interpretación de los reportes epidemiológicos se debe ser muy cauteloso, puesto que el médico no siempre hace el diagnóstico con la comprobación del laboratorio y es el diagnóstico clínico el que prevalece o bien solamente el método coproparasitoscópico y este en ocasiones no es confiable por diversas razones.

En este caso la precisión y eficiencia del cultivo para amibas sobre el examen coproparasitoscópico dió veracidad a los resultados en amibiasis por E.histolytica, siendo el grupo más afectado el de los niños, coincidiendo esto con los resultados reportados por algunos autores (13,27).

Se debe señalar que la prevalencia para E.histolytica (19.58%) no implica que todos los individuos con cultivo positivo para amibas, tuviesen amibiasis invasora puesto que la sintomatología de los pacientes mostró que sólo el 28.7% tuvieron diarrea; y el 67% presentaron síntomas en forma parcial (8,13) y finalmente el 11.5% correspondió a portadores asintomáticos.

La respuesta inmunológica del huésped contra el parásito se manifiesta sólo cuando la amibiasis es invasora (39,45). Las amibas ingeridas en gran número, aún si se trata de cepas relativamente invasoras pueden tener suficientes oportunidades para invadir pasando sobre la resistencia normal del huésped. En forma semejante pequeñas ---

cantidades de amibas de patogenicidad y virulencia elevadas pueden producir la enfermedad activa, aun en un huésped sano tolerante a las amibas.

Los resultados mostraron que de los pacientes, con E.histolytica sólo el 30% presentó en el suero títulos de anticuerpos altos (1:256, 1:512), interpretando que estos tuvieron amibiasis invasora, a pesar de que en estudios seroepidemiológicos de otras series (7,14,40) se observaron valores mucho más altos que los reportados en este trabajo en pacientes con amibiasis invasora. Por lo que se infiere de este estudio que el 70% de personas parasitadas con E.histolytica eran portadores asintomáticos juzgado por este parámetro, esto podría explicarse dado que las personas pueden permanecer asintomáticas por años y desarrollar tolerancia a la reinfección repetida, o producen una verdadera inmunidad, sin embargo, un cambio en la resistencia del huésped, la desnutrición u otro estado de agotamiento, así como el uso de inmunodepresores pre disponen al portador asintomático para desarrollar el síndrome completo que sigue a la enfermedad invasiva (21).

Se ha especulado mucho la relación entre grupo isoenzimático y virulencia de las amibas (19,26,37), en este caso sólo observamos el grupo isoenzimático I que corresponde a E.histolytica no patógena.

Con el objeto de determinar si algún barrio de esta población tenía un mayor riesgo de contaminación se determinó la Tasa de Ataque, en relación con la parasitosis intestinal, esta fue aproximadamente del 50% en todos ellos lo cual no reveló diferencias significativas entre ellos, pues tenían deficiencias semejantes. En amibiasis los valores de la Tasa de Ataque se manifestaron predominantemente en la Cuenca Lechera, esto no fue sorprendente debido a que en dicho sitio es frecuente la presencia de heces fecales en el suelo.

Aproximadamente el 42.5% de la población cuenta con servicios públicos en forma parcial como (agua, pavimento, y luz), sin que alguno de ellos fuese específicamente determinante, pero la deficiencia del conjunto de estos o en forma complementaria fue decisiva, por lo que se puede asegurar que la introducción de agua potable, así como la correcta eliminación de excretas y la instalación de drenaje adecuado disminuiría el porcentaje de parasitosis en dicha población.

Esto coincide con la importancia de los factores ambientales en relación a este problema. No se debe olvidar que en general en las parasitosis, específicamente en el caso de amibiasis, también intervienen los factores de orden cultural y/o educacional, como hábitos de higiene y costumbres alimenticias entre otros.

La relación entre el nivel cultural y el grado de parasitosis y/o amibiasis, mostró que el grado de escolaridad -- era importante, aunque como ya se mencionó la evaluación de los parámetros en forma individual es indicativa y sólo el conjunto de ellos pueden dar una explicación del fenómeno -- estudiado.

Estos resultados mostraron que el nivel socioeconómico en el 83% de la población fué bajo, coincidiendo con el alto nivel de parasitosis y/o amibiasis, esto coincide con lo reportado anteriormente (6) en donde la falta de recursos es determinante en este problema de salud. Recientemente se ha incluido otro factor de transmisión que afecta a la población homosexual (2,22) lo que hace que en ciudades como New York se tenga un índice alto de prevalencia en amibiasis.

Las investigaciones realizadas en comunidades son ---- importantes porque además de señalar los hábitos, costumbres, frecuencia de edad, sexo, etc., estas indican las carencias y los problemas de salud que padecen, reflejando lo que sucede en algunas poblaciones de México.

Esto es relevante puesto que conociendo el problema se podrá ayudar sugiriendo soluciones e indicar en forma práctica cuales serían las medidas a tomar tratando de darle un enfoque preventivo más que curativo.

CAPITULO V.

CONCLUSIONES

La prevalencia de parasitosis encontrada en la población estudiada en Tizayuca, Edo. de Hgo., fue del 69.25% y la amibiasis por E.histolytica de 19.58%.

El grupo de edad más afectado con parasitosis y amibiasis fue el de 5 a 14 años.

La diarrea se presentó en el 28.7% de los pacientes parasitados con E.histolytica y los títulos de anticuerpos - observados entre la misma población fueron desde 1:2 --- hasta 1:4096 en el 30% de los casos.

Por lo que respecta al Cultivo Monoaxénico de Robinson -- se puede deducir que es un buen método diagnóstico, sobre todo en aquellas diarreas de larga evolución, en donde -- los resultados de los exámenes coproparasitológicos y de amibas en fresco son negativos, y por otra parte es ----- importante dado que tal experimento se llevo a cabo en un Hospital Pediátrico, donde dicha situación es muy frecuente.

El nivel socioeconómico fue bajo en el 83% de la población coincidiendo con el nivel alto de parasitosis.

Este estudio señala que la prevalencia de la amibiasis en México sigue siendo un grave problema de salud, y que este se encuentra influenciado por factores ambientales, culturales y económicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abdel-Hafez, M.M.A.: Prevalence of intestinal parasitic infections in Riyadh district, Saudi Arabia. Annals of -- Tropical Medicine and Parasitology; Vol. 80, No. 6: 631--634. 1986.
- 2.- Allason-Jones, Erica., Mindel, Adrián., Sargeant, P.: Entamoeba histolytica as a commensal intestinal parasite in homosexual men. The New England Journal of Medicine; Vol. 315 No. 6: 353-356. 1986.
- 3.- Ambrosius-Diener, Kurt., Peña-Alonso, Rocio.: Patología de la amibiasis. Boletín médico del Hospital Infantil de México; Vol. 43 No. 7: 453-465. 1986.
- 4.- Annan, Akweley., Crompton, D.W.T., Walters, D.E.: An investigation of the prevalence of intestinal parasites in pre-school children in Ghana. Parasitology; No. 92: 209-217. 1986.
- 5.- Becerra, E., Minvielle, L., Colorado, F.: Consideraciones sobre mil casos de enfermos con amibiasis intestinal. Rev. Invest. Clín; No. 4: 193-201: 1952.
- 6.- Biagi, F.: Enfermedades Parasitarias: Amibiasis, Ed. La Prensa Médica Mexicana. S.A. 2da. Ed. México, D.F. Cap. 10: 81-124.

7.- Bos, H.J., Schouten, W.J., Nordpool, H.: A seroepidemiological study of amebiasis in Surinam by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Am J. Trop. Med. Hyg.; 29(3): 358-363. 1980.

8.- Castañeda-Castañeda, E., Baca-Rodriguez, L., Serafin---Anaya, F.: Amibiasis Intestinal en niños. Arch. Invest.-Med; Supl. No. 1: 367-370. 1978.

9.- Crevenna, P.B.: Epidemiologia de la amibiasis. Rev - Salud Pública Mex. 19: 411. 1977.

10.- Chadee, K., Petri, W.A., Ines, D.J., and Ravdin, J.I.: Rat and human colonic mucins bind to and inhibit adherence lectin of Entamoeba histolytica. J. Clin. Invest.; Vol. 80 Novembre: 1245-1254. 1987.

11.- Dykes, C. Aubert., Trenton, MD., Ruebush, K.: Extraintestinal amebiasis in infancy: Report of three patients and epidemiologic investigations of their families. Pediatrics Vol. 65 No. 4: 799-803. 1980.

12.- Estructura estadística de la población adscrita a Médico Familiar elaborada por el IMSS. Censo Junio de 1987.

13.- Gráfica Porcentual Etarea de Población Adscrita a Médico familiar. Instituto Mexicano del Seguro Social. Subdi---rección General Médica. Censo Junio de 1987.

- 14.- Guerrant, L., Richard.: The global problem of amebiasis Current. status, research needs, and oportunities for progress. Reviews of Infectious Diseases; Vol. 8 No. 2: 218-227. 1986.
- 15.- Gutiérrez-Trujillo, G.: Amibiasis intestinal en niños I. Frecuencia y características de diversas formas clinicas. -- Informe Preliminar. Arch. Invest. Med; No. 9, Supl. 1: --- 367-370. 1978.
- 16.- Gutiérrez-Trujillo, Gonzâlo.: Características Principales de la amibiasis invasora en el niño. "Actualización de algunos conceptos clinicos y epidemiológicos". Arch. Invest Med; No. 11 Supl 1: 282-286. 1980.
- 17.- Hernández-López, H. y Escobedo-Salinas, A.: Efectos del metronidazol sobre el absceso hepático amibiano del hamster. - Arch. Invest. Med; Vol. 1, Supl: 125:128. 1970.
- 18.- Islam, Asma., y col.: The prevalence de Entamoeba histolytica in lactanting women and in their infants Bangladesh Trans Roy Society Trop Med and Hyg; 82: 99-103. 1988.
- 19.- Jackson, T.F., Sargeaunt, P.G., Williams, J. E., Simjee, A.E.: Observations on zymodeme studies of Entamoeba histolytica in Durban South Africa. Arch. Invest. Med; No. 13 Supl. 3: 83-87. 1982.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 39 -

- 20.- Jiménez-Cardoso, E., Kumate, Jesús.: Correlación clínica de zidodemos de Entamoeba histolytica. Arch. Invest. Med No. 13 Supl. 3: 77-81. 1982.
- 21.- Markell, E.K., Vogue, M. Parasitología: Protozoarios -- que habitan la luz intestinal. Ed. El Manual Moderno, S.A. - de C.V. Sta. Ed. México, D.F. Cap. 3: 19-79. 1984.
- 22.- Marr, B. John.: Amebiasis in New York City: A changing -- pattern of transmission. Bull. N.Y. Acad. Med; Vol. 57, No 3 188-200. 1981.
- 23.- Martins, J.: Amibas con especial relevancia de E.histolytica. Sintomatología, Diagnóstico y resultados de un estudio efectuado en Huambo, Angola. Ann. Instituto de Higiene y Med. Trop; Vol. 4, No. 1-4: 75-80. 1976.
- 24.- Martuscelli, Q.A.: Frecuencia de los parásitos intestinales en niños de la República Mexicana. Rev. Mex. Pediat; 36: 111. 1976.
- 25.- Millet, E., Victoria., Spencer, J. Mayr., Chapin, R. H.: Intestinal protozoa infection a semicomunal group. Am J. --- Trop. Med. Hyg; No. 32 (1): 54-60. 1983.

- 26.- Mirelman, David., Bracha, Rivka, and Chayen, Ann.: -----
Changes in isoenzyme patterns of a cloned culture of nonpa---
thogenic Entamoeba histolytica during axenization. -----
Infection and Immunity.; Vol. 54. No. 3: 827-832. 1986.
- 27.- Nanda, R., Baveja, U. y Anand, B.S.: Entamoeba histo-
lytica cyst passers: Clinical features and outcomes in un---
treated subjects. The Lancet; August 11: 301-303. 1984.
- 28.- Nava-Chapa, G.: Epidemiología de las parasitosis intesti-
nales en población demandante de servicios. VIII Congreso ---
Nacional de Parasitología. Pachuca, Hgo. Octubre. 1986.
- 29.- Pardo, G.: Frecuencia de la rectocolitis amibiana aguda -
en diversas unidades del IMSS. Arch. Invest. Med.; No. 2, --
Supl. 1: 335-336. 1971.
- 30.- Proctor, M.E., Wong, Quantine., Yang, Jim. and Keystone,
S.J.: The electrophoretic isoenzyme patterns strains of -----
Entamoeba histolytica isolated in two major cities in ---
Canada. Am. J. Trop Med Hyg; No. 37 (2): 296-301. 1967.
- 31.- Ravdin, I.J.: N-acetyl-D-galactosamine-inhibitable adhe-
rence lectin of Entamoeba histolytica. Partial purifica-
tion and relation to amebic virulence in vitro. The Journal
of Infectious Diseases. Vol. 151. No. 5: 804-815. 1985.

- 32.- Ravdin, I. Jonathan.: Pathogenesis of disease caused by Entamoeba histolytica: Studies of adherence secreted --- toxins, and contact-dependent cytolysis. Reviews of ----- Infectious Diseases; Vol. 8, No. 2: 247-260. 1986.
- 33.- Robinson, G.L.: The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae. Trans Roy Soc. of Trop. Med. and Hyg; No. 62: - 285-294. 1968.
- 34.- Salazar-Schettino, P.M., Garcia-Yanes, Y., Ruiz-Hernán-- dez, A.L., Alonso-Guerrero, T., Quintero-García, M.E., De --- Anajare, S.V. y Rodríguez-Ramos, M.G.: Frecuencia de las parasitosis intestinales en poblaciones de la zona sur del Distrito Federal. Salud Pública Mex; 23:179. 1981.
- 35.- Sargeant, P.G. and Williams, J.E.: The differentiation of invasive Entamoeba histolytica by isoenzyme electrophoresis . Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg; Vol. 2, No. 5: 519-521. 1978.
- 36.- Sargeant, P.G. and Williams, J.E.: Electrophoretic isoenzyme patterns of Entamoeba histolytica and Entamoeba coli.----- Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg; Vol. 72, No. 2: 164-166. 1978.
- 37.- Sargeant, P.G. and Williams, J.E.: Electrophoretic iso-- enzyme patterns of the pathogenic and non-pathogenic intestinal amoeba of man. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg; Vol. 73, No. 2: 225-227. 1978.

- 38.- Sargeant, P.G., Williams, J.E., Bhojnani, R., Kumate, J. and Jiménez, E.: A review of isoenzyme characterization of Entamoeba histolytica with particular reference to pathogenic and non-pathogenic stocks isolated in México. Arch. Invest. Med.; No. 13 Supl. 3: 89-93. 1982.
- 39.- Sepúlveda, Bernardo.: La amibiasis invasora por E.histolytica. Gaceta Médica de México.: Vol. 100: 101-253. 1970
- 40.- Sepúlveda, Bernardo.: La inmunización contra la infección por Entamoeba histolytica. Gaceta Médica de México; Vol. - 115, No. 5: 235-236. 1979.
- 41.- Serafín-Anaya, F.J., Castañeda-Castañeda, E., Díaz, S., Palacios, O., Gutiérrez-Trujillo, G.: Amibiasis intestinal en niños II. Evaluación de diversas técnicas diagnósticas y distintos esquemas terapéuticos. Arch. Invest. Med.; No. 9 Supl. 1: 371-374. 1978.
- 42.- Serafín-Anaya, F.J., Castañeda, E., Díaz, S., Palacios, O. y Gutiérrez, G.: Evaluación diagnóstica y terapéutica en la amibiasis invasora del niño. Arch. Invest. Med.; No. 11, Supl. 1: 291-298. 1980.
- 43.- Smith, R.A.: Diaminobenzidine reactions in control and treated amoeba proteus. Histochemistry; No. 56: 89-95. -- 1978.

- 44.- Stierli, J., and Steffen, R.: Amebiasis retrospective analyse von 453 fallen in der region Zurich. Schweiz. Rev Med Wschr; No. 108: 1310-1317. 1978.
- 45.- Strachan, W.D., Spice, W.M., Chiodini, P.L.: Immunological differentiation of pathogenic and non-pathogenic isolates of Entamoeba histolytica. The Lancet; No. 12: - 561-562. 1988.
- 46.- Tay, J., Salazar-Schettino, P.M., de Haro Arteaga I. y Ruiz-Hernández, A.L.: Frecuencia de las protozoosis intestinales en México. Salud Pública Méx; 20; 297. 1978.
- 47.- Walsh, A. Julia.: Problems in recognition and diagnosis of Amebiasis: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Reviews of Infectious Diseases; Vol. 8, No.2 228-238. 1986.
- 48.- Wanke, Christine., Butler, Thomas., and Islam, M.: Epidemiologic and features of invasive amebiasis in Bangladesh: A case control comparison with other diarrhoea diseases and ---- post-mortem findings. Am. J. trop. Med. Hyg; Vol. 38, No. 2: 335-341. 1988.
- 49.- Wraxall, B.G.H. and Culliford, B.J.: A then layer starch gel method for enzyme typing or blood strains. Journal of The Forensic Science Society; Vol. 8: 81-84. 1968.