

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

REACCIONES SEROLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE LA AMIBIASIS

Estudio comparativo *

JOSÉ RUILOBA † § y BEATRIZ ZAVALA §

Se realiza un estudio comparativo de las reacciones serológicas útiles para el diagnóstico de la amibiasis. La reacción con partículas de látex cubiertas con antígeno amibiano parece ser la más sencilla y satisface los requisitos de una prueba clínica, susceptible de ser practicada por personal no altamente especializado. El uso de las técnicas de titulación de anticuerpos mediante hemaglutinación indirecta deberá quedar reservado a casos de interpretación difícil.

Los primeros intentos para demostrar la presencia de anticuerpos específicos en el suero de enfermos con amibiasis, fueron hechos por Dopter en 1905¹ y por Izar en 1914.^{2,3} Ambos investigadores emplearon la técnica de fijación de complemento, para la cual utilizaron como antígeno, extractos acuosos de materia fecal o de pus de abscesos hepáticos amibianos. Craig en 1927,^{4,5} practicó también la misma prueba pero utilizando por primera vez

* Trabajo presentado en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 12 de mayo de 1971.

† Académico numerario.

§ Instituto Nacional de la Nutrición.

como antígeno, un extracto alcohólico de amibas cultivadas en medio especial.

Desde entonces son innumerables los investigadores que mediante diferentes técnicas serológicas han tratado de encontrar el método más específico y práctico para el diagnóstico de la amibiasis. Los resultados obtenidos han sido variables, algunos hasta contradictorios, debido más que a la técnica empleada, a la procedencia y composición del antígeno.

El avance definitivo lo iniciaron Cleveland, Collier y Sanders en 1930,^{6, 7} y Rees y colaboradores en 1941,^{8, 9} cuando lograron los primeros cultivos de *Entamoeba histolytica* en medios sintéticos, asociada a un sólo simbionte, *Leptothrichia buccalis*. Al poco tiempo, Jacobs en 1947¹⁰ y Shaffer¹¹ un año después, también obtuvieron abundante crecimiento de amibas en cultivos monoxénicos con *Bacteroides symbiosus*. En 1950, Phillips y colaboradores,¹² sustituyeron las bacterias simbiotes por un protozoario, *Trypanosoma cruzi*. Por último, Diamond^{13, 14} logró preparar en 1961, el medio de cultivo que lleva su nombre y por primera vez obtuvo un desarrollo abundante de amibas sin microorganismos asociados, o sea en cultivo axénico.

Estos descubrimientos, que llevaron a obtener amibas *in vitro* asociadas a un solo microorganismo, con sustancias antigénicas que no interfieren con las propias de *E. histolytica*; o bien, cultivos axénicos, libres de bacterias y protozoarios; han permitido la elaboración de antígenos más puros y específicos, los que ahora son empleados en las diferentes técnicas serológicas conocidas.

Estas técnicas serológicas están siendo revaloradas por numerosos investigadores, con la idea de seleccionar las más

prácticas y más efectivas, en el diagnóstico de la amibiasis.

Con este propósito se ha realizado, en el Hospital de Enfermedades de la Nutrición, el estudio comparativo de varias de estas pruebas. Prevalece también el deseo de contribuir a valorar la presencia de anticuerpos antiamebianos en la población general, pues dada la endemicidad de la amibiasis en nuestro país, es lógico suponer que un gran número de personas sanas pudieran tener un umbral diagnóstico en los títulos de anticuerpos, superior al de otras zonas donde la amiba rara vez invade los tejidos del huésped.

Para su presentación se divide el estudio en dos partes:

1. Reacciones de hemaglutinación indirecta y de fijación de complemento practicadas en el suero sanguíneo de personas con y sin amibiasis, con observaciones acerca de la evolución de los títulos de anticuerpos en algunos enfermos con amibiasis hepática;

2. Estudio comparativo de las técnicas serológicas anteriores con otras, en especial la de aglutinación con látex.

Material y métodos

En todas las técnicas serológicas ensayadas, excepto en la de aglutinación con partículas de látex, se utilizó antígeno monoxénico, que fue amablemente proporcionado por los doctores Kessel y Lewis, quienes lo obtienen a partir de cultivos de *Entamoeba histolytica* (cepa D. B.K.), en medio sintético y asociada a *Mycoplasma*^{15, 16} o a *Trypanosoma cruzi*.¹⁷

Reacción de hemaglutinación indirecta

Para la elaboración de esta prueba se siguió exactamente el método empleado

Cuadro 1 Reacción de hemaglutinación indirecta en la amibiasis - 416 casos

	No. de casos	Negativos	Dudosos	Positivos
Sin amibiasis				
Asintomáticos	21 niños	17 = (81.0%)	3 = (15.0%)	1 = (4.0%)
	67 adultos	56 = (83.7%)	9 = (13.4%)	2 = (2.9%)
Con síntomas sugestivos de amibiasis	120	79 = (65.8%)	38 = (31.7%)	3 = (2.5%)
Total	208	152 = (73 %)	50 = (24.0%)	6 = (3.0%)
Con amibiasis				
Intestinal aguda	48	4 = (8.3%)	8 = (16.6%)	36 = (75.1%)
Absceso hepático	160	2 = (1.2%)	5 = (3.1%)	153 = (95.7%)
Total	208	6 = (2.9%)	13 = (6.3%)	189 = (90.8%)

por Kessel y colaboradores¹⁵ de la Escuela de Medicina de la Universidad de California y que ha sido descrito en varias publicaciones. Se estudiaron los sueros procedentes de 416 individuos, 208 de ellos sin amibiasis comprobada. En 120 de estos últimos, había síntomas que sugerían la presencia de la enfermedad, pero estudios posteriores afirmaron otros diagnósticos y a su vez negaron la etiología amibiana.

La otra mitad fueron enfermos en quienes el diagnóstico de amibiasis se confirmó por los métodos habituales: 1) en los casos con amibiasis intestinal, por los síntomas, el aspecto característico de las lesiones del rectosigmoides y la identificación morfológica del trofozoito de *E. histolytica* en el material obtenido por raspado de las mismas; 2) en los casos de absceso hepático, mediante los síntomas de la infección, la hepatomegalia dolorosa, los exámenes de laboratorio, el centellograma, los rayos X, la prueba terapéutica específica y en algunos casos la extracción de material purulento del absceso.

Resultados. Los resultados se dividieron en tres grupos:

1) negativos, para los sueros que dieron títulos inferiores al 1:32; 2) dudosos para los inferiores a 512, y 3) positivos, aquéllos con títulos superiores a 1:2 000.

En el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos con los 416 sueros estudiados por medio de la prueba de hemaglutinación indirecta. El 73 por ciento de las personas sin amibiasis mostraron títulos negativos o inferiores al 1:32 y 24 por ciento presentaron títulos entre 1:28 y 1:512.

La positividad de los títulos al 1:512 en este grupo de personas sin amibiasis, puede deberse a invasiones asintomáticas o subclínicas de la amiba, a consecuencia de la endemicidad de la infección amibiana en nuestro medio.

En este grupo se encontraron seis personas con títulos al 1:2 000. En el caso del niño que se muestra en el cuadro, se demostró en exámenes posteriores, la presencia de quistes de *E. histolytica* en el intestino. Los dos adultos asintomáticos,

también ahí señalados, tenían antecedentes de diarreas, pero no se logró identificar la amiba en nueve exámenes coproparasitoscópicos que se les practicaron. Otro de los casos correspondía a un médico de la ciudad de México, sin antecedentes de amibiasis y quien además mostró una hemaglutinación positiva a títulos altos a la toxoplasmosis y que tampoco tenía manifestaciones clínicas de esta enfermedad. Otro de ellos fue un enfermo con carcinoma del hígado, a quien en la autopsia, no se le encontraron signos de infección amibiana. Por último, el sexto caso fue diagnosticado de colitis ulcerosa inespecífica y en quien nunca se observaron trofozoitos de *E. histolytica*, ni hubo respuesta al tratamiento específico.

De los 208 casos con invasión tisular de la amiba o amibiasis invasora, 189 (90.8 por ciento) mostraron títulos superiores al 1:2 000, de los cuales 153 correspondían a enfermos con amibiasis hepática y 36 a amibiasis intestinal aguda. Hubo seis casos con hemaglutinación negativa, cuatro pertenecían al grupo de la amibiasis intestinal.

Se observaron variaciones en los títulos desde negativos hasta cifras del 1:512 000. La magnitud de la aglutinación no guardó relación con la gravedad de la enfermedad, ni con el tiempo de evolución de la infección amibiana. Sin embargo, en la mayoría de los casos los títulos superiores al 1:512, se observaron en enfermos con quince días o más de evolución de la invasión amibiana.

La variación en la respuesta inmunológica depende de numerosas circunstancias, el sitio de la infección, la magnitud del estímulo antigénico, la composición del antígeno amibiano mismo, la capacidad inmunológica del huésped y otras.

Reacción de fijación de complemento

La prueba ¹⁸ se practicó solamente en 139 sueros, pues como ya ha sido mencionado por varios autores, es frecuente que se presente una reacción anticomplementaria. Los resultados se expresan en el cuadro 2.

También aquí se dividen los resultados en tres grupos, negativos cuando los títulos fueron inferiores al 1:16, dudosos

Cuadro 2 Reacción de fijación de complemento en la amibiasis. 139 casos

	No. de casos	Negativos	Dudosos	Positivos
Sin amibiasis				
Asintomáticos	21 niños	20 = (99.2%)	1 = (0.8%)	0
	10 adultos	10 = (100 %)	0	0
Con síntomas sugestivos de amibiasis	37	35 = (94.8%)	2 = (5.2%)	0
Total	68	65 = (95.5%)	3 = (4.5%)	0
Con amibiasis				
Intestinal aguda	21	4 = (19.0%)	5 = (23.8%)	12 = (57.2%)
Absceso hepático	50	3 = (6 %)	9 = (18 %)	38 = (76 %)
Total	71	7 = (9.8%)	14 = (19.6%)	50 = (70.6%)

Cuadro 3 Diagnóstico serológico de la amibiasis. Comparación de cuatro pruebas serológicas - 40 casos

No. de casos	Hemaglutinación			Fijación de C'			Doble difusión en gel		Precipitación en tubo capilar	
	Neg.	Dudosos	Pos.	Neg.	Dudosos	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.
Asintomáticos	10	7	3	0	10	0	10	0	10	0
Amibiasis intestinal aguda	10	0	2	8	3	1	6	7	3	7
Absceso hepático	20	0	2	18	2	1	17	11	9	13

los comprendidos entre el 1:32 y el 1:64 y positivos con cifras mayores del 1 al 128.

Esta prueba mostró ser más específica, aunque menos sensible que la de hemaglutinación. En las personas sin amibiasis la reacción fue negativa en 95.5 por ciento, dudosa en 4.5 por ciento y en ninguno de los casos los títulos fueron mayores del 1:64.

En cambio, en los enfermos con amibiasis se observaron títulos altos en 70.6 por ciento, que si se añaden a los dudosos, hacen un total de 90.2 por ciento, resultados inferiores a los obtenidos con la prueba de hemaglutinación.

Según estas observaciones, la prueba de fijación de complemento debe considerarse como positiva para el diagnóstico a títulos superiores del 1:32, puesto que a este título, el número de casos sin amibiasis, fue insignificante.

Pruebas combinadas

En una segunda parte de esta investigación se comparan los resultados obtenidos en la titulación de anticuerpos anti-amibianos en 40 sueros, utilizando en cada uno de ellos las técnicas de hemaglutina-

ción indirecta, de fijación de complemento, de doble difusión en gel y de precipitación en tubo capilar.

Para las técnicas de doble difusión en gel^{19, 20, 21} y de precipitación en tubo capilar, se siguieron estrictamente los métodos recomendados por otros autores.

Los resultados expuestos en el cuadro 3 indican claramente que en nuestra experiencia, las técnicas de doble difusión en gel y de precipitación en tubo capilar, son inferiores como prueba diagnóstica a las de hemaglutinación indirecta y de fijación de complemento. Los resultados negativos en los sueros de personas sin amibiasis muestran lo que ya ha sido observado por otros investigadores,¹⁹⁻²³ que las pruebas son quizá más específicas, pero menos sensibles.

*Prueba de aglutinación con partículas de látex**

Recientemente se ha desarrollado una nueva prueba de aglutinación, empleando partículas de látex cubiertas con antígeno obtenido de cultivos axénicos de *E.*

* El material para esta prueba fue amablemente proporcionado por los Laboratorios Miles de México, S. A. de C. V.

histolytica.²⁴ Su sencillez y la posibilidad de conseguirla para su empleo rutinario, nos indujo a ensayarla y compararla con la hemaglutinación indirecta.

Se seleccionaron 206 sueros, 103 correspondían a enfermos con amibiasis intestinal o hepática y 103 procedían de personas sin amibiasis comprobada.

En todos los casos se hicieron las pruebas simultáneamente, aun en aquéllos a los cuales se les había practicado previamente la reacción de hemaglutinación indirecta. Por ser una prueba poco conocida en el diagnóstico de la amibiasis, a continuación se describe el método:

1) calentar los sueros a 56° C. durante 20 minutos;

2) mezclar las partículas de látex con el antígeno amibiano liofilizado y dejarlo reposar dos minutos;

3) colocar en una laminilla una gota de las partículas de látex cubiertas con el antígeno y añadir otra del suero problema;

4) mezclarlas con un aplicador y agitar manualmente la laminilla durante cinco minutos;

5) observar a simple vista la aglutinación y en caso de duda verla al microscopio con el objetivo de menor aumento.

En el cuadro 4 puede observarse que los 29 sueros de personas sin amibiasis dieron resultados negativos con la prueba del látex y a su vez todos mostraron títulos inferiores del 1:512 en la hemaglutinación.

De los 74 casos con síntomas sugestivos de amibiasis hubo siete positivos al látex; dos correspondían a enfermos con carcinoma del hígado, descritos anterior-

Cuadro 4 Reacciones de hemaglutinación indirecta y de látex. Estudio comparativo. 206 casos

	Hemaglutinación indirecta				Látex	
	N.º de casos	Negativos	Dudosos	Positivos	Negativos	Positivos
				Sin amibiasis		
Asintomáticos	29	24 = (82.7%)	5 = (17.3%)	0	29 = (100 %)	0
Con síntomas sugestivos de amibiasis	74	53 = (71.6%)	19 = (25.6%)	2 = (2.8%)	67 = (90.5%)	7 = (9.5%)
Total	103	77 = (74.6%)	24 = (23.3%)	2 = (2.1%)	96 = (93.2%)	7 = (6.8%)
				Con amibiasis		
Intestinal aguda	15	1 = (6.7%)	2 = (13.3%)	12 = (80.0%)	3 = (20.0%)	12 = (80.0%)
Absceso hepático	88	3 = (3.5%)	4 = (4.5%)	81 = (92.0%)	9 = (10.3%)	79 = (89.7%)
Total	103	4 = (3.8%)	6 = (5.8%)	93 = (90.4%)	12 = (11.7%)	91 = (88.3%)

mente, y de reacción positiva a la toxoplasmosis, con títulos de hemaglutinación del 1:2 000. Los otros cinco presentaban hemaglutinación indirecta a título del 1:512.

Los resultados obtenidos con los sueros procedentes de enfermos con amibiasis tisular o invasora, fueron prácticamente iguales en ambas pruebas.

Comentarios

La técnica de hemaglutinación indirecta para el diagnóstico de la amibiasis extra-intestinal o invasora, es hasta ahora la más sensible para determinar la presencia de anticuerpos anti-amibianos en el suero de los enfermos.

Los resultados obtenidos por nosotros, utilizando antígenos axénico y monoxénico en forma comparativa en 43 casos, fueron muy semejantes, lo que además coincide con lo que informan otros investigadores que emplean exclusivamente el antígeno axénico.²⁵⁻²⁶

Los títulos de aglutinación superiores a 1:512 deben ser considerados en nuestro medio, como indicación de infección amibiana activa o relativamente reciente y su valoración definitiva deberá estar de acuerdo con los síntomas y signos propios de la enfermedad. Los títulos de cifras menores, sugieren invasiones tisulares asintomáticas o subclínicas de la amiba, pero no excluyen tampoco una enfermedad activa incipiente.

La técnica de fijación de complemento para el diagnóstico de la amibiasis es útil; sin embargo, con frecuencia no se puede practicar debido a que los sueros presentan reacción anticomplementaria. Los títulos positivos desaparecen con mayor rapidez que con la prueba de hemaglutina-

nación, lo que la hace más específica, aunque menos sensible. Comentarios semejantes se pueden hacer en relación con las técnicas de doble difusión en gel y de precipitación en tubo capilar.

La reacción con partículas de látex cubiertas con antígeno amibiano, es en nuestra experiencia la más sencilla y quizá de aplicación universal, pues aunque no muestra la sensibilidad de la prueba de hemaglutinación indirecta, sí satisface los requisitos de una prueba clínica y puede ser practicada por personal técnico, no especializado. En los casos de difícil interpretación puede recurrirse a la titulación de anticuerpos con la técnica de hemaglutinación indirecta.

Aunque se debe insistir en que todas estas reacciones, al igual que cualquier dato de laboratorio, deben valorarse de acuerdo con los síntomas y otros recursos de diagnóstico.

Se agradece la colaboración del señor doctor Claudio Molina Pasquel en la parte inicial de este trabajo y la de los doctores Jorge Maisterrena y Enrique Tovar, del Departamento de Medicina Nuclear del Instituto Nacional de la Nutrición en el estudio de la reacción de aglutinación con partículas de látex.

REFERENCIAS

1. Dopter, M. C.: *Sensibilisatrice spécifique dysentérique dans le serum des animaux et des malades*. Ann. Inst. Pasteur 19:753, 1905.
2. Izar, G.: *Diagnosi sierologica dell'amebiasi*. Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat., Catania, 1912.
3. Izar, G.: *Studien über Amoebenteritis. Mitteilung über das Vorkommen spezifischer Antikörper im Serum von Amoebenruhrkranken*. Arch. f. Schpp. Tropen-Hyg. 18:36, 1914.
4. Craig, C. F.: *Observation upon the hemolytic, cytolytic and complement binding properties of extracts of Entamoeba histolytica*. Amer. J. Trop. Med. 7:225, 1927.
5. Craig, C. F.: *Complement fixation in the diagnosis of infection with Entamoeba histolytica*. Amer. J. Trop. Med. 8:29, 1928.
6. Cleveland, L. R., y Collier, J.: *Various improvements in the cultivation of E. histolytica*. Amer. J. Hyg. 12:606, 1930.

7. Cleveland, L. R., y Sanders, E. P.: *The production of bacteria-free amoebic abscesses in the liver of cats and observations on the amoebae in various media without bacteria.* Science 72:149, 1930.
8. Rees, C. W.; Reardon, L. V., y Jacobs, L.: *The cultivation of the parasitic protozoa without bacteria.* Amer. J. Trop. Med. 21: 695, 1941.
9. Rees, C. W.; Bozicevich, S.; Reardon, L. V., y Jones, F.: *A preliminary on the complement fixation test for amoebiasis with antigens prepared from E. histolytica grown with a single species of bacteria.* Amer. J. Trop. Med. 22:501, 1942.
10. Jacobs, L.: *Further studies on the maintenance of cultures of E. histolytica without viable bacteria.* J. Parasitol. 33:20, 1947.
11. Shaffer, J. G., y Frye, W. W.: *Studies on the growth requirements of E. histolytica.* Amer. J. Hyg. 47:214, 1948.
12. Phillips, B. P.: *Cultivation of E. histolytica with Trypanosoma cruzi.* Science 111:8, 1950.
13. Diamond, L. S.: *Axenic cultivation of E. histolytica.* Science 134:336, 1961.
14. Diamond, L. S.: *Techniques of axenic cultivation of Entamoeba histolytica Schaudinn 1903 and E. histolytica-like amoeba.* J. Parasit. 54:1047, 1968.
15. Kessel, J. F.; Lewis, W. P.; Molina-Pasquel, C., y Turner, J. A.: *Indirect hemagglutination and complement fixation tests in amebiasis.* Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 14:540, 1965.
16. Lewis, W. P.; Kessel, J. F., y Phillips, A.: *A study of Mycoplasma in cultures of E. histolytica.* Ref. 15, 1964.
17. Phillips, B. P.: *Further studies with amoeba. Trypanosome cultures.* Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 11:6, 1962.
18. Communicable Disease Center: *Diagnostic complement fixation methods.* Communicable Disease Center, Laboratory Branch Training Manual. U. S. Dep. Health, Education and Welfare. Atlanta, 1962.
19. Powell, S. J.; Maddison, S. E.; Wilmot, A. J., y Elsdon-Dew, R.: *Amoebic gel diffusion precipitation test.* Lancet 2:603, 1965.
20. Powell, S. J.: *The capillary-tube precipitin test.* Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 17:840, 1968.
21. Avernheimer, A. H.; Atchley, F. O., y Wasley, M. A.: *Further studies of amebiasis by gel diffusion.* J. Parasitol 52:950, 1966.
22. Maddison, S. E.; Powell, S. J., y Elsdon-Dew, R.: *Comparison of hemagglutinins and precipitins in amebiasis.* Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 14:551, 1965.
23. Powell, S. J.; Maddison, S. E.; Hodgson, R. G., y Elsdon-Dew, R.: *Amoebic gel-diffusion precipitin-test.* Lancet 1:566, 1966.
24. Morris, M. N.; Powel, S. J., y Elsdon-Dew, R.: *Latex agglutination test for invasive amebiasis.* Lancet 2:1362, 1970.
25. Sepúlveda, B.: *Reacciones de hemaglutinación y de precipitación con antígeno amebiano axénico en amebiasis invasora.* Arch. Inv. Méd. (Méx.). 1, Supl. 1:111, 1970.
26. Sepúlveda, B.: *La amebiasis invasora por Entamoeba histolytica.* GAC. MÉD. MÉX. 100: 201, 1970.

COMENTARIO OFICIAL

FRANCISCO BIAGI *

Probablemente en 1960 fuimos los primeros en usar con éxito una reacción serológica en la práctica clínica, con fines de diagnóstico. Dado que en aquella época los extractos antigénicos que se podían obtener de las amibas se encontraban contaminados con antígenos de otros microorganismos, preferimos usar la reacción de inmovilización, en la cual el efecto del anticuerpo se observa sobre la amiba misma.¹⁻⁵ Esta prueba sigue dando buenos resultados, aun cuando implica el inconveniente de tener que mantener una cepa del parásito, y por su laboriosidad, es limitado el número de reacciones que se pueden hacer al día.

Siguiendo la línea de las reacciones en antígeno particulado, desde 1964 trabajamos la reacción de inmunofluorescencia,^{6,7} que también es útil en la práctica de diagnóstico aun cuando requiere equipo muy costoso y a bajos títulos carece de especificidad. Otros autores han contribuido después en el conocimiento de esta reacción.

Trascendentales han resultado los trabajos de Kessel, sobre la reacción de hemaglutinación con el antígeno de cultivo monoxénico de amibas, que Ruiloba confirma plenamente con una casuística más completa y estudiada con todos los recursos modernos. Diversos autores han hecho esta reacción con antígeno de cultivo axénico de *E. histolytica* también con buenos resultados; pero ante los hechos disponibles en la actualidad, no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos con antígenos de cultivo monoxénico o axénico. Esto resulta de gran importancia práctica.

Estando en Ginebra, hace aproximadamente año y medio conocimos, previos a su publicación, los resultados de Elsdon-Dew sobre su nueva reacción de floculación. Los resultados de Ruiloba confirman plenamente los primeros datos disponibles.

Sin lugar a dudas, la reacción de floculación, por su sencillez y costo mínimo, va a

* Académico numerario.

desplazar a las otras en la práctica diaria de diagnóstico. Como Ruiloba indica, siempre será necesario el juicio clínico para emitir una opinión diagnóstica, pero las otras reacciones tienen poco que añadir.

A la luz de nuestros conocimientos actuales, la reacción de hemaglutinación sólo tiene ventaja en estudios de seroepidemiología, que al darnos la curva de los títulos de positividad en una población determinada, nos podrá informar sobre las probabilidades de encontrar cuadros graves de amibiasis intestinal o hepática.

Las otras reacciones, por su costo y complejidad técnica, quedarán confinadas a su uso en fines especiales de investigación, como pudiera ser por ejemplo, la determinación de fracciones antigénicas en una cepa determinada mediante los procedimientos de precipitación en agar.

REFERENCIAS

1. Biagi, F., y Buentello, L.: *Nuevo método serológico para el diagnóstico de la amibiasis*. Rev. Gastroent. Méx. 26:11, 1961.
2. Biagi, F., y Buentello, L.: *Inmovilization reaction for the diagnosis of amebiasis*. Exper. Paras. 11:188, 1961.
3. Biagi, F.; Guevara, I., y Rodríguez, L.: *Transmisión transplacentaria del factor inmovilizante de Entamoeba histolytica*. Rev. Fac. Med. (Méx.). 5:487, 1963.
4. Biagi, F., y Beltrán-H., F.: *La reacción de inmovilización de Entamoeba histolytica*. Rev. Gastroent. Méx. 31:133, 1966.
5. Tay, J.; Rojkind, Z., y Biagi, F.: *Separación de la fracción sérica inmovilizante de Entamoeba histolytica*. Rev. Fac. Med. (Méx.). 8:853, 1966.
6. Beltrán-H., F.; Biagi, F.; Ortega, P. S., y Rivas, C.: *Observaciones sobre la reacción de inmunofluorescencia y la reacción de inmovilización con Entamoeba histolytica*. Rev. Gastroent. Méx. 30:491, 1965.
7. Biagi, F.; Beltrán-H. F., y Ortega, P. S.: *Comparison of the immobilization reaction (IR) and fluorescent antibody (FA) test in amoebiasis*. Proc. I. Internat. Congr. Paras. (Roma, 1964) Pergamon Press 1:116, 1966.

Diarrea infantil estival. En los casos muy graves de esta enfermedad (entero-colitis), cuando las evacuaciones son frecuentes, pero siempre algo feculentas; cuando la temperatura llega de 38° C. á 40° C.; el pulso á 130-150; que la boca esté seca, la sed devoradora, los ojos fijos; que haya insomnios, vómitos, movimientos continuos de la cabeza, gritos y otros síntomas de la hiperemia cerebral, el Dr. Conegys, de Cincinnati obtiene resultados admirables con inmersiones de los niños en agua fresca y hasta fría, 24 á 18° C. por 12 a 15 minutos, y repetidas cada tres horas hasta que los síntomas alarmantes hayan cedido. (GAC. MÉD. MÉX. 13:415, 1878.)