

Prevalencia de infección por *Entamoeba histolytica* en escuelas públicas de la ciudad de Maceió, Alagoas, Brasil

Prevalence of infection caused by *Entamoeba histolytica* in public schools of Maceio city, Alagoas, Brazil

Dra. Iasmin de Albuquerque Cavalcanti Duarte,^I MSc. Rafael Vital dos Santos,^I Dr. Gilberto Fontes,^{I,II} Dr. Luis Fonte Galindo,^{III} Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes,^{IV} Dra. Maria Amélia Vieira Maciel,^{IV} Dra. Ivanize da Silva Aca,^{IV} Dra. Eliana Maria Maurício da Rocha^{I,II}

^I Universidade Federal de Alagoas. Maceió, Alagoas, Brasil.

^{II} Universidade Federal de São João del Rei. Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

^{III} Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

^{IV} Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Pernambuco, Brasil.

RESUMEN

Introducción: la prevalencia de amebiasis ha tenido que ser reevaluada desde que fue demostrada la existencia de dos especies de *Entamoeba* indistinguibles morfológicamente, pero diferentes en cuanto a su capacidad de producir enfermedad: *Entamoeba histolytica* (patógena) y *Entamoeba dispar* (no patógena). Con el empleo de procedimientos capaces de identificar características antigénicas específicas es posible hacer la diferenciación y evaluar la prevalencia real de amebiasis (es decir, de infecciones producidas por *Entamoeba histolytica*).

Objetivo: determinar la prevalencia de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* y, más tarde, de infección por la especie *Entamoeba histolytica* en muestras fecales de estudiantes de escuelas públicas de Maceió, Alagoas, Brasil.

Métodos: primero se realizó la detección microscópica de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* en muestras fecales de 1 798 estudiantes (para ello, se empleó la técnica de concentración en formol-éter). A continuación, se confirmó la infección por el mencionado complejo mediante el empleo del ensayo inmunoenzimático ENZYMEBA. Posteriormente, a las muestras confirmadas positivas al complejo *E. histolytica/E. dispar* se les aplicó el procedimiento inmunoenzimático *E. histolytica* II[®], que detecta de modo específico una adhesina de la especie *Entamoeba histolytica*.

Resultados: el empleo de la observación microscópica de heces y del ensayo ENZYMEBA permitió demostrar una prevalencia de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* de 3,8 %. La utilización del procedimiento *E. histolytica* II[®] condujo al hallazgo de una prevalencia de infección por la especie *Entamoeba histolytica* de 1,0 %. La observación microscópica de heces presentó un bajo valor predictivo positivo (26,4 %) para la detección de *Entamoeba histolytica* respecto al ensayo *E. histolytica* II[®].

Conclusiones: aunque las cifras de prevalencia encontradas son bajas, este estudio demuestra por primera vez la ocurrencia de infección por *Entamoeba histolytica* en Maceió, Alagoas, Brasil. A pesar de que el examen microscópico de heces no es un procedimiento apropiado para el diagnóstico de amebiasis, puede ser utilizado como prueba de descarte en estudios epidemiológicos. La demostración de infección por *Entamoeba histolytica* en muestras positivas a infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* puede ser realizada mediante ensayos para la detección específica de coproantígenos del parásito, como *Entamoeba histolytica* II[®].

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*, amebiasis, prevalencia, examen microscópico, inmunoensayos.

ABSTRACT

Introduction: distribution of amebiasis has been reevaluated since it was demonstrated that two morphologically indistinguishable species of *Entamoeba* exist, but they differ in their capacity to cause disease: *Entamoeba histolytica* (pathogenic) and *Entamoeba dispar* (nonpathogenic). The use of techniques to identify specific antigenic characteristics makes it possible to establish differential diagnosis and to assess the actual prevalence of amebiasis cases (caused only by *Entamoeba histolytica*).

Objective: to determine the prevalence of infection by *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* complex and, in a second phase, the prevalence of infection by *Entamoeba histolytica* in stool samples of students from public schools in Maceió, Alagoas, Brazil.

Methods: screening of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* complex infection cases was carried out by formol-ether concentration technique on stool samples of 1 798 students. The infection caused by this complex was confirmed with an enzyme linked immunosorbent assay (ENZYMEBA). Positive samples were then analyzed with a specific ELISA (*Entamoeba histolytica* II[®]) in order to detect an adesein only present in *Entamoeba histolytica*.

Results: the microscopic observation of feces and the Enzymeba test allowed demonstrating the prevalence of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* infection amounting to 3.8 %. The *Entamoeba histolytica* II procedure showed the prevalence of infection by *Entamoeba histolytica* of 1.0%. Therefore, the microscopy presented a low predictive positivity value (26.4%) for detection of *Entamoeba histolytica* compared to *Entamoeba histolytica* II[®] method.

Conclusions: although the prevalence figures are not high, the study shows for the first time the occurrence of *Entamoeba histolytica* in Maceió, Alagoas, Brazil. In spite of the fact that the optical microscopic test of feces is not the appropriate technique for amebiasis diagnosis, it can be used as a screening method in epidemiological studies. Cases of *Entamoeba histolytica* infection in positive samples by microscopy can be confirmed by using a specific test for detection of the parasite coproantigen like *Entamoeba histolytica* II[®].

Key words: *Entamoeba histolytica*, amebiasis, prevalence, microscopic test, immunoassays.

INTRODUCCIÓN

Al microscopio óptico, apenas existen diferencias morfológicas entre los quistes de *Entamoeba histolytica*, especie patógena responsable de la amebiasis, y de *Entamoeba dispar*, especie no patógena.¹ Como ha sido reportado que la infección por *E. dispar* es aproximadamente 10 veces más frecuente que la infección por *E. histolytica*, la detección diferencial entre estas dos especies tiene implicaciones epidemiológicas. El uso de la microscopía óptica para el diagnóstico de infección por *E. histolytica* puede resultar en una sobredimensión de la prevalencia de amebiasis y en tratamientos innecesarios.²⁻⁴ Debido a la imposibilidad de discriminar entre las dos especies por sus características morfológicas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que los resultados positivos de los exámenes coproparasitológicos sean registrados como *E. histolytica/E. dispar*.⁵ Por igual motivo, se recomienda la realización de procedimientos que permitan la detección específica de *E. histolytica* y que solo cuando ello haya ocurrido se administre el tratamiento amebicida correspondiente.⁶ *E. histolytica* y *E. dispar* pueden ser diferenciadas mediante el uso de procedimientos bioquímicos, inmunológicos y moleculares. De ellos, las pruebas inmunológicas basadas en la detección de coproantígenos presentan una buena sensibilidad y adecuada correlación clínica.^{7,8}

En Brasil, la prevalencia de amebiasis varía de acuerdo con la región del país donde se realizó el estudio. Empleando procedimientos inmunológicos, los índices más elevados han sido reportados en Belém, Estado de Pará (región norte), donde afecta 29 % de la población;⁹ y en Fortaleza, Estado de Ceará (región nordeste), que la infección estaba presente en 10,6 % de las personas pesquisadas.¹⁰ Sin embargo, en Pernambuco (región nordeste), también empleando herramientas inmunológicas, no fueron detectados casos de infección por *E. histolytica*.¹¹⁻¹³

Hasta el presente, en el Estado de Alagoas (región nordeste) no se han realizado estudios para verificar, con la utilización de métodos inmunológicos, la ocurrencia de infección por *E. histolytica*. Los objetivos del presente trabajo fue determinar, mediante el empleo de procedimientos microscópicos y el ensayo inmunoenzimático ENZYMEBA[®], la prevalencia de infección por el complejo *Entamoeba histolytica/E. dispar*, y precisar, mediante la utilización de la prueba inmunoenzimática *E. histolytica* II[®], la prevalencia de la infección por la especie *Entamoeba histolytica* en escuelas públicas de la ciudad de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil.

MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal a estudiantes de escuelas públicas de la ciudad de Maceió, Alagoas, Brasil, entre marzo de 2004 y mayo de 2005.

Muestreo

El método de muestreo fue equiprobabilístico en varias etapas: a) una estratificación por área administrativa se estratificaron proporcionalmente las escuelas en tres áreas, representativas de cada área geográfica en que se divide la ciudad de Maceió; b) una estratificación por tamaño de la escuela cada área fue dividida en dos estratos (uno correspondiente a las escuelas con menos de 500 estudiantes, otro correspondiente a las escuelas con 500 alumnos o más); c) se seleccionaron al azar tres escuelas en cada estrato, con probabilidad proporcional al número de estudiantes.

Selección de estudiantes

Participaron en el estudio todos los estudiantes de 4 a 15 años que recibían clases en el horario de la mañana en las escuelas seleccionadas y cuyos padres firmaron el correspondiente consentimiento informado. Se colectó una muestra fecal de cada estudiante.

Tamaño de la muestra

Para calcular el tamaño de la muestra se consideró una frecuencia esperada de 8,0 % (observada en estudios preliminares, con el error tolerable de 15 % y un intervalo de confianza de 95 %. El tamaño mínimo de la muestra se estimó en 1 670 alumnos, distribuidos proporcionalmente en las tres áreas.

Microscopia

Todas las muestras fecales (una por cada estudiante) se procesaron utilizando la técnica de concentración de formol-éter para identificación de quistes. De cada muestra se prepararon cinco frotis que fueron examinados al microscopio óptico por técnicos diferentes. Las heces fueron clasificadas de acuerdo con los resultados del examen microscópico como positiva o negativa al complejo *E. histolytica*/*E. dispar*. Las muestras positivas se conservaron a - 20 °C para la realización de ensayos inmunoenzimáticos.

Ensayos inmunoenzimáticos

Se utilizaron dos procedimientos inmunoenzimáticos: ENZYMEBA (Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kourí», La Habana, Cuba) y *E. histolytica* II[®] (TechLab Inc., Blacksburg, EE.UU.). En ambos casos, para su realización se siguieron las instrucciones de sus productores. ENZYMEBA se basa en la captura de histolisina, proteasa secretada por amebas de las especies *E. histolytica* y *E. dispar*.¹⁴ Este ensayo, por tanto, es capaz de detectar, pero no diferenciar, la infección por estas dos especies. A las muestras de heces positivas al complejo *E. histolytica*/*E. dispar* mediante examen microscópico, se les realizó el procedimiento ENZYMEBA para confirmar ese resultado y con ello evitar falso positivo, que suelen ser frecuentes a la observación morfológica. La prueba *E. histolytica* II[®] es un inmunoensayo basado en la interacción de anticuerpos monoclonales con determinantes antigénicos solo

presentes en la adhesina con afinidad a galactosa de *E. histolytica*. En consecuencia, este procedimiento solo detecta la infección por esta especie amebiana.^{7,8}

Definición de caso de amebiasis

Se consideraron portadores del complejo *E. histolytica/E. dispar* los estudiantes cuyas heces resultaron positivas a la observación microscópica y al inmunoensayo ENZYMEBA. Se clasificaron casos de amebiasis los alumnos cuyas heces fueron positivas al inmunoensayo *E. histolytica* II®.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa Epi-Info 6.04 para la compilación de todos los datos obtenidos. Empleando este programa se calculó el valor predictivo positivo (VPP) del examen de heces para el diagnóstico de amebiasis, asumiendo como referencia la prueba *E. histolytica* II® referencia.¹⁵

Aspectos éticos

A los padres de los estudiantes se les informó sobre los objetivos de la investigación y, después de recibir respuestas a preguntas hechas a miembros del equipo realizador, firmaron el correspondiente consentimiento informado. El proyecto de este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Federal de Alagoas (Proyecto 009057/02-95). Todos los niños encontrados parasitados se evaluaron y trataron por médicos especialistas.

RESULTADOS

Se analizaron muestras fecales de 1 798 estudiantes de 18 escuelas públicas de la ciudad de Maceió. De los estudiantes encuestados, 51,4 % eran hembras y 48,6 % varones.

En 68 (3,8 %) de las 1 798 muestras fecales analizadas por microscopia óptica se detectó la presencia de amebas del complejo *E. histolytica/E. dispar*. Estas 68 muestras también fueron positivas al inmunoensayo ENZYMEBA, lo que confirma la presencia en ellas de amebas del mencionado complejo. La realización de la prueba *E. histolytica* II® a las 68 muestras positivas al examen microscópico y a ENZYMEBA demostró la infección por *E. histolytica* en 18 (26,5 %) individuos. Es decir, la infección por *E. histolytica* estaba presente en 18 (1,0 %) de los 1 798 de los estudiantes trabajados (tabla).

La frecuencia de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* fue mayor con el aumento de la edad de los alumnos ($p < 0,05$), mientras que la frecuencia de parasitismo por *E. histolytica* resultó significativamente mayor en los grupos de edades más jóvenes ($p < 0,05$) (tabla). La prevalencia de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* y por *E. histolytica* fue similar para los 2 sexos ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Por su relativo bajo costo de realización, su disponibilidad en prácticamente todas las unidades de la mayoría de los sistemas de salud y porque permite la detección de otras infecciones parasitarias en el mismo ensayo, la observación microscópica de heces es el examen más utilizado para el diagnóstico de la amebiasis intestinal.¹⁶ Sin embargo, este procedimiento tiene limitaciones a las que se hace referencia a continuación:

- Con relativa frecuencia se confunden trofozoítos amebianos con leucocitos, de manera particular con macrófagos que han fagocitado hematíes, y quistes de unas amebas con los de otras. Esta limitación para realizar una adecuada detección microscópica conduce, en no pocas ocasiones, a resultados falsos positivos. Por ese motivo, en este estudio se utilizó el ensayo ENZYMEBA para confirmar los casos de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* (este procedimiento, sin embargo, no permite discriminar entre infección por *E. histolytica* e infección por *E. dispar*).^{17,18}

- Otra de las insuficiencias del examen microscópico es su incapacidad para diferenciar entre quistes de *E. histolytica* y quistes de *E. dispar*, lo que puede ser otra fuente de sobrediagnóstico de amebiasis intestinal.¹⁹ Varios estudios muestran que el VPP del diagnóstico microscópico de amebiasis es muy bajo. *Nesbitt* y otros¹⁵ compararon los resultados de la observación microscópica y una prueba de ELISA específica para la detección de *E. histolytica* en 842 muestras de heces y encontraron para la primera una sensibilidad de 43 % y un VPP de 5 %. En el presente trabajo, el VPP del examen microscópico fue similar al obtenido en un estudio realizado en Canadá (27,3 %), en el que se emplearon como pruebas de referencia dos ensayos de ELISA.²⁰ Por tanto, con los resultados de nuestra serie se confirma que ante un resultado positivo a *E. histolytica/E. dispar* por examen microscópico de heces no debe hacerse el diagnóstico de amebiasis, sin la realización de pruebas diagnósticas complementarias que permitan la detección específica de infección por *E. histolytica*.²¹

De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial para la Salud (OMS),⁵ el diagnóstico de amebiasis debe ser realizado por la aplicación de pruebas capaces de detectar específicamente *E. histolytica*. La prueba *E. histolytica* II[®] detecta la adhesina con afinidad a galactosa de *E. histolytica*. El uso de este ensayo en otros estudios permitió la identificación de *E. histolytica* con una sensibilidad de 86 a 95 % y una especificidad de 98 a 99 %.^{6,22} En un estudio realizado en Bangladesh, la aplicación de este procedimiento a muestras de heces de niños resultó más sensible y específica que la microscopía y el cultivo.⁸ En ese mismo trabajo, los autores compararon otras metodologías para la detección de *E. histolytica*. La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) anidada mostró una excelente correlación con el cultivo, seguida por el análisis de isoenzimas y la detección de antígenos de la especie, lo que confirma la posibilidad de utilizar diferentes técnicas para el estudio de la infección por *E. histolytica*. Sin embargo, la detección de antígenos por ELISA fue más rápida y sencilla que el resto de los procedimientos.⁸

Aunque la observación microscópica no es una herramienta adecuada para el diagnóstico de la amebiasis, es útil como un método para la identificación de amebas del complejo *E. histolytica/E. dispar*, sobre todo en los grandes estudios epidemiológicos. En tales casos, la confirmación de casos de infección por *E. histolytica* debe realizarse mediante el uso de procedimientos específicos, tales como la prueba *E. histolytica* II[®].

En la casi totalidad de los estudios de diferenciación realizados, la especie de ameba más frecuente encontrada en los casos de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* es *E. dispar*, la especie no patógena, para la cual regularmente no se prescribe tratamiento médico.^{17,22} En consecuencia, el incremento de prevalencia de infección por amebas del complejo *E. histolytica/E. dispar* con el aumento de la edad de los participantes observado en este trabajo podría ser consecuencia de la acumulación desde edades inferiores de individuos infectados por *E. dispar*.

Por otro lado, ha sido demostrado que la infección intestinal por *E. histolytica* es más frecuente en edades más tempranas.^{10,23} Este podría ser el motivo por el cual en el presente estudio fue encontrada mayor frecuencia de infección por esa especie amebiana en los grupos de edades más jóvenes.

Los resultados de este trabajo, en el que sí pudo ser confirmada la infección por *E. histolytica* en parte de los casos estudiados, difieren de los de estudios previos llevados a cabo en el Estado de Pernambuco, nordeste de Brasil, donde no pudo ser demostrada la presencia de *E. histolytica* en muestras de heces estudiadas mediante la aplicación de técnicas de análisis de isoenzimas, de detección de antígeno y de biología molecular.¹¹⁻¹³ Empleando herramientas inmunológicas y biomoleculares, tampoco pudo ser demostrada la presencia de esta especie amebiana en un estudio reciente realizado en la ciudad de Salvador, Estado de Bahía, Brasil.²⁴

La redescrición de *E. histolytica* como un complejo de dos especies (*E. histolytica*, especie patógena; y *E. dispar*, especie no patógena y mayoritaria en la casi totalidad de los estudios realizados) revolucionó (y revoluciona aún) los conocimientos sobre la epidemiología de la amebiasis. Los resultados de nuestro trabajo hacen evidente la necesidad de realizar estudios de prevalencia de esta parasitosis (que incluyan utilización de herramientas que permitan la diferenciación de especies) en otras regiones de Brasil.

AGRADECIMIENTOS

A los directores y maestros de las escuelas participantes en el estudio por su cooperación durante el proceso de recolección de muestras de heces y datos. Por el financiamiento para el trabajo a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL), PPSUS/CNPq, CAPES.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diamond L, Clark CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. J Euk Microbiol. 1993;40:340-4.
2. Delialioglu N, Aslan G, Sozen M, Babur C, Kanik A, Emekdos G. Detection of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in stool specimens by using Enzyme-linked Immunosorbent Assay. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99:769-72.

3. Nozaki T, Aca IS, Okuzawa E, Magalhães M, Tateno S, Takeuchi T. Zymodemes of *Entamoeba histolytica* isolated in the Amazon and the Northeast of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990;84:387-8.
4. Tanyuksel M, Yilmaz H, Ulukanligil M, Araz E, Cicek M, Koru O, et al. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. *Exp Parasitol.* 2005;110:322-6.
5. World Health Organization - WHO News and activities. *Entamoeba* taxonomy. *Bull World Health Org.* 1997;75:291-2.
6. Haque R, Neville IM, Hahn P, Petri JrWA. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2558-61.
7. Haque R, Ali IKM, Akter S, Petri JrWA. Comparison of PCR, isoenzyme analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infeccion. *J Clin Microbiol.* 1998;36:449-52.
8. Haque R, Ali IKM, Petri JrWA. Prevalence and imune response to *Entamoeba histolytica* in preschool children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:1031-4.
9. Póvoa MM, Arruda JEG, Silva MCMS, Bichara CN, Esteves P, Gabbay YB, et al. Diagnóstico de amebíase intestinal utilizando métodos coproscópicos e imunológicos em amostra da população da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil. *Cad Saude Publica.* 2000;16:843-6.
10. Braga LLC, Gomes ML, Silva MW, Paiva C, Sales A, Mann BJ. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infections as detected by monoclonal antibody in an urban slum in Fortaleza, Northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;84:467-71.
11. Tachibana H, Kobayashi S, Paz KC, Aca IS, Tateno S, Ihara S. Analysis of pathogenicity by restriction-endonuclease digestion of amplified genomic DNA of *Entamoeba histolytica* isolated in Pernambuco, Brazil. *Parasitol Res.* 1992;78:433-6.
12. Pinheiro SMB, Carneiro RM, Aca IS, Irmão JI, Morais JrMA, Coimbra MRM, et al. Determination of the prevalence of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* in the Pernambuco state of Northeastern Brazil by a Polymerase Chain Reaction. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70:221-4.
13. Aca IS, Kobayashi S, Carvalho JrLB, Tateno S, Takeuchi T. Prevalence and pathogenicity of *Entamoeba histolytica* in three different regions of Pernambuco, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1994;36:519-24.
14. Luaces AL, Picó T, Barret AJ. The Enzymeaba test: detection of intestinal *Entamoeba histolytica* infection by immunoenzimatic detection of histolysain. *Parasitology.* 1992;105:203-5.
15. Nesbitt RA, Mosha FW, Katki HA, Ashraf M, Assenga C, Lee CM. Amebiasis and comparison of microscopy to Elisa technique in detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J Natl Med Assoc.* 2004;96:671-7.

16. Hudson CD, Petri WA. Amebiasis: Clinical implications of the recognition of *Entamoeba dispar*. *Curr Infect Dis Rep*. 1999;1:441-7.
17. Fonte, L, Fernández FN, Montalvo AM, Rivero LR, Amador, EA. Enzymeaba, procedimiento eficaz para estudiar la prevalencia de infección intestinal por *Entamoeba histolytica*. *Rev Cubana Hig Epidemiol*. 1998;36:131-6.
18. Núñez YO, Fernández FN, Torres-Núñez D, Silva JA, Montano I, Maestre JL, et al. Multiplex polymerase chain reaction amplification and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* DNA from stool samples. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;64:293-7.
19. Stark D, Van Hal S, Fotedar A, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Comparison of stool antigen detection kits to PCR for diagnosis of amebiasis. *J Clin Microbiol*. 2008;46:1678-81.
20. Pillai DR, Keystone JS, Sheppard DC, MacLean JD, MacPherson DW, Kain, KC. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: Epidemiology and comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis*. 1999;29:1315-8.
21. Kebede A, Verweij JJ, Petros B, Polderman AM. Misleading microscopy in amoebiasis. *Trop Med Int Health*. 2004;9:651-2.
22. Haque R, Faruque ASG, Hahn P, Lyerly DM, Petri JrWA. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection in children in Bangladesh. *J Infect Dis*. 1997;175:734-6.
23. Braga LLBC, Gomes ML, Silva MW, Façanha JrFE, Fiuza L, Mann BJ. Household epidemiology of *Entamoeba histolytica* infection in an urban community in Northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;65:268-71.
24. Santos F, Goncalves M, Soares N. Validation and utilization of PCR for differential diagnosis and prevalence determination of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in Salvador City, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2011;15:119-25.

Recibido: 3 de mayo de 2012.

Aprobado: 8 de octubre de 2012.

Eliana Maria Mauricio da Rocha. Campus Centro Oeste, Universidade Federal de São João del Rei. Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400, Divinópolis, MG, CEP: 35501-296, Telefone: 55 37 32211584, Fax: 55 37 32211352. E-mail: eliana.rocha@pq.cnpq.br