

RIDA[®] QUICK
Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi

Art. No.: N1722



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi Test ist ein immunchromatografischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von *Cryptosporidium parvum* und / oder *Giardia lamblia* und / oder *Entamoeba histolytica* (sensu lato) in Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Giardia lamblia gehört zu den Darmflagellaten. Die morphologisch charakteristischen Trophozoiten überleben außerhalb des Wirtsorganismus nur kurze Zeit. Der Übertragung dienen die hochinfektiösen Zysten. Durch seine weltweite Verbreitung wird *Giardia lamblia* zu einer wichtigen Ursache von chronischen Durchfallerkrankungen, besonders bei Fragestellungen in der Reisemedizin. Die Infektion tritt nach der Aufnahme von Zysten in kontaminierten Nahrungsmitteln und Wasser auf. In Gemeinschaftseinrichtungen mit mangelnder Hygiene erfolgt die Infektion meist auf fäkal-oralem Weg von Person zu Person. Dieser Übertragungsweg kommt besonders häufig in Kinderhorten und Kindergärten, sowie bei männlichen Homosexuellen und Heiminsassen vor. Eltern können wiederum durch ihre Kinder infiziert werden. Im Gegensatz zu Kleinkindern können infizierte ältere Kinder symptomlos sein. Dennoch scheiden sie Zysten aus und können andere Menschen infizieren. Die Giardiasis (Lambliasis) tritt als akute oder chronische Diarrhö auf. Die Inkubationszeit liegt zwischen 3 und 42 Tagen. Die zur Diagnose einer Giardiasis in der Vergangenheit am häufigsten angewandte Methode war der mikroskopische Nachweis von Zysten im Stuhl, wofür erfahrenes Personal zur Verfügung stehen muss. Die Untersuchungen müssen außerdem über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden, da die Zystenausscheidung starken Schwankungen unterworfen ist.

Cryptosporidium parvum ist ein Parasit, der bei Tieren weit verbreitet ist und als wichtiger pathogener Keim auch bei Haustieren, besonders bei Kälbern, vorkommt. Häufiger als früher angenommen werden aber auch Infektionen des Menschen in vielen Ländern beobachtet. Der Parasit verursacht vielfach bei Kindern in tropischen Entwicklungsländern endemische und epidemische Diarrhöen. Bei immunkompetenten Patienten manifestiert sich die Erkrankung als selbstheilende Gastroenteritis. Die Diarrhö dauert zwischen 3 und 10 Tagen und kann von Fieber und gastrointestinalen Symptomen wie Übelkeit und Schmerzen begleitet werden, die denen der Giardiasis (Lambliasis) ähneln. Wesentlich schwerwiegender sind die Symptome und Auswirkungen bei immuninkompetenten Patienten, bei denen die Diarrhöen sehr schwer verlaufen und persistieren. Die Übertragung der Infektion kann vom Tier auf den Menschen durch kontaminiertes Wasser, aber auch von Mensch zu Mensch erfolgen. Die Mitglieder von Gemeinschaftseinrichtungen, Kinder im Kindergarten sowie die Risikogruppen der homosexuellen Männer und der HIV-Infizierten sind besonders gefährdet. Die in der Vergangenheit am häufigsten angewandte Methode zur Diagnose der Cryptosporidiose waren der mikroskopische Nachweis von Oozysten im Stuhl bzw. die mikroskopische Untersuchung von Dünndarm-Biopsieproben, wofür erfahrenes Personal zur Verfügung stehen musste.

Entamoeba histolytica (sensu lato) infiziert jährlich bis zu 500 Millionen Menschen weltweit. Molekulargenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass die mit herkömmlichen diagnostischen Methoden identifizierten Protozoen mit der Bezeichnung *Entamoeba histolytica* aus zwei, morphologisch nicht unterscheidbaren Spezies bestehen, der pathogenen Spezies *Entamoeba histolytica sensu stricto* und der nach heutigem Wissensstand apathogenen Spezies *Entamoeba dispar*. Schätzungsweise 90 % der *Entamoeba*-Infektionen sind durch *E. dispar* bedingt. Die jährlich etwa 40 - 50 Millionen Fälle von Amöben-Colitis oder Leberabszess mit 80.000 Todesfällen werden durch *E. histolytica* verursacht.

Der Lebenszyklus von *Entamoeba* ist relativ einfach. Die Infektion erfolgt über die orale Aufnahme von vierkernigen Zysten. Aus diesen entwickelt sich im Dünndarm die einkernige vegetative Form des Parasiten, der Trophozoit (Minuta-Form), der sich vorwiegend im Dickdarm vermehrt und differenziert. Vermutlich durch das Milieu im unteren Dickdarmbereich wird die Enzystierung ausgelöst. Trophozoiten findet man neben den Zysten nur bei beschleunigter Darmpassage im Stuhl.

Die klinischen Symptome einer Amöbiasis werden durch die Invasion des Parasiten aus dem Darmlumen in die Schleimhaut des Kolons ausgelöst. Hierbei findet man häufig Trophozoiten mit phagozytierten Erythrozyten. Diese Trophozoiten werden wegen ihrer Größe als Magna-Form bezeichnet. Folgen der Invasion in die Darmmukosa sind Durchfall, Dysenterie oder gar Amöbome. Als Komplikation können nach disseminierter Streuung Leberabszesse, Lungenabszesse oder in sehr seltenen Fällen sogar Hirnabszesse entstehen, welche unbehandelt meist einen tödlich endenden Verlauf nehmen.

Die klinischen Symptome der akuten intestinalen Form der Amöbiasis sind krampfartige Bauchschmerzen mit Übelkeit und starken Durchfällen mit blutigen und schleimigen Stühlen. Das akute Stadium kann in ein chronisches Stadium mit gelegentlichem Durchfall im Wechsel mit Obstipation, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen übergehen. Es wurden auch völlig symptomlose Zystenausscheider beschrieben.

In etwa 10 % der Fälle einer akuten Amöbendysenterie kommt es zu extraintestinalen Komplikationen wie Leberabszessen oder Befall sonstiger Organe. Bei extraintestinaler Amöbiasis ist ein serologischer Nachweis von Antikörpern angezeigt.

Die Diagnose der intestinalen Amöbiasis kann mittels aufwendiger mikroskopischer Verfahren durch den Nachweis von Zysten und Trophozoiten im Stuhl erbracht werden. Da die Parasitendichte aber sehr gering sein kann, geht man davon aus, dass die Sensitivität dieser Methode bei einer einmaligen Stuhluntersuchung selbst bei erfahrenem Personal nur bei 75 % liegt. Zudem besteht die Gefahr der Verwechslung von *Entamoeba* mit Zellen des Darmepithels, mit Granulozyten, Makrophagen und Pilzen.

Einen großen Vorteil bieten hier sensitive immunologische Testverfahren mit spezifischen Antikörpern gegen Antigene von *Entamoeba*. Hierdurch wird die Diagnostik unabhängig von einer subjektiven Beurteilung und sensitiver durch die Erfassung auch von morphologisch nicht mehr identifizierbaren Bestandteilen. Nur die invasive Form von *Entamoeba* ruft eine Antikörperbildung hervor. Da Antikörpertiter meist gleichzeitig mit Beginn der klinischen

Symptomatik nachweisbar sind, kann zur Identifikation von *E. histolytica* ein spezifischer Antikörper-Nachweis angeschlossen werden. Dieser bietet zudem die Möglichkeit über die Höhe des Titers zwischen intestinaler und extraintestinaler Amöbiasis zu differenzieren, was für die Therapiewahl von Entscheidung ist.

Eine wichtige Alternativmethode zur Mikroskopie, sowohl für den Nachweis von *Giardia lamblia* als auch von *Cryptosporidium parvum* ist der nachfolgend beschriebene immunchromatografische Schnelltest, der in seiner Sensitivität und Spezifität durch die Verwendung monoklonaler Antikörper den mikroskopischen Untersuchungsverfahren ebenbürtig ist. Die Durchführung ist einfach und schnell und es wird kein speziell mikrobiologisch ausgebildetes Personal benötigt.

3. Testprinzip

Der vorliegende Schnelltest ist ein einstufiger immunchromatografischer Lateral-Flow Test, bei dem jeweils gegen die Parasitenantigene gerichtete spezifische Antikörper an grüne (*Entamoeba*-spezifisch), rote (*Giardia*-spezifisch) oder an blaue (*Cryptosporidien*-spezifisch) Latexpartikel gekoppelt sind. Weitere spezifische Antikörper gegen die drei Erreger sind fest auf der Membran gebunden. Zunächst wird die Stuhlprobe im Extraktionspuffer suspendiert und anschließend sedimentiert. Der Teststreifen wird in den klaren Überstand der Probe getaucht, wobei diese dann mit den farbigen Latexpartikeln, an die sich im positiven Falle vorhandenes Antigen bindet, durch die Membran läuft und an den spezifischen Fängerbanden gebunden wird. Je nach vorhandenem Antigen in der Probe wird dann eine grüne, und/oder rote und/oder blaue Bande sichtbar.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 25 Bestimmungen

Strip	25 Best.	Röhrchen mit 25 Teststreifen
Diluent	26 ml	Extraktionspuffer, gebrauchsfertig; enthält 0,1 % Natriumazid
Pipet	25 Stck.	Beutel mit 25 Einwegpipetten

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Packung kann bei 2 – 30 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Das Röhrchen mit den Teststreifen enthält ein Trocknungsmittel und darf zur Vermeidung von Feuchtigkeit nicht offen stehen gelassen werden. Es ist nach jeder Entnahme von Teststreifen wieder sorgfältig zu verschließen.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

- Probenröhrchen für Stuhlsuspension
- Röhrchen (optional: unbeschichtete Mikrotiterwells) für Überstand der Suspension
- Vortexmischer (optional)
- Mikropipette (200 µl - 1000 µl)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natrium-Hypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Der Probenverdünnungspuffer enthält als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen genau wie diese mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben sind in sauberen Behältern ohne irgendwelche Zusätze zu sammeln und vor Testbeginn bei 2 – 8 °C zu lagern. Bei Lagerung von mehr als 3 Tagen muss die Probe bei

- 20 °C eingefroren werden. In diesem Fall wird die Probe vor Testbeginn vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 50 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, der Extraktionspuffer sowie die Teststreifen auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) zu bringen. Das Röhrchen mit den Teststreifen ist erst bei Erreichen der Raumtemperatur zu öffnen und nach Entnahme der benötigten Teststreifen wieder zu verschließen. Einmal benutzte Teststreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden.

Überschüssiges Reagenz darf nicht in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

9.2. Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml Extraktionspuffer **Diluent** vorgelegt. Im Falle **flüssiger** Stuhlprobe werden mit der Einwegpipette **Pipet** 100 µl (bis kurz oberhalb der zweiten Verdickung) davon im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei **fester** Stuhlprobe werden 50 mg im Puffer suspendiert. Anschließend muss die Probe gut homogenisiert werden. Dies erfolgt entweder durch mehrfaches Aufsaugen und Ausstoßen der Suspension mit der Einwegpipette **Pipet** oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer. Danach die homogene Suspension mindestens **3 Minuten** sedimentieren lassen bis sich ein klarer Überstand bildet, von dem anschließend mindestens **200 µl** bis maximal **500 µl** in ein weiteres sauberes Röhrchen (oder unbeschichtetes Mikrotiterwell) überführt werden.

9.3. Proben-Testung

Der Teststreifen **Strip** wird dem Röhrchen entnommen und in die vorbereitete Probe eingetaucht. Der Teststreifen darf dabei nur soweit eintauchen, dass die durch Pfeile markierte Linie nicht überschritten wird. Nach **10 Minuten** kann das Testergebnis abgelesen werden.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn der Teststreifen **vor** dem Einbringen in die hergestellte Probensuspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu

sehen sind. Ferner muss **nach** der Testinkubation mindestens die **purpurrote** Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der Teststreifen und des verwendeten Extraktionspuffers
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination des Extraktionspuffers

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einem neuen Teststreifen die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributeur.

11. Auswertung und Interpretation

Es dürfen maximal vier Banden erscheinen, von der Probenaufnahmestelle gesehen in folgender Reihenfolge: Eine blaue, eine rote, eine grüne und eine purpurrote (Kontrolle) Bande. **Fehlt die purpurrote Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig !**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Cryptosporidien positiv** : **blaue** und **purpurrote** Bande sind sichtbar.
- **Giardia positiv** : **rote** und **purpurrote** Bande sind sichtbar.
- **Entamoeba positiv** : **grüne** und **purpurrote** Bande sind sichtbar
- Darüberhinaus können alle Kombinationen der drei spezifischen Testbanden mit der purpurroten Kontrollbande auftreten, je nach Vorhandensein der drei Erreger in der Probe.
- **Negativ** : nur **purpurrote Kontrollbande** ist sichtbar.
- **Ungültig** : keine Bande ist sichtbar oder eine andere Konstellation als oben beschrieben sowie andere Verfärbungen der Banden. Ebenso sind Banden-Verfärbungen, die erst nach 10 Minuten oder später auftreten ohne diagnostischen Wert und nicht zu beurteilen.

12. Grenzen der Methode

Der RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi weist Antigen von Cryptosporidium parvum und / oder Giardia lamblia und / oder Entamoeba histolytica (sensu lato) in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Banden und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. **Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.**

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Infektion mit Cryptosporidien, Lamblien oder Entamoeben nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung der Erreger oder durch eine zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der

begründete Verdacht auf eine Infektion mit den gesuchten Erregern, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann bräunliche Banden verursachen anstelle der sonst spezifisch gefärbten Banden. Diese bräunlichen Banden haben keinen diagnostischen Wert. In solchen Fällen ist eine erneute Testung mit einer geringeren Stuhlmenge oder einer weiteren Verdünnung der bereits hergestellten Suspension (klarer Überstand nach Sedimentation) erforderlich, um zu klären, ob die gesuchten Erreger doch in der Probe sind und durch zuviel eingesetzte Stuhlmatrix überlagert wurden.

13. Leistungsmerkmale

13.1. Klinische Vergleichsstudie

In einer Multicenterstudie mit 5 verschiedenen Institutionen wurden insgesamt 252 Stuhlproben, die mit unterschiedlichen Methoden vorbestimmt und eingefroren asserviert waren, nach Auftauen im RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi Schnelltest untersucht. Die einzelnen Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengestellt und die mittlere Sensitivität und Spezifität aus den Einzelergebnissen der 5 Validierungsstellen wurde errechnet.

Tab.1 Zusammenstellung der Ergebnisse aus einer Multicenterstudie mit dem RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi Schnelltest

Referenz methode	Proben				Spezifische Parasiten-Testbande					
	total	pos.	negative		Cryptosporidium		Giardia		Entamoeba	
			keine Parasiten	andere Parasiten	Sens.	Spez.	Sens.	Spez.	Sens.	Spez.
Microscopy	28	28	0	0	87,5	-	80	-	60	-
Microscopy	63	32	20	11	100	100	100	100	-	100
Microscopy	32	12	15	5	-	-	88,9	100	100	80
Microscopy / PCR	49	35	5	9	66,7	79,9	94,4	100	79,2	76
Elisa	80	63	17	0	77,8	100	96,3	98,1	100	93,6
Summe	252	170	57	25	83,0 %	93,3%	91,9%	99,5%	84,8%	87,4%

13.2. Kreuzreaktivität

Keine der nachfolgend aufgeführten Darmparasiten führten zu einer Kreuzreaktion im RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia/ Entamoeba Combi:

Entamoeba coli

Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili

Endolimax nana

Entamoeba nana

Entamoeba hartmannii

Hymenolepsis nana

Isospora belli

Isospora felis

Jodamoeba bütschlii

Literatur

1. Black, R. E. et al.: Giardiasis in day-care centers: Evidence of person-to-person transmission. *Pediatrics* 60 (No. 4), 486 - 491 (1977).
2. Craun, G. F.: Waterborne Giardiasis in the United States: A review. *Am. J. Pub. Health* 69 (No. 8), 817 - 819 (1979).
3. Nask, T. E. et al.: Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* 156 (No. 6), 974 - 984 (1987).
4. Smith, H. V. et al.: *Giardia* and Giardiasis: What's in a name? *Microbiol. Eur.* 3 (No. 1), 22 - 29 (1995).
5. Thompson, R. C. A., Reynoldson, J. A.: *Giardia* and Giardiasis. *Adv. Parasitol.* 32, 71 - 160 (1993)
6. Xiao, L.: *Giardia* infection in farm animals. *Parasitology today* 10 (No. 11), 436 - 438 (1994).
7. Schunk, M. et al.: Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 389 - 391 (2001)
8. Clavel, A.: Evaluation of the optimal number of fecal specimens in the diagnosis of cryptosporidiosis in AIDS and immunocompetent patients. *Eur. Journal Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 46-49 (1995).
9. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clinics in Laboratory Medicine* 11 (No. 4), 873 - 895 (1991).
10. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4 (No. 3), 325 - 358 (1991).
11. Flanigan, T. P.: Human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: Protective immune responses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50 (5) Suppl., 29 - 35 (1994).
12. Guarino, A. et al.: Human intestinal cryptosporidiosis: secretory diarrhea and enterotoxic activity in Caco-2 cells. *J. Infect. Dis.* 171, 976 - 983 (1995).
13. Hayes, E. B. et al.: Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. *New. Engl. J. Med.* 320 (No. 21), 1372 - 1376 (1989).
14. Le Chevallier, M. W. et al.: *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in filtered drinking water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (No. 9), 2617 - 2621 (1991).
15. Mc. Anulty, J. M. et al.: A community wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *Jama* 272 (No. 20), 1597 - 1600 (1994).
16. Bracha, R. et al.: Differentiation of clinical isolates of *Entamoeba histolytica* by using specific DNA probes. *Clin. Microbiol.* 28 (No. 4), 680 - 684 (1990).
17. Citronberg, R. J., Semel, J. D.: Severe vaginal infection with *Entamoeba histolytica* in a woman who recently returned from Mexico: Case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 20, 700 - 702 (1995).
18. Espinosa-Cantellano, M., Martinez-Palomo, A.: *Entamoeba histolytica*: Mechanism of surface receptor capping. *Exp. Parasitol.* 79, 424 - 435 (1994).

19. Katzwinkel-Wladarsch, S. et al.: Direct amplification and differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica* DNA from stool specimen. *Am. J. Trop. Med.-Hyg.* 51 (1), 115 - 118 (1994).
20. Kean, B. H. et al.: Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population. *Brit. J. Ven. Dis.* 55, 375 - 378 (1979).
21. Mannweiler, E.: Immundiagnostik der Amöbiasis. *Der Mikrobiologe* 5. Jg., Heft 6, 194 - 200 (1995).
22. Ohnishi, K. et al.: Brain abscess due to infection with *Entamoeba histolytica*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51 (2), 180 - 182 (1994).
23. Petter, R. et al.: Characterization of two distinct gene transcripts for ribosomal protein L 21 from pathogenic and nonpathogenic strains of *Entamoeba histolytica*. *Gene* 150, 181 - 186 (1994).
24. Reed, Sh. L.: New Concepts regarding the pathogenesis of amebiasis. *Clin. Infect. Dis.* 21 (Suppl. 2), 182 - 185 (1995).
25. Strachan, W. D. et al.: Immunological differentiation of pathogenic and non-pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica*. *Lancet* 12, 561 - 563 (1988).
26. van Lunzen, J., Tannich, E., Burchard, G.-D.: Amöbenruhr und Amöbenleberabszeß. *Deutsches Ärzteblatt* 93, Heft 2, 2659 - 2665 (1996).