

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO PARA VIRUS DE HEPATITIS A EN NIÑOS DE MARACAIBO, VENEZUELA

Alis Amesty-Valbuena*, Yolanda González-Pirela* y Marilis Rivero**

* Cátedra de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. ** Sección de Inmunoserología. Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela.

Palabras claves: hepatitis por virus A, seroepidemiología de hepatitis A, hepatitis A en niños

RESUMEN

Con la finalidad de determinar la incidencia de infección por el virus de Hepatitis A se hizo la investigación de anticuerpos contra este virus (anti-VHA) mediante la técnica de ELISA en 209 niños de la ciudad de Maracaibo, de niveles socioeconómicos diferentes y de edades comprendidas entre 6 meses y 12 años. Se investigó al mismo tiempo la incidencia de infección reciente mediante la determinación de anticuerpos IgM para Hepatitis A (anti-VHA IgM) utilizando la misma técnica ELISA. Se encontró una incidencia global de positividad de 46.4% para todas las edades. El estudio individual por edades mostró una seropositividad del 31% en el grupo de niños de menos de 1 año y la mayor seropositividad en los niños de edades entre 9 y 11 años (50-76.4%). Hubo diferencias notables en la seropositividad en relación con la condición socioeconómica observándose el mayor porcentaje en los niños de condición socioeconómica más baja. Se demostró infección reciente a partir del segundo año de vida (60%) y un porcentaje variable a lo largo de toda la edad pediátrica estudiada. No hubo infección reciente demostrable en los niños de un año de edad ni en aquellos por debajo de un año, lo cual sugiere que los anticuerpos anti-VHA adquiridos transplacentariamente pueden durar por lo menos hasta el primer año de la vida como sucede para otros virus.

INTRODUCCION

Los conocimientos actuales sobre la Hepatitis viral, su etiología y patogenia han alcanzado un extraordinario auge en los últimos 20 años. El descubrimiento por Blumberg en 1965 (a) del antígeno asociado a la Hepatitis B fué el inicio de estos conocimientos. En 1973 Feinstone y cols. (b) identifican en las heces de pacientes

con Hepatitis por virus A, una partícula viral de 27 nm, un enterovirus perteneciente al grupo de los picornavirus el cual logra ser cultivado en 1979.

El virus de la Hepatitis "A" (VHA) produce una infección cosmopolita que afecta a todos los grupos poblacionales sin distinción de edad, sexo, raza, nivel socioeconómico o estado nutricional (7, 32) y que se trasmite a través de alimentos contaminados con materia fecal (11, 23, 27). El curso clínico de la enfermedad puede ser asintomático o sintomático caracterizado por fiebre, náusea, anorexia, dolor abdominal e ictericia. La viremia y la excreción fecal del virus son transitorias y éste puede ser detectado en la sangre y en las heces de los pacientes desde el final del período de incubación (19).

Hasta hace poco tiempo el diagnóstico de Hepatitis por virus A se realizaba fundamentalmente en base a datos clínicos y epidemiológicos, sin embargo después de la identificación del virus mediante microscopia electrónica comenzaron a desarrollarse técnicas serológicas con la finalidad de investigar los anticuerpos formados en respuesta a la infección viral (anti-VHA). La presencia de estos anticuerpos en un suero pueden considerarse como marcadores específicos de la infección por el virus de Hepatitis A y su determinación en una población permite conocer la incidencia de esta enfermedad (32).

Las pruebas serológicas para detectar anticuerpos en la Hepatitis A aparecen positivas al comienzo de la enfermedad tanto en los pacientes sintomáticos como en los pacientes asintomáticos. La respuesta inicial consiste principalmente en anticuerpos IgM los cuales declinan a niveles indetectables en un lapso de 3 a 6 meses, persistiendo los anticuerpos IgG los que se mantienen durante años y probablemente durante toda la vida del individuo. La presencia de anticuerpos IgM en un paciente son por tanto indicativos de infección aguda o reciente (18). Por otra parte la ausencia de anticuerpos IgM con positividad de IgG indican infección tardía y por lo tanto inmunidad.

El desarrollo de pruebas serológicas sensibles ha permitido entonces la investigación de anticuerpos en distintas poblaciones (14, 21, 25). Los métodos de radioinmunoensayo (RIA) y los métodos inmunoenzimáticos (ELISA) han sido los más utilizados (4, 8, 16, 24, 27, 28). Ambos métodos muestran una marcada sensibilidad y especificidad con resultados similares (6, 14).

Mediante investigaciones serológicas se ha explorado la epidemiología de la Hepatitis por virus A en diferentes grupos etarios encontrándose grandes diferencias respecto a la existencia de anticuerpos en los diversos grupos de edad pero en general se ha demostrado que la población infantil en diferentes partes del mundo presenta anticuerpos contra el virus de Hepatitis A (5, 34), hecho inequívoco de haber padecido la infección por este virus en algún momento de su vida.

Conociendo que la Hepatitis por virus A en nuestro medio se diagnostica sólo en base a datos clínicos y epidemiológicos y debido a la disponibilidad para utilizar

pruebas serológicas inmunoenzimáticas (ELISA) en la investigación de anticuerpos (anti-VHA) contra este virus se diseñó el presente estudio con la finalidad de conocer la seroepidemiología de este cuadro infeccioso en un grupo de niños de la ciudad de Maracaibo.

MATERIALES Y METODOS

Entre Julio de 1984 y Noviembre de 1986 se obtuvieron 209 muestras de suero de niños de la ciudad de Maracaibo, las cuales fueron estratificadas por edad, sexo y nivel socioeconómico. Para este último parámetro se tomó como referencia la Distritalización Sanitaria Asistencial de la Dirección Regional de Salud Pública del Estado Zulia (29), dividiéndose las clases de acuerdo a su procedencia en media baja y media alta. Partiendo de ésto fueron recolectadas 209 muestras de la siguiente manera: 106 muestras de niños que asistían a consulta ambulatoria para control de niños sanos y cirugía selectiva de Hospitales del Estado y 103 muestras de niños que asistían a clínicas particulares.

Los grupos etarios fueron divididos desde los 6 meses hasta los 12 años y se obtuvo igual número de muestras de ambos sexos.

Una vez obtenidas las muestras éstas fueron guardadas en congelación a -20°C y procesadas en lotes de acuerdo a la disponibilidad del material empleado para la prueba serológica. Se utilizó el método inmunoenzimático ELISA que distribuye comercialmente los laboratorios Abbott. Dicha prueba se basa en la competencia que se establece entre el anticuerpo contra el virus de la Hepatitis A marcado con peroxidasa de rábano picante y los anticuerpos anti-VHA presentes en el suero problema al ser colocado éste frente a una cantidad limitada del antígeno viral fijado a una esfera de plástico. La reacción inmunológica entre el anticuerpo presente en el suero problema y el virus se demuestra y se cuantifica midiendo espectrofotométricamente la cantidad de producto enzimático formado al agregar el sustrato de la enzima peroxidasa. Esto se compara con los resultados de sueros controles positivos y negativos.

Se investigó en cada suero los anticuerpos anti-VHA del tipo de IgG y cada muestra positiva fué luego investigada para anticuerpos IgM utilizando la misma técnica inmunoenzimática ELISA, anti-VHA IgM, de los Laboratorios Abbott.

RESULTADOS

Los resultados de la investigación de anticuerpos en 209 niños aparecen en la Tabla I. Puede apreciarse que un total de 97 niños dieron la prueba positiva para un porcentaje global de positividad del 46.4%. En la misma tabla puede apreciarse también que el porcentaje de niños con anticuerpos aumentó a medida que aumentó la edad, con el porcentaje máximo entre los 9 y 11 años (50.0-76.4%). Un 31% de los

niños menores de 1 año mostró anticuerpos anti-VHA en su suero. No se observó ninguna diferencia notable de los resultados en relación con el sexo. La figura 1 muestra la curva de positividad para anticuerpos anti-VHA según la edad.

TABLA I

ANTICUERPOS SERICOS CONTRA VIRUS DE HEPATITIS "A"
DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS POSITIVAS DE ACUERDO
A EDAD Y SEXO.

MARACAIBO 1984-1986

Edad	Nº Muestras	Sexo		Positivas	
		M	F	Total	%
< 1 año*	16	2	3	5	31.2
1 año	16	3	1	4	25.0
2 años	16	3	2	5	31.2
3 años	15	3	2	5	33.3
4 años	16	4	3	7	43.7
5 años	17	3	4	7	41.1
6 años	16	3	3	6	38.0
7 años	15	4	3	7	46.6
8 años	16	4	3	7	43.7
9 años	16	4	4	8	50.0
10 años	17	7	6	13	76.4
11 años	17	7	6	13	76.4
12 años	16	4	6	10	62.5
Total	209	51	46	97	46.4

F. de M.: Instituciones Públicas y Privadas de Salud de Maracaibo, Estado Zulia.

* Comprende niños de 6 a 11 meses.

En la tabla II se representan los resultados en relación con la condición socioeconómica. Puede observarse un mayor porcentaje de positividad en todas las edades en los niños de condiciones socioeconómicas más bajas.

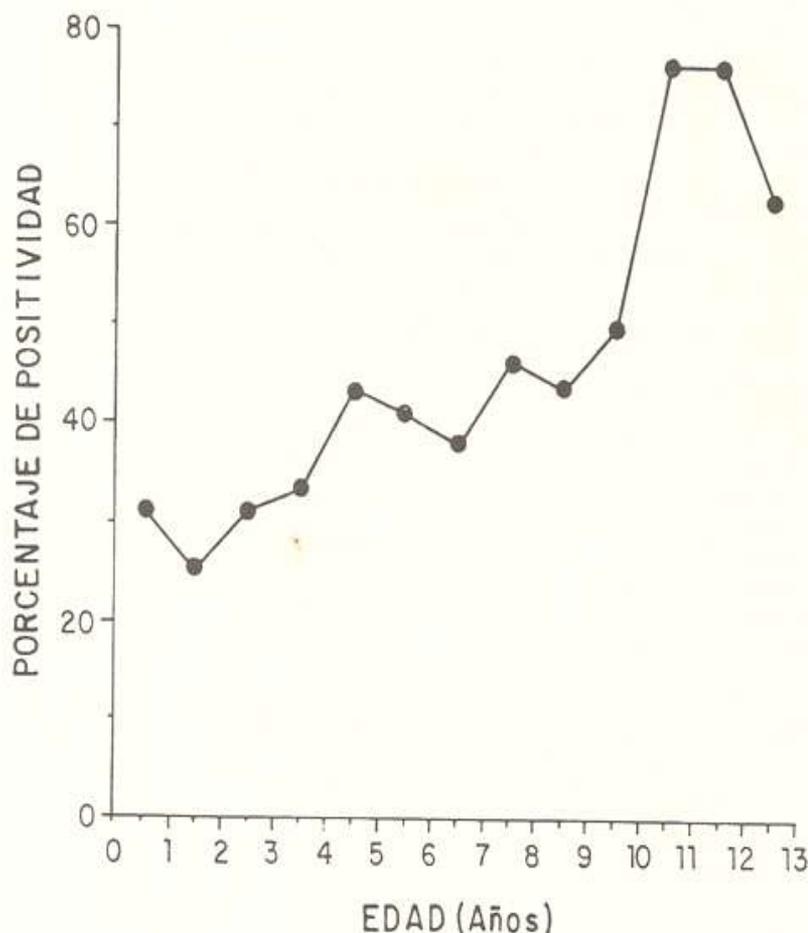
F. de I.- Cuadro N^o 1

Fig. 1.- Curva de positividad para anticuerpos contra hepatitis a virus "A" (anti-VHA) según edad. Maracaibo 1984-86.

En la tabla III se presentan los resultados de las muestras positivas de acuerdo a grupos etarios. Puede observarse una mayor positividad entre el grupo de escolares de 6-10 años y de 11-12 años, con una positividad del 50.6 y 65.7% respectivamente.

La tabla IV muestra los resultados de la investigación de anticuerpos IgM en aquellos niños que dieron una prueba para Hepatitis por virus A positiva (anti-VHA).

TABLA II

ANTICUERPOS SERICOS (ANTI-VHA) CONTRA VIRUS DE HEPATITIS "A".
DISTRIBUCION DE RESULTADOS POSITIVOS DE ACUERDO
A NIVEL SOCIOECONOMICO
MARACAIBO 1984-1986

Edad	N° Muestras	Muestras Positivas	Nivel socioeconómico			
			M-B	%	M-A	%
< 1 año	16	5	3	60.0	2	40.0
1 año	16	4	2	50.0	2	50.0
2 años	16	5	3	60.0	2	40.0
3 años	15	5	4	80.0	1	20.0
4 años	16	7	4	57.1	3	42.9
5 años	17	7	5	71.4	2	28.6
6 años	16	6	5	83.3	1	16.7
7 años	15	7	5	71.4	2	28.6
8 años	16	7	5	71.4	2	28.6
9 años	16	8	4	50.0	4	50.0
10 años	17	13	7	53.8	6	46.2
11 años	17	13	7	53.8	6	46.2
12 años	16	10	7	70.0	3	30.0
Total	209	97	61	62.8	36	37.2

F. de I.: Sección Serología-Immunología.
Hospital Universitario de Maracaibo.

M-B: Medio bajo

M-A: Medio alto

TABLA III

ANTICUERPOS CONTRA VIRUS DE HEPATITIS "A". DISTRIBUCION
DE RESULTADOS POSITIVOS DE ACUERDO A GRUPO ETARIO
MARACAIBO 1984-1986

Grupo etario	N° Muestras	Muestras Positivas	%
< 1 año	16	5	31.2
1-5 años	80	28	35.0
6-10 años	81	41	50.6
11-12 años	35	23	65.7
Total	209	97	46.4

F. de I.: Sección Serología-Immunología.
Hospital Universitario de Maracaibo.

Puede observarse que las infecciones recientes (demostrada por una prueba anti-VHA, IgM positiva) ocurrieron a lo largo de todas las edades estudiadas pero predominantemente en el segundo año de la vida. No se observó ninguna seropositividad entre los niños de un año ni en aquellos por debajo de un año. (Figura 2).

TABLA IV

DISTRIBUCION POR EDADES DE MUESTRAS POSITIVAS
PARA ANTICUERPOS IgM CONTRA VIRUS DE HEPATITIS "A"
(ANTI-VHA.IgM)

MARACAIBO 1984-1986

Edad	Positivos anti-VHA (IgG)	Positivos anti-VHA (IgM)	
		N°	%
< 1 año	5	—	—
1 año	4	—	—
2 años	5	3	60.0
3 años	5	1	20.0
4 años	7	2	28.5
5 años	7	1	14.2
6 años	6	1	16.6
7 años	7	1	14.2
8 años	7	2	28.5
9 años	8	2	25.0
10 años	13	2	15.3
11 años	13	1	9.7
12 años	10	1	10.0
Total	97	16	16.4

F. de I.: Sección Serología-Immunología.
Hospital Universitario de Maracaibo.

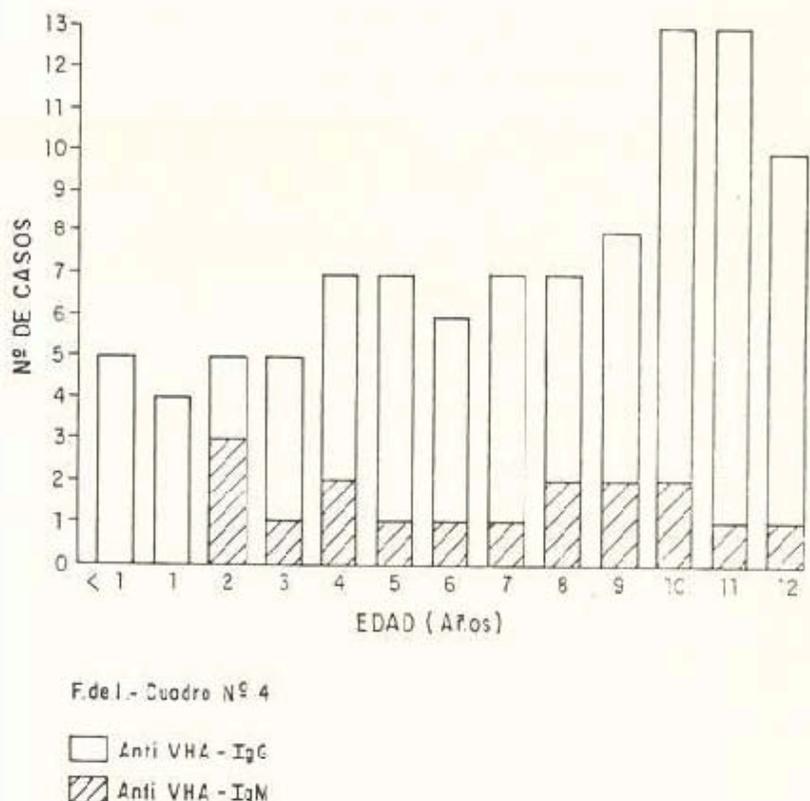


Fig. 2.- Distribución por edades de muestras positivas para anticuerpos IgG e IgM (anti-VHA-IgG - anti-VHA IgM) contra virus de hepatitis "A". Maracaibo 1984-86.

DISCUSION

La infección por el virus de Hepatitis A se presenta clásicamente en la edad infantil, usualmente es de curso clínico leve y la presentación de la forma sub-clínica anictérica asintomática de la enfermedad es lo común (7).

Con el desarrollo de pruebas serológicas se ha podido investigar los anticuerpos contra este virus (anti-VHA) y de esta manera conocer la prevalencia de la infección en diferentes partes del mundo (1, 13, 14, 17, 21, 26).

Los resultados del presente estudio han permitido establecer la alta prevalencia de la infección en nuestros niños al encontrarse una seropositividad global en el 46.4% del grupo estudiado. La presencia de anticuerpos anti-VHA en el 31% del grupo de lactantes de menos de 1 año (entre 6 y 11 meses) sugiere la transmisión placentaria y la persistencia de estos anticuerpos por lo menos hasta el año de edad. Por otro lado se observó un 25% de seropositividad en los niños de 1 año con un aumento creciente en el porcentaje a partir de los 2 años de edad para alcanzar el máximo a partir de los 10 años con un porcentaje de positividad de 76.4% para los 10 y 11 años y del 62.5% para la edad de 12 años. Hallazgos similares a éstos han sido reportados por Villarejos y cols. (33) en un estudio realizado en niños de Costa Rica quienes encontraron que el 20% de los niños de 1 año tenían ya anticuerpos contra el virus de Hepatitis A los cuales aumentaron hasta el 60% a la edad de 10 años y al 95% entre los 15 y 19 años. Zacarías y cols. (35) en un estudio realizado en la ciudad de México encontraron una positividad del 33% en los lactantes mayores de 6 meses con un aumento hasta el 84% en los escolares; curvas de seropositividad similares han sido reportados por Kumate y cols. (20).

La relación inversa entre el nivel socioeconómico y la presencia de anticuerpos anti-VHA es un hallazgo casi universal (12, 17, 26, 34), lo cual quedó también demostrado en el presente trabajo al encontrar una mayor seropositividad de anticuerpos en los niños de la clase media baja (62,8%) que en los niños de la clase media alta (37,2%). La interpretación de estos resultados es que debe existir un riesgo más alto de exposición al virus de la Hepatitis A, en este grupo poblacional de la clase media baja, tal vez como consecuencia de un saneamiento ambiental inadecuado, malos hábitos higiénicos y contaminación fecal importante de alimentos y bebidas. Además de estos factores ambientales deben existir también otros factores que expliquen el porque en países como Bélgica e Israel (32) existe un porcentaje tan elevado de la población con anticuerpos (87% y 94% respectivamente) mientras que en países menos desarrollados como Senegal y Kenia (31) los porcentajes son similares o menos elevados que los primeros (75% y 88% respectivamente).

La investigación de anticuerpos IgM contra el virus de Hepatitis A (anti-VHA. IgM) con la finalidad de determinar infección temprana o reciente, mostró resultados muy interesantes. En primer lugar ninguno de los lactantes de menos de 1 año y de un año, dieron la prueba positiva indicando este hecho que los anticuerpos anti-VHA transmitidos por vía placentaria persisten quizás más allá del año de edad como sucede para otros virus (12, 30) y estos anticuerpos pueden ser protectores. En segundo lugar se demostró que la infección ocurre tempranamente a partir del segundo año de la vida ya que el 60% de los lactantes de esta edad mostró positividad de la prueba. Es posible que un estudio más detallado investigando estos anticuerpos mensualmente o cada dos meses en niños entre el primero y segundo año de la vida permita conocer exactamente en qué momento después del año de edad comienza la infección viral.

Se demostró también que las infecciones tempranas o recientes se presentaron a lo largo de todas las edades estudiadas con porcentajes que oscilaron entre el 9% y el 28%.

No fué posible comparar nuestros resultados con estudios similares realizados en el país en población pediátrica. Hasta el presente sólo se recoge en la literatura nacional trabajos realizados en donantes de sangre de la ciudad de Caracas con una seropositividad del 99% (2) y en la población adulta del área metropolitana de Caracas, con una seropositividad del 97.5% (20). Según estudios que se realizan actualmente en donantes de sangre de la ciudad de Maracaibo, la seropositividad aproximada es del 85% (comunicación personal. Dr. Jesus Meir Medina. Instituto Hematológico de Occidente).

Al hacer el análisis de la seropositividad de acuerdo a los grupos etarios y comparando estos resultados con los estudios realizados en México (35), Costa Rica (33), Estados Unidos (22) y Gambia (1), encontramos que nuestros porcentajes de positividad fueron muy similares a los grupos de pre-escolares y escolares de Costa Rica y Gambia. No fueron tan bajos como los reportados en Estados Unidos ni tampoco tan altos como los encontrados en México como se detalla a continuación:

País	Pre-Escolares		Escolares			
	1 - 5 años		6 - 10 años		11 - 15 años	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
México	190	75.0	291	89.3	292	92.8
Costa Rica	60	36.7	120	71.7	20	95.0
EUA	34	8.8	33	24.2	39	30.8
Gambia	50	24.0	32	56.0	53	62.0
Venezuela (Maracaibo)	80	35.0	81	50.6	35*	65.7

* Se incluyeron solo edades de 11 y 12 años.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. Existe una alta incidencia de anticuerpos contra el virus Hepatitis A en nuestra población infantil.

2. El mayor porcentaje de seropositividad se encuentra en los niños entre los 9 y 11 años.
3. Los anticuerpos anti-VHA transmitidos transplacentariamente persisten por lo menos hasta el año de edad.
4. La infección reciente ocurre predominantemente a los 2 años de edad, pero puede presentarse a cualquier edad pediátrica.
5. La seropositividad para los anticuerpos anti-VHA está en relación inversa con la condición socioeconómica.

ABSTRACT

Seroepidemiologic study of hepatitis A virus in children from Maracaibo, Venezuela. Amesty-Valbuena A. (Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Apartado Postal 526, Maracaibo, Venezuela), González-Pirela Y., Rivero M. *Invest Clin* 30(4): 215-228, 1989.— With the purpose of determining the incidence of Hepatitis A virus infection, we determined the presence of antibodies against this virus (anti-VHA) with the ELISA technique in 209 children from Maracaibo city of different socioeconomic levels, ages ranging from 6 months to 12 years. At the same time, we investigated the incidence of a recent infection through IgM antibodies for Hepatitis A (anti-VHA IgM) using the same ELISA technique. We found a global positive incidence of 46.4% for all ages. Individual ages studied showed 31% seropositivity in children less than one year old and a higher seropositivity in children between 9 and 11 years old (50-76.4%). There were noticeable differences in seropositivity in relation to social economic condition observing a higher percentage in children of low social economic level. A recent infection was demonstrated after the second year of life (60%) and a variable percentage through all pediatric ages studied. There was no recent infection detected in children under one year of age which suggests that antibodies anti-VHA obtained transplacentally can last at least for the first year of life as it does with other virus.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.— ADJUKIEWICS A., MOSLEY J.: Hepatitis A antibody in West Africa. *Lancet* 2: 695-699, 1980.
- 2.— BEKER G., LABRADOR GONZALEZ G., RODRIGUEZ-AMAYA, PAZ J., NATH N., MAZZUR S., BASTIAANS M.J.: Frecuencia de anticuerpos a Hepatitis por virus A (anti-VHA) en donantes de sangre, zona urbana de oeste de Caracas. *Gen* 33(2-4): 337-338, 1979.

- 3- BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VISNICH J.: A new antigen in leukemia sera JAMA 191: 101-106, 1965.
- 4- DECKER R.H., KOSAKOWSKI S., VANDERBILT A., MEILLING CH., CHAI-REZ R., DVERBY L.: Diagnosis of acute Hepatitis A by HAVAB-M.A direct radio-immunoassay for IgM anti HAV. Am J Clin Path 76(2): 140-147, 1981.
- 5- DEINHART F., GUST D.: Hepatitis. Foro Mundial de la Salud, 4: 155-162, 1983.
- 6- DIENSTANG J., KRUGMAN S., WONG D., PURCELL R.: Comparison of serological test for antibody to Hepatitis A antigen using coded specimen from individual infected with MS-1 strain of Hepatitis A virus. Infect Immunol 14: 1000-1003, 1976.
- 7- DMOCHOWSKI L.: Viral type A and type B Hepatitis. Am J Clin Pathol 65: 741-786, 1976.
- 8- DUERMAYER W., VAN DER VEEN J., KOSTER B.: ELISA in Hepatitis. Lancet 1: 823-824, 1978.
- 9- FEINSTONE S.M., KAPEKIAN A.Z., PURCELL H.R.: Hepatitis A. Detection by immune electron microscopy of virus like antigen associated with acute illness. Science 182: 1026-1028, 1973.
- 10- FERNANDEZ R., MACHADO J., PAUBLINI H.: Epidemiología de la Hepatitis viral. Bol Sal Pub 59: 15-21, 1985.
- 11- FRANCIS D., MAYNARD J.E.: The transmission and outcome of hepatitis A, B and non-A non-B: A Review. Epidemiol Rev 1: 18-20, 1979.
- 12- GANDI B.M., JOSHI Y.K., TANDON B.N.: Prevalence of virus and exposure to viral Hepatitis A in Indian. Lancet 2(8242): 374, 1981.
- 13- GEBRESELASSIE L.: Prevalence of specific markers of viral Hepatitis A and B among an Ethiopian population. Bull World Health Assoc 61: 991-996, 1983.
- 14- GRAU A., BERTOMEU F., LUNA J., LLORENTE A., VICH J.M., ANGUIZ A., ALVERO J., BOFILL D., SIMO E.: Estudio epidemiológico de la Hepatitis A mediante la determinación del anticuerpo anti-VHA. Rev Clinic Esp 165(1): 11-13, 1982.
- 15- HANSSON B., CALHOUN J., WONG D., FEINSTONE S., PURCELL R., PANNUTI C., PEREIRA J., RAYMOND K., DIENSTAG J., IWARSON S.: Serodiagnosis of viral Hepatitis A by solidphase radioimmunoassay for specific IgM antibodies. Scan J Infect Dis 13: 5-9, 1981.

- 16- HAVAB E.I.A.: Inmunoensayo enzimático para la determinación del anticuerpo contra el virus de la Hepatitis A. Chicago ABBOT Laboratories: Diagnostics Division, Julio, 1985.
- 17- HU M., SCHENZLE D., DEINHARDT F., SCHEID R.: Epidemiology of Hepatitis A and B in the Shanghai area: prevalence of serum markers. *Am J Epidemiol* 120(3): 404-413, 1984.
- 18- KRUGMAN S., KATZ S.: Enfermedades infecciosas. Hepatitis Viral en Enfermedades Infecciosas. pp. 88-123, Editorial Interamericana, 1984.
- 19- KRUGMAN S.: Viral hepatitis: 1985 Update. *Ped Rev* 7(1): 3-8, 1985.
- 20- KUMATE J., ALVIZOURI A., ISIBASI A.: Encuesta serológica de Hepatitis A en niños de México. *Bol San Pan* 92: 494-499, 1982.
- 21- LECOUR H., RIBEIRO T., AMARAL L., RODRIGUEZ A.: Prevalence of viral Hepatitis in the population of Portugal. *Bull World Health Assoc* 62: 743-747, 1984.
- 22- MAYNARD J., BRADLEY D., HORNBECK C., FIELDS L., DOTO M.: Preliminary serologic studies of antibody to Hepatitis A virus in populations in the United States. *J Infect Dis* 34: 528-532, 1976.
- 23- MAYNARD J.E.: Communicable diseases. World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research. On Viral Hepatitis. New York, 155-159, 1980.
- 24- MILLER W.J., PROVOST P., McALCER W., ITTENSOHN O., VILLAREJOS V.: Specific immune adherence assay for human hepatitis A antibody. Application to diagnostic and epidemiologic investigations. *Proc Soc Exp Biol Med* 149: 254-261, 1971.
- 25- MINUK G., WAGGONER J., NICOLLE L., POSTL B.: Prevalence of antibody to Hepatitis A virus in a Canadian Unit community. *Can Med Assoc* 127: 850-852, 1982.
- 26- PANNUTI G., MENDOÇA J., CARVALHO M., OSELKA G., AMATO NETO V.: Hepatitis A antibody in two socioeconomically distinct populations of Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 27(3): 162-164, 1985.
- 27- REDEKER A.: Viral Hepatitis. Clinical aspect. *Am J Med* 270: 9-31, 1975.
- 28- SAFFORD S., NEEDLEMAN S., DECKER R.: Radioimmunoassay for detection of antibody to Hepatitis A virus. Results of clinical evaluation. *Am J Clin Pathol* 74: 25-31, 1980.

- 29- SALOM GIL R.: Maracaibo y su Distritalización Sanitario-Asistencial. Maracaibo, Enero 1979 (Monografía).
 - 30- SHULEDERBERG A., LAMM S., LANDRIGAN P.: Measles immunity in children vaccinated before one year of age. *Am J Epidemiol* 97: 402-404, 1973.
 - 31- SZMUNEDD W., DIENSTAG J., PURCELL R., HARLEY E., STEVENS J., WONG D.: Distribution of antibodies to Hepatitis A antigen in urban adults populations. *N Eng J Med* 295: 755-759, 1976.
 - 32- SZMUNESS W., DIENSTAG J., PURCELL R., STEVENS C., WONG D., HAFEZ I., BAR-SHANY S., BEASLEY P., DESMYTER J., GAON J.: The prevalence of antibody to Hepatitis A antigen in various parts of the world: A pilot study. *Am J Epidemiol* 106: 392-398, 1977.
 - 33- VILLAREJOS V., PROVOST P., ITTENSOHN O., MCLEAN A., HILLEMANN M.: Seroepidemiologic investigations of human hepatitis caused by A, B and A possible third virus. *Soc Exp Biol Med* 152: 524-528, 1976.
 - 34- WILLIAMS R.: Prevalence of Hepatitis A virus antibody among Navajo school children. *Am J Pub Health* 76(3): 282-283, 1986.
 - 35- ZACARIAS J., RAKELA J., MACHO L., MOSLEY L.: Estudio de anticuerpos de Hepatitis en niños. *Bol Hosp Inf Méx* 36: 571-576, 1979.
-