

**ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS  
EN LA VEREDA DE PIZARREAL, NORTE DE SANTANDER.  
RESULTADO DE LAS PRUEBAS DE GOTA GRUESA Y XENODIAGNOSTICO  
NATURAL Y ARTIFICIAL EN LA POBLACION GENERAL DE PIZARREAL,  
MUNICIPIO DE VILLA DEL ROSARIO, NORTE DE SANTANDER**

Por  
ERNESTO OSORNO MESA \*  
LUIS E. GIRALDO C. \*\*  
y  
AUGUSTO CORREDOR A. \*\*\*

El presente trabajo forma parte de una encuesta epidemiológica, elaborada en la vereda de Pizarreal durante el mes de noviembre de 1962. Por primera vez en Colombia se ha tratado de cubrir todo un universo, de la población a riesgo, con las pruebas de gota gruesa y Xenodiagnóstico, para la Trypanosomiasis americana.

El Xenodiagnóstico, ideado por Brumpt (1914) (1), ha sido hasta el momento el sistema técnico más eficaz para establecer el diagnóstico etiológico de *T. rangeli* y de *S. cru-*

*zi*, en su fase aguda y crónica. (2-3-4-5-7-10).

Algunos autores (4-6-10) expresan claramente las limitaciones que este procedimiento tiene para el diagnóstico etiológico de la enfermedad en estado latente y crónico (10-13) y la necesidad de recurrir a métodos indirectos para establecer la entidad.

Igualmente se ha llamado la atención de la poca sensibilidad de otros procedimientos (gota gruesa, cultivos e inoculaciones a animales, extensiones y métodos directos), útiles y eficaces en las encuestas epidemiológicas.

Es indudable que hoy día no existe una técnica ciento por ciento eficaz para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, y por consiguiente es necesario el uso combinado de varias de ellas, para obtener el mayor rendimiento.

En Colombia el Xenodiagnóstico se ha practicado desde hace aproximadamente veinte años, pero en forma frac-

\* Profesor Asociado de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional.

\*\* Profesor especial de Epidemiología: Escuela de Salud Pública, Universidad Nacional.

\*\*\* Profesor Asistente de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional.

cionada, que no permite llegar a conclusiones verdaderas, por el tamaño y la selección de las muestras efectuadas.

La vereda de Pizarreal, situada en el Municipio de Villa del Rosario, contaba con una población en noviembre de 1962, de 299 personas, distribuidas en 158 hombres y 141 mujeres (ver cuadro N° 1). Esta población habita una zona aproximada de un kilómetro, a lo largo de la carretera que conduce de Cúcuta a Pamplona. La gran mayoría de la población se ocupa de la agricultura; es nativa en el 69,5%, y el 11,5% procedente de

la ciudad de Cúcuta. La población habita chozas de techo pajizo en un 41,7% y de bahareque en un 93,7% (16).

El objetivo del presente trabajo es el de establecer la presencia de *S. cruzi* en la población estudiada, para poner en evidencia infecciones aparentes (agudas y crónicas) e inaparentes (10-3-6-7). Igualmente para evidenciar las infecciones aparentes de *T. rangeli* y su importancia como factor de interferencia, no sólo en el diagnóstico etiológico sino desde el punto de vista biológico.

CUADRO N° 1

POBLACION, POR EDAD Y SEXO, DE LA VEREDA DE PIZARREAL, MUNICIPIO DE VILLA DEL ROSARIO, NORTE DE SANTANDER

NOVIEMBRE DE 1962

| Grupo de edad, años | Sexo |  | HOMBRES |       | MUJERES |       | TOTALES |       |
|---------------------|------|--|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
|                     |      |  | Nº      | %     | Nº      | %     | Nº      | %     |
| Menores de 1        |      |  | 4       | 1.33  | 7       | 2.35  | 11      | 3.68  |
| 1 - 4               |      |  | 22      | 7.35  | 22      | 7.37  | 44      | 14.72 |
| 5 - 9               |      |  | 30      | 10.03 | 19      | 6.35  | 49      | 16.38 |
| 10 - 14             |      |  | 20      | 6.69  | 24      | 8.03  | 44      | 14.72 |
| 15 - 19             |      |  | 18      | 6.02  | 9       | 3.01  | 27      | 9.03  |
| 20 - 29             |      |  | 17      | 5.69  | 16      | 5.35  | 33      | 11.04 |
| 30 - 39             |      |  | 17      | 5.69  | 19      | 6.35  | 36      | 12.04 |
| 40 - 49             |      |  | 12      | 4.02  | 11      | 3.67  | 23      | 7.69  |
| 50 - 59             |      |  | 11      | 3.68  | 8       | 2.68  | 19      | 6.36  |
| 60 y más            |      |  | 7       | 2.34  | 6       | 2.00  | 13      | 4.34  |
| Totales             |      |  | 158     | 52.84 | 141     | 47.16 | 299     | 100.0 |

**Material y métodos. Gotas gruesas:** Se tomaron gotas gruesas a casi toda la población a riesgo. Fueron coloreadas con el método de Giemsa y examinadas por un período de tiempo mínimo de 15 minutos. Las gotas gruesas que resultaron positivas a *S. cruzi* y *T. rangeli* fueron objeto de estudio morfológico y medición con cámara clara. Las personas negativas a la gota gruesa pero positivas al Xenodiagnós-

tico, fueron objeto de posterior estudio para eliminar posibles errores.

**Xenodiagnóstico:** Para el Xenodiagnóstico natural se hizo una colección casa por casa, del mayor número de ejemplares de *Rhodnius prolixus*, por medio de búsqueda en paredes, techos, camas, etc. Los *Rhodnius* muertos fueron conservados en solución salina para ser remitidos al laboratorio de la Facultad Nacional de Medicina.

Para el Xenodiagnóstico artificial se emplearon ninfas de 4º y 5º estadio, colocadas en número de cinco en "tarugos de guadua" (11). Cada tarugo se fijó con banda de esparadrapo, al muslo o al antebrazo de cada una de las personas examinadas. De acuerdo con observaciones anteriores, dejamos estos implementos fijados al tiempo máximo de media hora, al término del cual separamos los *Rhodnius* ingurgitados de los vacíos (11). A medida que se hacían los Xenodiagnósticos se enviaban inmediatamente al laboratorio de Bogotá, para su correspondiente estudio.

Para no perder material, se examinaron primeramente los *Rhodnius* adultos procedentes de las ninfas de 5º estadio, procediendo en la forma siguiente: a) examen de la hemolinfa; b) disección del tubo digestivo, y c) examen de las glándulas salivares. (12). En relación con los *Rhodnius* en estados ninfales 4º y 5º, se controlaron inicialmente por medio de las deyecciones espontáneas y en el caso de dar resultados negativos, se dio comida parcial (17) para efectuar posteriores controles.

Se tomaron para registro de las formas y tamaños, extendidos de las deyecciones, de sólo parte del material. Para su coloración y estudio se procedió como en la gota gruesa.

*Inoculación a ratón blanco:* Se utilizó un grupo de ratones blancos que no era homogéneo ni en peso, ni en edad.

De cada uno de los Xenodiagnósticos artificiales positivos, se hizo inoculación a tres ratones, que se controlaron periódicamente hasta el tiempo máximo de 150 días.

Con respecto al Xenodiagnóstico natural, se hizo inoculación individual a partir de *Rhodnius* adultos y de ninfas

de 4º y 5º estadio. Cuando los *Triatominae* eran de los primeros estadios, se hizo inoculación del macerado de varios grupos.

Se hizo para los ratones positivos el estudio de extendido para las formas flageladas y su tamaño, así como también el estudio anatomopatológico.

*Resultados. Gotas gruesas:* Se tomó un total de 259 gotas gruesas de las 299 personas que formaban la población (86.6%). De estas muestras resultaron siete personas positivas, o sea un 2,7% de la población. El estudio morfológico y la medición (14) sugirieron que seis personas estaban infectadas con *T. rangeli* y una con *S. cruzi*, es decir, una frecuencia de 2,3% para *T. rangeli* y de 0,4% para *S. cruzi*.

Los Xenodiagnósticos efectuados confirmaron el diagnóstico de 4 de los positivos para *T. rangeli*. Uno de los Xenodiagnósticos fue negativo, y desafortunadamente en el del sospechoso para *S. cruzi*, no fue posible continuar el estudio, debido a que los *Rhodnius* murieron durante el transporte.

*Xenodiagnósticos artificiales:* Se logró estudiar los Xenodiagnósticos de 230 personas de las 299 (76,9%). De este grupo se encontraron sesenta (60) personas positivas para Trypanosomas cuya inoculación a ratón demostró que todos correspondían a *T. rangeli*, por su comportamiento biológico. El estudio morfológico corroboró igualmente infección por *T. rangeli*.

El cuadro número 2 muestra la distribución, por edad y sexo, de la parasitemia para *T. rangeli* encontrada por medio del Xenodiagnóstico. Se aprecia una frecuencia relativa para hombres de 31,1% y para mujeres de 26,1%. Esta diferencia es estadísticamente significativa, según lo muestra el cuadro número 3.

## CUADRO N° 2

## XENODIAGNOSTICO

DISTRIBUCION DE LOS XENODIAGNOSTICOS POR EDAD Y SEXO  
DE POSITIVOS Y NEGATIVOS DE LA POBLACION PROBADA,  
PIZARREAL, NORTE DE SANTANDER. - NOVIEMBRE DE 1962

T. RANGELI

| Grupo<br>de edad,<br>años | Sexo<br>+<br>— | HOMBRES       |            |           | MUJERES       |            |           | TOTALES   |                                      |     |
|---------------------------|----------------|---------------|------------|-----------|---------------|------------|-----------|-----------|--------------------------------------|-----|
|                           |                | Positivos     |            | Negativos | Positivos     |            | Negativos | Positivos | Total de<br>Positivos y<br>Negativos |     |
|                           |                | Nº            | %          |           | Nº            | %          |           | Nº        |                                      | %   |
|                           |                |               | <i>Ob.</i> |           |               | <i>Ob.</i> |           |           | <i>Es.</i>                           |     |
| Menores de 1              |                | 1             | 33.3       | 2         | 1             | 20.0       | 4         | 2         | 25.0                                 | 8   |
| 1 - 4                     |                | 11            | 54.4       | 10        | 8             | 47.0       | 9         | 19        | 50.0                                 | 38  |
| 5 - 9                     |                | 9             | 36.0       | 16        | 2             | 12.5       | 14        | 11        | 26.8                                 | 41  |
| 10 - 14                   |                | 8             | 44.4       | 10        | 3             | 15.0       | 17        | 11        | 28.9                                 | 38  |
| 15 - 19                   |                | 2             | 16.6       | 10        | 2             | 28.5       | 5         | 4         | 21.1                                 | 19  |
| 20 - 29                   |                | 2             | 25.0       | 6         | 0             | 0.0        | 13        | 2         | 9.5                                  | 21  |
| 30 - 39                   |                | 2             | 18.1       | 9         | 6             | 37.5       | 10        | 8         | 29.6                                 | 27  |
| 40 - 49                   |                | 1             | 14.2       | 6         | 1             | 10.0       | 9         | 2         | 11.7                                 | 17  |
| 50 - 59                   |                | 1             | 10.0       | 9         | 0             | 0.0        | 4         | 1         | 7.1                                  | 14  |
| 60 y más                  |                | 0             | 0.0        | 4         | 0             | 0.0        | 3         | 0         | 0.0                                  | 7   |
| Totales . . . . .         |                | 37            | 31.1       | 82        | 23            | 20.7       | 88        | 60        | 26.1                                 | 230 |
|                           |                | Hombres P = 8 |            |           | Mujeres P = 5 |            |           |           |                                      |     |

## CUADRO N° 3

PARASITEMIA POR T. RANGELI, DISTRIBUIDO POR SEXOS

Parasitemia *T. rangeli*

| Sexo    | Positiva | Negativa | Total |
|---------|----------|----------|-------|
| Hombres | 37       | 82       | 119   |
| Mujeres | 23       | 88       | 111   |
| Total   | 60       | 170      | 230   |

P = 0.05

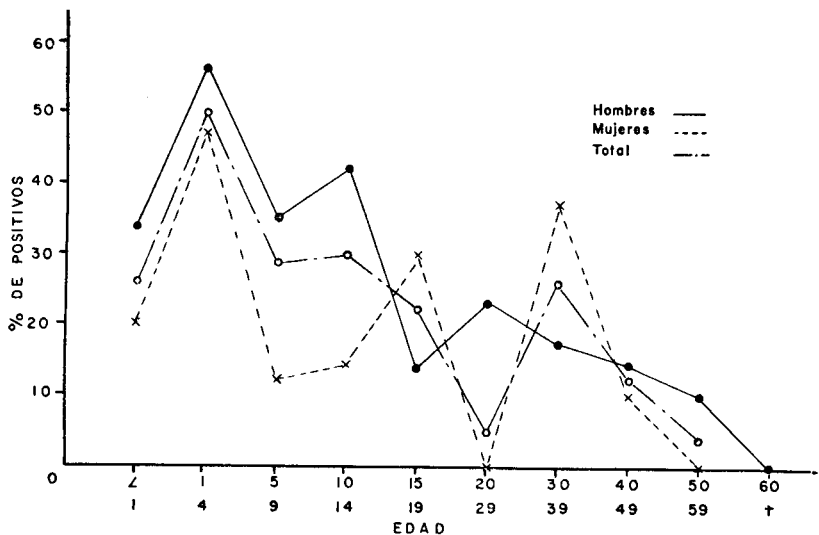
La distribución por edad muestra que la mayor frecuencia está en el grupo de 1-4 años, para comenzar a disminuir progresivamente con la edad. Aunque aparentemente existen diferencias en esta distribución por edades

en hombres y mujeres, estadísticamente se comprobó que no hay diferencias significantes en las dos distribuciones (P = para hombres de .8 y para mujeres de .5). (Ver gráfico N° 1).

GRAFICO N° 1

DISTRIBUCION, POR EDAD Y SEXO, DE LA PARASITEMIA POR *T. RANGELI*

GRAFICO N° 1



Como se anotó, cada *Rhodnius* adulto fue estudiado en la hemolinfa, tubo digestivo y glándulas salivares, estudio resumido en el cuadro número 4, de los resultados de cada uno de los procedimientos para el diagnóstico de *T. rangeli*.

CUADRO N° 4

RENDIMIENTO DE LAS DIFERENTES TECNICAS REALIZADAS EN EL DIAGNOSTICO ETIOLOGICO PARA *T. RANGELI*

| Técnica                               | Nº de diagnósticos | % del total |
|---------------------------------------|--------------------|-------------|
| Tubo digestivo                        | 43                 | 69,36       |
| Glándulas                             | 6                  | 9,68        |
| Tubo digestivo. Hemolinfa y glándulas | 9                  | 14,52       |
| Hemolinfa y glándulas                 | 1                  | 1,61        |
| Tubo digestivo. Hemolinfa y glándulas | 1                  | 1,61        |
| Gota Gruesa Positiva. Xeno Negativo   | 1                  | 1,61        |
| Gota Gruesa Positiva. No se hizo Xeno | 1                  | 1,61        |
| Total                                 | 62                 | 100,00      |

Como se puede apreciar, el estudio del tubo digestivo da un rendimiento de sólo 84,11%, incrementado en un 11,10%, con técnicas para hemolinfa y glándulas. Las gotas gruesas pueden aumentar este rendimiento en 4,75%.

El cuadro número 5 muestra una comparación en el rendimiento para descubrir casos por *T. rangeli*, con las pruebas de gota gruesa y Xenodiag-

nóstico. Se puede apreciar que para *T. rangeli* hay una diferencia estadística significativa, que demuestra la gran efectividad del Xenodiagnóstico para el Diagnóstico Etiológico de la Tripanosomiasis americana.

De las dos pruebas combinadas se concluye que hubo 62 casos humanos de *T. rangeli*, y 1 probablemente de *S. cruzi*, es decir, 26,7% de *T. rangeli* y 0,4% de *S. cruzi*.

CUADRO Nº 5

CUADRO COMPARATIVO ENTRE LAS PRUEBAS DE GOTA GRUESA Y XENODIAGNOSTICO

| Gota Gruesa        | Xenodiagnóstico | Positivo | Negativo | Total |
|--------------------|-----------------|----------|----------|-------|
| Positiva . . . . . |                 | 4        | 1        | 5     |
| Negativa . . . . . |                 | 53       | 156      | 209   |
| Total . . . . .    |                 | 57       | 157      | 214   |

$$\chi^2 = 7,46$$

$$P = \pm 0.01$$

*Xenodiagnóstico Natural:* Se logró coleccionar 495 *Rhodnius* en 29 casas de la zona. Un grupo pequeño se colectó muerto, por lo cual se conservó en solución salina fisiológica y se envió al laboratorio de Bogotá, en donde se demostró que algunos permanecieron con formas flageladas vivas por varios días. De estos 495, se encontraron 141 *Rhodnius* con formas flageladas, es decir, un índice de infección natural total de 28,5%. La inoculación a ratón para establecer su comportamiento biológico y la morfología de estos tripanosomas, permitió establecer que existen 113 con *T. rangeli* y 28 con

*S. cruzi*, es decir, un 22,8% y un 5,7%, respectivamente.

Se hizo la exploración de los 48 ranchos que integran las viviendas de la zona de Pizarreal, y de los cuales sólo 29 tuvieron presencia de *Triatominae*, es decir, un 60,4% de infestación.

Aunque el índice de 60,4% es alto, se considera que es mayor, al observar que en algunos ranchos donde habían casos humanos positivos para tripanosomas, la exploración dio resultados negativos para *Triatominae*.

Los 63 casos de Tripanosomiasis encontrados estaban distribuidos en 31 ranchos de la zona, es decir, en el 65% de las viviendas.

## CUADRO N° 6

INDICES GENERALES DE LA TRIPANOSOMIASIS EN LA VEREDA  
DE PIZARREAL, NORTE DE SANTANDER. - NOVIEMBRE 1962

|  |     | %    |
|--|-----|------|
| Población total rural . . . . .                        | 299 | 100  |
| Población expuesta a la infección . . . . .            | 299 | 100  |
| Población infectada con <i>S. cruzi</i> . . . . .      | 1   | 0,4  |
| Población infectada con <i>T. rangeli</i> . . . . .    | 62  | 26,7 |
| Total de ranchos (bahareque) . . . . .                 | 45  | 93,7 |
| Indice de infestación con <i>Triatominae</i> . . . . . | —   | 60,4 |
| Indice de infección natural total . . . . .            | —   | 28,5 |

## COMENTARIOS

En esta vereda del Municipio de Villa del Rosario, Norte de Santander, se comprobó la presencia de 63 casos humanos de Tripanosomiasis, 62 de los cuales fueron por *T. rangeli* y uno muy probablemente por *S. cruzi* en una niña de ocho meses de edad. La diferencia de sexos encontrada para las infecciones por *T. rangeli*, de la muestra representativa del Universo, y al no haber diferencias en las distribuciones por edades, para ambos sexos, sugiere la posibilidad de un factor biológico endógeno, que favorece en el hombre o inhibe en la mujer, el crecimiento de *T. rangeli*. Podría pensarse igualmente en una mayor exposición del hombre a los *Triatominae*, aunque parece que sea igual para los dos sexos. Esta primera observación puede ser sólo producto del azar, y es necesario continuar el estudio para llegar a un hecho concluyente.

Es notorio el rendimiento del Xenodiagnóstico para establecer el diagnóstico etiológico (84,11%) en relación con la técnica para tubo digestivo. El uso de técnicas para estudiar la hemolinfa y las glándulas aumenta la especificidad de esta prueba que la hace irremplazable, por el momento, en el

diagnóstico etiológico de la Tripanosomiasis americana.

Se aprecia igualmente la ventaja del empleo de métodos combinados para mayor rendimiento en el diagnóstico etiológico.

La zona de Pizarreal es endémica para Tripanosomiasis, y la fórmula parasitaria demuestra absoluto predominio de *T. rangeli* (26,7%).

En esta zona de ranchos (93,7%) el grado de infestación es muy alto (60,4%), si se compara con el registro de algunos autores (10-13).

## AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias a la señorita Alicia Gaitán y a la señora Hella de Bonilla por su colaboración en el presente estudio. A los estudiantes de tercer año de Medicina, señores Jaime Suárez Arana y Carlos Ruiz Torres, por la ayuda prestada en la manipulación de laboratorio, y al señor Fideligno Ruiz por las labores de campo.

Nuestros agradecimientos al doctor Carlos Celis, Director Departamental de Salud Pública del Norte de Santander, y a todos sus colaboradores, por haber hecho posible esta encuesta epidemiológica.

## RESUMEN

Se presentan los resultados de 230 Xenodiagnósticos efectuados en la población de la vereda de Pizarreal, en los cuales hubo 31,1% para hombres y 20% para mujeres de infección con *T. rangeli*. Se muestra la existencia, desde el punto de vista morfológico, de un caso de *S. cruzi*, que no se pudo comprobar biológicamente. Hay una diferencia significativa entre la parasitemia que existe en los sexos, siendo mayor en los hombres. La comparación de gotas gruesas y Xenodiagnósticos demuestra la gran efectividad de estos últimos en el diagnóstico etiológico. Se anotan los resultados del Xenodiagnóstico natural.

## SUMMARY

The results of 230 Xenodiagnosics made among the population in the region of Pizarreal are presented, in which there were 31.1% for males and 20% for females having infection caused by *T. rangeli*. It is shown by morphology that one case of *S. cruzi* exists, that can't be proven biologically. There is a significant difference between the parasitemia that exists in sexes, it being greater in the male. The comparison of heavy drops and the Xenodiagnosics demonstrate the great effectiveness in the latter in etiological diagnosis. The natural results of Xenodiagnosics are noted.

## BIBLIOGRAFIA

1. BRUMPT, E.—*Bull. Soc. Path. exot.*, VII, 1914, pp. 706-710. Tomado de *Précis de Parasitologie. Collection de Précis Médicaux*. Masson et Cie., Editeurs, 1949, pp. 76.
2. AMATO NETO, V. E ALVES MEIRA, J. *Forma aguda da Doença de Chagas*. Anais do Congresso Internacional sobre a Doença de Chagas. Vol. 1, pp. 66.
3. ATIAS, A. NEGhme, A. AGUIRRE L. y HERRERA E.—*Estudio sobre posible relación entre Megacolon y Enfermedad de Chagas en Chile*. Anais do Congresso Internacional sobre a Doença de Chagas. Vol. 1, pp. 87.
4. DIAS E.—*Xenodiagnóstico seriado en Caes infectados con amostras venezolanas de Schizotrypanum cruzi*. Brasil. Med., 54: 859-861, 1940.
5. PEDREIRA DE FREITAS, J. L.—*Observações sobre o tempo ótimo para exame de triatomídeos empregados em xenodiagnóstico*. Folia Clinica et Biol. 16: 180-185 1950.
6. PIFANO, C. F.—*El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas en fase crónica*. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. Arch. Venez. Pat. Trop. y Parasitol. Med., 2:121-156, 1954.
7. ROMAÑA, C. y BRIONES, S.—*El Xenodiagnóstico como método para diagnosticar casos agudos de Enfermedad de Chagas*. Am. Inst. Med. Reg., 4:35-41, 1954.
8. BURLAMAQUI BENCHIMOL, A.—*Doença de Chagas nos Grandes Centros Urbanos*. Anais do Congresso Internacional sobre a Doença de Chagas. Vol. 1, pp. 189.
9. BERT, L., A. DÍAZ, A. A. E FERRER, F. H.—*Ensayos profilácticos de la Enfermedad de Chagas en Venezuela*. Anais do Congresso Internacional sobre a Doença de Chagas. Vol. 1, pp. 227-229.
10. PIFANO, C. F. MAEKELT, A., ANSELMI, A. Y DÍAZ, V. A.—*II Evaluación de los métodos de diagnóstico empleados en las encuestas epidemiológicas de la Enfermedad de Chagas*. Revista Venezolana de Sanidad y Asistencia Social. Vol. XXVI, N° 1, pp. 17-23, marzo 1961.
11. OSORNO, M. E.—*Nuevos aspectos del Xenodiagnóstico*. (En prensa).
12. RAMÍREZ R. DORA.—*Contribuciones al estudio de la Anatomía interna de Rhod.*



- Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica Javeriana. 1951.
13. PIFANO, C. F. DÍAZ, V. A. MAEKELT, A. GUERRERO, L. GARCÍA M. G., GAMBOA, J. y TONELL, L. J. Aspectos epidemiológicos de la Enfermedad de Chagas en Venezuela. *Revista Venezolana de Sanidad y Asistencia Social*. Vol. XXVI, N<sup>o</sup> 1, pp. 7-17.
  14. PIFANO C., F. ANSELMÍ, A. DÍAZ V. A. y MAEKELT, A.—III. Prevalencia del daño miocárdico en chagásicos crónicos de la zona rural de Venezuela. *Revista Venezolana de Sanidad y Asistencia Social*. Vol. XXVI. marzo 1961. N<sup>o</sup> 1.
  15. GROOT, H., RENJIFO S. and URIBE P. C. *Trypanosoma ariari*. N. S. P., from man found in Colombia. *The Am. J. of Trop. Med.* Vol. 31. N<sup>o</sup> 6. Nov. 1951.
  16. FLÓREZ ALBERTO.—Comunicación personal. 1963.
  17. WIGGLESWORTH V. B.—*The principles of Insect Physiology*. N. Y. E. P. Dutton and Co. Inc. Publishers.
  18. DÍAZ, F. DE J. Y COL.—Miocardiopatías crónicas de probable etiología chagásica. *Anales del Colegio de Médicos de Carabobo*. Valencia, Venezuela. Año 1, N<sup>o</sup> 3, 1956, 161-186.
  19. FREITAS, J. L. P. DE.—O diagnóstico de laboratorio da molestia de Chagas. *Folia Clínica et Biología*. Vol. 21, 1954, N<sup>o</sup> 4.219.
  20. FREITAS, J. L. P. DE.—Estudo comparativo entre Xeno practicado in vivo e in vitro en formas crónicas de molestia de chagas. *Rev. Paulista de Med.*, 1954. Dec. p. 130.