

# Ensaio de vacinação preventiva e curativa nas infecções pelo *Schizotrypanum cruzi*

pelos

Drs. Julio Muniz, Genard Nobrega e Marques da Cunha

Baseados no fato, de que a inoculação de fórmulas de cultura do *S. cruzi* em certos animais, como o coelho, determina a formação de anticorpos específicos, num teor muito elevado, (sôros aglutinantes a 1/30000 e a 1/50000), e que, na *Trypanosomiasis americana* é na fase aguda da doença, quando o número de unidades parasitárias em circulação é maior que o teor de anticorpos no sôro atinge níveis mais altos, fomos levados a verificar, se inoculações de suspensão morta de fórmulas de cultivo desse parasita seriam capazes de, estimulando as defesas, trazer modificações na evolução da infecção ou mesmo proporcionar ao organismo um grau de imunidade capaz de protegê-lo contra uma infecção experimental.

Esses nossos ensaios que foram feitos em *Macaca mullata* (Rhesus) e no homem, podem ser reunidos em dois grupos de acordo com as finalidades para os quais foram realizados.

No primeiro grupo tratamos de verificar se a suspensão morta de parasitas, quando inoculada era capaz de conferir proteção contra uma infecção experimental (ação profilática).

No segundo grupo, se após declarada a infecção, a inoculação da suspensão era capaz de modificar sua evolução (ação curativa).

Para as experiências do primeiro grupo utilizamos de Rhesus, porque nele as infecções pelo *S. cruzi* evoluem de maneira semelhante como ocorre no homem.

No segundo grupo as experiências foram realizadas não só em rhesus previamente infectados, e no homem com infecção natural, aproveitando casos com forma aguda da doença passando para a cronicidade.

Para obter as infecções dos Rhesus pelo *S. cruzi* utilizamos nas nossas experiências da técnica de contaminação da conjuntiva com fézes de *Triatoma* ricas em formas metacíclicas do parasita.

As suspensões de *S. cruzi* utilizadas nesses ensaios, quer para fins preventivos como curativos eram feitas com culturas em massa do parasita em agar sangue glicosado, com a idade de cinco dias.

Após lavagem, por três vezes, em soluto fisiológico, os parasitas eram suspensos em igual soluto, contendo mertiolato na proporção de 1/10000.

Cinco amostras de *S. cruzi* foram utilizadas no preparo dessas suspensões sendo quatro de origem humana, recentemente isoladas, e uma de *Dasi-*pus* Sp.*

As doses da suspensão inoculada em cada animal variavam e estão expressas nos diversos protocolos transcritos mais abaixo e representadas em miligramas de massa húmida de parasita.

As vias de inoculação foram a intra-dermica, a subcutânea, a muscular, e a venosa e constam dos referidos protocolos.

Para termos um índice do grau de reação do organismo ao antígeno injectado utilizamos da dosagem de aglutinina no soro, bem como a verificação do poder precipitante dos mesmos.

## VERIFICAÇÃO DO PODER PROTETOR

Três Rhesus foram inoculados, cada um, com três doses da suspensão, por via subcutânea, observando quatro dias de intervalo entre cada dose.

O total de massa úmida de parasita recebido por cada animal foi o seguinte :

### QUADRO I

Rhesus n.º 118 — 24 miligramas.

Rhesus n.º 176 — 24 miligramas.

Rhesus n.º 119 — 48 miligramas.

Dez dias após a última injeção, foi tirada uma amostra de sangue de cada animal e verificado o poder aglutinante e precipitante dos mesmos. Os resultados foram os seguintes:

QUADRO II

DILUIÇÕES DO SÔRO	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$
Rhesus 118.....	lise	++++	+++	+	—
Rhesus 176.....	+++	++++	++++	+++	+
Rhesus 119.....	lise	++++	+++	++	—

Nenhum desses sôros foi capaz de precipitar a fração extraída de formas de cultivo pelo processo de Fuller.

No decimo segundo dia após a inoculação da ultima dose, esses três animais e mais um outro, que não fôra inoculado, (Rhesus n.º 166) foram contaminados pela conjuntiva com fézes de triatoma ricas em metacíclicos.

Os Rhesus ns. 176, 119 e 166 receberam material infectante nos dois olhos ao passo que o Rhesus 118 em um dos olhos.

A partir dessa data foram feitos diariamente exames microscópicos do sangue com o fim de constatar o aparecimento da infecção.

Todos os animais se infectaram, com um prazo de incubação variavel, conforme se pode ver no quadro abaixo.

QUADRO III

R H E S U S	INOCULAÇÃO	APARECIMENTO DAS FORMAS SANGUICOLAS
N.º 176.....	2 olhos	9.º dia
N.º 118.....	1 olho	13.º dia
N.º 119.....	2 olhos	10.º dia
N.º 116 (testemunha).....	2 olhos	9.º dia

### VERIFICAÇÃO DA AÇÃO TERAPEUTICA

Nesses ensaios trabalhamos com 7 Rhesus previamente infectados pela conjuntiva com formas metacíclicas do *S. cruzi*, contidas em fézes de Triatoma.

Além disso utilizamos dois doentes de *Trypanosomiasis americana* internados no Hospital Evandro Chagas e que apresentavam a fase aguda de doença.

Com o fim de verificar como reagiam ao antígeno indivíduos não portadores da infecção, fizemos uma serie de injeções da suspensão morta de cultivo em dois outros internados, um deles portador de uma verminose e o outro de lesões mucosas de *Leishmaniose tegumentar* já tratado com tartaro emetico.

O primeiro desses pacientes, R. A., recebeu 18 injeções por via intradermica e subcutanea, totalizando 180 miligramas de massa úmida de parasita.

O segundo deles, T. R., recebeu 9 injeções por via venosa, totalizando 7,6 miligramas. A primeira injeção, contendo 0,6 miligrama determinou uma reação forte com elevação de temperatura 38,6, acompanhado de cefaléa que durou 48 horas. Na segunda injeção que foi feita 14 dias depois, a temperatura atingio sómente 37,4, acompanhada por cefaléa ligeira por 24 horas. A terceira injeção feita 6 dias depois não determinou mais nenhuma reação o mesmo acontecendo com as subsequentes, excepção feita da sétima dóse, que determinou uma elevação térmica de 37,3 e cefaléa.

Após o tratamento a dosagem de aglutinina no sangue desses pacientes deu o seguinte resultado :

QUADRO IV

AGLUTINAÇÃO		TÍTULO DO SÔRO	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$
NOME	DÓSE	VIA							
R. A.....	180 miligramas	sub-cutanea e intrademica	lise	+++	+++	+++	+	—	—
T. R.....	7.6 miligramas	venosa	+++++	+++++	+++++	+++	+++	+++	+

Quanto a reação de precipitina só o sôro de T. R. se mostrou ativo quando em presença da fração extraída pelo processo de Fuller.

Dos 7 Rhesus infectados experimentalmente (ns. 676, 818, 819, 767, 743, 28 e 25) só os de ns. 819 e 25 não foram inoculados com a suspensão, servindo de testemunhas. Todos os outros foram inoculados com quantidades variaveis do antígeno, uns pela via subcutanea outros pela via intradermica e muscular outros pela via venosa e em periodos diferentes. Nos protocolos transcritos logo a seguir, todos os dados são fornecidos, bem como a marcha da infecção.

QUADRO V — RHESUS 676

DATA DA INOCULAÇÃO: 27-12-44 — MATERIAL UTILIZADO — FAZES, P. MEGISTUS, RICAS EM METACICLICOS — VIA: OCULAR (2 OLHOS)

EXAME DE SANGUE

DATA	2.1.45	5.1	8.1	11.1	15.1	18.1	22.1	25.1	29.1	2.2	16.2	17.2
Resultado.....	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	+
Dóse de vacina via subcutanea.....		2 mil	disenteria				agonizando					

Exame histo-patológico: Positivo para *S. cruzi*.

QUADRO VI — RHESUS 818

DATA DA INOCULAÇÃO 27-12-44 — MATERIAL UTILIZADO — FEZES P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS — VIA: OCULAR (OLHO ESQUERDO)

EXAME DE SANGUE

DATA	8.1.45	9.1	11.1	14.1	17.1	20.1	24.1	25.1
Resultado.....	—	+	+++	++	++	++	++	+
Dóse de vacina. Via venosa.....			0,1 mil	0,2 mil	0,2 mil	0,3 mil		

Exame histo-patológico: Positivo para *S. Cruzi*.

QUADRO VII — RHESUS 743

DATA DA INOCULAÇÃO: 27-12-44 — MATERIAL UTILIZADO: FEZES P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS — VIA OCULAR (2 OLHOS)

EXAME DE SANGUE

DATA	3.1.45	7.1	8.1	11.1	15.1	18.1	22.1	29.1	5.2	15.2	20.2	23.2	3.3	9.3	14.3	19.3	24.3	29.3	5.4	10.4	14.4
Resultado.....	—	—	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+
Dóse de vacina: Via venosa...												0.1 mil	0.1 mil	p.2 mil	0. mil	0.2 mil	0.2 mil	0.3 mil	xeno +		

## QUADRO VII — RHESUS 767

DATA DA INOCULAÇÃO — 27-12-44 — MATERIAL UTILIZADO — FEZES P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS  
VIA OCULAR (OLHO ESQUERDO)

## EXAME DE SANGUE

DATA	3.1.45	6.1	5.1	10.1	13.1	16.1	18.1	20.1	22.1	24.1	27.1	30.1	2.2	5.2	7.2	10.2	13.2	15.2	18.2	21.2	26.2	29.2	2.3	8.3	11.3	15.3	18.3
Resultado.....	-	-	+	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dóse de vacina via subcutanea.....	2 mil.					+																					
	22.3	25.3	29.3	2.4	7.4	16.4	20.4	23.4	3.5	14.5	5.7.46	8.8															
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
				xeno +																							

## QUADRO IX — RHESUS 28

DATA DA INOCULAÇÃO: 12-1-45 — MATERIAL UTILIZADO: FEZES P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS VIA OCULAR (2 OLHOS)

## EXAME DE SANGUE

DATA	22.1.45	23.1	26.1	29.1	2.2	7.2	11.2	16.2	20.2	21.2
Resultado.....	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Dóse de vacina. Via intradermica e intramuscular.....	mil.	mil.	0,2 mil. i.d.	2 mil. i. m.						
					0,8 mil. i.d.	0,8 mil. i.d.	0,8 mil. i.d.	0,8 mil. i.d.		

Exame histo-patológico: Positivo para *S. cruzi*.

QUADRO X — RHESUS 819 (TESTEMUNHO)

DATA DA INOCULAÇÃO: 27-12-44 — MATERIAL UTILIZADO: FEZES DE P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS VIA: OCULAR (2 OLHOS)

EXAME DE SANGUE

DATA	3.1.45	5.1	8.1	12.1	15.1	18.1	22.1	30.1	7.2	20.2	5.3	7.3	9.3	12.3	17.3
Resultado.....	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	+

Exame histo-patológico: Positivo para *S. cruzi*.

QUADRO XI — RHESUS 25 (TESTEMUNHO)

DATA DA INOCULAÇÃO: 12-1-45 — MATERIAL UTILIZADO: FEZES P. MEGISTUS RICAS EM METACICLICOS VIA: OCULAR (2 OLHOS)

EXAME DE SANGUE

DATA	20.1.45	22.1	25.1	30.1	5.2	10.2	24.2
Resultado.....	—	+	+++	+++	+++	++	+

Exame histo-patológico: Positivo para *S. cruzi*.

NOTA: + 1 a 2 Tripanosomas por lâmina  
 ++ 2 a 5 Tripanosomas por lâmina  
 +++ mais de 5 Tripanosomas por lamina

Dos sete Rhesus utilizados nestas experiências 6 vieram a morrer dentro de prazos variáveis e a presença do parasita constatada pelos exames histopatológicos. Só o Rhesus 767 permanece ainda vivo, decorrido 1 ano e 8 meses do início da experiência, mas todos os xenos nele praticados, bem como as reações de fixação de complemento, dosagem de aglutininas e precipitação se mostraram positivas até a data de 5-7-46, embora a pesquisa direta do parasita no sangue continue negativa.

Damos a seguir o protocolo das provas de aglutinação feitas em épocas diferentes junto com a reação de precipitina, utilizando sêro desse animal e para comparação os resultados das mesmas provas feitas com o sangue do Rhesus 819, que não recebeu tratamento, servindo de testemunha.

QUADRO XII

RHESUS N.º 819 (TESTEMUNHO)

Prova de aglutinação com o sêro tirado no dia 11-1-45. 6 dias após o aparecimento do parasita no sangue.

TITULO DO SÔRO	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$
Resultado.....	lise	lise	++++	+++	+++	+++	+	—

Reação de precipitina (prova do anel) +++

## QUADRO XIII

RHESUS 767

DATA DA RETIRADA DO SANGUE	TÍTULO DO SORO	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$
7-2-45.....		++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
Reação de precipitina (prova do anel) —									
18-3-45.....		++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+
Reação de precipitina (prova do anel) +++									
5-7-46.....		lise	+++	++++	+++	+++	+++	+	—
Reação de precipitina (prova do anel) +++									

Relataremos a seguir os dois casos de *Trypanosomiasis americana* nos quais foram ensaiados o tratamento por inoculação de suspensões mortas de formas de cultivo do *S. cruzi*.

J. P. A., sexo feminino, 12 anos, branca, residente em Bambuí.

Entrou no Hospital Evandro Chagas em 30-11-44, tendo saído em 22-6-45.

Em princípios de Novembro de 1944 foi picada na face esquerda do antebraço por um *Triatoma* que capturado no dia seguinte, mostrou-se infectado.

Formou-se uma lesão furunculoide no local da picada.

Doze dias, mais ou menos, depois do acidente apareceu febre que persistiu por 15 dias, acompanhada de edema no rosto, principalmente nas pálpebras.

Ao entrar no Hospital ainda apresentava face edemaciada.

Até o dia 22-12-44, a pesquisa direta do *S. cruzi* no sangue deu resultados positivos.

Entre 15-12-44 e 2-3-45 recebeu 28 injeções das suspensões mortas de formas de cultivo de *S. cruzi*, equivalentes a 280 miligramas de massa úmida de cultura.

Damos abaixo os resultados das reações de aglutinação e precipitina feitas antes de iniciar o tratamento, durante o tratamento e logo depois de terminado.

QUADRO XIV

DOENTE J. P. A.

DATA DA RETIRADA DO SANGUE	TÍTULO DO SORO	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$	$\frac{1}{5120}$	$\frac{1}{10240}$	$\frac{1}{20480}$
30-11-44.....		++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Reação de precipitina (prova do anel) +++++											
29-12-44.....		++++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
Reação de precipitina (prova do anel) +++++											
10-3-45.....		++++	++++	++++	+++	+++	+	-	-	-	-
Reação de precipitina (prova do anel) +++											

Tendo deixado o Hospital em 22-6-45, voltou em 7-5-46. A reação de fixação do complemento feita novamente foi fortemente positiva com 0,05 do sôro. As reações de aglutinação e precipitina deram os seguintes resultados :

QUADRO XV

DOENTE J. P. A.

DATA DA RETIRADA DO SANGUE	TÍTULO DO SORO	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$
16-6-46		++++	++++	+++	++	-	-
Reação de precipitina (prova do anel) -							
2-8-46.....		++++	++++	+++	++	-	-
Reação de precipitina (prova do anel) -							

Praticado o xenodiagnostico, este deu resultado positivo.

Passamos agora a relatar o segundo caso de *Trypanosomiasis americana* em que foi ensaiada a vacinoterapia.

N. I., sexo feminino, branca, residente em Bambuí.

Entrou no Hospital Evandro Chagas em 9-8-44 tendo saído em 3-11-44.

Em 23-7-44, ao despertar sentiu dor um pouco abaixo da palpebra inferior, direita, tendo à tarde desse mesmo dia notado a região edemaciada, de côr vermelha arroxeadada, com pequeno ponto escuro na parte central.

Em 26-8-44 o edema aumentou, trazendo com isso o fechamento das palpebras. Febre de 40 graus, tendo sido feito, então, o diagnóstico de erisipela da face.

Alguns dias mais tarde, indo ao posto do Instituto Oswaldo Cruz, em Bambuí, foi encontrado o *S. cruzi* no sangue.

Em 9-8-44 deu entrada no Hospital Evandro Chagas, com infiltração discreta no rosto, nos membros inferiores e antebraço; ganglios pré-auricular e do angulo da mandibula direita aumentados e um pouco dolorosos; ganglios cervicais epitrocleanos e inguinais ligeiramente aumentados; baço aumentado; primeira bulha mitral impura, taquicardia.

Dia 8-9-44 foi feito o xeno que deu resultado positivo.

Dia 14-9-44 inicia o tratamento pela vacina e no período compreendido desta data até 2-11-44 recebeu 16 doses por via muscular totalizando 142,5 miligramas de massa úmida de parasita.

Na decorrer desse espaço de tempo foram feitos 3 xenos, um em 25-9-44, que foi positivo, e os outros dois em 10-10-44 e 26-10-44, ambos negativos.

No dia 3-11-44 teve alta. Todas as manifestações morbidas apresentadas no momento da entrada no serviço e no decorrer do tempo em que esteve internada (Esplenomegalia) desapareceram com excepção da impureza da primeira bulha mitral.

Damos abaixo os resultados das reacções de aglutinação e precipitina realizadas antes do tratamento, no decorrer do tratamento e depois.

## QUADRO XVI

DOENTE N. L.

DATA DA RETIRADA DO SANGUE	TÍTULO DO SORO	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$	$\frac{1}{5120}$	$\frac{1}{10240}$	$\frac{1}{20480}$
11-8-44.....		+++	+++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	—
Reação de precipitina (prova do anel) ++++											
4-10-44		+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
Reação de precipitina (prova do anel) —											
26-10-44		++++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
Reação de precipitina (prova do anel) ++											
22-12-44		+++	++++	++++	+++	+++	++	—	—	—	—
Reação de precipitina (prova do anel) ++											

## CONCLUSÕES

A série de experiências por nós realizadas, utilizando Rhesus e indivíduos portadores da *Trypanosomiasis americana*, com o fim de verificar a ação profilática e curativa de suspensões de formas de cultivo do *S. cruzi* feitas em soro fisiológico contendo mertiolato na proporção de 1/10000, demonstraram:

a) que inoculações prévias dessa suspensão em doses equivalentes a 24 e 48 miligramas de massa úmida de parasita por animal, não foram suficientes para proteger Rhesus (118, 176 e 119, Quadros I, II e III) contra a infecção pelo *S. cruzi* provocada por deposição na conjuntiva, de fézes de *Triatoma* ricas em metacíclicos; operação essa realizada 12 dias depois dos animais terem recebido a última dose vacinante.

b) que o estado de imunidade conferido pela vacinação a esses animais, evidenciado pelo teor de aglutininas no soro (Quadro II) não modificou o período prepatente levando em conta aquele que foi observado no animal testemunha (Quadro III).

c) que o tratamento pela vacina realizado em 5 Rhesus, previamente infectados pela conjuntiva, não impediu que 4 deles viessem a morrer como os animais testemunhas, dentro de períodos que variaram entre 29 e 80 dias (Quadros V a XI) com o exame histo-patológico positivo para o parasita. É que o único animal tratado pela vacina que permanece ainda vivo (Rhesus 767), continua infectado (reações de imunidade e xeno), decorridos 1 ano e 8 meses do início da experiência.

d) que a inoculação da vacina no período prepatente ou logo no início do período "patente", não teve influência sobre a duração deste último, comparado com aquele observado na testemunha (Quadros VIII, V e X).

e) que o emprego da vacina no período "subpatente" não demonstrou maiores vantagens.

f) que as diferentes vias utilizadas para inoculação (intra-dermica, subcutânea, muscular e venosa) não interferiram sobre os resultados.

g) que a inoculação da vacina pôde determinar uma fase negativa, revelada por uma mais baixa concentração em aglutinina no soro de animais em tratamento, que a observada nos testemunhos. Com a suspensão do tratamento o teor de aglutinina tende a subir.

h) que a inoculação da suspensão em indivíduos isentos da infecção pelo *S. cruzi*, determina a formação de aglutininas em títulos variáveis na dependência da via de inoculação (Quadro IV).

i) que a vacinoterapia empregada em 2 casos de "*Molestia de Chagas*" (casos agudos passando para o estado crônico) não ocasionou a cura, pois um dos doentes (J.P.A.), cerca de um ano depois do tratamento apresentava não só o xeno como as reações de imunidade (fixação e aglutinação) ainda positivos, e o outro (N.L.) observado 3 meses depois do tratamento, continuava infectado.

## CONCLUSIONS

In a series of experiments carried out by us, using Rhesus and human carriers of *Thypanosomiasis americana*, with the end in view of ascertaining the prophylactic and curative actions os *S. cruzi* culture forms in physiological solute containing a 1/10000 proportion of merthiolate, it was demonstrated:

a) That previous inoculations of this suspension in doses equivalent to 24 and 48 milligrammes of a humid mass of parasites per animal, were not sufficient to protect the Rhesus (118, 176 and 119, tables I, II and III) against *S. cruzi* infection by depositing triatoma feces rich in metacyclics, in the conjunctiva. This operation was performed 12 days after the animals had received the last vaccine dose.

b) That the immunity imparted to these animals by vaccination, evidenced by the agglutinin contents in the serum (table II), did not alter the prepatent period, taking into account what was observed in the control animal (table III).

c) That the vaccine treatment performed in 5 Rhesus previously infected through the conjunctiva, did not prevent four of them from dying, as well as the control animals, within periods varying between 29 and 80 days (tables V to XI), with a positive histo-pathological examination for the parasite. And that the only vaccine-treated animal that is still alive (Rhesus 767) continues infected (xeno and immunity reactions), 20 months after the beginning of the experiment.

d) That vaccine inoculation in the prepatent period, or right at the commencement of the patent period, had no influence upon the duration of the latter period, in comparison with that observed in the control animal (tables VIII, V and X).

e) That the use of vaccine in the subpatent period demonstrated no better results.

f) That the different ways used for inoculation (intradermal, subcutaneous, muscular and venous) did not interfere with the results.

g) That vaccine inoculation may determine a negative phase, revealed by means of a lower agglutinin concentration in the serum of animals undergoing treatment, than that observed in the control animals. With the cessation of the treatment the agglutinin contents tend to increase.

h) That the inoculation of the suspension in individuals free from infection by *S. cruzi* determined the formation of agglutinins in varying titers, depending upon the means of inoculation (table IV).

i) That the vaccino-therapy used in two cases of Chagas' Disease (acute cases becoming chronic) did not produce a cure, since one of the patients (J. P.A.) showed, about one year after the treatment, xeno and immunity (fixation and agglutination) reactions still positive, and the other (N.L.), examined three months after the treatment, was still infected.