

INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS ENTRE DOADORES DE UM BANCO DE SANGUE DO RECIFE. *

Donald Huggins **, Durval T. Lucena ***, Anacleto de Carvalho **** e Benjamim Figueirêdo. *****

Os autores, efetuando um inquérito sorológico baseado na reação de Guerreiro-Machado para o diagnóstico da doença de Chagas em 136 candidatos não selecionados a doadores do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe., Brasil, encontraram seis (4,41%) com reações positivas.

A transfusão de sangue ou de seus derivados representa um valioso recurso terapêutico, muito embora diversas infecções possam ser transmitidas, tais como febre recorrente, sífilis, malária, hepatite por vírus, febre tifóide, sarampo, toxoplasmose, varíola, septicemias, brucelose, doença de Chagas etc. Em nosso meio, assume particular importância a doença de Chagas como infecção capaz de ser transmissível pela transfusão de sangue. Sendo endêmica em várias áreas do Estado, com incidência relativamente alta, pode-se deduzir que a doença de Chagas representa um grave problema médico e de Saúde Pública. Lucena (25), realizando um estudo epidemiológico, encontrou a seguinte distribuição da parasitose (Tabela anexa)

Esta pesquisa veio demonstrar o grande perigo que correm os receptores de sangue em nossos hospitais, tanto do interior como da Capital, principalmente estes últimos, pois para Recife tem afluído enorme contingente de indivíduos do interior do Estado em busca de melhores condições sócio-econômicas e que poderão tornar-se doadores voluntários ou profissionais.

Por outro lado, sabemos que a maioria dos Bancos de Sangue não executam rigorosa triagem clínica e laboratorial nos candidatos a doadores de sangue; na verdade, as transfusões diretas representam perigoso veículo para inoculação de *Trypanosoma cruzi*, pois basta lembrarmos que geralmente nas transfusões injetam-se em média cerca de 250 a 500 ml de sangue, enquanto os animais inoculados para fins de diagnóstico, ou mesmo triatomíneos, infectam-se facilmente com pequenas quantidades de sangue (0,05 a 1,0 ml). Sullivan (43) observou que o *Trypanosoma cruzi* pode manter-se viável e multiplicar-se no sangue citratado de cobaia infectado experimentalmente, mesmo mantido à temperatura ambiente durante 257 dias. Entretanto, o protozoário é capaz de ser destruído quando submetido a elevações moderadas da temperatura. Paprocki (34) notou a destruição em 3 horas das formas sanguícolas do *Trypanosoma cruzi* quando mantidas "in vitro" a 41-41,5°C; ao contrário o *Trypanosoma cruzi* pode suportar temperaturas baixas de 6°C durante 21 dias (30) ou de -70°C durante 8 meses (44), e no sangue centrifugado durante 15

(*) Instituto de Medicina Tropical da F.M.U.F.Pe., Recife, Pernambuco, Brasil.

(**) Prof. Assistente do Instituto de Medicina Tropical.

(***) Prof. Adjunto de Parasitologia da F.M.U.F.Pe.

(****) Chefe do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe.

(*****) Acadêmico estagiário do Instituto de Medicina Tropical.

T A B E L A

Litoral-Mata	1.314 exames	192 positivos (14,6 %)
Agreste	1.544 "	234 " (15,1 %)
Sertão	409 "	60 " (14,67%)
Total	3.267 "	486 " (14,8 %)

minutos a uma rotação de 3.000 por minuto. Donde conclui-se que a infecção chagásica representa um perigo potencial, podendo ser transmitida tanto por transfusão de sangue conservado à temperatura ambiente ou a baixas temperaturas (-70°C), como também pela transfusão de plasma.

A presente investigação compreende os resultados de um inquérito sorológico efetuado com a reação de Guerreiro-Machado (22) para o diagnóstico da doença de Chagas entre candidatos a doadores de sangue do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe., Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O nosso material consta de 136 indivíduos não selecionados que se apresentaram como candidatos a doadores de sangue no Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe. no período compreendido entre 13 de junho a 11 de novembro de 1968. Dêstes, 127 pertenciam ao sexo masculino e 9 ao feminino; todos aparentemente gozavam boa saúde durante o exame clínico. Realizamos 136 reações de Guerreiro-Machado para o diagnóstico da doença de Chagas segundo a técnica de Muniz & Freitas (28), utilizando o antígeno metílico de Batista & Ramos. Os soros eram geralmente conservados em geladeira (4°C) até o momento do exame, freqüentemente realizado cerca de três a cinco dias após a colheita do material.

RESULTADOS

A reação de fixação do complemento para o diagnóstico da doença de Chagas realizada em 136 candidatos a doadores de sangue foi positiva em 6 (4,41%). (Quadro único). Cinco eram do sexo masculino e um do feminino e apenas um dêles compareceu para exame clínico, radiológico e parasitológico (xenodiagnóstico), não se encontrando nenhuma anormalidade, apesar de informar que já residiu em área

endêmica no Estado de Pernambuco (Cautende) e que já foi sugado por triatomíneos.

COMENTÁRIOS

Desde que Dias (15) chamou atenção para a possibilidade da transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue, o problema vem sendo abordado em todos os seus ângulos por diversos pesquisadores. Pellegrino & col (36) apresentaram os três primeiros casos da doença de Chagas comprovados sorologicamente pela reação de fixação do complemento em dois doadores e em um candidato a doador de sangue entre 179 doadores ou candidatos a doadores de sangue inscritos em Serviços de Transfusão de Belo Horizonte. Dois casos eram assintomáticos e um apresentava cardiopatia chagásica crônica com bloqueio do ramo direito do feixe de His. Faria & col. (16) verificaram no Banco de Sangue do Hospital Municipal de São Paulo cinco reações positivas (1%) em 500 doadores de sangue. Aconselharam como medidas profiláticas as seguintes normas: 1) — anamnese cuidadosa e exame clínico rigoroso nos doadores; 2) — realização sistemática da reação de Guerreiro-Machado (22) em todos os doadores e 3) — aproveitamento dos sangues cujas reações foram positivas, somente após 10 dias de armazenamento em geladeira e sob a forma de plasma congelado. Posteriormente, Faria (17), realizando nova revisão estatística no Banco de Sangue do mesmo Hospital, verificou que dos 2.223 doadores só foi possível realizar a reação de fixação do complemento para o diagnóstico da doença de Chagas em 92, encontrando sete positivas (7,6%). Os sangues foram conservados durante 10 dias a 4°C e após êste prazo, três sangues cujas reações foram positivas foram transfundidos a três pacientes e nenhum receptor manifestou qualquer sintoma ou sinal de doença de Chagas nos meses subsequen-

tes e a reação de Guerreiro-Machado mostrou-se negativa em todos com intervalo de vários meses. Passalacqua & col. (35), efetuando um inquérito sorológico por intermédio da R.F.C. para o diagnóstico da doença de Chagas em 536 candidatos a doadores do Banco de Sangue da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, encontraram 4,1% de reações positivas (22 doadores).

Biancalana & col. (8) através da R.F.C. para o diagnóstico da doença de Chagas executada em candidatos a doadores, não selecionados, nos Bancos de Sangue dos Hospitais São Francisco, de Ribeirão Preto, Beneficência Portuguesa, Santa Casa de Misericórdia de Santos, Santa Casa de

didatos a doadores de sangue aparentemente saudáveis. Não há, no entanto, especificação do número de indivíduos examinados. Castro & Uvo (11), durante quinze meses fizeram o joeiramento sorológico para a moléstia de Chagas nos doadores do interior e da Capital de São Paulo que procuraram o Banco de Sangue do Hospital São Luís Gonzaga (Jaçanã, São Paulo). Nos 327 doadores residentes na Capital, oito (2,4%) apresentaram reações positivas, enquanto dos 300 provenientes do interior do Estado, cinco (1,66%) apresentaram a reação de Guerreiro-Machado positiva. Amato Neto (3) relata que seis casos seguramente infectados pela transfusão de sangue. Todos os pacientes foram exaustivamente estu-

QUADRO

Reação de Guerreiro-Machado entre doadores do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe.

N.º de doadores	Reações positivas	Percentual
136	6	4,41%

Misericórdia de São José do Rio Preto e de Araguari, obtiveram taxas de positividade de 21%, 0%, 0%, 14,9% e de 19,1% em relação a 19, 28, 66, 134 e 225 candidatos, respectivamente. Almeida & Col. (2) obtiveram 5,4% de reações positivas em 786 candidatos examinados em um Banco de Sangue não especificado de São Paulo. Realizando a R.F.C. em 178 candidatos a doadores voluntários ou habituais do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U. São Paulo, Nussenzweig & col. (31) encontraram três reações positivas (1,7%) e sete duvidosas. Pereira da Silva & Lima (39) realizaram uma pesquisa entre 237 candidatos não selecionados a doadores no Banco de Sangue do Recife e encontraram 8 (3,6%) com R.F.C. positivas. Brofman (9), estudando a incidência da doença de Chagas no Norte do Paraná, referiu que na Santa Casa de Misericórdia de Londrina a reação de Guerreiro-Machado foi positiva em 7% dos can-

dados tanto no que diz respeito ao quadro clínico como laboratorial e parasitológico.

Pellegrino (38) de 1955 a 1958 teve a oportunidade de realizar a R.F.C. em 10.982 candidatos a doadores que se apresentaram a oito diferentes Bancos de Sangue de Belo Horizonte (Santa Casa de Misericórdia — 1.253, 11% de positividade; Hospital Vera Cruz — 1.869 candidatos, 7,8% com reações positivas; Banco de Sangue São Pedro e São Paulo — 1.721 candidatos, 5,3% de reações positivas; Hospital Felício Roxo — 3.010 candidatos, 3,9% de positividade; Hospital São Lucas — 201 candidatos, 6,7% com reações positivas; Banco de Sangue da Fac. Medicina — 2.723 candidatos, 8,4% com reações positivas; Hospital S. Francisco — 164 candidatos, 5,7% com reações positivas e Banco de Sangue da Fundação Benjamin Guimarães — 41 candidatos, 2,6% com reações positivas). Os resultados globais foram os seguintes:

reações positivas: 725; r. duvidosas, 208; o percentual de resultados positivos foi de 6,79%.

Freitas & Siqueira (20) durante o Congresso Internacional sobre doença de Chagas realizado no Rio de Janeiro, mostraram sua experiência a respeito do tema entre doadores de sangue da Cidade de Ribeirão Preto, tomados sem seleção, encontrando os seguintes resultados: em 3.055 candidatos a doadores do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas, 440 (14,4%) apresentaram reações positivas e em 6.405 candidatos a doadores examinados no Banco de Sangue do Hospital São Sebastião (Santa Casa de Misericórdia), 640 (10,8%) tiveram reações positivas. Jatene & Jacomo (23) realizaram a reação de Guerreiro Machado em 640 doadores não selecionados do Banco de Sangue Central de Uberaba, encontraram 96 positivas e que fornece o percentual bastante elevado de 15%. Mortez (27) foi o primeiro a realizar um inquérito sorológico para diagnóstico da doença de Chagas na Guanabara em 647 doadores do Banco de Sangue do Hospital dos Servidores do Estado, encontrando pequena incidência: 0,46%. Já Rodrigues da Silva & col. (41), praticando a R.F.C. com antígeno de *Trypanosoma cruzi* pela técnica qualitativa em 435 doadores do Banco de Sangue do Hospital Escola São Francisco de Assis, no Estado da Guanabara, encontraram índice de positividade bem mais elevado — 1,83% (oito reações positivas).

Mellone & col. (26) no Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da Fac. Medicina da Universidade de São Paulo mediante a R.F.C., encontraram 1,5% de positividade. Ferreira & col. (18) registraram em 756 candidatos a doadores do Banco de Sangue do Instituto de Hematologia "Artur Siqueira Cavalcanti" 14 reações de Guerreiro-Machado positivas (1,83%) e duas duvidosas (0,28%).

Amato Neto & col. (5) relataram mais um caso indubitável de transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Carneiro (10) publica o caso de um paciente portador de anemia hemolítica auto-imune secundária a doença de Hodgkin, no qual foram encontradas formas de *Trypanosoma cruzi* no sangue periférico após

uma das transfusões a que foi submetido. Alexandre (1) no Instituto Hemoterápico de Goiânia verificou dentre 1.474 candidatos a doadores, 162 reações de Guerreiro-Machado positivas (11%) e Oliveira & Cesari-Neto (33), em 97 candidatos a doadores não selecionados, encontraram 25 com reações positivas (25,8%). Coura & col. (12, 13) e Coura (14) efetuaram no Banco de Sangue Santa Catarina, instalado no Hospital Graffrée-Guinle e no Instituto de Hemoterapia Artur Siqueira Cavalcanti, no Estado da Guanabara, 4.595 R.F.C. para o diagnóstico da doença de Chagas pela técnica de Kolmer, utilizando antígeno "Cruzi". Verificaram em 58 casos a R.F.C. positiva, o que corresponde a uma positividade de 1,26%. Dos 43 doadores com R.F.C. positiva estudados clínica e laboratorialmente, apenas 9 apresentaram alterações clínicas e/ou ECG e radiológicas atribuíveis à parasitose, enquanto o xenodiagnóstico foi negativo em todos. Dos 24 pacientes que receberam transfusão de sangue de doadores com R.F.C. positiva, seis tiveram também reações positivas, um dos quais apresentou evidência de infecção aguda, com febre, e sinais de insuficiência cardíaca, aumento da área cardíaca, derrame pleural e alterações ECG (sinais de miocardite). Gonzaga & col. (21) executando a R.F.C. para o diagnóstico da doença de Chagas no Banco de Sangue Santa Catarina (Guanabara) em 25.508 doadores, encontraram 135 reações positivas (0,52%). Lima & col. (24) efetuaram a R.F.C. para o diagnóstico da doença de Chagas em 422 doadores do Banco de Sangue da Fac. Medicina da Univ. Federal do Ceará e em 808 doadores do Banco de Sangue da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, verificaram 14 reações positivas (5,2%) no primeiro e 36 (8,6%) no segundo.

Amato Neto & col. (7) relataram três novos casos de doença de Chagas transmitida pela transfusão de sangue e salientaram que esses acidentes decorreram da não observância das medidas preventivas básicas.

Santos & col. (42) examinaram os séros de 65 doadores de diversos Bancos de Sangue de Vitória do Espírito Santo, por intermédio da reação de Guerreiro-Machado, não sendo encontrados séros reativos. A maioria dos autores que lidam com o

problema recomendam, como medida profilática, a realização da reação de Guerreiro-Machado entre os candidatos a doadores de sangue. Essa medida, embora de grande valor, é de aplicação difícil na prática, pelas dificuldades relativas à reação em diversas oportunidades e, por outro lado, um número razoável de doadores teria de ser excluído. Por esses motivos, Nussenzweig & col. (29) iniciaram pesquisas experimentais no sentido de encontrarem uma substância que adicionada ao sangue "in vitro", tivesse efeito tripanosomicida, sem, no entanto, torná-lo impróprio para a transfusão. Inúmeros agentes químicos foram ensaiados e os melhores resultados foram conseguidos com corantes tri-fenil-metânicos, em particular a violeta de genciana numa concentração de ... 1:4.000, após um tempo de contacto com o sangue de 24 horas. Os autores verificaram que este corante não apresenta atividade hemolítica, nem efeitos tóxicos apreciáveis nesta concentração. Em 46 transfusões de 500 ml de sangue contendo 0,1 g da droga, não observaram quaisquer sinais ou sintomas de intolerância atribuíveis à substância. Recomendaram que, quando não fôr possível realizar-se a reação de Guerreiro-Machado (22) em candidatos a doadores suspeitos de estarem infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, seja a violeta de genciana adicionada ao sangue profilaticamente, na concentração de 1:4.000, devendo o tempo de contacto ser no mínimo de 24 horas. Em vista dos excelentes resultados obtidos, Nussenzweig & col. (32) adicionaram a violeta de genciana nas concentrações de 0,25 ou 0,50 g por litro, em frascos contendo sangue de doadores com reações de Guerreiro-Machado positivas. A transfusão efetuada em 18 pacientes não foi capaz de transmitir a infecção, após cuidadosos exames parasitológicos e sorológicos. Contribuição de apreciável valor sobre o assunto foi relatada por Amato Neto & Melone (4). Estes autores praticaram em paciente voluntário transfusão de sangue doado por um enfermo com a forma aguda da doença de Chagas, após prévia adição de violeta de genciana na concentração de 0,5 g por litro e após permanência de 48 horas em geladeira. Durante 90 dias foi o receptor investigado no sentido de ser detectada possível transmissão da parasitose. Assim, exames clínicos sucessivos não

mostraram quaisquer queixas ou alterações e reiteradas pesquisas parasitológicas e sorológicas foram negativas. Rezende & col. (40) abordaram sua experiência com o uso rotineiro de violeta de genciana na concentração de 1:4.000 em mistura com o sangue, como medida profilática no Banco de Sangue Geral de Goiânia para evitarem transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Em 32 meses de funcionamento do referido Banco de Sangue, foram realizadas 2.973 transfusões em 774 pacientes, não se constatando reações transfusionais atribuíveis à violeta de genciana e os pacientes que foram necropsiados por causas diversas, não encontraram impregnação dos tecidos, flebites ou outras alterações ligadas diretamente ao corante. Um doente durante seis meses recebeu cerca de 36.000 ml de sangue, em um total de 74 transfusões. A quantidade máxima transfundida de uma só vez no mesmo paciente foi de 4.000 ml, sem que se tenha observado qualquer efeito colateral tóxico do corante. O único caso de transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue observado naquele período foi o de um paciente que, por solicitação do hematologista, recebeu transfusão de sangue sem adição de violeta de genciana.

Apesar de ser uma medida profilática bastante eficiente, alguns hemoterapeutas não aceitam a introdução da violeta de genciana em adição ao sangue a ser transfundido. Para sanar esta dificuldade, Amato Neto & col. (6), em trabalho experimental realizado em camundongos, com cêpa altamente virulenta de *Trypanosoma cruzi*, verificaram que o plasma liofilizado destes animais injetado em outros animais da mesma espécie, era incapaz de transmitir a parasitose, ao contrário do grupo testemunho que recebeu plasma não submetido à técnica em questão. Julgaram os Autores que a liofilização do plasma representa recurso satisfatório para prevenir a transmissão da doença de Chagas em Bancos de Sangue.

A nossa atual investigação veio mostrar que o problema ainda é muito grave, pois o índice de positividade encontrado em doadores do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe. é bastante sugestivo da possibilidade de ocorrência de infecção chagásica postranfusal.

SUMMARY

In 136 donors from the Blood Bank of the Hospital das Clínicas da F.M.U.F.Pe., Brazil, a serological survey was carried out based on the complement fixation test for the diagnosis of Chaga's disease with *Trypanosoma cruzi* antigen, using qualitative technique (Muniz and Freitas, 1944). Six positive reactions (4.41%) were found

BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDRE, A. — Citado por REZENDE, J.M. & col. (40).
2. ALMEIDA, J.O., FREITAS, J.L.P., and BRANDÃO, M. — Complement fixation test with a triple antigen for syphilis, tuberculosis, leprosy or Chagas disease in blood banks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3:490-494, 1954.
3. AMATO NETO, V. — Contribuição ao conhecimento da forma aguda da doença de Chagas. Tese. Fac. Medicina Univ. São Paulo, 1958.
4. AMATO NETO, V., & MELLONE, O. — Estudo sobre a eficácia da violeta de genciana na profilaxia da transmissão da doença de Chagas em Bancos de Sangue: investigação em voluntário, receptor de sangue de caso agudo, ao qual foi adicionado o corante. *Hospital (Rio)*, 55:343-346, 1959.
5. AMATO NETO, V., MAGALDI, C. & BIANCHI, A. — Comprovação de mais um caso de transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. *Hospital (Rio)*, 64:123-130, 1963.
6. AMATO NETO, V. LEONHARDT, M. & SOUZA, H.B.W.T. — Liofilização do plasma: medida capaz de evitar a transmissão da doença de Chagas em Bancos de Sangue. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:122-124, 1966.
7. AMATO NETO, V., DOLES, J., RASSI, A., BORGES A.P., REZENDE, J.M. & GOMES M.C.O. — Relato de novos casos de transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 10: 46-51, 1968.
8. BIANCALANA, A., FREITAS, J.L.P., AMATO NETO, V., NUSSENZWEIG, V. & SONNTAG, R. — Investigação sorológica sobre doença de Chagas entre candidatas a doadores em Bancos de Sangue nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Hospital (Rio)*, 44:745-749, 1953.
9. BROFMAN, S. — Incidência da doença de Chagas no Norte do Paraná. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2:209-210, 1958.
10. CARNEIRO, R.I. — Achados anátomo-patológicos em um caso de anemia hemolítica adquirida. *Rev. Goiana Med.*, 10:29-41, 1964.
11. CASTRO, J.M. & UVO, D. — Incidência de moléstia de Chagas em doadores de sangue do Hospital São Luís Gonzaga, Jaçanã (S.P.). *Arq. Bras. Cardiol.*, 11:114-120, 1958.
13. COURA, J.R., NOGUEIRA, E.S. & RODRIGUES DA SILVA, J. — O problema da doença de Chagas no Estado da Guanabara. Investigação epidemiológica em três grupos populacionais do Estado. *Hospital (Rio)*, 69: 999-1007, 1966.
14. COURA, J.R. — Contribuição ao Estudo da Doença de Chagas no Estado da Guanabara. Tese. Fac. Medicina Univ. Federal do Rio de Janeiro, 1966.
15. DIAS, E. — Um ensaio de profilaxia da moléstia de Chagas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 116 pp., 1945.
16. FARIA, R., MELLO, N.R. & MURAT, L.G. — Contribuição para o estudo médico e social do doador de sangue. *Folia Clínica et Biológica*, 16:158-168, 1950.
17. FARIA, R. — Sífilis maleita, doença de Chagas e transfusão. *Folia Clínica et Biológica*, 17:113-117, 1951.
18. FERREIRA, L.F., COURA, J.R., NOGUEIRA, E.S., GALVÃO, F., LOPES, M.B.L. & RODRIGUES DA SILVA, J. — Inquérito sorológico sobre doença de Chagas em doadores de sangue do Instituto de Hematologia "Arthur Siqueira Cavalcante", do Estado da Guanabara. *Vida Médica*, 30:65-69, 1963.
19. FREITAS, J.L.P., BIANCALANA, A., AMATO NETO, V., NUSSENZWEIG, V., SONNTAG, R. & BARRETO, J.G. — Primeiras verificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. *Rev. Paul. Med.*, 40:36-40, 1952.

20. FREITAS, J.L.P., & SIQUEIRA, A.F. — Prevalência da infecção chagásica entre candidatos a doadores de sangue e outros grupos na cidade de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. In Resumos do Cong. Internacional sobre doença de Chagas, Rio de Janeiro. 5 a 11 de julho de 1959, pág. 20.
21. GONZAGA, A.L., ALBERNAZ, J.A. & ALVES, R.R. — Rotina sorológica para a doença de Chagas em Banco de Sangue. Apreciação de resultados na Guanabara de 25.508 reações de fixação do complemento. Arq. Bras. Med., 54:289-301, 1967.
22. GUERREIRO, C. & MACHADO, A. — Da reação de Fordet e Gençou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. Nota prévia. Brasil-Médico, 27:225-226, 1913.
23. JATENE, A. & JACOMO, R. — Doença de Chagas e transfusão de sangue. Rev. Goiana Med., 5:23-30, 1959.
24. LIMA, L.M.A., CAVALCANTE, A.B. & ARAUJO, J.M.L. — Estudo realizado em doadores de sangue com respeito à reação de fixação do complemento para doença de Chagas. Rev. Fac. Med. Univ. Fed. Ceará, 7:3-13, 1967.
25. LUCENA, D.T. — Epidemiologia da doença de Chagas em Pernambuco. IV. — A reação de Guerreiro Machado na determinação do nível endêmico. Rev. Brasil. Malariol. D. Trop., II:715-720, 1959.
26. MELLONE, O., AMATO NETO, V. & LOPES, A. — O problema da transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue no Hospital das Clínicas de São Paulo. Ann. Cong. Internacional sobre doença de Chagas, 3:893-897, 1962.
27. MORTEO, E.R. — Aspecto imunológico da doença de Chagas em doadores de sangue na Cidade do Rio de Janeiro. Tese. Farmácia e Odontologia do Estado do Rio de Janeiro, 61 pp., 1960.
28. MUNIZ, J. & FREITAS, G. — Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pela reação de imunidade. I — Estudo comparativo entre a reação de aglutinação e de fixação do complemento. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 41:303-333, 1944.
29. NUSSENZWEIG, V., SONNTAG, R., BIANCALANA, A., FREITAS, J.L.P., AMATO NETO, V. & KLOETZEL, J. — Ação de corantes tri-fenil-metânicos sobre o *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Emprêgo da violeta de gençiana na profilaxia da transmissão da moléstia de Chagas por transfusão de sangue. Hospital (Rio), 44:731-744, 1953.
30. NUSSENZWEIG, V., NUSSENZWEIG, R.S., FREITAS, J.L.P., AMATO NETO, V., BIANCALANA, A. & KLOETZEL, J. — Ação de agentes físicos e químicos sobre o *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Hospital (Rio), 45:589-599, 1954.
31. NUSSENZWEIG, V., AMATO NETO, V., FREITAS, J.L.P., NUSSENZWEIG, R.S. & BIANCALANA, A. — Moléstia de Chagas em Banco de Sangue. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med., São Paulo, 10:265-283, 1955.
32. NUSSENZWEIG, V., AMATO NETO, V. & MELLONE, O. — Novos dados sobre o emprêgo da violeta de gençiana na profilaxia da transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Hospital (Rio), 55:183-188, 1959.
33. OLIVEIRA, C. & CESARINO NETO, J.B. — Citado por REZENDE, J.M. & col. (40).
34. PAPROCKI, J. — Citado por PELLEGRINO, J. (36).
35. PASSALACQUA, C.S.P., AMATO NETO, V., KATZ, I. & DAMASCO, A. — Incidência da doença de Chagas entre candidatos a doadores de um Banco de Sangue de São Paulo. Inquérito sorológico. Hospital (Rio), 43:445-447, 1953.
36. PELLEGRINO, J. — Transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Rev. Bras. Med., 6:297-301, 1949.
37. PELLEGRINO, J., BORROTCHIN, M., LEITE, G. & BRENER, Z. — Inquérito sobre a doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 49:555-564, 1951.
38. PELLEGRINO, J. — Doença de Chagas e transfusão de sangue. Rev. Bras. Malariol. D. Trop., 2:697-706, 1959.
39. PEREIRA DA SILVA, L.M. & LIMA, D. — Pesquisa de infecção pelo *Trypanosoma cruzi* entre candidatos a doadores em Banco de Sangue de Recife-Pernambuco. Publ. Médicas, 27 (n.º 195): 23-25, 1956.
40. REZENDE, J.M., ZUPELLI, W. & BAFUTTO, M.G. — O problema da transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Emprêgo da violeta de gençiana como medida profilática. Rev. Goiana Med., 2:33-41, 1965.
41. RODRIGUES DA SILVA, J., COURA, J.R. & QUEIROZ, G. — Investigação sobre a doença de Chagas no Estado da Guanabara. Inquérito sorológico entre doadores de sangue e doentes de ambulatório. Arq. Bras. Med., 51:35-38, 1961.

42. SANTOS, U.M., MURAD, V. & RIOS, W. — Pesquisa de chagásicos em doadores de sangue em Vitória, Espírito Santo. IV Congresso Sociedade Brasileira Medicina Tropical, Recife, 18 a 21 de fevereiro de 1968.
43. SULLIVAN, T.D. — Viability of *Trypanosoma cruzi* in citrated blood stored at room temperature. J. Parasitology, 30(3):200, 1944.
44. WEINMAN, D. & McALLISTER, J. — Prolonged storage of human pathogenic protozoa with conservation of virulence. Am. J. Hyg., 45:102-121. 1947.