

REACCION DE GUERREIRO-MACHADO

Estudio en 1010 personas procedentes de diversos departamentos del Perú *

EDGARDO CUBAS, ALBERTO CORNEJO DONAYRE, ALFREDO BERROCAL
ROLANDO GÓMEZ y JULIA CORNEJO

A pesar que la reacción de Guerreiro-Machado se conoce desde 1913 (1), ésta no se empleó en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en el Perú hasta 1946, en que fue aplicada en una sola oportunidad, obteniendo resultados negativos (2); posteriormente fue empleada a partir del año 1955 (3, 4, 5). Los casos diagnosticados antes del uso de este método serológico, se basaron en el hallazgo del agente etiológico por examen directo y el xenodiagnóstico.

Los 45 casos que constituía la casuística peruana hasta 1955 (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14), se vieron incrementados de manera notable con la aplicación de la reacción de fijación del complemento, y hasta 1959, tal incremento significó más del 300% (3, 4, 5, 15); se debió también, a que la aplicación del método serológico permitió incluir mayor número de personas en cada encuesta y al hecho innegable de la diseminación de la enfermedad.

Las reacciones serológicas efectuadas antes de 1959, fueron realizadas en el Departamento de Parasitología de la Universidad de Chile, por gentil colaboración del profesor Amador Neghme, porque en nuestro país no se contaba con antígeno ni facilidades necesarias de laboratorio.

En 1959, iniciamos la preparación de antígeno de extracto acuoso total de *Trypanosoma cruzi* (formas de cultivo en medio Senekjic) a

* Trabajo efectuado en los laboratorios de las Asignaturas de Medicina Tropical y de Parasitología. Presentado en el Primer Congreso Nacional de Microbiología y Parasitología, realizado en Arequipa del 8 al 12 de Octubre de 1964.

partir de cepas peruanas aisladas de personas y de *Triatoma infestans* (16) y la aplicación sistemática de la reacción de Guerreiro-Machado en todas las encuestas por nosotros efectuadas, siguiendo el método del 50% de hemólisis de Bozicevich y col., que es el utilizado en la Universidad de Chile (17, 18).

En el presente trabajo, informamos el resultado de 1010 reacciones de fijación del complemento realizadas a igual número de sujetos, de los que más del 50% residían en Lima, pero habían nacido en otros departamentos del Perú y habían sido enviados a nuestro laboratorio por clínicos, cardiólogos, gastroenterólogos y radiólogos, debido a que consideraron la enfermedad de Chagas entre sus posibilidades diagnósticas. El resto correspondía a una encuesta efectuada en los centros poblados de Moquegua y Samegua del departamento de Moquegua, que son zonas conocidas por su elevada incidencia en Trypanosomiasis Americana.

MATERIAL Y METODOS

Hemos preparado antígeno de *Trypanosoma cruzi* con magníficas propiedades, es decir, con 100% de poder fijador del complemento frente a anticuerpos específicos, 0% de actividad anticomplementaria, inespecífica y hemolítica. Aplicamos la reacción de Guerreiro-Machado según el método del 50% de hemólisis de Bozicevich y obtuvimos resultados comparables a los del Instituto Oswaldo Cruz, pues, remitimos 11 muestras de suero de igual número de personas a este Instituto, entre las que se incluyó muestras positivas y negativas, que, según informe del Dr. Julio Muñoz, Jefe de la División para Endemias del referido Instituto, dieron resultados iguales a los obtenidos por nosotros.

Se practicó la R. F. C. en 1010 sujetos, de los que 710 eran hombres y 300 mujeres. El de menor edad tenía 4 años y el mayor 89 (Cuadro N° 1). Del total, 63 eran menores de 9 años; 332, de 10 a 19 años; 143, de 20 a 29 años; 131, de 30 a 39; 154, de 40 a 49; 101, de 50 a 59 y 86, de 60 y más años (Cuadro N° 2).

El total de sujetos estudiados, los hemos clasificado en dos grupos; el primero, comprende 551 residentes de Lima, de los que 69 habían nacido en este departamento, 474 en otros departamentos del Perú que incluyen zonas chagásicas de los departamentos de Tacna, Moquegua, Arequipa, San Martín, y 8 eran de nacionalidad extranjera; todos, habían sido seleccionados sobre la base de sus antecedentes epidemiológicos en relación a la enfermedad de Chagas. En este primer grupo, 484 eran varones y 67 mujeres. Según su edad, 7 de ellos eran menores de 9 años; 212, de 10 a 19 años; 71, de 20 a 29 años; 75, de 30 a 39

años; 84, de 40 a 49 años; 53, de 50 a 59 años y 49, mayores de 60 años (Cuadros N° 1 y 2).

El segundo grupo, incluye 459 sujetos no seleccionados y estudiados en una encuesta realizada en dos localidades del departamento de Moquegua (Samegua y Moquegua), ambas zonas endémicas en enfermedad de Chagas. De este grupo, 404 nacieron en el departamento de Moquegua; 53, en otros departamentos y dos en países extranjeros, pero todos tenían más de un año de permanencia en estos centros poblados. Entre los 459 sujetos, 226 eran del sexo masculino y 233 del femenino, siendo clasificados según su edad de la siguiente manera: menores de 9 años, 56; de 10 a 19, 120; de 20 a 29, 72; de 30 a 39, 56; de 40 a 49, 70; de 50 a 59, 48 y de 60 y más años, 37. (Cuadros N° 1 y 2).

RESULTADOS OBTENIDOS

De los 1010 sujetos en quienes se realizó la reacción de Guerreiro-Machado, se obtuvo 98 con serología positiva; 20, sospechosa y 31 con resultado anticomplementario, representando el 9.70%, 1.98% y 3.07% respectivamente.

Entre los positivos hubo 61 hombres, es decir 8.59% y 37 mujeres o sea 12.33% (Cuadro N° 1).

Considerando los resultados según grupos de edad, tenemos que: en el grupo de 0 a 9 años, hubo 4 (6.35%) positivos; en el de 10 a 19, 15 (4.52%); 11 (7.69%), en el de 20 a 29 años; 12 (9.16%), en el de 30 a 39 años; en el grupo de 40 a 49, hubo 21 (13.64%); 14 (13.86%) entre los 50 a 59 años y 21 (24.42%) entre los que tenían más de 60 años. (Cuadro N° 2).

Teniendo en cuenta los resultados según grupos en que hemos dividido los sujetos estudiados, tenemos que entre los residentes de Lima (551), se encontró 34 (6.17%) con serología positiva; 1 (0.18%), sospechosa y 7 (1.27%), anticomplementaria. Entre los positivos hubo 26 (5.37%) varones y 8 (11.94%) mujeres. (Cuadro N° 1). Según grupos de edad, se encontró mayor incidencia en los tres últimos, así, 7 (14.29%) casos positivos entre los mayores de 60 años; 6 (11.32%), entre los 50 a 59 años y 8 (9.52%), entre los 40 a 49 años (Cuadro N° 2).

De 459 reacciones serológicas aplicadas a igual número de residentes de Samegua y Moquegua, 64 (13.94%) dieron resultado positivo; 19 (4.14%), sospechoso y 24 (5.23%) anticomplementario; asimismo, entre los sujetos positivos de este grupo, hubo 35 (15.49%) varones y 29 (12.45%) mujeres (Cuadro N° 1). Se encontró también,

CUADRO N° 1

REACCION DE GUERREIRO-MACHADO EN 1010 RESIDENTES DE LIMA Y DE MOQUEGUA

RESIDENTES DE LIMA Y DE MOQUEGUA 1963																											
RESIDENTES DE LIMA						RESIDENTES DE MOQUEGUA																					
Susp.	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	Anti- compl. %																
M	710	61	8.59	621	87.46	11	1.55	17	2.39	484	26	5.37	452	93.39	1	0.21	5	1.03	226	35	15.49	169	74.78	10	4.42	12	5.31
F	300	37	12.33	240	80.00	9	3.00	14	4.67	67	8	11.94	57	85.07	0	-	2	2.99	233	29	12.45	183	78.54	9	3.86	12	5.15
TOTAL	1010	98	9.70	861	85.25	20	1.98	31	3.07	551	34	6.17	509	92.38	1	0.18	7	1.27	459	64	13.94	352	76.69	19	4.14	24	5.23

CUADRO N° 2

REACCION DE GUERREIRO-MACHADO EN 1010 RESIDENTES DE LIMA Y DE MOQUEGUA POR GRUPOS DE EDAD

RESULTADO DEL TOTAL DE REACCIONES EFECTUADAS												RESIDENTES DE LIMA												RESIDENTES DE MOQUEGUA											
Grupos de edad	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %	No de exa- mi- nados	Posit. %	Neg. %	Sosp. %	Anti- compl. %					
Me- ses de 9 años	63	4	6.35	53	84.13	3	4.76	3	4.76	3	4.76	3	4.76	3	4.76	0	-	0	-	0	-	56	4	7.14	46	82.14	3	5.36	3	5.36					
10-19	332	15	4.52	305	91.87	7	2.11	5	1.50	7	2.11	3	1.42	206	97.17	1	0.47	2	0.94	120	12	10.00	99	82.50	6	5.00	3	2.50							
20-29	143	11	7.69	129	90.21	0	-	3	2.10	71	6	9.45	65	91.55	0	-	0	-	0	-	72	5	6.94	64	88.89	0	-	3	4.17						
30-39	131	12	9.16	110	83.97	4	3.05	5	3.82	75	4	5.33	70	93.33	0	-	1	1.13	56	8	14.29	40	71.43	4	7.14	4	7.14								
40-49	134	21	13.64	124	80.52	3	1.95	6	3.89	84	8	9.52	75	89.29	0	-	1	1.15	70	13	18.57	49	70.00	3	4.29	5	7.14								
50-59	101	14	13.86	84	83.17	0	-	3	2.97	53	6	11.32	46	86.79	0	-	1	1.89	48	8	16.67	38	79.16	0	-	2	4.17								
60 y más	86	21	24.42	56	65.12	3	3.49	6	6.97	49	7	14.29	40	81.63	0	-	2	4.08	37	14	37.84	16	43.25	3	8.10	4	10.81								
TOTAL	1010	98	9.70	861	85.25	20	1.98	31	3.07	551	34	6.17	509	92.38	1	0.18	7	1.27	459	64	13.94	352	76.69	19	4.14	24	5.23								

mayor incidencia en los tres últimos grupos de edad: 14 (37.84%) casos positivos entre los mayores de 60 años; 8 (16.67%) entre los 50 y 59 años y 13 (18.57%) entre los 40 y 49 años de edad.

Considerando los lugares donde posiblemente adquirieron la enfermedad, para lo que hemos tenido en cuenta el lugar de nacimiento, procedencia y lugares de residencia anterior; encontramos que, entre los residentes de Lima, había 6 personas procedentes de zonas chagásicas del departamento de Arequipa que tenían serología positiva; 10, de Moquegua; 8, de Tacna; 4, de San Martín y 1, de país extranjero (Chile). Pocos casos positivos eran de departamentos donde hasta la fecha no se han señalado casos de enfermedad de Chagas, así, 2 procedían del departamento de Cajamarca, 2 de Loreto y 1 de la Libertad (Cuadro N° 3).

CUADRO N° 3
REACCION DE GUERREIRO-MACHADO EN 551 RESIDENTES DE
LIMA AGRUPADOS SEGUN SU PROCEDENCIA

Departamento	N° de examinados	Posit.	Neg.	Sosp.	Anticompl.
Tumbes	4	0	4	0	0
Piura	70	0	69	1	0
Lambayeque	8	0	8	0	0
Cajamarca	38	2	36	0	0
La Libertad	12	1	11	0	0
Ancash	9	0	9	0	0
Lima	69	0	68	0	1
Ica	38	0	38	0	0
Huánuco	7	0	7	0	0
Pasco	3	0	3	0	0
Junín	7	0	7	0	0
Huancavelica	2	0	2	0	0
Ayacucho	16	0	14	0	2
Cuzco	6	0	6	0	0
Apurímac	8	0	8	0	0
Puno	4	0	4	0	0
Arequipa	94	6	88	0	2
Moquegua	27	10	17	0	0
Tacna	49	8	40	0	1
Amazonas	29	0	29	0	0
San Martín	32	4	27	0	1
Loreto	11	2	9	0	0
CHILE (país)	8	1	7	0	0
TOTAL	551	34	509	1	7

COMENTARIO

Considerando que cerca del 50% de los sujetos estudiados en este trabajo, proceden de zonas donde no se había señalado la presencia de enfermedad de Chagas, el hallazgo de 9.70% de casos positivos, demuestra su elevada incidencia en nuestro país y su importancia como problema de Salud Pública, ya que continúa extendiéndose según lo demuestra el diagnóstico de casos autóctonos y la presencia de vectores en departamentos donde no se conocía la existencia de la *Trypanosomiasis Americana* (16, 19, 20, 21, 22, 23).

Comparando los resultados en sujetos del sexo masculino y femenino, se aprecia que hay mayor incidencia en este último, y, si tenemos en cuenta la falta de tratamiento eficaz para esta enfermedad, así como el haber encontrado 12.33% de mujeres infectadas por *Trypanosoma cruzi*, existe la posibilidad de transmisión de madres a hijos, ya sea por vía transplacentaria (24), absorción de líquido amniótico (25) o por lactancia materna (26), lo que contribuirá a que continúe diseminándose, como se ha demostrado por la presencia de casos congénitos en otros países (27, 28, 29, 30).

Hemos encontrado mayor incidencia de la enfermedad en los siguientes grupos de edad: de 60 y más años, 24.42%; sigue el grupo de 50 a 59 años, 13.84%; de 40 a 49 años, 13.64% y en el de 30 a 39 años, 9.16%. Estos resultados tienen relación con la cronicidad de la enfermedad, ya que entre los estudiados no hubo casos agudos, siendo general que la fase aguda se inicie en los primeros 15 años de edad, la que, generalmente, pasa desapercibida por tener sintomatología no característica y fugaz; además, en los otros grupos, se incluye gran número de sujetos procedentes de zonas donde no se ha señalado la presencia de la enfermedad de Chagas.

Teniendo en cuenta el probable lugar donde adquirieron la infección, los resultados señalan mayor incidencia en los departamentos donde hay zonas endémicas de enfermedad de Chagas, tales como Tacna, Moquegua, Arequipa, San Martín, que han sido objeto de múltiples estudios, habiéndose señalado resultados similares a los obtenidos por nosotros (3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 31). Dos sujetos procedentes del departamento de Cajamarca tenían serología positiva y uno de ellos además xenodiagnóstico positivo. Un caso procedía de San Pedro de Lloc, departamento de La Libertad, se trata de un lugar próximo al río Jequetepeque donde se ha señalado la presencia de *Panstrongylus*

chinai (21). Dos personas con R. F. C. positiva, procedían del departamento de Loreto, una de la provincia de Yurimaguas y la otra de la provincia de Loreto, en ambos lugares no se han realizado estudios sobre esta enfermedad. De 7 personas nacidas en Chile, una presentó serología positiva; se trata de un sujeto de sexo masculino, de 67 años, nacido en Iquique (Chile) y que nunca había residido en zonas chagásicas del Perú.

Entre los residentes de la ciudad de Lima, se encontró 34 sujetos con R. F. C. positiva, 6.17%; un sospechoso, 0.18% y 7 con resultado anticomplementario, 1.27%. A 15 de los que tenían serología positiva (13 hombres y 2 mujeres), se les practicó xenodiagnóstico, resultando 7 positivos (6 hombres y una mujer); estas personas tenían *Trypanosoma cruzi* en sangre circulante a pesar de residir muchos años en Lima y, probablemente, han constituido fuente de diseminación, en especial, un hombre adulto joven que por tener sangre Rh negativa es constantemente solicitado como donante. Repetidos xenodiagnósticos practicados en este grupo resultaron positivos.

De los 459 sujetos estudiados en Moquegua, 64 (13.94%) tenían R. F. C. positiva, 19 (4.14%) sospechosa y 24 (5.23%) anticomplementaria; en este grupo, sólo a 448 se les sometió a la prueba del xenodiagnóstico, resultando 29 sujetos positivos, es decir 6.47%, entre los que 25 tenían serología positiva, 3 sospechosa y 1 resultado anticomplementario.

En ninguno de los dos grupos estudiados obtuvimos xenodiagnóstico positivo con serología negativa, pero sí lo inverso.

Comparando los resultados serológicos con los del xenodiagnóstico, se observa la bondad del primer método sobre el segundo, tal como se ha demostrado en trabajos similares efectuados en otros países de América. Consideramos que el empleo de la reacción de Guerreiro-Machado, por su sensibilidad y especificidad debe ser aplicada en los trabajos de encuesta ya que por su gran utilidad en los casos crónicos y asintomáticos, nos permiten evaluar la incidencia de la enfermedad de Chagas.

Es importante señalar que más del 50% de las reacciones realizadas, son de sujetos enviados por clínicos y especialistas, principalmente por cardiólogos, lo que indica el interés del cuerpo médico nacional por conocer mejor la patología e incidencia de la Trypanosomiasis Americana.

Debemos señalar también, la importancia de que en los centros de investigación se apliquen iguales métodos para diagnóstico. Esto se es-

tá realizando en el Departamento de Parasitología de la Universidad de Chile, en la Facultad de Medicina de San Fernando de Lima y probablemente en la Facultad de Medicina de Arequipa; en estos centros de investigación se efectúa la reacción de fijación del complemento y la preparación de antígeno de *Trypanosoma cruzi*, empleando métodos iguales. Si continuamos por este camino llegaremos a uniformar métodos y podremos comparar los resultados de las diversas encuestas que se realicen en nuestro país.

SUMARIO

Se ha practicado la reacción de Guerreiro-Machado en 1010 sueros correspondientes a igual número de personas, siguiendo la técnica del 50% de Hemólisis de Bozicevich y empleando antígeno de extracto acuoso total de *T. cruzi* (formas de cultivo en medio Senekjic) preparado a partir de cepas peruanas aisladas de personas y de *Triatoma infestans*.

En el grupo estudiado, se incluye 551 residentes de Lima que habían tenido prolongada residencia anterior en otros departamentos y 459 residentes de Samegua y Moquegua, localidades conocidas por su elevada endemicidad en enfermedad de Chagas.

De 1010 reacciones realizadas, se encontró, 98 (9.70%) positivas, 20 (1.98%) sospechosas y 31 (3.07%) anticomplementarias. La mayor incidencia fue en el sexo femenino, 12.33%, y, en los siguientes grupos de edad: de 60 y más años, 24.42%; de 50 a 59 años, 13.86%; de 40 a 49 años, 13.64% y de 30 a 39 años, 9.16% de casos positivos.

De 551 residentes de Lima, 34 (6.17%), presentaron serología positiva; 1 (0.18%), sospechosa y 7 (1.27%), anticomplementaria. A 15 de los 34 sujetos positivos, se le practicó xenodiagnóstico, resultando 7 positivos.

De 459 R. F. C. realizadas en residentes del departamento de Moquegua, se obtuvo, 64 (13.94%) positivas, 19 (4.14%) sospechosas y 24 (5.23%) anticomplementarias. En este grupo con R.F.C., se practicó 448 xenodiagnósticos a igual número de personas, encontrándose 29 positivos (6.47%).

Entre los 34 positivos residentes de Lima, 6 habían tenido varios años de residencia anterior en zonas chagásicas del departamento de Arequipa, 10 en Moquegua, 8 en Tacna, 4 en San Martín, 2 en Cajamarca, 2 en Loreto, 1 en La Libertad y 1 en Iquique (Chile).

Más del 50% de los 1010 sujetos estudiados fueron remitidos por clínicos y especialistas, por haber considerado la enfermedad de Chagas entre sus posibilidades diagnósticas.

De los 98 casos positivos señalados en el presente trabajo, 95 han sido comunicados en publicaciones anteriores (16, 20, 32, 33) y tres informados por primera vez. Los tres nuevos casos, son sujetos residentes de Lima, uno de ellos había tenido residencia anterior en zonas chagásicas de Arequipa, el segundo en Moquegua y el tercero en San Martín.

Es de esperar que en el futuro; se uniformen los métodos de diagnóstico en las encuestas para investigar la presencia de Trypanosomiasis Americana, y así conocer la incidencia de esta enfermedad en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a todos los médicos que en una u otra forma, han colaborado con nosotros para la realización del presente trabajo: de manera especial al señor Decano de la Facultad de Medicina de San Fernando, a los profesores del Departamento de Parasitología de la Universidad de Chile, Drs. Amador Neghme y Feliza Knierim y al Dr. Julio Muñiz del Instituto Oswaldo Cruz.

Dejamos constancia de nuestro agradecimiento a los profesores de la Cátedra de Medicina Tropical de la Facultad de Medicina de San Fernando, Drs. Hugo Pesce y Manuel Cuadra C.

BIBLIOGRAFIA

1. Guerreiro, C., y Machado, A., 1913. Da reacao de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. *Brasil Méd.*, 27 (23): 225-226.
2. Ayulo, V. M., 1946. Estudio sobre Trypanosomiasis Americana en el Perú. Observaciones en el Departamento de Ica. *Rev. Méd. Exp., Lima*, 5: 21-35.
3. Náquira, F., y Náquira, N., 1955. Contribución al estudio de la Enfermedad de Chagas. Encuesta epidemiológica en el Sur del Perú (Prov. Tarata, Dpto. Tacna). (Localidades: Putina, Chipispaya, Londoniza). *Bol. Chileno Parasit.*, 10: 29-31.
4. Náquira, F., y Náquira, N., 1957. Contribución al estudio de la Enfermedad de Chagas. II. Nuevas investigaciones epidemiológicas en el Sur del Perú. *Bol. Chileno Parasit.*, 12: 46-50.
5. Montesinos, J., Náquira, C., Ordóñez, J., Paredes, O., Rojas, V., Rondón, Sevillano, G., Vargas, J., y Tejada, A., 1957. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el Valle de Sihuas, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa, 1956. Informe preliminar. Comunicación

- al Primer Congreso Americano de Estudiantes de Medicina. Lima, Agosto de 1957.
6. Escomel, E., 1919. La trypanosomias humaine existe dans les forêts orientales du Pérou. *Bull. Soc. Pat. Exot.*, 12: 723-726.
 7. Escomel, E., 1920. Comprobación clínica y microscópica de la existencia en el Perú de la Trypanosomiasis Americana. *An. Fac. Med.*, Lima, 15: 14-17.
 8. Ayulo, V. M., y Herrero, A., 1944. Estudios sobre Trypanosomiasis en el Perú. I. Observaciones en el Departamento de Arequipa. *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 3 (5): 96-117.
 9. Cornejo-Donayre, A., y Lumbreras, C., 1951. Encuesta epidemiológica sobre la enfermedad de Chagas en el Valle de Majes. Presentación de diez nuevos casos *Arch. Per. Patol. Clín.*, Lima, 5: 79-106.
 10. García-C., U., 1951. Contribución al estudio de la patología endémica de los valles del extremo de la costa peruana. La Enfermedad de Chagas en el Valle de Moquegua. *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 9: 227-243.
 11. Lazo-Taboada, F., y García-Durand, L., 1953. Un caso de enfermedad de Chagas en el Departamento de Arequipa. *Rev. Méd. Arequipeña*, 4: 4-7.
 12. Herrero, A., 1955. Trypanosomiasis Americana en el Perú. II. Repercusión del D. D. T. en la incidencia de la enfermedad de Chagas en algunos valles de la región sudoccidental. *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 9: 38-43.
 13. Herrero, A., y Morales, J., 1955. Trypanosomiasis Americana en el Perú. VI. Verificación de la enfermedad de Chagas en la cuenca del Marañón. *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 9: 83-91.
 14. Lumbreras, H., Arrarte, J., y Guevara, B., 1955. Primeros casos de enfermedad de Chagas en el departamento de San Martín. *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 26: 42-47.
 15. Herrero, A., 1956. Observaciones sobre la enfermedad de Chagas en la provincia de Moyobamba (Departamento de San Martín). *Rev. Méd. Exp.*, Lima, 10: 59-73.
 16. Cubas-Núñez, E., 1963. Reacción de Guerreiro-Machado en 472 residentes de Lima con residencia anterior en otros Departamentos. Preparación del antígeno y método del 50% de Hemólisis de Bozicevich. Tesis de Bachiller en Medicina. Lima, Fac. Med. San Fernando, U. N. M. S. M.
 17. Bozicevich, J., Hoyen, H., and Walston, V. M., 1946. A method of conducting the 50% Hemolysis and point complement-fixation for parasitic diseases. *Pub. Health Rep.*, 61: 529-534.
 18. Knierim, F., 1958. Técnica de la reacción de fijación del complemento según el 50% de hemólisis de Bozicevich aplicada al diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Bol. Chileno Parasit.*, 13 (4): 75-78.
 19. Tejada, A., 1962. Cuatro casos humanos de Enfermedad de Chagas en dos localidades de la provincia de Jaén (Cajamarca) diagnosticados por gota gruesa. *Arch. Per. Pat. Clín.*, Lima, 16: 159-166.
 20. Cornejo-Donayre, A., Berrocal, A., and Cubas-Núñez, E., 1962. Chagas

- Disease in Lima, Perú. Am. Jour. Trop. Med. and Hyg., 11 (5): 610-612.
21. Morales-A., F., 1961. Contribución al conocimiento de la distribución geográfica de *Panstrongylus chinai* (Del Pontc, 1929) (Pinto, 1931), en el Norte del Perú. Arch. Per. Pat. Clín., Lima, 15: 159-164.
 22. Lumbreras, H., 1960. Ueber das vorkommen der Reduviiden *Eratryrus mucronatus* Stal, 1859, und *Rhodnius ecuadoriensis* Lent & León, 1958, in Perú eine erneute Beschreibung dieser Arten. Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie, 11 (2): 213-222.
 23. Llanos- Z., B., 1961. Hallazgo en el Perú del *Rhodnius ecuadoriensis*, Lent & León, 1958, naturalmente infectado por el *Trypanosoma cruzi*. Nota preliminar. Arch. Per. Pat. Clín., Lima, 15: 133-136.
 24. Lisboa-Achilea, C., 1960. Sobre la forma congénita Da Doença de Chagas. Estudio anátomo-patológico de 6 casos. Rev. Inst. Méd. Trop. Sao Paulo, 2 (6): 319-334.
 25. Nattan-Larrier, L., 1921. Hérité des infections expérimentales á *Sch. cruzi*. Bull. Soc. Path. Ex., 14 (4): 232-238.
 26. Mazza-S., S., Montaña, A., Benites, C., y Janzi, E. Z., 1936. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi*, al niño por la leche de la madre con enfermedad de Chagas. M. E. P. R. A., pub., 28: 41-46.
 27. Romaña, C., Vasvari, J., y Rothe, A., 1953. Probable caso de enfermedad de Chagas. An. Inst. Med. Reg., 3: 241-244.
 28. Howard, J., Ríos, C., Ebenspenger, I., y Olivos, P., 1957. Enfermedad de Chagas congénita. Bol. Chileno Parasit., 16: 42-45
 29. Rubio, M., Galecio, R., y Howard, J., 1961. Dos casos de enfermedad de Chagas congénita. Bol. Chileno Parasit., 16: 15-18.
 30. Atías, A., Rubio, M., Lolic, M., y Valenzuela, R., 1961. Un nuevo caso de enfermedad de Chagas congénita. Bol. Chileno Parasit., 16: 42-44.
 31. Náquira, F., Córdova, E., Náquira, C., y Rubin de Celis, E., 1961. Investigaciones sobre enfermedad de Chagas en el Perú. Estudio epidemiológico en el valle de Tambo (Distrito de Matalaque, Departamento de Moquegua). II Aplicación de xenodiagnóstico y fijación del complemento. 1959. Bol. Chileno Parasit., 3: 57-59.
 32. Cornejo-Donayre, A., Berrocal, A., Cubas-Núñez, E., 1963. Casos de Enfermedad de Chagas diagnosticados en Lima. An. Fac. Med., Lima, 46 (1): 57-65.
 33. Cornejo-Donayre, A., Cubas-Núñez, E., Eyzaguirre, G., Domínguez, P., Bitrich, H., Gómez-C., R., y Cornejo-S., J., 1963. Enfermedad de Chagas en el Sur del Perú. An. Fac. Med., Lima, 46 (4): 587-612.