



COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

Publicação

CNEN - IEA - N.º 6

**SOBREVIDA DOS ERITROCITOS DE SANGUES TRATADOS  
COM VIOLETA DE GENCIANA**

*VICTÓRIO MASPES, RÔMULO R. PIERONI, OSWALDO MELLONE*



INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA  
Publicação

SÃO PAULO

IEA - 32



**C. N. E. N.**

Presidente — Almirante Octacilio Cunha

**C. N. Pq.**

Presidente — Prof. Dr. João Christovão Cardoso

**U. S. P.**

Reitor — Prof. Dr. Antonio Barros de Ulhôa Cintra

**I. E. A.**

Diretor — Prof. Dr. Marcello Damy de Souza Santos

**I.<sup>a</sup> C. M.**

Catedrático — Prof. Dr. Antonio Barros Ulhôa Cintra

**SOBREVIDA DOS ERITROCITOS DE SANGUES TRATADOS  
COM VIOLETA DE GENCIANA**

*VICTÓRIO MASPES, RÓMULO R. PIERONI  
e OSWALDO MELLONE*

1 9 5 9

*Os conceitos emitidos na presente publicação representam opiniões de seus autores, e são de sua exclusiva responsabilidade*

*A Comissão Nacional de Energia Nuclear não se responsabiliza pela exatidão, originalidade ou utilidade das informações contidas no presente relatório, e tampouco garante que o uso de qualquer informação, método, processo ou aparelho divulgados ou descritos no presente trabalho não possam infringir direitos de outrem.*

## SOBREVIDA DOS ERITROCITOS DE SANGUES TRATADOS COM VIOLETA DE GENCIANA<sup>o</sup>

Victório Maspes\*  
Rômulo R. Pieroni\*\*

Oswaldo Mellone\*\*\*

### 1 — Introdução

1 — Em 1952, Pedreira de Freitas e cols.<sup>1o</sup> comprovaram, pela primeira vez, a transmissão da moléstia de Chagas pela transfusão de sangue. A partir dessa época foram realizados estudos e tomadas medidas no sentido de ser evitada essa grave complicação pós-transfusional. A primeira medida adotada foi a de se realizar uma seleção entre os doadores, por meio de anamnese rigorosa dos candidatos à doação de sangue e, quando possível, pela realização da reação Machado-Guerreiro. Esta reação, praticada inicialmente nos Bancos de Sangue desta Capital<sup>2o</sup>, deu resultados positivos em percentagem que oscilava de 1,7 a 2,7%. Em zonas em que a moléstia é endêmica, as reações positivas atingiram percentagens impressionantes, indo a 19,1% e mesmo 21,1% dos indivíduos examinados. Estes resultados evidenciaram ser a transfusão de sangue perigoso veículo de disseminação dessa tripanozomíase.

2 — A conservação do sangue a ser transfundido, em geladeira, mostrou-se absolutamente inócua para o parasita, contrariamente ao que acontece no caso da sífilis e da malária. O parasita sobrevive além

<sup>o</sup> Trabalho da DRB do IEA e do Serviço de Hematologia da I.B. C.M. (Professor A. B. Uihôa Cintra) da F. M. da U. S. P.

\* Assistente do Serviço de Hematologia (Chefe: Dr. M. A. Jamra) e da DRB do IEA.

\*\* Chefe da Div. de Radiobiologia do Instituto de Energia Atômica.

\*\*\* Chefe do Serviço de Transfusão do Hospital das Clínicas da F. M. da U.S.P.

do prazo de utilização do sangue, resistindo inclusive, ao congelamento do plasma.

3 — Para resolver o problema, Nussensweig e cols.<sup>11</sup> procuraram obter a esterilização do sangue contaminado pelo *Tripanozoma Cruzi*, empregando agentes químicos. Depois de inúmeras experiências chegaram à conclusão de que, a Violeta de Genciana, adicionada ao sangue vinte e quatro horas antes da transfusão, protegia o receptor. O corante é empregado na proporção de 0,5% em soro glicosado, usando-se 5 ml. da solução para cada 100 ml. de sangue de modo a atingir-se a concentração final de 1: 4000, no volume total.

4 — Considerando as dificuldades da realização sistemática da reação Machado-Guerreiro e as suas possíveis falhas em fases contagiantes da enfermidade, a Violeta de Genciana passou a ser usada em alguns Bancos de Sangue de zonas endêmicas (como Uberaba, Uberlândia-Estado de Minas Gerais), chegando mesmo, o seu uso, a ser aconselhado pelo Departamento de Hematologia e Hemoterapia da Associação Paulista de Medicina, entre as conclusões do Simpósio sobre a Moléstia de Chagas em Bancos de Sangue, realizado em outubro de 1957.

5 — Embora demonstrada a inocuidade do corante, o seu uso tem encontrado certa resistência, primeiro pela coloração arroxeadada que empresta ao sangue e segundo, porque levantou-se a hipótese de ser o corante, nocivo aos eritrócitos, comprometendo a sua viabilidade no organismo do receptor. Por essa razão resolvemos estudar a sobrevivência dos eritrócitos após vinte e quatro horas de contato com a solução de Violeta de Genciana, na concentração final de 1:4 000, estabelecida como necessária para a esterilização do sangue contaminado.

## II — Material e método

1 — Foram utilizados seis voluntários, quatro homens e duas mulheres.

2 — A fim de afastar a mais remota interferência de agressão dos eritrócitos injetados, por mecanismo imunológico, resolvemos estudar a viabilidade das hemácias na circulação do próprio voluntário.

3 — De cada voluntário colheu-se 16 ml. de sangue, em 4 ml. de solução ACD, contendo já a Violeta de Genciana em quantidade necessária para se ter a concentração final de 1:4 000. Após vinte e quatro horas de contato com o corante, em geladeira (4.º C), o sangue foi marcado com Cr-51 (usando-se radiocromato de sódio), segundo a técnica de Cooper e Owen<sup>12</sup> ligeiramente modificada e a seguir re-injetado no doador corres-

pondente. Detalhes da técnica de marcação e da determinação da sobrevivência, são relatados no item seguinte.

### III — Marcação e determinação da sobrevida

1 — Mollison e Veall<sup>8</sup>, Cooper e Owen<sup>2</sup>, preconizam o uso de um ACD mais ácido (pH de 5 a 5,5) do que o comum, quando se pretende marcar hemácias, pois, segundo demonstram, a marcação é favorecida. Contudo, como pretendíamos nos aproximar tanto quanto possível das condições existentes nos Bancos de Sangue, preferimos usar o ACD comum.

2 — O sangue a ser auto-transfundido, após permanecer vinte e quatro horas em geladeira (e com Violeta de Genciana), era incubado com 80 a 100 microcuries de radiocromato de sódio Cr-51, durante 30 minutos, à temperatura ambiente. A seguir, adicionava-se cêrca de 50 a 100 mg. de ácido ascórbico, com o fito de reduzir o cromato, tornando-o incapaz de marcar novas hemácias<sup>2, 3</sup>. O procedimento que adotamos de “marcar” as hemácias imediatamente antes de reinjetá-las difere do que tem sido empregado por outros autores, como Gibson e cols.<sup>5</sup>, que têm empregado o Cr-51 para determinar a viabilidade de hemácias conservadas em geladeira, realizando a marcação antes da refrigeração.

3 — O sangue, assim tratado, era reinjetado por via endovenosa no voluntário do qual procedia. Vinte e quatro horas após, colhia-se a primeira amostra. Com intervalos de 3 a 4 dias eram colhidas mais seis ou sete amostras, cada vez retirando-se de 4 a 5 ml de sangue. Imediatamente após a colheita, transferia-se 3 ml de sangue para um tubo de “contagem” (tubo plástico com rolha de mesmo material), onde o volume era levado a 4 ml, com água, para hemólise completa (para homogeneização).

4 — A “contagem” das amostras correspondentes a cada caso foi feita num mesmo dia, para contornar a necessidade de correção do decaimento radioativo do Cr-51 e da variação das características do sistema de detecção. Empregamos um conjunto contador com cristal de cintilação provido de “poço”.

5 — Os dados obtidos foram tratados de diferentes formas. Exporemos primeiro, o procedimento inicial e os resultados encontrados. A seguir indicaremos alternativas tentadas posteriormente:

5.1 — Com o fito de facilitar a representação gráfica, calculou-se a relação entre as contagens líquidas obtidas com as amos-

tras sucessivas e a primeira (a de vinte e quatro horas) e, os resultados multiplicados por cem (contagens relativas) foram representados em papel semi-logarítmico, em função do tempo. Pela posição média dos pontos traçava-se uma reta (a reta que “melhor” se ajustava aos pontos experimentais). A “meia-vida Cr-51”  $T_c$ , foi determinada achando-se o tempo findo o qual a contagem relativa caía a 50 por cento. Essa “meia-vida Cr-51” serviu de ponto de partida para o cálculo da “meia-vida” ou “meia-vida corrigida”  $T_c$  e da “vida média” (“sobrevida média”)  $T$  das hemácias, assumindo-se que tanto o desaparecimento dos glóbulos marcados como a saída (eluição) de cromo das hemácias são fenômenos que se processam segundo lei exponencial, o que aliás já estava implícito no tratamento inicial dos dados.

5.1.1 — Cálculo de  $T_c$  e de  $T$ — Seja  $k = 1/T$  a “constante de destruição” ou de “morte” das hemácias. Admitindo que a destruição destas segue uma lei exponencial (o que equivale a supôr que a morte dos glóbulos ocorre ao “acaso”), tem-se,  $T_c = 0,693 \cdot T$ , onde 0,693 é o logaritmo natural de 2. Indiquemos com  $n_{0h}$  e  $n_h$  o total de hemácias marcadas presentes no volume de sangue que vai ser “contado”, respectivamente, na amostra correspondente ao instante inicial e ao instante  $t$ . Chamemos de  $n_0$  e  $n$  o total de átomos de Cr-51 presentes em cada hemácia, nesses mesmos instantes: quando as amostras são colhidas, teremos, nos volumes a serem “contados”  $N_0 = n_{0h} \cdot n_0$  e  $N = n_h \cdot n$  átomos de Cr-51, respectivamente. Como há eluição do cromo, no decorrer do tempo o número de átomos radioativos em cada hemácia vai diminuir através de dois processos— o decaimento radioativo e a eluição. Indiquemos com  $k_1 = 0,693/T_c$  a “constante de eluição” ( $T_c$  é o tempo de “meia-eluição”). Admitindo que todo o Cr-51 resultante da eluição e da destruição das hemácias é retirado rapidamente da circulação e não marca novos glóbulos (o que é satisfatoriamente verificado experimentalmente), podemos escrever <sup>13</sup> para  $N$ ,

$$N = N_0 \cdot e^{-(k_2 \cdot t)} \cdot e^{-(k_1 + k)t} \quad (1)$$

onde, separamos o fator correspondente ao decaimento radioativo do Cr-51 ( $e^{-k_2 \cdot t}$ );  $k_2$  é a constante de desintegração deste radionuclídeo. Notemos que depois de colhidas as amostras, a diminuição da atividade das mesmas correrá por conta, unicamente, do decaimento radioativo. As contagens sendo feitas numa mesma data, o fator  $e^{-k_2 \cdot t}$  é o mesmo para tôdas as amostras. Chamando de  $R$  a relação entre as “contagens por minuto” (que são proporcionais ao número de átomos presentes) das amostras sucessivas e a primeira, multiplicada por 100, tem-se,

$$R = 100 \cdot e^{-(k_1 + k)t} \quad (2)$$

R igual a 100 corresponde à contagem da primeira amostra, para a qual tomamos  $t = 0$ . A (2) dá uma reta quando a representação é feita em papel semi-logarítmico. Para relacionar a meia-vida Cr-51 com  $k_1$  e  $k$ , basta na (2) fazer  $R = 50$  e procurar o valor de  $t$  correspondente: este será o  $T_{cr}$  procurado. Tem-se,

$$50 = 100 \cdot e^{-(k_1+k)T_{cr}}$$

$$\frac{1}{2} = e^{-(k_1+k)T_{cr}}$$

Tomando o logarítmico natural,

$$-\log 2 = -(k_1+k) T_{cr}$$

$$0,693 = (k_1 + k) T_{cr}$$

Substituindo as constantes  $k_1$  e  $k$  em função de  $T_c$  e  $T_{cr}$ , respectivamente, resulta,

$$\frac{0,693}{T_{cr}} = \frac{0,693}{T_c} + \frac{0,693}{T_c}$$

isto é,

$$T_c = T_{cr} \cdot T_c / (T_c - T_{cr}) \quad (3)$$

A "vida média" das hemácias marcadas será dada por,

$$T = T_c / 0,693 = 1,443 \cdot T_c \quad (4)$$

O tempo de meia eluição varia de 45 a 90 dias <sup>45-89</sup>. Assumimos, de início,  $T_c$  como igual a 60 dias. Os resultados encontrados estão representados no quadro I. Para se ter uma idéia da influência do tempo de meia-eluição indicamos no quadro II os valores que resultam para a vida média das hemácias, em cada caso, assumindo êsse tempo como 45 e como 90 dias.

Quadro I

Voluntário	$T_{cr}$ dias	T dias
A.L.	21-25	48-62
I.P.	26	66
W.S.	30	87
A.B.	31	93
M.P.	27	71
O.M.	29,5	84

No primeiro caso (A.L.) indicamos dois resultados: a razão é a seguinte. Tratando-se de doador de sangue, por inadvertência, sofreu uma exanguinação de 500ml, setenta e duas horas após o início da prova; o primeiro resultado foi calculado considerando a amostra colhida antes da exanguinação e o segundo desprezando-a.

Quadro II

Voluntário	$T_{01}$	T calculado para	
		$T_{01} = 45$	$T_{01} = 90$
A.L.	25	81	50
I.P.	26	89	53
W.S.	30	130	65
A.B.	31	144	68
M.P.	27	97	56
O.M.	29,5	124	63

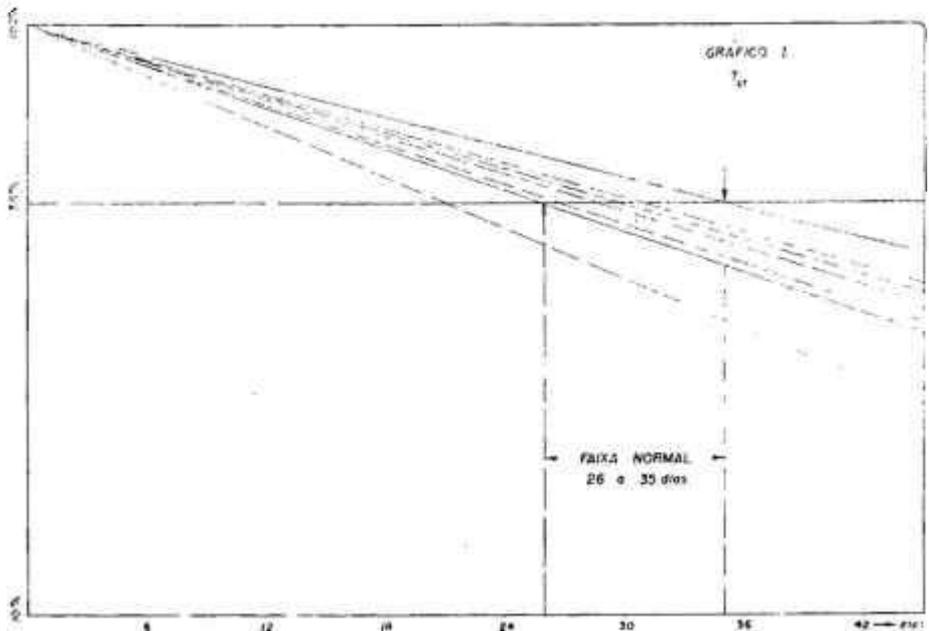


Fig. 1

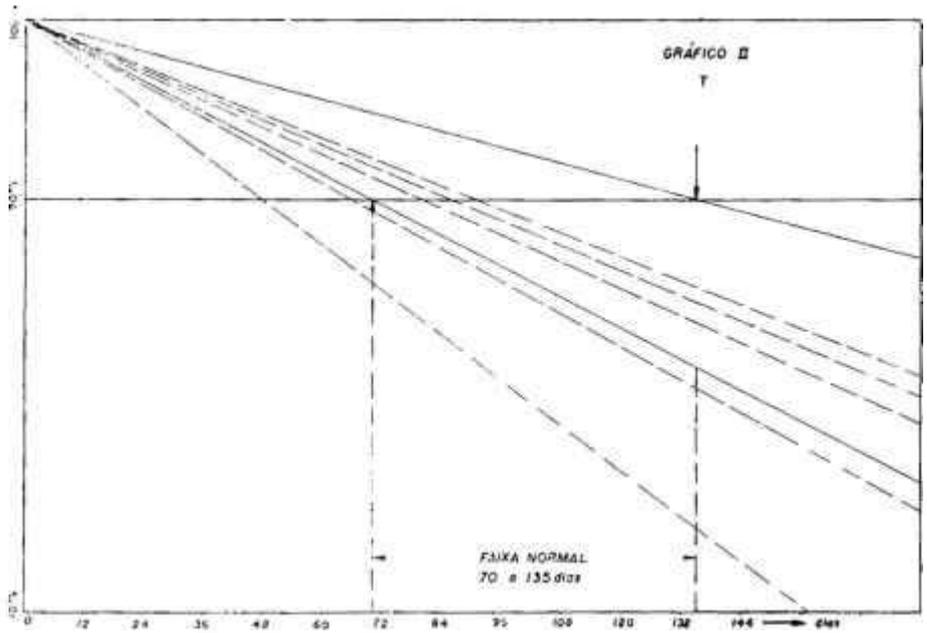


Fig. 2

5.1.2 — Nas figuras 1 e 2 representamos as retas obtidas segundo o procedimento indicado e normalizadas para  $t=0$  e  $R=100$ .

5.2 — A seguir procurou-se, por via analítica, encontrar a equação da exponencial que melhor se ajustava aos dados experimentais. Em lugar de tomarmos a (2) usamos a equação

$$c(t) = c_0 \cdot e^{-(k_1+k)t} \quad (5)$$

tomando como tempo zero a data da marcação e não a da colheita da primeira amostra. Em cada caso, determinamos  $c_0$  e  $(k_1+k) = K$ , pelo método dos mínimos quadrados, usando como estimativas os valores obtidos no procedimento anterior (gráfico). Devemos assinalar que, no caso, o método dos mínimos quadrados não permite obter  $k$  e  $k_1$ , separadamente: Só nos dá  $k_1+k$ . No quadro III estão os valores encontrados para  $c_0$ ,  $K$  e  $T_{cr}$ .

Quadro III

Voluntário	$c_0$	K	$T_c$
A.L.	16 740	0,0275	25,2
I.P.	15 340	0,027	25,7
W.S.	10 350	0,0233	29,8
A.B.	16 390	0,022	31,5
M.P.	30 760	0,024	28,9
O.M.	22 170	0,023	30,1

Obviamente, para se ter T, em base aos resultados acima, basta recorrer à (3) e a (4), atribuindo um valor plausível a  $T_c$  (60 dias, por exemplo). De um modo geral, o novo procedimento, não conduziu a resultados muito diversos dos achados pelo método gráfico.

5.3 — Posteriormente, assumindo que as hemácias marcadas eram de indivíduos normais e que **não foram alteradas** pelo contato com a Violeta de Genciana, procurou-se representar as contagens das amostras sucessivas (realizadas numa mesma data, “contadas” durante um mesmo tempo e em aliquotas iguais), pela equação

$$c(t) = c_0(1 - t/T) \cdot e^{-k_1 t} \quad (6)$$

que na hipótese seria aplicável.<sup>13</sup> A (6) contém três constantes,  $c_0$ , T e  $k_1$ . A determinação dessas constantes, em cada caso, foi feita “ajustando-se” a (6) aos resultados experimentais, pelo método dos mínimos quadrados. Os valores obtidos para as mesmas, indicaram, claramente, que a (6) não representava satisfatoriamente, a evolução das contagens das amostras sucessivas, com o tempo. Apenas a título de ilustração, indicamos no Quadro IV os valores calculados para  $c_0$ , T,  $k_1$  e  $T_c$ : a ocorrência de valores negativos para a vida média e de valores demasiadamente baixos para  $T_c$ , dizem da inadequacidade da (6), o que também foi constatado recorrendo-se aos testes usuais para verificação da qualidade do ajuste. Se os valores encontrados para T fossem plausíveis, os resultados baixos

Quadro IV

Voluntário	T	$c_0$	$k_1$	$T_c$
A.L.	— 22,2	16 981	0,084	8,3
I.P.	222	15 857	0,023	30,1
W.S.	170	9 943	0,045	15,4
A.B.	— 16	16 730	0,024	28,8
M.P.	330	31 035	0,025	27,7
O.M.	27	21 479	0,027	25,7

obtidos para  $T_0$  (ou altos para  $k_1$ ), indicariam que as hemácias tratadas com Violeta de Genciana haviam sofrido alterações tais que o organismo as “agredia”, mas intrinsecamente conservariam características “normais”. A constante  $k_1$  deveria ser, então, interpretada como soma da constante de agressão com a de eluição.

5.4 — Os resultados acima levaram-nos a procurar representar os dados pela equação seguinte, válida quando há um fator intrínseco e um extrínseco concorrendo para a morte das hemácias<sup>1</sup>,

$$c(t) = c_0(1-L_s \cdot t) (1-L_e \cdot t) \cdot e^{-k_1 t} \quad (7)$$

onde  $L_s$  e  $L_e$  estão relacionados com a vida média  $T$ , pela expressão

$$T = (3L_s - L_e) / 6 L_s^2 \quad (8)$$

5.4.1 — O exame dos valores obtidos para as constantes da (7), pelo método dos mínimos quadrados, revelaram a inadequacidade da mesma para representá-los, convenientemente.

#### IV — Discussão

1 — A “faixa normal” para a vida média das hemácias determinada com o emprego do radiocromato de sódio, vai de 70 a 135 dias, segundo dados da literatura e nossa própria experiência, em indivíduos normais, cujo sangue não foi tratado pela Violeta de Genciana. E’ ela um pouco mais larga do que a que se tem quando do emprego do método de Ashby<sup>2</sup>. O que concorre para aumentar a “largura” da faixa de normalidade é o fato de  $T_0$  ser variável, de indivíduo para indivíduo e se lhe atribuir um valor arbitrário (ao menos quando se usa uma expressão exponencial simples, como fizemos em 5.1 — e 5.2 —). Por essa razão, muitos autores preferem determinar apenas  $T_0$ , indo a faixa normal, então, de 26 a 35 dias.

2 — Admitindo que nossos dados eram convenientemente representados pela (2) ou pela (5), caíram dentro da “faixa normal” ou na região limitrofe. Contudo, devemos observar que não se distribuem “ao acaso” dentro dessa faixa, mas são mais frequentes na metade “inferior” da mesma.

3 — O fato de nossos resultados não serem bem representados, senão pela (2) ou pela (5) (que são equivalentes), nos leva a admitir que o uso

da Violeta da Genciana induziu alterações tais que depois de auto-transfundidas passaram a ser destruídas "ao acaso", independentemente da idade. Entretanto, as alterações induzidas pelo corante não são de maior significado, tendo-se em vista o que se objetiva com o uso do mesmo. Com efeito, o problema da transmissão da moléstia de Chagas pela transfusão é tão grave que mesmo se ocorresse uma redução de cinquenta por cento na sobrevivência das hemácias dos sangues tratados, o emprego do corante ainda seria recomendável. A situação é, porém, muito mais satisfatória<sup>7</sup>.

## V — Resumo e conclusões

1 — A transmissão da moléstia de Chagas pela transfusão de sangue, principalmente nas regiões em que a moléstia é endêmica, constitui um problema de tal gravidade que desde que foi verificada a ação da Violeta de Genciana seu uso se difundiu nos Bancos de Sangue e foi mesmo recomendado pelo Departamento de Hematologia e Hemoterapia da A.P.M.

2 — Restava em aberto o problema da viabilidade dos glóbulos vermelhos tratados com quantidade do corante suficiente para destruir o *Tripnozoma Cruzi* (1:4.000). Foi precisamente o que os AA objetivaram resolver, determinando a sobrevivência das hemácias depois de tratadas, por 24 horas, com Violeta de Genciana a 4° C. A técnica empregada foi a de "marcação" dos eritrócitos com Cr-51, usado sob a forma de cromato de sódio.

2.1 — Procurou-se ajustar diferentes tipos de equações aos dados experimentais. A importância em se saber a lei segundo a qual a destruição das hemácias, tratadas e marcadas, ocorre, reside nos fatos seguintes. Primeiro, sendo as hemácias de indivíduos "normais", qualquer afastamento em relação ao que se verifica quando hemácias normais são simplesmente marcadas e auto-transfundidas, permite inferir uma ação do corante sobre os eritrócitos. Segundo, o cálculo da sobrevivência média (vida média) depende da lei segundo a qual são destruídos os glóbulos.

2.2 — Verificou-se que a equação que melhor se ajusta aos dados é uma exponencial simples. Este fato indica que o corante altera as hemácias que passam a ser destruídas, pelo organismo do próprio doador, "ao acaso" independentemente da idade. Essa alteração, no entanto, não é de molde a contraindicar o uso do corante. Com efeito, os valores obtidos em seis voluntários (— no de A.L. deixando de lado a primeira

amostra —) vão de 62 a 93 dias para a sobrevida média. Tais valores caem na região inferior da faixa normal. Indiretamente, pode-se concluir, também, que outras características das hemácias, como resistência, etc., não são alteradas significativamente. Assim sendo, é aconselhável o uso indiscriminado da droga, na profilaxia da moléstia de Chagas, em Bancos de Sangue.

## VI — Agradecimentos

1 — Os autores agradecem às Srtas. Wilma S. Hehl e Rita Rea Henschel, da DRB do IEA, pela execução dos ajustes pelo método dos mínimos quadrados.

2 — Agradecem, também, à CNEN, que tornou esta publicação possível.

## VII — Referências

- 1 — Callender, S. T., Powell, E. O. and Witts, L. J. — Normal red-cell survival in men and women—*Jour. Path. & Bacteriol.* 53: 519-523, 1947
- 2 — Cooper, M. and Owen, C. A. — Labeling human erythrocytes with radiochromium — *J. Lab & Clin. Med.* 47: 65-71, 1956
- 3 — Donohue, D. M., Motulsky, A. G., Giblet, E. T., Pirzio-Biroli, G., Viranuvatti, V. and Finch, C. A. — The use of chromium as a red cell-tag—*Brit. J. Haematol.* 1: 249-263, 1955
- 4 — Eadie, G. S. and Brown, I. W. — The potential life-span and ultimate survival of fresh red blood-cells in normal healthy recipients as studied by simultaneous Cr-51 tagging and differential hemolysis — *J. Clin. Invest.* 34: 629-637, 1955
- 5 — Gibson, J. G. and Scheitlin, W. A. — A method employing radioactive chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage — *J. Lab. & Clin. Med.* 46: 679-688, 1955
- 6 — Maspes, V. — Sobrevida de eritrócitos — Modificação do método de Ashby—*Rev. Hosp. Clin.* 12: 208-215, 1952
- 7 — Maspes, V., Pieroni, R. R. y Mellone, O. — Supervivencia de los hematies de las sangres tratadas con Violeta de Genciana. Su importancia en la profilaxia de la enfermedad de Chagas transmitidas mediante transfusión — *Sangre.* 4: 45-50, 1959
- 8 — Millison, P. L. and Veall, N. — The use of isotope Cr-51 as a label for red cells—*Brit. J. Haematol.* 1: 62-74, 1955

- 9 — Necheles, T. F., Weinstein, I. M. and Le Roy, G. V. — Radioactive sodium chromate for the study of survival of red blood cells—*J. Lab. & Clin. Med.* **42**: 358-376, 1953
- 10 — Nussensweig, V., Amato, Neto, V., Pedreira de Freitas, J. L., Sonntag, R. e Biancalana, A. — Moléstia de Chagas em Bancos de Sangue — *Rev. Hosp. Clin.* **10**: 235-283, 1955
- 11 — Nussensweig, V., Sonntag, R., Pedreira de Freitas, J. L., Amato Neto, V. e Kloetzel, J. — Ação de corantes trietilmetânicos sobre o *Tripanozoma Cruzi*, in vitro — Emprêgo da Violeta de Genciana na profilaxia da transmissão da Moléstia de Chagas, por transfusão de sangue — *Hospital* — **44**: 731-744, 1953
- 12 — Pedreira de Freitas, J. L., Biancalana, A., Amato Neto, V., Nussensweig, V., Sonntag, R e Barreto, J. G. — Primeiras verificações de transmissão acidental da Moléstia de Chagas por transfusão de sangue — *Rev. Paulista de Med.* **40**: 36-49, 1952
- 13 — Pieroni, R. R. e Maspes, V. — Alguns aspectos do problema da determinação da vida média dos eritrócitos com o emprêgo do Cr-51 (radiocromato de sódio) — Em publicação —