

A PATOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL NO CÃO

ZILTON A. ANDRADE*
SONIA G. ANDRADE*

Cães jovens infectados pelo Trypanosoma cruzi desenvolveram a fase aguda da infecção e foram estudados durante o 7º até o 50º dia por métodos morfológicos, parasitológicos, imunológicos e eletrocardiográficos. Ocorreu intensa miocardite que se iniciava nos átrios e se propagava aos ventrículos e, quando plenamente desenvolvida, predominava no átrio direito, na metade direita do septo interventricular e na parede livre do ventrículo direito. As alterações eletrocardiográficas foram progressivas e revelavam o progressivo e predominante comprometimento atrial, mas a interferência com a propagação do estímulo (bloqueio) só apareceu nas fases terminais, coincidente com a presença de inflamação e necrose ao longo do tecido de condução. Quinze cães foram submetidos a tratamento específico e em alguns destes as modificações anátomo-patológicas e eletrocardiográficas representaram uma reversão progressiva das lesões observadas antes.

Dez animais evoluíram para a fase crônica indeterminada da infecção, três deles após tratamento, e foram acompanhados por períodos de oito meses a três anos, sem que nenhum desenvolvesse sinais de insuficiência cardíaca congestiva. As alterações eletrocardiográficas observadas nestes casos foram inespecíficas e algumas arritmias apareceram transitoriamente. No sistema excito-condutor foram encontradas lesões focais de fibrose, esclero-atrofia e infiltração adiposa, as quais foram interpretadas como seqüelas deixadas pela fase aguda. A miocardite encontrada foi focal e discreta.

Foi examinado para complementação o material de um caso de forma crônica cardíaca no cão, o qual exibiu miocardite difusa com fibrose focal e intersticial e sinais de atividade do processo inflamatório, além de bloqueio de ramo direito e hemibloqueio anterior esquerdo.

Assim, o modelo canino da doença de Chagas reproduz todas as fases da cardiopatia, tal como aparece no homem, sendo que as formas crônicas sintomáticas são de reprodução experimental imprevisível. O presente trabalho objetivou caracterizar os aspectos da patologia da doença de Chagas no cão, tentar as suas correlações eletrocardiográficas, os seus aspectos evolutivos, com a finalidade de fornecer elementos para estudos futuros com o referido modelo experimental.

* Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, 40000 – Salvador – Bahia.

Trabalho realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através dos auxílios: PDE 01 – 1 – 11 e PDE 01 – 1 – 12.

Recebido para publicação em 21 de maio de 1980.

A Organização Mundial de Saúde, através do seu Programa Especial em Doenças Tropicais, estabeleceu como uma das prioridades no estudo sobre a doença de Chagas a obtenção de um bom modelo experimental. Espera-se que tal modelo permita a investigação de aspectos fundamentais sobre o mecanismo de produção das lesões crônicas, bem como sobre as investigações em imunoprofilaxia e quimioterapia.

Existem bons modelos para o estudo da fase aguda da doença (Andrade & Andrade, 1979), mas a obtenção de uma fase crônica progressiva, após um período de latência mais ou menos longo, com produção de uma miocardite crônica difusa, com fibrose cardíaca intersticial difusa, cardiomegalia, arritmias, fenômenos trombo-embólicos, enfim, com as características da doença humana ainda necessita melhor comprovação.

Um modelo que parece promissor e que necessita ser cuidadosamente avaliado é o da doença de Chagas experimental no cão. Sobre este animal existem estudos básicos sobre a fisiologia cardíaca (Mirowski et al, 1970; Jones et al, 1978), sobre o eletrocardiograma (Bolton, 1975; Rosenbaum, Elizari & Lazzari, 1968) e sobre detalhes da estrutura cardíaca (Sherf & James, 1979; James, 1962; Lumb, Shacklett & Dawkins, 1958) que representam uma grande vantagem para a utilização do modelo. Por outro lado, a não existência de cães isogênicos representa uma limitação.

Nos últimos anos viemos estudando o modelo canino da doença de Chagas com o principal objetivo de investigar correlações eletrocardiográficas com a histopatologia cardíaca, especialmente ao nível do sistema excito-condutor do coração. Após termos inoculados 40 cães jovens, com desenvolvimento de uma fase aguda bem caracterizada em todos eles, pudemos observar um grupo de 10 cães, por períodos de oito meses até três anos de duração, com acompanhamento por métodos parasitológicos, sorológicos e eletrocardiográficos seriados. Nenhum destes últimos animais desenvolveu insuficiência cardíaca congestiva. As alterações eletrocardiográficas foram discretas e, com poucas exceções, estiveram dentro dos limites da normalidade. Chegamos à conclusão que estávamos diante da forma crônica indeterminada da doença de Chagas.

Esta forma não tem sido bem individualizada no cão, mas aparece junto à descrição de casos da forma crônica cardíaca, dificultando uma melhor apreciação do modelo. Por exemplo, Anselmi et al (1967) descrevem as alterações morfológicas e funcionais de 25 cães com infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi*, sem individualizar os únicos três exemplos em que foram observadas manifestações de insuficiência cardíaca congestiva. Todavia, levando-se em conta a existência destes últimos casos, que são semelhantes aos descritos no Brasil (Pellegrino, 1947; Laranja, Pellegrino & Dias, 1949; Laranja, 1953), pode-se concluir que o modelo canino reproduz, de fato, todas as fases da doença de Chagas tal como ocorre no homem. Assim, ele apresenta uma fase aguda e outra crônica da infecção, com as formas crônicas indeterminada (Johnson, 1938), cardíaca (Anselmi et al, 1967; Laranja, 1953) e até mesmo a digestiva (Koeberle, 1961; Okumura & Correa Neto, 1961).

Em vista do aspecto promissor do modelo canino resolvemos aqui tentar uma caracterização das várias apresentações da doença de Chagas no cão, com base na experiência adquirida em nossos estudos com tal modelo experimental nos últimos cinco anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta cães jovens, pertencentes a oito ninhadas, cujas idades variaram entre dois e cinco meses foram inoculados por via intraperitoneal com formas sanguíneas do *T. cruzi* obtidas de camundongo.

Um animal, que não foi inoculado, mas que permaneceu no canil ao lado dos animais infectados, acabou se infectando espontaneamente, o que foi comprovado por xenodiagnósticos e sorologia. Foi detectado já com a forma crônica indeterminada e foi também estudado com os outros. Além disso, sete cães não infectados foram considerados como controles para estudos eletrocardiográficos e para a melhor caracterização do sistema excito-condutor do coração.

As cepas do *T. cruzi* utilizadas para a inoculação foram as cepas 12SF (São Felipe-Bahia) (Andrade, 1974) e a Colombiana (Federici, Abelman & Neva, 1964). Os inóculos foram obtidos de sangue citratado de camundongo e foram utilizados nas doses de 400.000 a 600.000 parasitos por quilo de peso.

Todos os animais foram submetidos a estudos eletrocardiográficos repetidos após anestesia superficial através injeção intraperitoneal de Nembutal sódico de uso veterinário na concentração de 60mg/ml. Utilizou-se um aparelho de um único canal com estandardização de 1mV para 1cm e com velocidade de 25 a 50mm/seg. Os eletrodos foram substituídos por agulhas metálicas que eram colocadas sob a pele do animal. Foram utilizadas as 12 derivações clássicas do eletrocardiograma humano e os locais do eletrodo explorador nas derivações precordiais eram rigorosamente marcados e observados. Todos os animais tiveram pelo menos um registro eletrocardiográfico feito antes da inoculação.

Durante a fase aguda, 15 dos animais infectados foram submetidos a tratamento quimioterápico com o Bay 2502 (nifurtimox) ou a um tratamento simultâneo com esta última droga e Corticóide (Dexametasona). A dose de Bay 2502 utilizada foi de 60mg/dia e o número de doses variou de 5 a 10, sendo que o corticóide foi aplicado em alguns casos na dose de 1mg/dia, administrado 24 horas após o início do quimioterápico e estendendo-se pelo mesmo período que este último. Para este estudo de quimioterapia na fase aguda da infecção foram utilizados 30 animais, sendo que a metade foi submetida a tratamento e a outra metade ficou como controle não tratado. Nove animais foram tratados só com o Bay 2502 e seis com o Bay e Corticóide. O tratamento durou de dois a sete dias para 12 animais e 10 dias para os outros três. Dez animais sobreviveram a fase aguda, a qual se acompanhou de manifestações clínicas e/ou eletrocardiográficas que iam do 7º ao 30º dia, com acentuação entre os 15 e os 25 dias após a inoculação. Os animais com infecção crônica se desenvolveram de maneira aparentemente normal, assintomáticos, e foram observados por períodos que variaram entre oito meses e três anos. Três destes animais haviam recebido tratamento específico na fase aguda e sete evoluíram espontaneamente da fase aguda para a fase crônica. Todos, entretanto, continuaram com xenodiagnóstico positivo e com reação de fixação do complemento com títulos que variaram de 1:128 a 1:16. Um dos animais na fase crônica da infecção pela cepa 12SF foi submetido a inoculação com 2×10^6 tripomastigotas sanguícolas por kg/peso corporal da cepa Colombiana. Não se notou qualquer alteração evidente clínica, eletrocardiográfica ou parasitológica, após este procedimento.

Os animais, sejam os que morreram espontaneamente ou os que foram sacrificados, foram submetidos a necrópsias completas. Os corações foram fixados inteiros, após ligadura dos vasos e injeção de formol neutro a 10% nas suas cavidades, para mantê-las distendidas. Foram colhidos fragmentos representativos de várias áreas, os quais, juntamente com os fragmentos dos outros órgãos, foram incluídos em parafina para estudo microscópico em secções coradas pela hematoxilina-eosina.

Para o estudo do sistema excito-condutor do coração foi utilizado o método de Hudson (1965) para o nódulo SA e o método de Lev (1964) para o sistema AV. Os cortes seriados foram montados em fitas plásticas, segundo a técnica de Pickett e Sommer (1969), corados pelo método tricrômico de Masson e analisados conforme detalhes já descritos anteriormente (Andrade, 1973; Andrade & Andrade, 1978).

RESULTADOS

Fase aguda — Durante as necrópsias o coração se apresentava congesto, com dilatação sobretudo das cavidades direitas (Fig. 1), ligeiramente amolecido. Não foram encontrados trombos intracardíacos. O saco pericárdico aparecia fino e distendido e sempre continha de 10 a 50ml de líquido claro e transparente. Os demais órgãos apresentavam apenas congestão passiva ao exame macroscópico. Por vezes havia um discreto grau de ascite. Com as cepas utilizadas as lesões microscópicas predominavam no miocárdio, eram discretas ou moderadas nos músculos estriados e raras nos músculos lisos. Foram observadas lesões focais esparsas no encéfalo, com presença ocasional de parasitos e proliferação focal de células gliais. No esôfago foi freqüente o encontro de infiltrado linfocitário ao longo do plexo de Auerbach, com desaparecimento de alguns neurônios e outros aparecendo com tumefação ou vacuolização citoplasmática. Estas alterações inflamatórias não mostravam correlação direta com a presença de parasitos intracelulares, os quais eram raramente detectados. O fígado e o baço não mostravam outras lesões, além da congestão.

No coração havia edema e infiltrado mononuclear, com alguns polimorfonucleares, dissociando as fibras cardíacas (Fig. 2) e a presença de formas amastigotas do *T. cruzi* foi freqüentemente notada. Tanto nos casos iniciais, como naqueles com miocardite difusa bem intensa, havia uma nítida predominância das lesões nas paredes do átrio direito. Ao nível do septo as lesões eram mais intensas na metade ou nos 2/3 direitos. As paredes do ventrículo direito sempre mostraram lesões mais intensas que as do ventrículo esquerdo.

O nódulo SA que foi identificado facilmente nos animais normais quase não pôde ser identificado com segurança nos animais infectados. Havia na área do nódulo forte infiltrado mononuclear intersticial, com dissociação acentuada das fibras. Os gânglios nervosos eram invadidos pelas células inflamatórias e por vezes os seus neurônios exibiam necrose lítica ou alterações degenerativas, tais como perda da basofilia citoplasmática, tumefação e vacuolização (Fig. 3). No sistema AV as lesões inflamatórias eram mais intensas nas partes mais altas. No nódulo AV se notava densa infiltração celular e perda de fibras específicas. Aí, como em todos os segmentos do sistema AV, foi possível se detectar a presença de formas tissulares do *T. cruzi*. O feixe de His por vezes exibia inflamação intensa e necrose (Fig. 4), o que podia estar em desproporção com as lesões observadas nas vizinhanças imediata, sugerindo uma propagação das lesões ao longo do sistema de condução. Também os ramos do feixe de His exibiam alterações inflamatórias, por vezes com a presença de necrose de fibras isoladas.

As alterações eletrocardiográficas começavam a aparecer por volta do 7º dia da infecção (Fig. 5). As alterações da freqüência, configurando bradicardia ou taquicardia, eram as mais iniciais. As alterações relacionadas com o comprometimento atrial tiveram aparecimento progressivo e consistiam em taquicardia sinusal, ritmo atrial, marca-passo mutável, deformações da onda P, fibrilação atrial e, nas fases terminais, a instalação do ritmo nodal. As repercussões eletrocardiográficas do dano miocárdico apareciam também bem precocemente e se acentuavam com o passar dos dias. Além da baixa de voltagem dos QRS surgiam alterações do segmento ST e inversões e deformações da onda T, bem como o aparecimento de ondas Q profundas (Fig. 6). Nas fases mais avançadas da infecção podia se ver supradesnívelamento do segmento ST sugestivo de lesão isquêmica aguda e o aparecimento de bloqueios cardíacos, seja do 1º, 2º ou 3º grau, ou bloqueio de ramo (Fig. 7).

Efeitos do tratamento — O tratamento causou um rápido desaparecimento das formas parasitárias do interior das fibras cardíacas e isto se refletia na curva de parasitemia que logo tendia para a negativação. Nos animais tratados apenas com o quimioterápico havia uma acentuação das lesões inflamatórias e uma piora ou estacionamento nas alterações eletrocardiográficas. Nos casos em que se associou o corticóide houve desaparecimento quase total do infiltrado inflamatório, persistindo um edema intersticial difuso. O

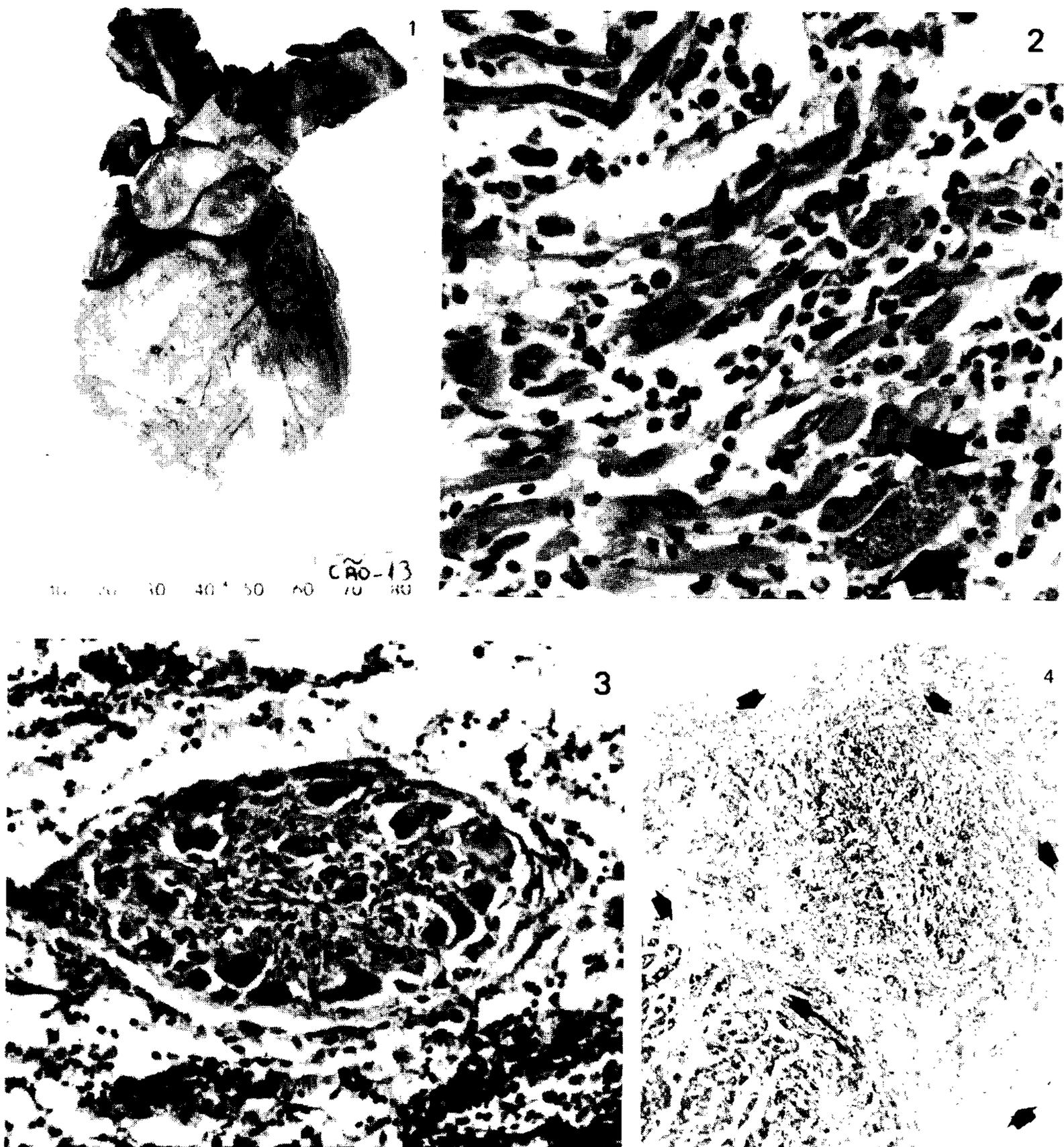


Fig. 1. Miocardite aguda chagásica. Coração aumentado de volume às custas de dilatação das câmaras direitas, sobretudo do átrio direito.

Fig. 2. Dissociação das fibras musculares pelo edema e infiltrado mononuclear durante a fase aguda da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Há destruição e desaparecimento de muitas fibras cardíacas e uma delas (setas) contém no seu interior as formas de multiplicação do parasita. HE 150X.

Fig. 3. Miocardite aguda chagásica no cão. Vê-se um gânglio nervoso da parede atrial, no tecido adiposo subepicárdico, exibindo células inflamatórias e edema no seu interior e alterações degenerativas e mesmo o desaparecimento de alguns neurônios. Tricrômico de Masson. 100X.

Fig. 4. Intensa miocardite aguda chagásica no cão. Aparece o feixe principal de His (setas) quase totalmente destruído por intensa reação inflamatória, a qual aparece também envolvendo o músculo atrial (acima) e o miocárdio do septo interventricular (abaixo). Este cão exibiu bloqueio de ramo direito, mas tanto o ramo direito como o miocárdio da parede livre do ventrículo direito exibiam intensa miocardite aguda. Tricrômico de Masson. 100X.

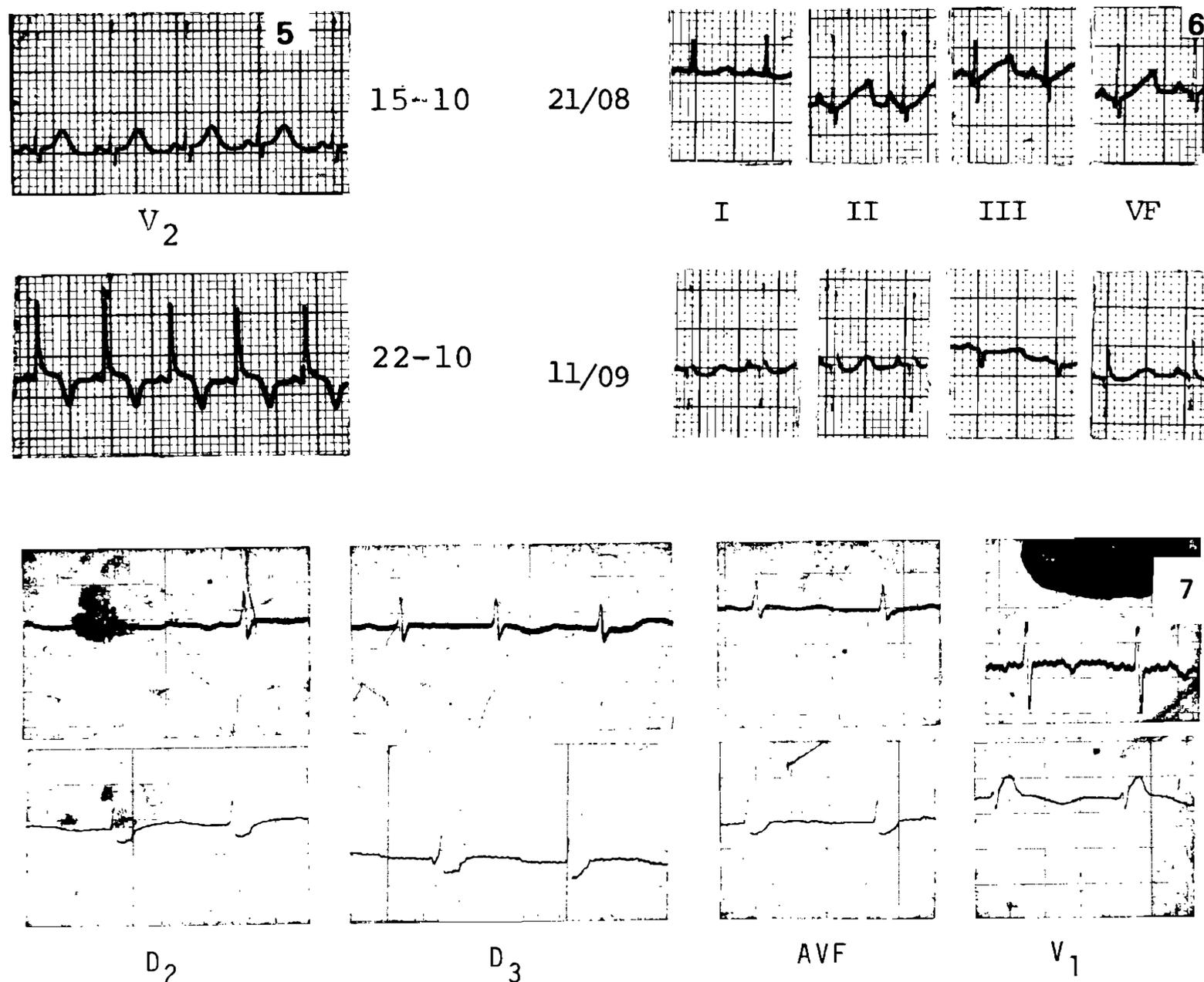


Fig. 5. Cão nº 40. O eletrocardiograma feito no 15º dia da infecção ainda não mostra alterações evidentes (acima). Sete dias depois (abaixo) surgem ondas T pontiagudas e invertidas indicando a intensificação da agressão miocárdica.

Fig. 6. Cão nº 29. Acima, eletrocardiograma tomado antes da infecção. Abaixo, dez dias após a inoculação já se notam ondas Q profundas em D₁ D₂ e AVF, QS em D₃ e desvio do eixo para a esquerda.

Fig. 7. Cão nº 2. Aos 15 dias após a inoculação (acima) aparecem fibrilação atrial e alterações de ST e T e, cinco dias mais tarde, já na fase final da infecção (abaixo), instala-se um bloqueio de ramo direito e ritmo nodal. Velocidade: 50mm.

tratamento específico fez regredir as alterações eletrocardiográficas também de maneira progressiva (Fig. 8). Inclusive os indícios de comprometimento atrial progressivo podiam mostrar uma evolução exatamente em sentido inverso (Fig. 9), quando o ritmo nodal dava lugar a marca-passo mutável ou ondas P deformadas antes do aparecimento final do ritmo sinusal.

Forma crônica indeterminada — Os animais sacrificados na fase crônica da infecção pelo *T. cruzi* não mostraram alterações macroscópicas evidentes, sejam cardíacas ou de outros órgãos. Ao exame histológico o esôfago mostrou um discreto a moderado grau de atrofia do plexo de Auerbach, o qual era acompanhado por raros e pequenos infiltrados focais linfocitários. O coração por vezes se apresentava sem anormalidades nas secções examinadas. Outras vezes havia infiltrados focais de predominância linfocitária (Fig. 10) e focos esparsos de fibrose. No tecido excito-condutor do coração a regra foi o

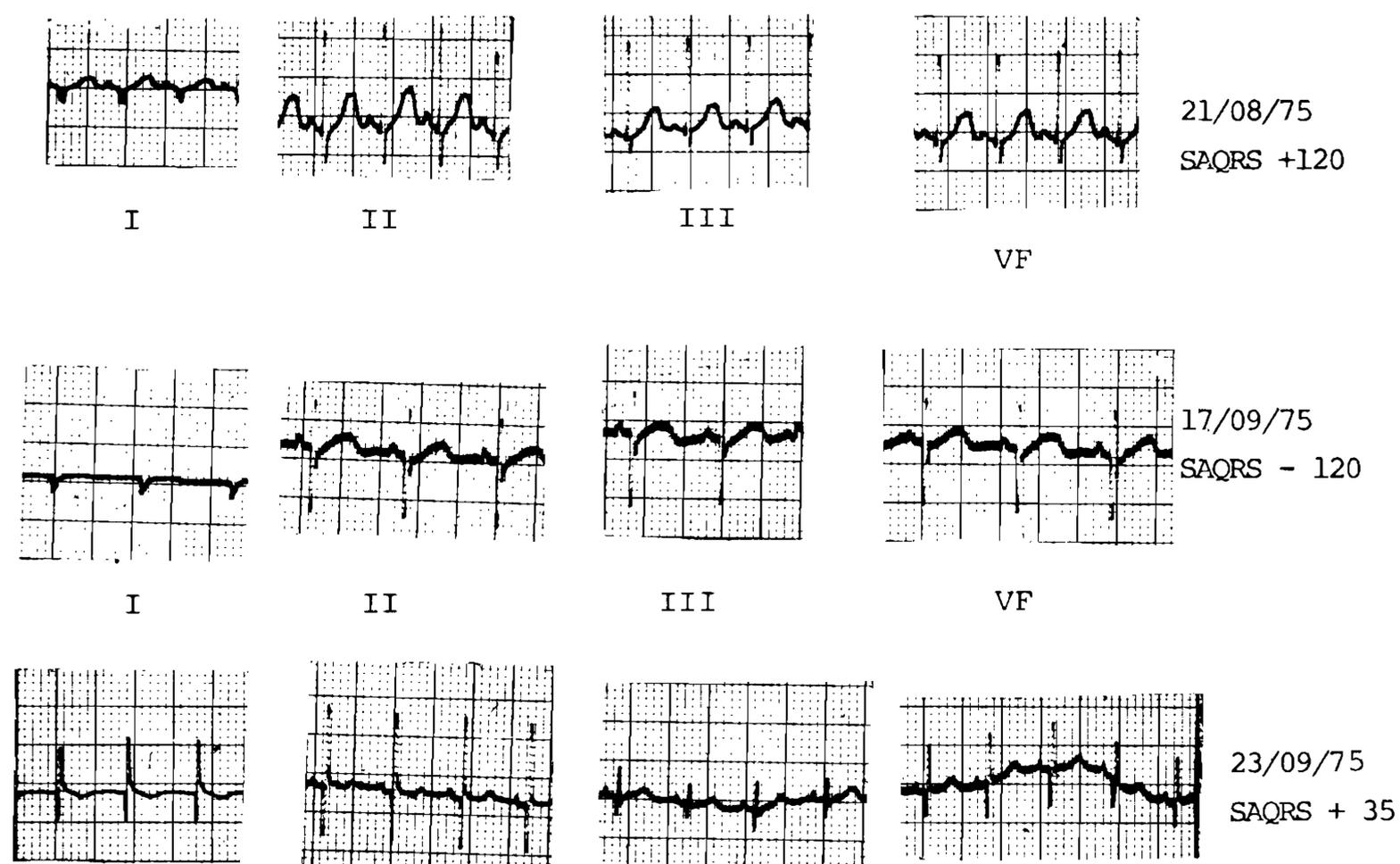


Fig. 8. Cão nº 30. Evolução das alterações eletrocardiográficas com o tratamento específico da miocardite aguda chagásica. Acima, traçado obtido antes da infecção e com aspecto normal. No meio, aos 17 dias da infecção surgem ondas Q profundas em D₁, D₂, D₃ e AVF. Notar o acentuado desvio do eixo elétrico entre os dias 21/08 e 17/09. O cão foi tratado com nifurtimox e corticóide a partir do dia 17/09 durante sete dias. Após o tratamento, o eletrocardiograma voltou ao normal (abaixo).

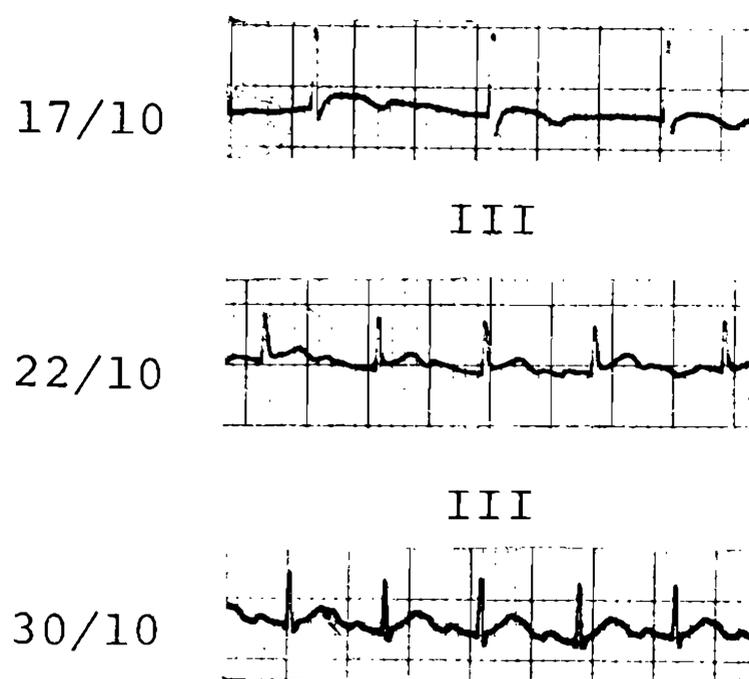
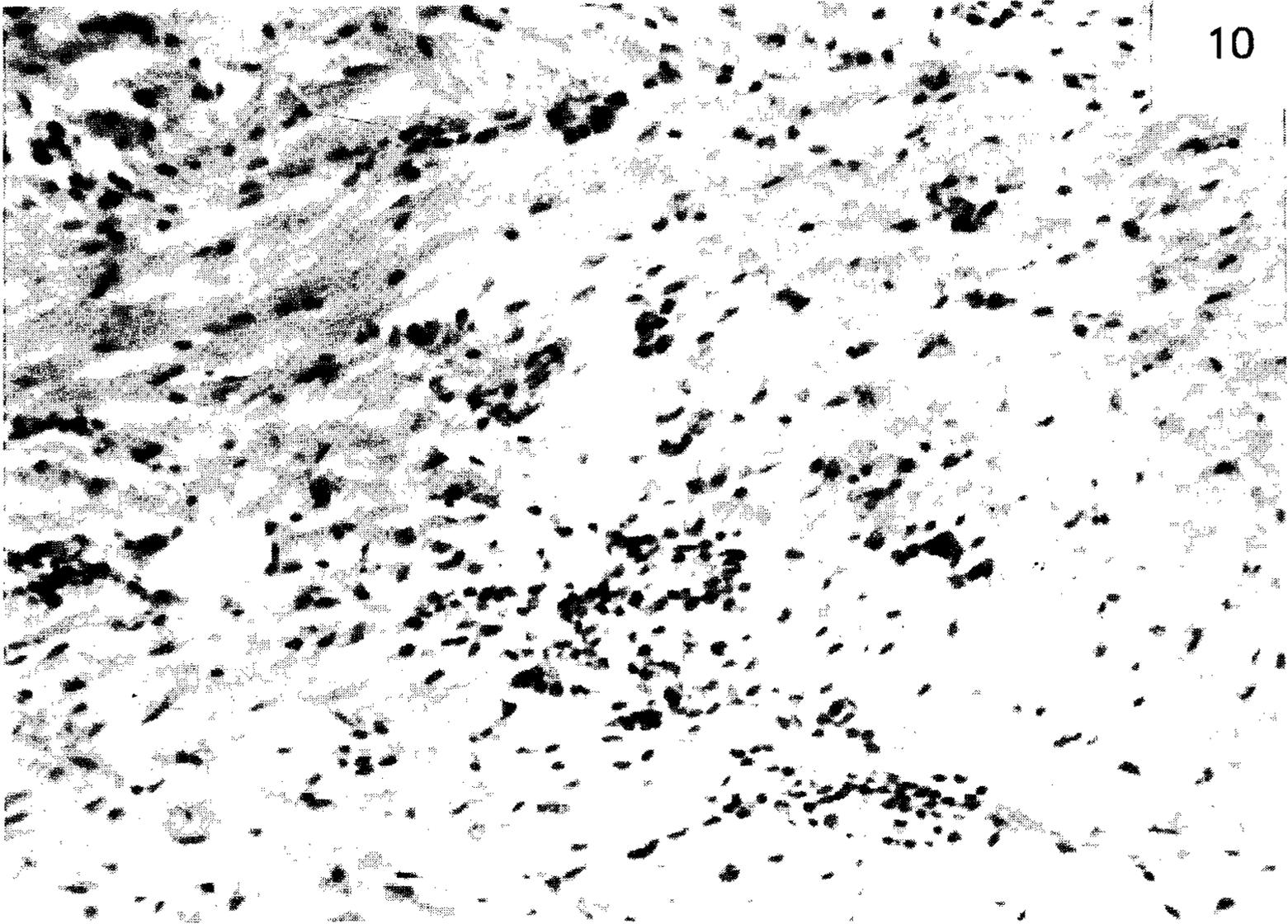
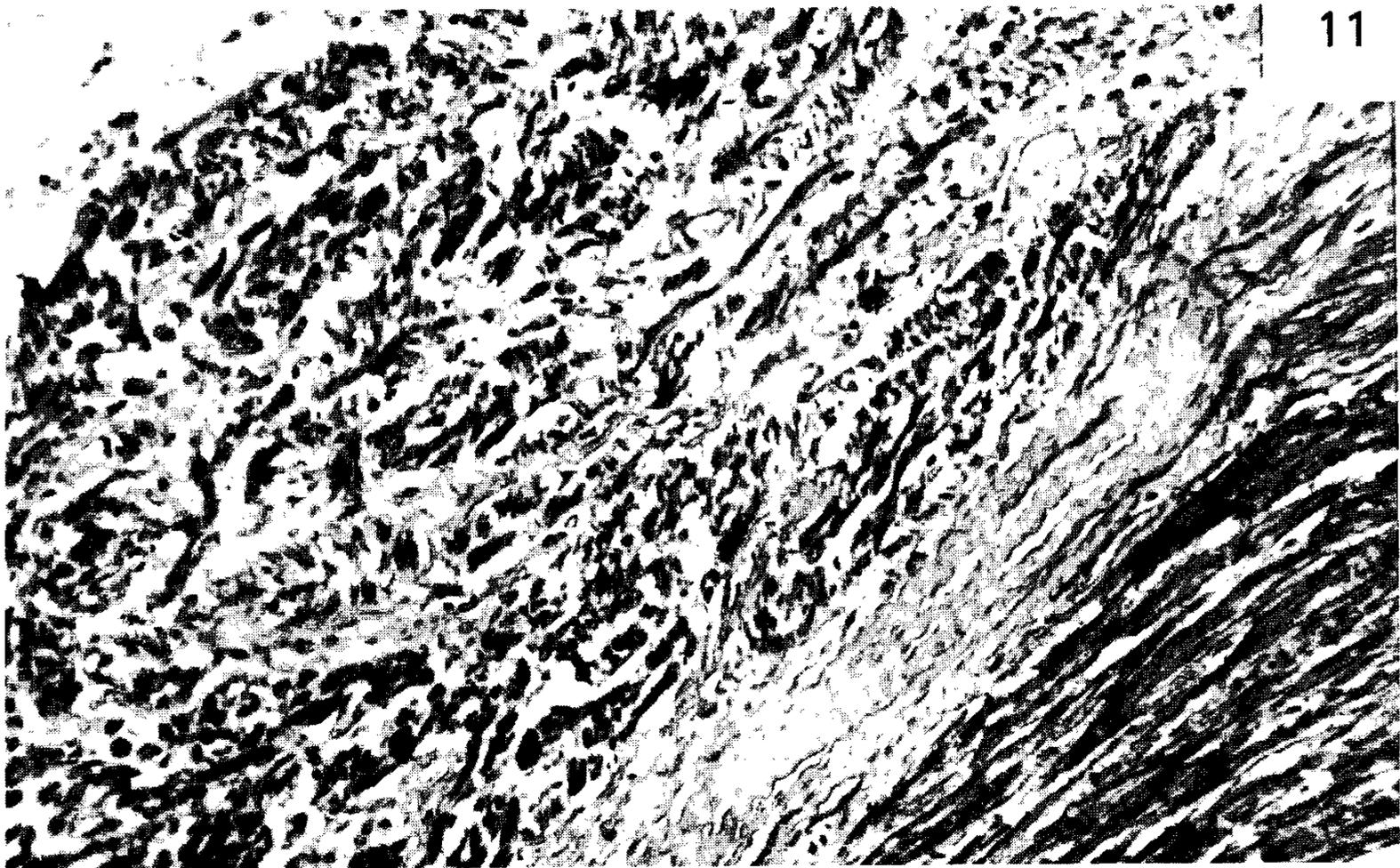


Fig. 9. Cão nº 37. O tratamento com nifurtimox fez com que surgisse a regressão progressiva dos indícios de comprometimento atrial na miocardite aguda chagásica. Acima, aos 18 dias da infecção e um dia antes do início do tratamento observa-se o ritmo nodal. No meio, no 5º dia de tratamento já se observa a presença de marca-passo mutável com P-R alargado. Abaixo, um dia após o término do tratamento o ritmo é sinusal e o intervalo P-R se apresenta mais estreito, dentro dos limites normais.



10

Fig. 10. Infiltrados de mononucleares focais e esparsos no interior do miocárdio, que por outro lado mostra estrutura conservada. Estas são as alterações mais intensas por vezes encontradas em cães com a forma crônica indeterminada da infecção pelo *T. cruzi*. HE 120X.



11

Fig. 11. Forma crônica indeterminada da doença de Chagas no cão. Vê-se o nódulo A-V exibindo fibrose cicatricial difusa e focal. Na zona esquerda e inferior pode-se observar o corpo fibroso central do coração e porção do miocárdio ordinário. Tricrômico de Masson. 100X.

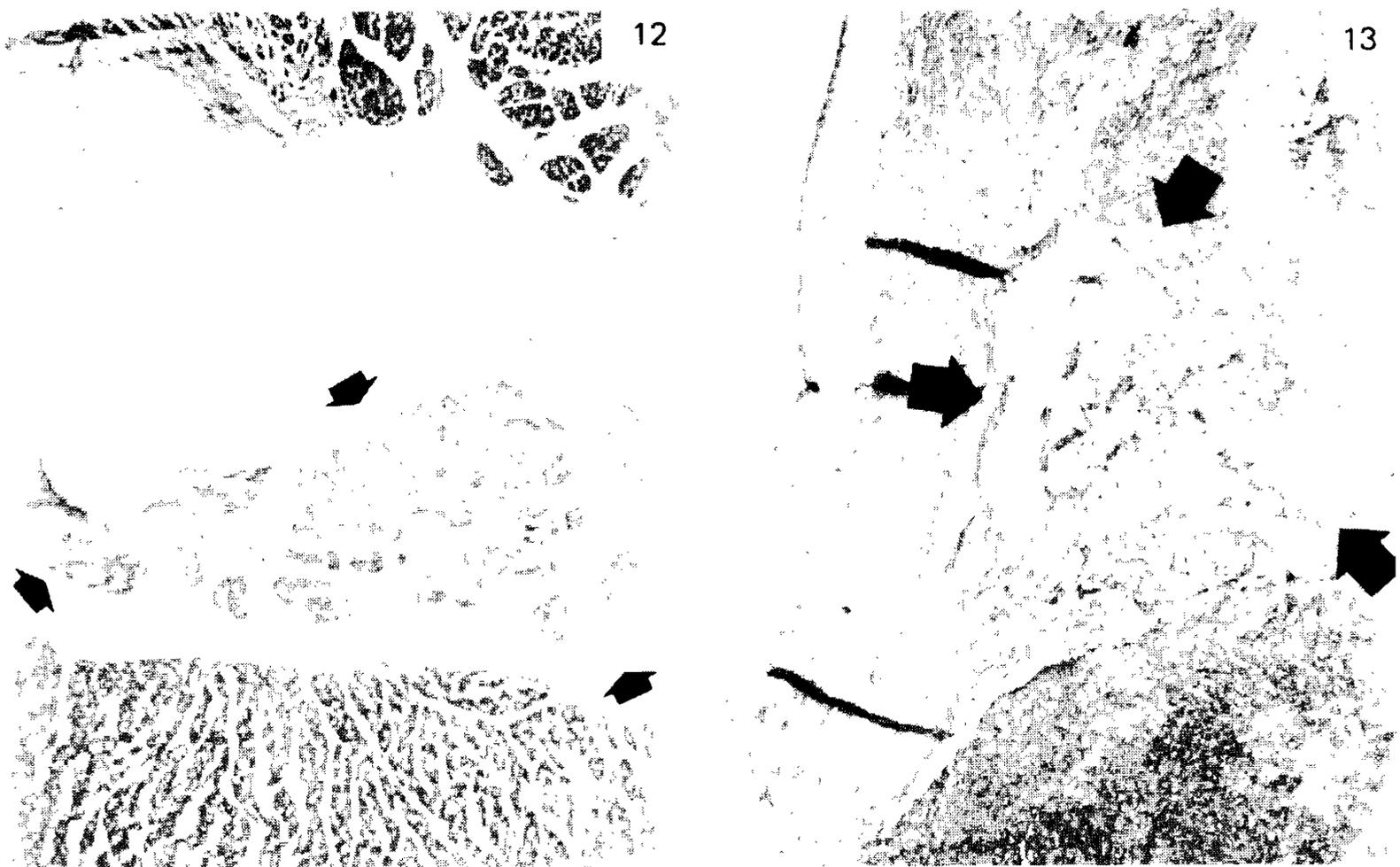


Fig. 12. Extensa substituição fibrosa e discreto infiltrado linfocitário ao nível do feixe principal de His (setas) em um cão com a forma crônica indeterminada da doença de Chagas que se instalou vários meses após a fase aguda da infecção. Notar que o miocárdio atrial (acima) e ventricular (abaixo) tem aspecto normal. Tricrômico de Masson. 100X.

Fig. 13. Forma crônica indeterminada da doença de Chagas. Feixe de His (setas) mostrando intensa substituição adiposa. Tricrômico de Masson. 100X.

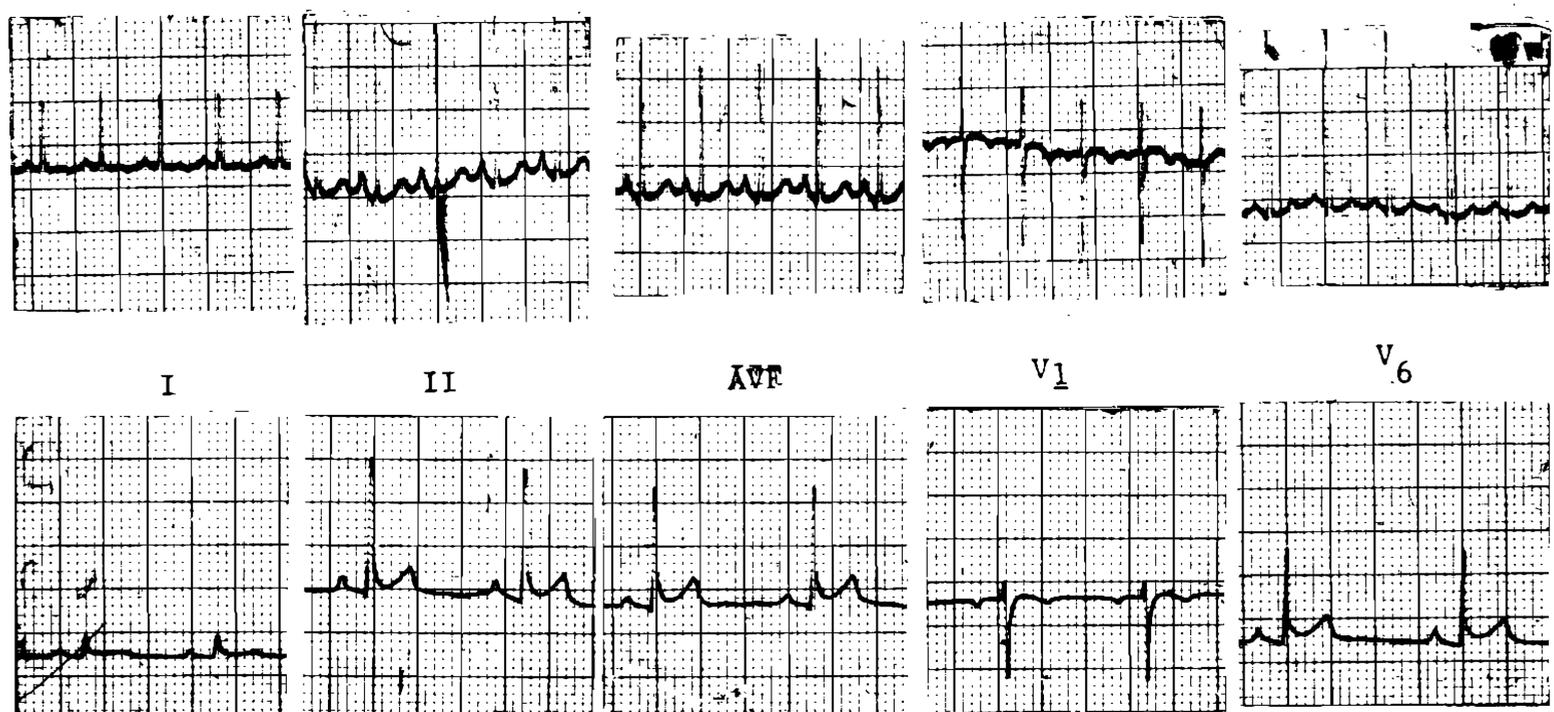


Fig. 14. Cão nº 12. Acima, traçado tomado antes da infecção. Após a fase aguda da infecção pelo *T. cruzi* que do 15º ao 30º dia provocou baixa voltagem dos QRS e alterações de ST e T, este animal se recuperou espontaneamente. O eletrocardiograma realizado três anos após, com o animal na forma crônica indeterminada da infecção (abaixo), revelou diminuição da frequência cardíaca e prolongamento do espaço P-R. Havia espessamento da artéria do nódulo SA e focos de fibrose ao longo de todo o sistema A-V, sem traços de miocardite. O animal continuou infectado durante todo o período de observação.

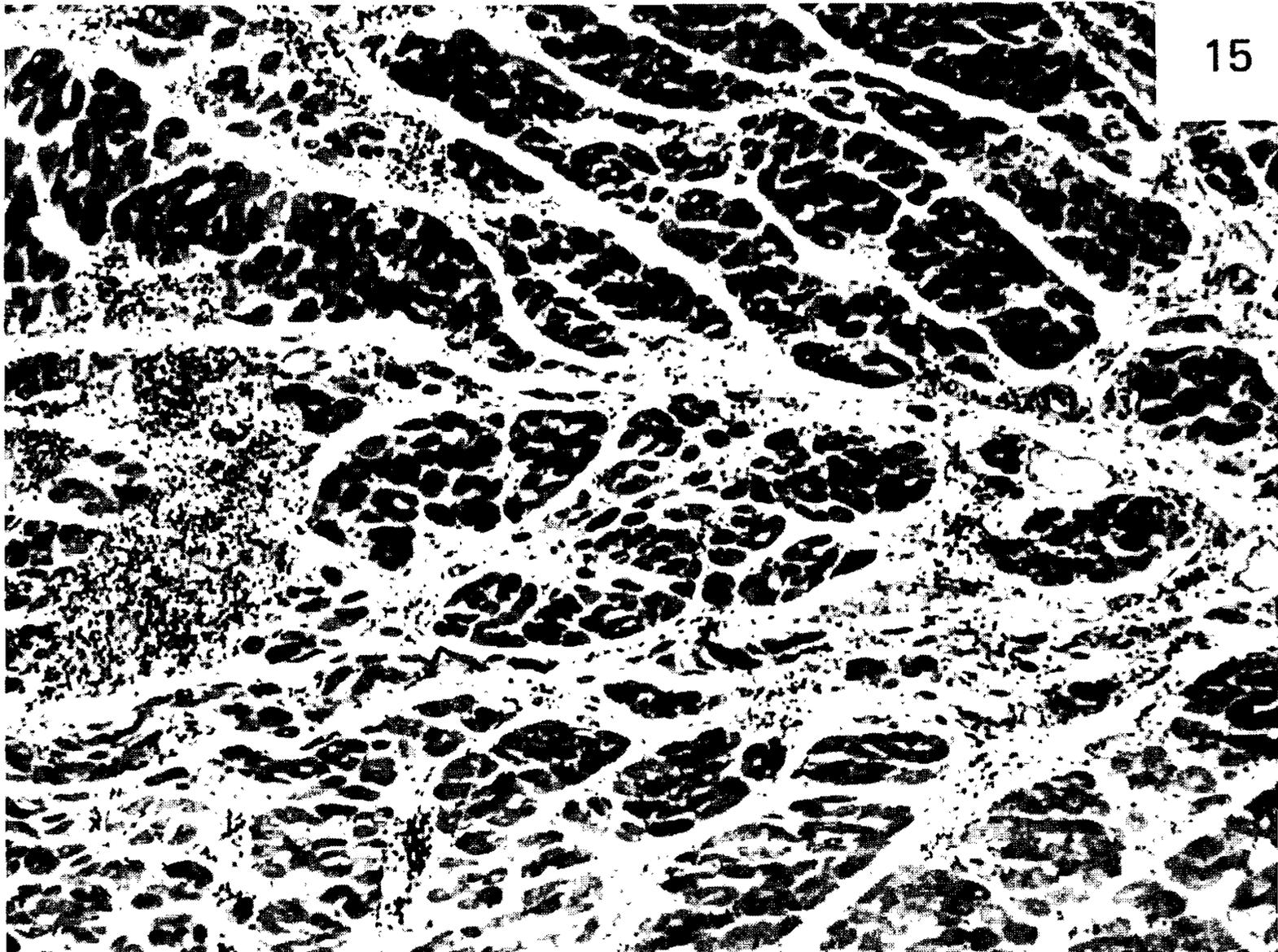


Fig. 15. Miocárdio com infiltração difusa de células mononucleares, com adensamentos focais do infiltrado e com fibrose difusa. Aspecto observado na forma crônica cardíaca da doença de Chagas no cão. HE 100X.

encontro de alterações de tipo residual. No nódulo SA foi notado espessamento da artéria nodal, por vezes com fibrose subintimal ou adventicial, por vezes com hipertrofia da muscular. Também apareciam acentuação fibrosa difusa do estroma e áreas de fibrose focal de forma e extensão variáveis.

No sistema AV também foram notadas áreas de fibrose difusa e/ou focal no nódulo AV (Fig. 11), feixe de His (Fig. 12) e nos seus ramos. Além de fibrose, por vezes havia discreto infiltrado linfocitário, presença de atrofia das fibras específicas e infiltração adiposa. Esta última alteração aparecia proeminente em torno do nódulo AV na zona de passagem dos tractos internodais, e em áreas focais no nódulo SA, no nódulo AV e no feixe de His, por vezes substituindo a quase totalidade de suas fibras (Fig. 13).

Os eletrocardiogramas sucessivos não mostraram alterações evidentes nestes animais (Fig. 14). Alguns exibiam períodos de arritmia sinusal, bloqueio AV do 2º grau, fenômeno Wenckebach de tipo atrial, parada sinusal com escape nodal ou sinusal. Estas alterações foram transitórias e podiam desaparecer nos eletrocardiogramas subsequentes.

Fase crônica cardíaca – Nenhum dos animais desenvolveu sinais ou sintomas de insuficiência cardíaca congestiva. Todavia tivemos a oportunidade de estudar as lâminas de um caso típico cedidas pelo Dr. F. S. Laranja. Neste caso a miocardite crônica mostra sinais histológicos de atividade, pois se acompanha de degeneração focal de fibras cardíacas e de fibrose difusa progressiva. Também o infiltrado é difuso, tem grandes quantidades de linfócitos, macrófagos e plasmócitos, e se adensa focalmente (Fig. 15).

COMENTÁRIOS

A fase aguda da doença de Chagas é facilmente obtida em cães jovens (Goble, 1952; Marsden & Hagstrom, 1968; Villela, 1924) e, embora um pouco difícil, também em cães adultos (Laranja, 1953). Esta fase tem sido intensamente estudada sobre vários aspectos e todos concordam que do ponto de vista clínico (Laranja, 1953; Pifano et al, 1966) parasitológico (Anselmi et al, 1966; Freitas et al, 1952), eletrocardiográfico (Anselmi et al, 1967; Pellegrino, 1946; Pelegrino, 1947; Magalhães & Freire, 1945) e anátomo-patológico (Andrade, 1973; Anselmi et al, 1966; Badinez, 1945; Williams et al, 1977) se comporta exatamente como a doença humana.

A forma aguda em cães jovens representa o resultado de uma infecção generalizada pelo *T. cruzi*. Corresponde aos casos mais graves observados em indivíduos humanos. Os parasitos são encontrados em diversos órgãos, juntamente com as alterações degenerativas focais e o infiltrado celular, o qual é de predominância mononuclear, mas pode conter número variável de polimorfonucleares, neutrófilos ou eosinófilos (Marsden & Hagstrom, 1968; Williams et al, 1977). O envolvimento do sistema nervoso central, com o aparecimento de convulsões e paralisias (Villela, 1924), até mesmo a produção do sinal de Romãna (Diaz-Hungria, 1968) ou de chagomas (Marsden & Hagstrom, 1968; Badinez, 1945) têm sido observados nos cães. As lesões inflamatórias bem como o grau do parasitismo predominam no miocárdio. Há boa correlação entre estas lesões e as alterações observadas no eletrocardiograma, as quais têm caráter progressivo, sendo de início localizadas na onda T e no segmento ST, mas evoluem até a interferência com a condução do estímulo, o que é observado nos casos bem graves, como aliás acontece nos indivíduos humanos com a doença aguda.

O grupo venezuelano (Anselmi et al, 1967; Pifano et al, 1966; Anselmi et al, 1966; Pifano et al, 1962; Anselmi et al, 1965; Anselmi et al, 1971) fez uma série de estudos eletrocardiográficos e, com o auxílio inclusive da técnica que utiliza eletrodos em contacto direto com a parede do coração, pôde observar uma correlação direta entre a intensidade das alterações inflamatórias e degenerativas e os distúrbios da repolarização ventricular. Quando as alterações focais eram mais intensas surgiam os bloqueios focais, com o aparecimento de áreas inativadas que se refletiam nos desnivelamentos do segmento ST. Estas áreas não ativadas poderiam sofrer um abaulamento com o aumento da pressão sistólica intraventricular, podendo dar origem a aneurismas cardíacos (Anselmi et al, 1971).

Nos nossos estudos vimos que a miocardite da fase aguda se inicia na aurícula direita, onde se mantém mais intensa durante o curso da infecção. Daí há aparentemente uma propagação para baixo, bem visível ao nível do septo, que tem a sua metade direita mais intensamente envolvida, da mesma forma que o ventrículo direito na sua parede livre. É possível que esta propagação se faça por via linfática, retrógrada, mas não temos demonstração direta desta suposição. Esta peculiar distribuição das lesões inflamatórias e dos parasitos nas porções direitas do coração durante a infecção aguda já havia sido notada por vários autores tanto no cão, como em outros animais (Anselmi et al, 1967; Andrade, 1973; Anselmi et al, 1966; Andrade & Andrade, 1966; Kumar, Kline & Abelmann, 1969). O que não havia sido claramente definido é que as alterações eletrocardiográficas refletem fielmente esta distribuição das lesões. As alterações mais salientes em nossos cães revelam logo um comprometimento progressivo do átrio direito e do nódulo sino-atrial. No primeiro estudo eletrocardiográfico feito no cão, Taquini (1942) chamou a atenção para o aparecimento de bradicardia. Na realidade pode haver bradicardia ou taquicardia, ou uma alternância de bradicardia e taquicardia. Mas, à proporção que a doença piora pode-se notar o aparecimento de deformações da onda P, do surgimento de marca-passo migratório, fibrilação atrial, culminando com o desaparecimento de toda atividade atrial e a instalação de um ritmo nodal. Esta seqüência de alterações, vista em vários dos animais, denota o

progressivo e preponderante comprometimento da musculatura atrial, sobretudo à direita. O aumento do espaço P-R é observado raramente, talvez porque quando a inflamação se intensifica no nódulo AV já haja grave comprometimento atrial. O aparecimento de bloqueios se dá nos casos mais graves, nas fases terminais da intensa miocardite. Nestes casos, uma configuração comum é a do bloqueio de ramo direito, que se correlaciona com o intenso processo inflamatório em todo o lado direito do coração e com a presença de necrose ao nível do feixe de His e do próprio ramo direito (Andrade, 1973). O comprometimento miocárdico, refletido nas alterações de T (baixa voltagem, inversão) e de ST (com padrão de isquemia) aparece muito cedo, se acentua e permanece durante todo o curso da infecção aguda. Podem aparecer lesões que simulam um infarto agudo do miocárdio eletrocardiograficamente (Laranja, 1953; Andrade, 1973; Anselmi et al, 1971). Por todos estes dados, vê-se que o comportamento das lesões nos cães jovens durante a fase aguda da infecção pelo *T. cruzi* é inteiramente superponível ao que ocorre na espécie humana, principalmente nos casos mais graves.

Nos casos tratados havia regressão total das lesões. Um aspecto observado por Andrade e Brener (1969) mostrando que a destruição maciça dos parasitos tissulares pela quimioterapia podia exacerbar as alterações inflamatórias no miocárdio, foi confirmado. Também o emprego simultâneo de corticóide para impedir tal exacerbação, como usado por Andrade e Macedo (1973) no camundongo e no homem resultou no desaparecimento precoce da inflamação e na reversão das alterações eletrocardiográficas.

Depois da forma aguda, os cães sobreviventes se recuperam, não mostram sinais de doença, embora continuem infectados a julgar pela positividade de alguns xenodiagnósticos e pela constante positividade das reações sorológicas. Após o desaparecimento das manifestações da fase aguda, acompanhamos 10 cães por períodos que variaram de oito meses a três anos.

Pellegrino (1947), Laranja, Pellegrino e Dias (1949), Laranja (1953), Pifano et al (1966), Anselmi et al (1967 e 1965) se referem a cães na fase crônica da infecção que apresentaram insuficiência cardíaca congestiva, cardiomegalia, afinamento do miocárdio, fibrose e distúrbios da condução. Mas os autores venezuelanos dizem que na fase crônica as lesões do coração podem estar ausentes, serem discretas ou acentuadas. Obviamente não se tratam de casos comparáveis. Nos casos brasileiros os estudos anátomo-patológicos foram muito sumários e não fornecem elementos para uma avaliação comparativa com que se passa em patologia humana. Já Johnson (1938) descreve a fase crônica em cães, que não apresentaram insuficiência cardíaca, como caracterizada por infiltrados miocárdicos esparsos, que podem ser discretos ou densos e por pequenas cicatrizes fibrosas também focais. A análise destes trabalhos deixa uma impressão de que os vários autores não tentaram separar na infecção crônica pelo *T. cruzi* nos cães a forma indeterminada da forma cardíaca. Todavia este é um ponto de fundamental importância para a caracterização do curso da infecção nos cães e a posterior comparação do quadro clínico-patológico com aquele do homem.

Para o prosseguimento dos estudos sobre o modelo canino tem grande interesse que a fase crônica indeterminada fique bem caracterizada. Como pode ser visto na Tabela I, as alterações eletrocardiográficas foram discretas em nossos animais. Os achados mais salientes possivelmente estão relacionados com as dificuldades crescentes para se induzir anestesia em animais que vão se tornando cada vez mais refratários ao anestésico. Com anestésias mais irregulares, ou mais profundas, diversas arritmias transitórias apareceram. Todavia temos que levar em conta a presença de várias alterações morfológicas ao longo do tecido de condução. Tais alterações exibiam as características de um processo residual, cicatricial. Podemos admitir que elas resultaram de agressões que se processaram durante a fase aguda da infecção. Não sabemos se no homem com a forma indeterminada da doença de Chagas ocorrem lesões semelhantes no sistema de condução. Se for o caso, seria necessário rever o conceito clínico de forma indeterminada. As lesões vistas no cão poderiam

dar origem a distúrbios na formação e propagação do estímulo elétrico, principalmente sob condições especiais de investigação, como após esforço físico, aceleração de frequência com estímulos externos ou drogas, etc. Nestes casos, mesmo na presença de arritmias e infecção crônica pelo *T. cruzi* ainda não teríamos caracterizada a forma crônica cardíaca. Em outras palavras, a forma crônica indeterminada poderia existir a despeito da presença de alterações eletrocardiográficas que poderiam estar sendo causadas por lesões cicatriciais deixadas pela infecção aguda. Este ponto necessita novas investigações para que se esclareça o significado prognóstico na forma indeterminada, já que a maioria dos indivíduos infectados exhibe esta forma da infecção. As implicações médico-sociais e trabalhistas são óbvias.

Considerando a forma crônica cardíaca, vimos mais acima que as referências existentes na literatura não nos informam sobre a patologia da forma crônica cardíaca da doença de Chagas no cão. Para completar o estudo do modelo e compará-lo com a doença humana, tais dados aparecem como indispensáveis. Recentemente, Laranja e Andrade (1980) reestudaram um dos casos apresentados em 1953 por Laranja. Embora seja apenas um caso, e, portanto, insuficiente para se estabelecer um padrão, ele parece bem representativo. Trata-se de um cão com infecção crônica (16 meses) e que exibiu franca insuficiência cardíaca progressiva, com edemas periféricos, ascite, dispnéia, alterações eletrocardiográficas (bloqueio completo de ramo direito com hemibloqueio anterior esquerdo) e cardiomegalia. O estudo histológico mostrou um padrão que difere em grau e em alguns pequenos detalhes daquele da forma indeterminada. Aliás, uma situação semelhante ao que ocorre com os casos humanos, segundo demonstraram Lopes et al (1975). A miocardite, que em algumas áreas pode ser bem intensa, conserva o seu caráter multifocal. Ao lado da fibrose cicatricial aparece também uma fibrose difusa, acelular, homogênea, dissociando e isolando as fibras cardíacas. As lesões predominam no átrio e no ventrículo direito. O infiltrado é mononuclear, por vezes com nítido predomínio de plasmócitos. Os parasitos não foram encontrados. Um quadro, portanto, muito parecido ao encontrado na patologia humana. Apenas no homem o infiltrado tende a ser mais difuso, o mesmo acontecendo com a fibrose intersticial. É claro que há necessidade de maior número de casos em cães para que se possa fazer uma tentativa válida de comparação com a patologia humana.

Quanto à forma crônica digestiva pouco podemos dizer, porque nenhuma ocorrência de mega digestivo foi observada em nosso material. Há dois trabalhos que referem o aparecimento de megas do aparelho digestivo em cães com infecção crônica pelo *T. cruzi*. Um de Koeberle (1957) que em relatório especulativo sobre a patogenia da doença de Chagas diz ter observado mega-esôfago, megacolon e também megabexiga em cães com infecção espontânea e apresenta três fotografias de aspectos macroscópicos. O outro trabalho é de Okumura & Correa Neto (1961) e descreve sucintamente o aparecimento de mega-esôfago e megacolon em dois cães com infecção experimental pelo *T. cruzi* de 330 dias de duração. Há necessidade de melhor caracterização e de estudos mais controlados de tais casos, os quais como no caso da forma cardíaca, também não aparecem com regularidade nos cães com infecção crônica pelo *T. cruzi*.

Em conclusão, a doença de Chagas no cão parece se comportar de maneira muito semelhante à do homem. O cão mostra todos os requisitos para ser o modelo experimental ideal para o estudo de problemas relacionados com esta doença. A infecção aguda é facilmente obtida em cães jovens e um pouco mais inconstante em cães adultos. A infecção nestes últimos pode ser facilmente exacerbada com o emprego de imunossuppressores (Carmargo, Kloetzel & Bachella, 1970). A infecção aguda é em tudo semelhante à doença humana, podendo aparecer sinal de Romaña, chagoma, manifestações neurológicas, etc. As lesões cardíacas são intensas, mostram boa correlação com os achados eletrocardiográficos e se prestam para estudos de patogenia e de terapêutica, entre outros.

Há no modelo canino uma fase crônica indeterminada também semelhante ao que ocorre no homem. As lesões cardíacas são de tipo cicatricial ou reparativa, mas se

TABELA I

Dados Gerais sobre Cães com Infecção Crônica (Forma Indeterminada) pelo *Trypanosoma cruzi*

<i>Nº Cão</i>	<i>Sexo</i>	<i>Idade inicial (meses)</i>	<i>Peso (kg)</i>	<i>Duração da infecção</i>	<i>Inóculo (Nº trip/kg peso)</i>	<i>Cepa T. cruzi</i>	<i>E. C. G.</i>	<i>Alterações do Sistema de condução</i>
12	M	5	8	3 a	500.000	12 SF	Arritmia sinusal (transitória)	Fibrose focal na origem do ramo D seccionando 70% do ramo. Fibrose intersticial discreta nas porções distais de ambos os ramos. Espessamento da artéria no nódulo SA. Não há miocardite.
14	M	5	5	3 a	500.000	12 SF	Artitmia sinusal (transitória)	Fibrose difusa no nódulo AV e porção penetrante do feixe de His. Focos de infiltração adiposa no feixe de His. Substituição adiposa parcial do nódulo SA miocardite crônica focal discreta.
16	M	2	2	1 a 7m	1.000.000	Colombiana	Bloqueio AV do 2º grau (transitório) e raras extrassístoles ventriculares	Porção terminal do feixe de His e origem do ramo direito com focos de infiltração adiposa. Miocardite focal discreta.
18*	F	2	1,2	8 m	680.000	12 SF	Discretas alterações de ST e T	Fibrose intersticial no nódulo AV e porção penetrante do feixe de His. Focos de fibrose cicatricial no feixe de His. Miocardite discreta.
21*	M	2	1,2	2 a 4m	680.000	12 SF	Arritmia sinusal e bloqueio AV do 2º grau (recurrentes)	Esclero-atrofia do feixe de His, com substituição adiposa da sua metade direita. Focos de fibrose nos ramos. Fibrose e infiltração adiposa no nódulo SA. Não há sinais de miocardite.

38*	F	2½	2,35	1 a 6m	570.000	12 SF	Arritmia sinusal (transitória)	Intensa infiltração adiposa na porção mediana e terminal do feixe de His. Não há sinais de miocardite.
45	F	2	1,5	± 8m	Infecção natural	?	Sem alterações	Fibrose intersticial no nóculo AV. Fibrose focal do miocárdio atingindo ramo esquerdo. Infiltração adiposa na porção inicial do feixe de His.
47	F	2½	2,4	9 m	1.000.000	Colombiana	Alterações discretas de ST e T.	Fibrose intersticial no nóculo AV. Infiltração adiposa e fibrose em torno do nóculo SA, o qual é normal.
49	F	2½	2,6	9 m	1.000.000	Colombiana	Discretas alterações de ST e T	Discreta fibrose intersticial no feixe de His.
50	F	2½	2,6	9 m	1.000.000	Colombiana	Sem alterações	Miocardite crônica moderada. Fibrose cicatricial e focos de infiltração adiposa ao longo de todo o sistema AV, especialmente na origem do ramo direito.

* Tratado
 O cão 38 teve morte espontânea, os demais foram sacrificados.

presume que poderão dar origem a distúrbios eletrocardiográficos, pelo menos em condições de maior estimulação cardíaca.

As formas crônicas, cardíaca e digestiva, aparecem num número bem limitado dos animais infectados, cerca de um ano ou mais após o desaparecimento das manifestações da forma aguda. Mais uma vez, uma estreita semelhança com a situação na patologia humana. Portanto, tais formas são de obtenção imprevisível. Esta dificuldade não deve impedir os estudos fundamentais que se fazem necessários para que se possam esclarecer vários aspectos obscuros da doença de Chagas, sobretudo o mecanismo de produção das lesões, suas implicações imuno-patológicas, suas correlações morfológicas-eletrocardiográficas, as possibilidades terapêuticas e imuno-profiláticas.

SUMMARY

Young dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi* developed acute disease and were studied by pathologic, immunologic, parasitologic and electrocardiographic methods. The main lesion was an acute myocarditis that began in the atria and propagated through the septum toward the ventricles and, when fully developed, predominated in the right atrium, the right half of the ventricular septum and the free wall of the right ventricle. ECG changes were progressive and reflected the predominant atrial involvement. Cardiac blocks appeared only at the terminal stages and coincided with severe inflammation and necrosis along the A-V conducting tissue. Specific treatment made in 15 dogs with severe acute disease frequently reversed both the histological and ECG changes.

Ten animals went into a chronic asymptomatic stage of the infection, three of them after being treated, and were observed from periods of 8 months to 3 years. None of them developed signs of congestive cardiac failure. ECG changes were both non-specific and transient. However, there were focal areas of fibrosis, sclero-atrophy and fatty replacement within the conducting tissue of the heart, probably sequelae from the lesions occurring during the acute infection. There were focal and mild myocarditis in some of the cases.

The chronic cardiac form of the disease was studied in microscopic slides from one typical case. This dog developed chronic progressive cardiac failure and complete right bundle branch block 18 months after inoculation. There were cardiomegaly and chronic progressive diffuse myocarditis with fibrosis.

Thus, the canine model of Chagas' disease present all stages of the infection as seen in man. Digestive megas were not seen in the present material, but have been described by others. The experimental reproduction of the symptomatic chronic forms in the dog are unpredictable.

The present paper aims at presenting the fundamental aspects of the pathology of Chagas' disease in the dog, which are necessary for future studies with the canine model.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S.G., 1974. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano (Contribuição ao estudo da patologia geral da doença de Chagas em nosso meio). *Rev. Pat. Trop.* 3 :65-121.

- ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A., 1966. Estudo histopatológico comparativo das lesões produzidas por duas cepas do *Trypanosoma cruzi*. *O Hospital (Rio)* 70 :1268-1278.
- ANDRADE, S.G. & MACEDO, V., 1973. Tratamento combinado da doença de Chagas com Bayer 2502 e corticoide (Estudo experimental e clínico). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 15 :421-431.
- ANDRADE, Z.A., 1973. Patologia do sistema excito-condutor do coração na miocardiopatia chagásica. Tese, Universidade Federal da Bahia, Salvador – Bahia.
- ANDRADE, Z.A. & ANDRADE, S.G., (1979). "Patologia" Capítulo 6, in Brener, Z. & Andrade, Z.A. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas, Editora Guanabara-Koogan S/A, Rio de Janeiro.
- ANDRADE, Z.A.; ANDRADE, S.G.; OLIVEIRA, G.B. & ALONSO, D.R., 1978. Histopathology of the conducting tissue of the heart in Chagas' myocarditis. *Am. Heart J.* 93 :316-324.
- ANDRADE, Z.A. & BRENER, Z., 1969. Ação da nitrofurazona (2 nitro 2 furaldeido-semicarbazona) sobre as formas intracelulares do *Trypanosoma cruzi* na doença de Chagas experimental. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 11 :222-228.
- ANSELMÍ, A.; GURDIEL, O.; SUAREZ, J.A. & ANSELMÍ, G., 1967. Disturbances in the A-V conduction system in Chagas' myocarditis in the dog. *Circ. Res.* 20 :56-64.
- ANSELMÍ, A.; MOLEIRO, F.; SUAREZ, R.; SUAREZ, J.A. & RUESTA, V., 1971. Ventricular aneurysms in acute experimental Chagas' myocardopathy. *Chest* 59 :654-658.
- ANSELMÍ, A.; PIFANO, F.C.; SUAREZ, A.; DOMINGUEZ, A.; VASQUEZ, A.D. & ANSELMÍ, G., 1965. Experimental *Schizotrypanum cruzi* myocarditis. Correlation between histopathologic and electrocardiographic findings in experimental Chagas' heart disease. *Am. Heart J.* 70 :638-656.
- ANSELMÍ, A.; PIFANO, F.; SUAREZ, J.A. & GURDIEL, O., 1966. Myocardopathy in Chagas' disease. I. Comparative study of pathologic findings in chronic human and experimental Chagas' myocarditis. *Am. Heart J.* 72 :469-481.
- BADINEZ, O.S., 1945. Contribución a la anatomia patologica de la enfermedad de Chagas experimental. *Biológica* 3 :3-51.
- BOLTON, G.R., 1975. Handbook of canine electrocardiography. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- CAMARGO, M.E.; KLOETZEL, J. & BACHELLA, F., 1970. A note on the harvesting of large numbers of *Trypanosoma cruzi* blood forms in adult dogs. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 12 :217-220
- DIAZ-HUNGRIA, C., 1968. La contaminación por via buco-gástrica y ocular en los trypanosomas. Resumen y nuevas experiencias. *Rev. Vet. Venezol.* 24 :39-66.
- FEDERICI, E.E.; ABELMANN, W.B. & NEVA, F.A., 1964. Chronic and progressive myocarditis and myositis in C₃H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13 :272-280.
- FREITAS, J.L.P.; ROCHA, M.F.; VASQUEZ, J.A.Z. & AFTIMUS, F.N., 1952. Inquérito preliminar sobre a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) entre cães e gatos domésticos no município de Campo Florido (Triângulo Mineiro), Minas Gerais, Brasil. *Rev. Fac. Med. Vet.* 4 :545-551.
- GOBLE, F.C., 1952. Observations on experimental Chagas' disease in dogs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1 :189-204.
- HUDSON, R.E.B., 1965. Cardiovascular Pathology, Chapter 2: The conducting system. E. Arnould Pbls. Ltd. Londres.
- JAMES, T.N., 1962. Anatomy of the sinus node of the dog. *Anat. Rec.* 143 :251-265.
- JOHNSON, C.M., 1938. Cardiac changes in dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med.* 18 :197-206.

- JONES, S.B.; EULER, D.E.; HARDIE, E.; RANDALL, W.C. & BRYNJOLFSSON, G., 1978. Comparison of SA nodal and subsidiary atrial pacemaker function and location in the dog *Am. J. Physiol.* 234 :471-476.
- KOEBERLE, F., 1957. Patogenia da moléstia de Chagas. Estudo dos órgãos musculares ôcos. *Rev. Goiana Med.* 3 :155-180.
- KUMAR, R.; KLINE, J.K. & ABELMANN, W.H., 1969. Experimental *Trypanosoma cruzi* myocarditis. Relative effects upon the right and left ventricles. *Am. J. Path.* 57 :31-48.
- LARANJA, F.S., 1953. Aspectos clínicos da moléstia de Chagas. *Rev. Bras. Med.* 10 :482-491.
- LARANJA, F.S. & ANDRADE, Z.A., 1980. Forma crônica cardíaca da doença de Chagas no cão (em publicação).
- LARANJA, F.S.; PELLEGRINO, J. & DIAS, E., 1949. Experimental Chagas' disease. *Am. Heart J.* 4 :646.
- LEV, M., 1964. The normal anatomy of the conduction system in man and its pathology in atrioventricular block. *Ann. New York Acad Sci* 3 :817-829.
- LOPES, E.R.; CHAPADEIRO, E.; ALMEIDA, H.O. & ROCHA, A., 1975. Contribuição ao estudo da anatomia patológica dos corações de chagásicos falecidos subitamente. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 9 :269-282.
- LUMB, G.; SHACKLETT, R.S. & DAWKINS, W.A., 1959. The cardiac conduction tissue and its blood supply in the dog. *Am. J. Path* 35 :467-487.
- MAGALHÃES, B.F. & FREIRE, S.A., 1945. O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 42 :243-261.
- MARSDEN, P.D. & HAGSTROM, J.W.C., 1968. Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in beagle puppies. The effects of variations in the dose and source of infecting trypanosomes and the route of inoculation on the course of the infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 62 :816-824.
- MIROWSKI, M.; LAU, S.H.; BOBB, G.A.; STEINER, C. & DAMATO, A.N., 1970. Studies on left atrial automaticity in dogs. *Cir. Res.* 26 :317-325.
- OKUMURA, M. & CORREA NETO, A., 1961. Produção experimental de "megas" em animais inoculados com *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Hosp. Clin.* (São Paulo) 16 :338-341.
- PELLEGRINO, J., 1946. O eletrocardiograma na fase crônica da doença de Chagas experimental no cão. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 44 :615-647.
- PELLEGRINO, J., 1947. O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental no cão. *Brasil-Médico* 51 :3-10.
- PICKETT, P. & SOMMER, J.R., 1960. Thirty-five mm film as mounting base and plastic spray as cover glass for histologic sections. *Arch. Path.* 69 :239-247.
- PIFANO, F.C.; ANSELMINI, A.; ALEMAN, C.; SUAREZ, J.A. & VASQUEZ, A.D., 1962. Miocardiopatia chagásica experimental. Valoración del método de investigación experimental para el estudio de las propiedades fundamentales del corazón del perro con infección chagásica aguda y crónica. *Arq. Venezol. Med.* 4 :37-62.
- PIFANO, F.C.; ANSELMINI, A.; DOMINGUEZ, A.C. & ROMERO, J.M., 1966. La electrofisiología del corazón chagásico en condiciones experimentales y su correlación con la miocardiopatia del hombre. *Rev. Venezol. San Assist. Social* 31 :91-102.
- ROSENBAUM, M.B.; ELIZARI, M.V. & LAZZARI, J.O., 1968. Los hemibloqueos. Paidós, Buenos Aires.

- SHERF, L. & JAMES, T.N., 1979. Fine structure of cells and their histologic organization within intermodal pathways of the heart: Clinical and electrocardiographic implications. *Am. J. Cardiol.* 44 :345-369.
- TAQUINI, A.C., 1942. El eletrocardiograma en la enfermedad de Chagas experimental. *Rev. Argent. Cardiol* 8 :115-121.
- VILLELA, E., 1924. Paralysie expérimentale chez le chien par le *Trypanosoma cruzi*. *Compt. Rend (Biologie)* 91 :978-983.
- WILLIAMS, G.D.; ADAMS, L.G.; YAEGER, R.G.; McGRATH, R.K.; READ, W.K. & BILDERBACH, W.R., 1977. Naturally occurring Trypanosomiasis (Chagas' disease) in dogs. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 171 :171-177.