

Alterações cutâneas do cão no Kala-Azar sul-americano *

pelo

Dr. C. Magarinos Torres

(com 12 estampas)

Segundo E. CHAGAS (1938), o Kala-Azar sul-americano é doença largamente difundida no continente. Vários casos foram verificados na zona Norte do Brasil (Estado do Pará: ilha de Marajó, vales dos rios Tocantins e Gurupi; Estados do Piauí e Ceará: costa e interior). Outros foram vistos no Nordeste do Brasil (Estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe: costa e interior; Estado da Baía: interior). Ainda outros foram notificados no Estado de Mato Grosso (Brasil), na Província de Salta e Território do Chaco (Argentina), e na zona contestada do Chaco (Paraguai-Bolívia).

Os principais sintomas constam de aumento do baço e do fígado associado a anemia secundária pronunciada. A morte sobrevem, em geral, em estado de caquexia, com sintomas de insuficiência cardíaca. Metade dos doentes é constituída por crianças com menos de dez anos de idade (CHAGAS, CASTRO & FERREIRA, 1937). Pesquisas epidemiológicas exaustivas realizadas por CHAGAS, FERREIRA, DEANE & GUIMARÃES (1938), no Município de Abaeté (Estado do Pará, Brasil) relataram a incidência de 1,48%, para a infecção natural, no homem, e de 4,49% e 2,63%, respectivamente, para a vista no cão e no gato.

A doença foi atribuída a uma nova espécie de *Leishmania*, (*L. chagasi*), por CUNHA & CHAGAS (1937). Posteriormente CUNHA (1938) afirma que o agente da Leishmaniose visceral americana é idêntico à *Leishmania infantum*. ADLER (1940) diz que, até agora, tem sido impossível distinguir *L. chagasi* da *L. infantum*, por qualquer prova de laboratório, o julgamento final, contudo, devendo ser lavrado somente depois de experiências com espécies diferentes de flebótomos.

* Recebido para publicação a 25 de março de 1941 e dado à publicidade em maio de 1941.

As alterações cutâneas, no Kala-Azar canino, tem sido estudadas por vários autores, a sua importância na transmissão da doença reconhecida por alguns deles (ADLER & THEODOR, 1931, II, CUNHA, 1938).

Ulcerações cutâneas em cães com infecção natural são relatadas por CRITIEN (1911), em Malta, por CHODUKIN & SCHEVTSCHENKO (1928), em Taschkent, por DONATIEN & LESTOCQUARD (1929) e por LESTOCQUARD & PARROT (1929), na Algeria, e por BLANC & CAMINOPETROS (1931), na Grécia.

A depilação é assinalada por YAKIMOFF & KOHL-YAKIMOFF (1911), em Tunis, por YAKIMOFF (1915), no Turkestan, e por CUNHA (1938), no Brasil. Areas eczematosas, ou uma condição descrita como "eczema furfuraceo" são mencionadas nas áreas depiladas (DONATIEN & LESTOCQUARD, 1929).

As lesões da pele estudadas por ADLER & THEODOR (1932), em cães com infecção natural pelo Kala-Azar mediterrâneo constam, essencialmente, de uma infiltração específica por macrófagos em torno dos folículos pilosos e glândulas sebáceas, e da presença de macrófagos infectados, no derma normal. O último fenômeno, e a completa ausência de infiltração secundária por células redondas e células plasmáticas, constituem a característica mais impressionante do Kala-Azar canino, diferenciando-o das infecções pela *L. tropica*. Nos estádios mais adiantados, o derma é mais celular que o de cães normais, podendo mesmo apresentar pequenas áreas de infiltração densa por macrófagos, bem como por pequeno número de células redondas e de polimorfonucleares. A seborréia e a depilação parecem, de um modo geral, proporcionais ao número de folículos pilosos afectados.

Em cães experimentalmente infectados pelo Kala-Azar sul-americano, CUNHA (1938) assinala a presença de *Leishmanias* na pele, às vezes em grande número, e a constância dessa localização parasitária. As lesões macroscópicas observadas foram depilação e seborréia, chegando, em casos extremos, à ulceração. As principais alterações microscópicas constam de infiltração do derma por células mononucleares, localizadas, principalmente, em redor dos folículos pilo-sebáceos. Folículos apresentando infiltração aparecem ao lado de outros de aspecto normal; outras vezes, quase todos os folículos apresentam intensa infiltração. Em outros casos, a infiltração se localiza no corion, sendo que, frequentemente, macrófagos parasitados são vistos logo abaixo da epiderme. Em outros casos, a infiltração se estende, uniformemente, a todo o derma. A infiltração é constituída, às vezes, principalmente, por macrófagos parasitados e isto acontece, sobretudo, quando a infiltração não é muito intensa. Quando a infiltração se torna mais intensa, aumenta o número de macrófagos não parasitados, sendo que, quando há ulceração, os macrófagos parasitados são muito raros, ou não são encontrados de todo.

MATERIAL E OBSERVAÇÕES

O material consta de 88 fragmentos de pele de cinco cães experimentalmente infectados com culturas, recentemente isoladas, de *Leishmanias* do Kala-Azar sul-americano.

Dois animais (B e C) receberam amostras isoladas de cães com infecção natural, fornecendo 41 fragmentos de pele; três (cães D, H e I), foram injetados com amostras de proveniência humana, fornecendo 47 fragmentos.

Fixador: Zenker-formol. Material incluído em parafina, usado, de preferência, o clorofórmio, como líquido intermediário.

Coloração: hematoxilina-eosina e hematoxilina-azur II-eosina (método de Maximow).

O material nos foi, gentilmente, cedido pelo Dr. Aristides Marques da Cunha, sendo o mesmo que fundamenta o seu trabalho publicado em 1938. Contudo, no presente estudo, aproveitamos, apenas, um grupo selecionado de cães, havendo excluído aqueles nos quais verificamos a sarna demodécica, em fases evolutivas capazes de modificar e perturbar o quadro histopatológico das lesões cutâneas no Kala-Azar. Não é demais insistirmos sobre o valor que apresenta esse material. Quase todas as biopsias, com efeito, foram praticadas de 15 em 15 dias, durante toda a doença experimental, ou seja, durante um período, geralmente, de dez meses.

Pensamos que o trabalho de CUNHA (1938) é o primeiro onde tal plano foi executado, permitindo um estudo, verdadeiramente, sistematizado, das lesões cutâneas no Kala-Azar.

Cão B.

Aos dois meses de idade foi inoculado, por via intraperitoneal, com uma suspensão espessa de culturas de *Leishmanias* (Kala-Azar sul-americano) em placas, segundo o método de MAYER & RAY. A amostra (a. Jolim) fora recentemente isolada de um cão com infecção natural, observado no município de Abaeté, Estado do Pará, BRASIL. Foi reinoculado quatro dias depois, com o mesmo material, e, 12 dias mais tarde, com culturas de outra amostra (a. Mangerona), isolada de outro cão com infecção natural, também proveniente do município de Abaeté.

A pesquisa de *Leishmanias* resultou positiva, em esfregaços e culturas de fígado, nos 98.º, 179.º e 290.º dias de infecção (nono-décimo mês), quando o animal morreu. Os parasitos foram encontrados em biopsias de pele praticadas nos 133.º, 150.º, 164.º, 179.º, 196.º, 213.º, 242.º, 251.º, 266.º e 284.º dias de infecção.

Os parasitos não foram encontrados, em cortes histológicos de diversas visceras (baço, fígado, pulmão, coração e cerebelo) colhidas na necrópsia, ao passo que existiam, em notável abundância, em preparados microscópicos de pele, de diversas regiões, retirados na mesma ocasião.

ALTERAÇÕES CUTÂNEAS:

73.º dia de infecção.

Tumefação dos núcleos de células do endotélio dos pequenos vasos do corium, e ligeiro aumento do número de macrófagos (1) em torno dos vasos. Nenhum parasito.

101.º dia.

Aumento do número de macrófagos, no derma. Ausência de parasitos. Em outro fragmento, edema do corpo papilar, estendendo-se à camada subpapilar; dilatação dos vasos sanguíneos, em cujo interior aparecem heterófilos aderentes às paredes. Discreta infiltração do corium por heterófilos e macrófagos. Estas últimas células são abundantes, em torno dos vasos do plexo superficial (Fig. 4). Acúmulo de macrófagos e heterófilos, na vizinhança de capilares, junto da membrana basal de uma glândula sudorípara, no hipoderma.

116.º dia.

Aumento nítido de macrófagos, na vizinhança dos pequenos vasos do corium. Ausência de *Leishmanias*.

133.º dia.

Ligeira infiltração celular do derma. Não sendo numerosos, os parasitos (*Leishmania*) são encontrados no citoplasma de macrófagos, em todos os preparados. As células parasitadas aparecem, de preferência, na vizinhança dos pequenos vasos do derma, e do retículo capilar anexo à membrana basal de glândulas sudoríparas, no hipoderma (Fig. 1).

150.º dia.

Em determinados pontos, edema das papilas e infiltração celular (heterófilos e mononucleares) do derma.

Focos de infiltração, constituídos por macrófagos, em sua maioria parasitados, e por pequeno número de heterófilos, na vizinhança dos pequenos vasos do corium. Ocasionalmente, focos semelhantes na vizinhança de glândulas sebáceas. Aparecem, por vezes, macrófagos contendo *Leishmanias*, na bainha externa, ou dérmica, de um folículo piloso, no meio de fibras colágenas, dispostas paralelamente ao folículo.

Em alguns pontos, os heterófilos são muito numerosos (processo inflamatório agudo exudativo).

164.º dia.

Numerosos macrófagos contendo *Leishmanias*, quer difundidos entre as fibras colágenas do corium, quer na vizinhança de pequenos vasos sanguíneos, de folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas. Por vezes, vinte e mais macrófagos, com notável quantidade de *Leishmanias* em seu citoplasma, aparecem juxtapostos, formando um nódulo (granuloma his-

(1) Empregamos o termo macrófago como sinônimo de "ruhende Wanderzellen" (MAXIMOW, 1927), histiocito (ASCHOFF æ KIYONO) e histocito (DOWNEY).

toicitário). Linfocitos e células plasmáticas não se associam, ordinariamente, à presença de parasitos (*Leishmania*).

Em alguns dos nódulos mencionados (granuloma histocitário), os macrófagos parasitados mostram aspectos indicando a sua transformação em células fixas do tecido conjuntivo, ou fibroblastos (Figs. 3 e 5). Dessa maneira, aparecem finas fibras, quer entre as células ao longo de seus bordos, quer representando, aparentemente, extensões de seu citoplasma (Fig. 3).

Em pequenas áreas circunscritas, edema da epiderme, mais acentuado nas camadas profundas, parakeratose, edema e infiltração do corium adjacente por heterófilos, por vezes, mesmo, ulceração da epiderme. Não existem *Leishmanias*, ordinariamente, em tais focos de reação inflamatória aguda banal.

179.º dia.

Nítido aumento de macrófagos, em torno de pequenos vasos do corium; células com *Leishmanias* não são, contudo, facilmente encontradas. Em áreas circunscritas, espongiose (mais acentuada nas camadas inferiores do epitélio), acantose e infiltração celular inflamatória (macrófagos, células ameboides migradoras), em torno dos vasos sanguíneos dilatados, sem a presença de parasitos.

Em cortes de pele da região cervical, as células contendo *Leishmanias* são numerosas, encontradas, de preferência, na vizinhança de capilares dos folículos pilosos, afastados de lesões ulcerosas. Outras vezes, as células parasitadas localizam-se na vizinhança do retículo de capilares sanguíneos anexo à membrana basal de glândulas sudoríparas, no hipoderma, e à bainha conjuntiva de glândulas sebáceas.

Em determinados pontos, ulceração da epiderme, associada à infiltração do epitélio e corpo papilar, por heterófilos. Ausência de *Leishmanias*, nessas lesões ulcerativas banais.

Em outra pequena área, acantose e pronunciada espongiose, de modo que o arranjo normal das células basilares é profundamente modificado; o epitélio, contudo, não se acha destruído. Edema e infiltração por macrófagos, na papila subjacente; nenhum parasito no infiltrado.

213.º dia.

Em preparação microscópica de pele da região cervical, aparecem macrófagos juxtapostos (granuloma histocitário), em torno de vasos do plexo profundo do corium, e de glândulas sudoríparas, no hipoderma; alguns contêm *Leishmanias*. Contudo, tais focos não são numerosos. Fora dos mencionados nódulos, os macrófagos não são aumentados de número, no tecido conjuntivo.

Área circunscrita de espongiose, infiltração celular e edema das papilas; ausência de parasitos. Fora disso, epiderme e corium normais.

Em fragmento de pele do flanco direito, nota-se, além de edema e infiltração celular das papilas, áreas numerosas, mal limitadas, extensas, de infiltração celular, na *pars reticularis*, em torno de folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas (Fig. 6). O infiltrado é formado, em sua maioria, por macrófagos em via de se transformarem em células fixas do tecido conjuntivo, muitas delas contendo grande número de *Leishmanias*. Nítida dilatação ou ectasia dos vasos linfáticos do plexo profundo (Figs. 6 e 7); quer em suas paredes, quer em sua vizinhança, grande número de macrófagos contendo *Leishmanias* (Figs. 2 e 7).

Heterófilos são vistos em alguns pontos; pequeno número de células plasmáticas, na vizinhança de capilares, dilatados, em algumas papilas; raros linfócitos. A epiderme é distendida e adelgada, mas não ulcerada.

242.º dia.

Em fragmento de pele da pata anterior direita, pronunciada infiltração celular da *pars papillaris*, porção superior da *pars reticularis*, e em torno de folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, no hipoderma. A infiltração é menos pronunciada, na porção inferior da *pars reticularis*.

Considerável dilatação dos vasos sanguíneos e linfáticos, nas papilas.

Apesar da intensa infiltração celular inflamatória, o número de *Leishmanias* é escasso.

Epiderme distendida, com desaparecimento das cristas interpapilares.

251.º dia.

Em fragmento de pele da região cervical, discreta acantose e edema da *pars papillaris*. Focos constituídos por macrófagos parasitados, dispostos lado a lado (granuloma histocitário), na porção superior do corium (Fig. 8), sendo que muitos dos macrófagos acham-se em via de se transformarem em células fixas do tecido conjuntivo.

Na *pars reticularis*, os feixes de fibras colágenas conservam arranjo normal, sendo para notar que o infiltrado celular limita-se, estritamente, à vizinhança de folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas. As células que o formam são, de modo dominante, macrófagos não infectados, a maioria tendo dimensões semelhantes a monocitos típicos do sangue, associados a pequeno número de células plasmáticas e linfócitos (Fig. 9).

No corpo papilar aparecem focos constituídos por macrófagos não infectados, também em via de se transformarem em células fixas do tecido conjuntivo; tais nódulos, em tudo o mais se assemelham aos descritos atrás, associados à presença de *Leishmanias*. São vistos, ocasionalmente, macrófagos infectados, dispersos entre os feixes conjuntivos, no derma. De um modo geral, contudo, os parasitos são escassos, neste fragmento de pele.

266.º dia.

Em fragmento de pele do abdome, nota-se pequena área de edema e infiltração celular (macrófagos), no corpo papilar. Ligeiro aumento do número de macrófagos migradores, nas papilas, e na vizinhança dos folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas. Proliferação de células conjuntivas e infiltração celular, em torno de pequeno número de folículos pilosos (perifoliculite crônica), sem a presença de *Leishmanias*.

Raros macrófagos, na vizinhança do plexo superficial, e dispersos entre os feixes conjuntivos do corium, encerram pequeno número de *Leishmanias*.

284.º dia.

Em fragmento de pele da pata anterior direita, leve edema e dilatação dos vasos sanguíneos, na porção superior do corium. Proliferação de tecido conjuntivo em torno de glândulas sudoríparas, sebáceas e folículos pilosos. Infiltrado perivascular discreto, no corpo papilar. As células mais abundantes são macrófagos, alguns contendo *Leishmanias*, outros em via de se transformarem em fibroblastos.

290.º dia (necropsia).

Foram estudados fragmentos de pele retirados de diversas regiões.

Fragmento 1: — Hiperqueratose, acantose e alongamento das papilas. Infiltração moderada por macrófagos, muitos dos quais contendo *Leishmanias*, na *pars papillaris* e na *reticularis*; a eles se associam, por vezes, linfócitos e células plasmáticas. Por vezes, o infiltrado apresenta disposição perivascular (Fig. 11).

Pequenos aglomerados de grandes células, redondas, poligonais ou irregulares (granuloma histocitário) aparecem aqui e ali, podendo conter ou não *Leishmanias*.

Proliferação de tecido conjuntivo e infiltração por células plasmáticas, sem a presença de *Leishmanias*, em torno de algumas glândulas sudoríparas.

Em dois pontos circunscritos, edema do corpo papilar e da epiderme adjacente (espongiöse), sendo modificada a disposição das células epidérmicas, na camada basilar.

Aparece, finalmente, uma pequena pústula e ulceração da epiderme, com pronunciada infiltração celular inflamatória no derma subjacente (Fig. 13). O infiltrado é formado por heterófilos, células plasmáticas e macrófagos, muitos destes contendo *Leishmanias* em seu citoplasma. Essa presença de células parasitadas não é peculiar à zona ulcerada; conforme dissemos atrás, macrófagos contendo parasitos são muito abundantes em qualquer ponto do derma, neste material.

Fragmento 2: — Vê-se cinco pequenas pústulas diferentes, uma delas em via de dessecação (Fig. 14), e duas ulceradas. Infiltração celular moderada, do derma, com distribuição perivascular, exceto na base das úlceras, onde o infiltrado é contínuo. São encontrados, com facilidade, macrófagos parasitados.

Fragmento 3: — Na *pars papillaris*, infiltração moderada por heterófilos, linfócitos e macrófagos, em sua maioria, parasitados.

Pronunciado edema, dilatação e tumefação do endotélio dos capilares, nas papilas. É possível encontrar, com facilidade, macrófagos parasitados, nas paredes desses capilares (Figuras 11 e 12).

Em outros pontos, vê-se paraqueratose, edema da epiderme (espongiöse), degenerescência vacuolar e necrose das camadas superiores da epiderme, enquanto as células basilares e das camadas vizinhas apresentam-se túmidas, com núcleos bem conservados. Nas porções em que a epiderme está atrofiada, tais lesões interessam toda a sua espessura.

Em consequência da extensa desintegração celular, na epiderme, formam-se numerosos pequenos grânulos irregulares, corados pela hematoxilina, os quais permanecem livres, nos tecidos, ou são englobados por macrófagos, simulando, grosseiramente, *Leishmanias*.

Resumindo:

Um cão, com cerca de dois meses de idade, inoculado, duas vezes, com culturas de *Leishmania* recentemente isolada de um cão com infecção espontânea pelo Kala-Azar sul-americano, inoculado, outra vez (três vezes, ao todo), com culturas de *Leishmania* também, recentemente isolada de outro cão com infecção espontânea, apresentou-se infectado (punção de fígado), no 98.º dia (terceiro mês). *Leishmanias* encontradas na pele, no 133.º dia (quarto mês).

As primeiras biopsias de pele, feitas no segundo e terceiro meses de inoculação, mostram aumento nítido de histocitos no derma (Fig. 4), especialmente na proximidade de vasos sanguíneos do plexo superficial.

Lesões inflamatórias e exudativas, da pele, constando de pequenos focos de edema do corpo papilar, com dilatação e estase de glóbulos brancos, nos capilares (Fig. 4), são reconhecíveis nessa fase inicial, quando nenhuma *Leishmania* é, ainda, revelada no tegumento cutâneo. Lesões purulentas, circunscritas, indo, às vezes, até a ulceração da epiderme (Figs. 10, 13 e 14) são, repetidamente, mencionadas no decurso da doença (nos 150.º, 164.º, 179.º, 196.º, 213.º, 266.º, 284.º e 290.º dias de infecção). Em geral não estão associadas, diretamente, às *Leishmanias*, fazendo, contudo, exceção, o material de pele retirado por ocasião da necropsia, no qual as lesões ulcerosas contem numerosos macrófagos parasitados. A notável abundância de *Leishmanias*, e a sua consequente difusão na pele constitue, aliás, detalhe impressionante nesse material.

As *Leishmanias* foram encontradas na pele, pela primeira vez, no 133.º dia (quarto mês) de inoculação. Não sendo escassas, nem, tão pouco, numerosas, aparecem no citoplasma de histocitos, tanto no derma, na vizinhança de pequenos vasos do plexo superficial ou supradérmico, como no hipoderma, em relação com os capilares das glândulas sudoríparas (Fig. 1), oriundos do plexo profundo ou subdérmico. No sétimo-oitavo meses, numerosas *Leishmanias* existem em células das paredes de vasos linfáticos com ectasia (Figuras 2 e 7). Em material de necropsia (nono-décimo mês), eram numerosos os macrófagos infectados, em paredes de capilares das papilas (Figs. 11 e 12).

Infiltração por histocitos parasitados, constituindo focos de extensão apreciável (granuloma histocitário, Fig. 8), são reconhecíveis, no derma, a partir do quinto mês de infecção. Localizam-se na vizinhança dos vasos superficiais do derma, e, ocasionalmente, no hipoderma, próximo de glândulas sudoríparas.

Variações apreciáveis na quantidade de *Leishmanias* são notadas em biopsias sucessivas. O número de parasitos é grande, na biopsia praticada no 164.º dia, aparecendo eles, também, no interior de macrófagos esparsos no tecido conjuntivo do corium. Alguns focos de infiltração histocitária mostram, então, a transformação gradual de macrófagos parasitados, em células fixas do tecido conjuntivo ou fibroblastos (Figs. 3 e 5). Os parasitos são escassos, no material colhido nos 179.º, 196.º e 213.º dias de infecção, abundantes no retirado no 231.º dia, escassos, de novo, nas biopsias feitas nos 242.º, 251.º, 266.º e 284.º dias, consideravelmente abundantes, no 290.º dia (nono-décimo mês de inoculação), em material colhido na necropsia. Tal abundância de *Leishmanias* no tegumento cutâneo contrasta, de modo singular, com a sua

ausência em cortes histológicos de diversas vísceras (baço, fígado, pulmão, coração e cerebelo) retiradas na mesma ocasião.

As lesões cutâneas mais importantes, diretamente atribuíveis às *Leishmanias* são, portanto, focos de infiltração histocitária localizados no derma e hipoderma (Fig. 8). Eles sofrem, em seguida, regressão espontânea em consequência de transformação dos histocitos em fibroblastos (Figs. 3 e 5).

A emigração atual e ativa, de monocitos do sangue, para o tecido conjuntivo da pele, é demonstrada pela infiltração celular por macrófagos com as dimensões de monocitos típicos do sangue (Fig. 9), associados a pequeno número de linfocitos e células plasmáticas, em ponto onde não existem *Leishmanias*.

A estase linfática faz parte do quadro histopatológico cutâneo, no Kala-Azar, conforme indicam as Figs. 6 e 7.

A abundância de macrófagos com *Leishmanias*, nas paredes dos capilares das papilas (Figs. 11 e 12), nas paredes de vasos linfáticos dilatados do plexo profundo, e em sua vizinhança (Figs. 2 e 7), constituem detalhes histológicos interessantes, pelas relações que poderão ter com a capacidade do cão de infectar o hospedeiro intermediário.

Cão C.

Foi inoculado, aos dois meses de idade, com o mesmo material, e nos mesmos dias que o Cão B.

Punção de fígado positiva para *Leishmanias*, no 98.º dia de inoculação. Parasitos encontrados, em biopsias de pele, praticadas nos 150.º, 179.º, 196.º, 213.º, 231.º, 242.º, 251.º, 266.º e 284.º dias de inoculação, e em pele colhida por ocasião da necropsia (297.º dia).

As *Leishmanias* não foram reveladas em cortes histológicos de baço e fígado colhidos na necropsia, existindo, geralmente em número moderado, em preparações de pele retirada de diversas regiões, a partir do 179.º dia de inoculação, persistindo até a necropsia.

ALTERAÇÕES CUTÂNEAS:

73.º dia de infecção:

Edema do corium, em áreas mais ou menos extensas, nas quais existe dilatação dos vasos sanguíneos superficiais e infiltração perivascular (macrófagos e heterófilos) (Fig. 15). Além das fibras colágenas coradas em róseo nos preparados pela hematoxilina-eosina, verifica-se, em tais áreas de edema, um delgado retículo de fibrilas coradas em azul pela hematoxilina (Fig. 15).

101.º dia.

Pequenos focos de edema e infiltração celular (macrófagos) no corpo papilar do derma. Epiderme adjacente, com leve hiperplasia e desarranjo das células do corpo mucoso de Malpighi.

Em outro fragmento, degenerescência hialina de fibras colagenas, infiltração por heterófilos e macrófagos, em torno de um folículo pilo-sebáceo. Pequena pústula. Aumento do número de histocitos, na vizinhança de pequenos vasos, na *pars papillaris* e na *reticularis*.

Em outro fragmento, vê-se uma pústula em via de dessecação. Infiltração celular (heterófilos e macrófagos) extensa do corpo papilar. Ectasia dos linfáticos superficiais.

Ainda outro fragmento mostra acentuada infiltração celular (heterófilos e macrófagos) difusa do corpo papilar, associada a ligeiro edema. Ectasia dos vasos linfáticos superficiais. Epiderme com aspecto normal.

116.º dia.

Infiltração por macrófagos, em torno de alguns folículos pilosos. Em outros, a infiltração por macrófagos associa-se a proliferação de células e fibras conjuntivas (peri-foliculite). Por vezes, o infiltrado celular atinge a bainha epitelial do pelo.

133.º dia.

Infiltração por heterófilos (micro-abcesso), em torno de um folículo pilo-sebáceo: destruição do pelo, sendo a cavidade preenchida por heterófilos.

150.º dia.

Pele sem alterações do normal.

179.º dia.

Discreta infiltração perivascular, por macrófagos, na *pars papillaris*, alguns deles contendo *Leishmanias*. Epiderme, folículos pilo-sebáceos e glândulas sudoríparas, com aspecto perfeitamente normal.

196.º dia.

A biopsia de pele foi feita em uma pata com tumefação.

Histocitos parasitados, alguns em via de se transformarem em fibroblastos, são encontrados, com facilidade, na *pars papillaris* e porção superficial da *pars reticularis*, quer na vizinhança de vasos, quer isolados. Nenhum existe na porção profunda da *pars reticularis* e no hipoderma.

Infiltração perivascular, por células ameboides migradoras do tipo monocitóide, quer no plexo superficial, quer nos ramos verticais que estabelecem comunicação com o plexo sub-dérmico. Seguindo tais vasos trajeto paralelo e vizinho ao de folículos pilosos e ao de glândulas sudoríparas, o quadro histológico semelha o de uma peri-foliculite e inflamação em torno de glândulas sudoríparas. As células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, são numerosas, mas não contem parasitos. Estes, relativamente raros, são encontrados, unicamente, no citoplasma de histocitos, acaso associados à infiltração por células do tipo monocitóide.

Outro fragmento mostra caráter mais difuso da infiltração por células amebóides, do tipo monocitóide, na vizinhança de glândulas sudoríparas.

Em outra biopsia de pele, feita na região cervical, as lesões são da mesma natureza, menos acentuadas (Figs. 16 e 17). Em consequência disso, surgem aspectos indicando que

a infiltração por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, tem início em torno de pequenos vasos que acompanham glândulas sudoríparas e folículos pilosos, estes últimos conservando estrutura normal aparente.

213.º dia.

Em fragmento de pele retirado da pata anterior esquerda, nota-se infiltração por macrófagos (histocitos), em torno dos vasos do plexo superficial do corium. Grande número de tais células contem *Leishmanias*, e apresentam um citoplasma ramificado, em continuidade com fibrilas (transformação em fibroblastos, Fig. 18). O número de células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, é diminuto. Epiderme sem alterações dignas de nota.

Em fragmento de pele da região cervical, infiltração dor células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, em torno do plexo superficial e vasos vizinhos dos folículos pilosos e glândulas sudoríparas. Histocitos encerrando *Leishmanias*, geralmente isolados e em via de se transformarem em fibroblastos, aparecem aqui e ali, próximo de vasos do plexo superficial.

231.º dia.

Em fragmento de pele retirado da pata posterior direita, nota-se disposição de macrófagos (histocitos) parasitados, muitos em via de se transformarem em fibroblastos, em torno dos vasos do plexo superficial (Figs. 19 e 20). Infiltração discreta por células plasmáticas, em torno dos vasos vizinhos de glândulas sudoríparas e folículos pilo-sebáceos.

242.º dia.

Em fragmento de pele retirado da pata anterior direita com tumefação (representada na Fig. 2, Estampa 1, do trabalho de CUNHA, 1938), nota-se dilatação considerável dos vasos do plexo superficial, com tumefação e proliferação ocasional do endotélio (capilarite). Na vizinhança imediata dos vasos do plexo sub-papilar, e, também, em torno de folículos pilo-sebáceos e glândulas sudoríparas, na *pars reticularis* e no hipoderma, nota-se infiltração considerável por macrófagos (histocitos), alguns deles parasitados. Em menor número existem, de permeio, células amebóides migradoras, do tipo monocitóide (Fig. 21), linfocitos, células plasmáticas, e, ocasionalmente, "mast-cells" histogênicas. A infiltração histocitária torna-se difusa, em certos pontos, englobando diversos folículos pilo-sebáceos vizinhos; algumas glândulas sebáceas aí contidas, mostram diminuição do número de células que as formam (atrofia por compressão). Nas áreas de infiltração celular difusa, aparecem bulbos de pelos, constituídos por numerosas células, agrupadas de modo compacto e desordenado (bulbos de pelos de substituição?). Em certos pontos das áreas com infiltração celular difusa, distingue-se células fusiformes, dispostas paralelamente, semelhando células fixas do tecido conjuntivo (fibrose).

A epiderme, não ulcerada, mostra hiperacantose e edema intersticial. O edema interessa a camada basilar e camadas do corpo mucoso de Malpighi imediatamente vizinhas. Os núcleos de tais células mostram picnose, sendo circundados por um espaço claro.

Em outro fragmento da mesma biopsia de pele, feita na pata anterior direita, com tumefação, existe infiltração difusa e uniforme, da *pars papillaris* por macrófagos (histocitos) tendo, de permeio, heterófilos e raros linfocitos. Por vezes, as células do exsudado acham-se fortemente comprimidas, mostrando contornos poliedricos (Fig. 22). Alguns histocitos encer-

ram *Leishmanias*, em seu citoplasma, mas a sua maioria não é parasitada. Vasos sanguíneos dilatados são aparentes no meio do abundante infiltrado celular. Não há necrose, nem proliferação de fibroblastos.

A epiderme local acha-se distendida, desaparecidos os brotos interpapilares, mas não ulcerada; células epidérmicas bem conservadas.

Na *pars reticularis* e no hipoderma, nota-se infiltração extensa, na vizinhança dos folículos pilo-sebáceos e glândulas sudoríparas, por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, células plasmáticas, e, ocasionalmente, "histogenous mast cells", raros heterófilos e histocitos. Células contendo *Leishmanias* são, muito raramente, encontradas em tal exsudado inflamatório.

O preparado exemplifica, assim, o contraste entre uma modalidade de infiltrado celular inflamatório, localizada no corpo papilar, no qual as células dominantes são histocitos (Figura 22), por vezes parasitados, e, em menor número, heterófilos, e outra, localizada na *pars reticularis*, em relação com os anexos da pele. Nesta segunda modalidade, os elementos dominantes são células amebóides migradoras, do tipo monocitóide (Fig. 21), e células plasmáticas; os heterófilos e histocitos são escassos, existindo, por vezes, "mast-cells" histogênicas. As *Leishmanias* são, geralmente, ausentes neste exsudado.

251.º dia.

Em fragmento de pele retirado da região cervical, a epiderme não mostra alterações dignas de referência.

Infiltração celular descontínua, da *pars reticularis* e do hipoderma. A *pars papillaris* é, geralmente, livre de exsudado. A infiltração apresenta nítida distribuição perivascular, ora comprometendo vasos do plexo sub-papilar, ora, de modo mais intenso, os ramos anastomóticos, oblíquos ou verticais, entre os plexos sub-papilar e sub-dérmico (Fig. 23). Tais ramos anastomóticos, como é sabido, localizam-se, de preferência, na proximidade de glândulas sebáceas e folículos pilosos, seguindo trajeto paralelo a estes últimos. Resulta, desse fato, que a infiltração inflamatória perivascular dos ramos anastomóticos satélites dos anexos cutâneos, simula, de certo modo, um processo inflamatório dos referidos anexos.

A constituição do exsudado inflamatório, não é uniforme.

Em alguns focos, geralmente de pequenas dimensões, as células dominantes são histocitos, associados a células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, células plasmáticas, raros heterófilos e linfócitos (Fig. 24). Alguns histocitos contêm *Leishmanias* em seu citoplasma, sendo eles, contudo, escassos.

Em outros focos, mais extensos e numerosos, existem, apenas, células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, e células plasmáticas, não existindo células com *Leishmanias*.

266.º dia.

Fragmento de pele, retirado da perna direita, mostra ligeiro edema e discreta infiltração dos histocitos, raros heterófilos e "mast-cells" histogênicas, na *pars papillaris*. Alguns histocitos, geralmente isolados, contêm *Leishmanias*, não sendo tais células raras, nem, tão pouco, numerosas.

Epiderme e demais porções do derma, sem alterações do normal.

284.º dia.

Em biopsia de pele da pata anterior direita, nota-se edema circunscrito do corpo mucoso de Malpighi; as células epidérmicas, afastadas entre si, conservam a estrutura normal dos núcleos. Edema da *pars papillaris* subjacente, associado à dilatação dos vasos, infiltração por heterófilos, e, em menor número, linfócitos e histócitos. Alguns macrófagos encerram *Leishmanias*.

Na *pars reticularis*, as lesões constam de nítida proliferação de células fusiformes (fibroblastos), na vizinhança imediata de folículos pilosos e glândulas sebáceas, associada, por vezes, a discreta infiltração por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, linfócitos e histócitos. Ausência de *Leishmanias*.

297.º dia (necropsia).

Um fragmento de pele mostra infiltração extensa da *pars papillaris* por heterófilos. Em vários pontos, os heterófilos infiltram, igualmente, a epiderme, na qual existe, ainda, edema intersticial e paraqueratose. Em determinado ponto, a epiderme acha-se inteiramente destruída (ulceração). *Leishmanias* ausentes, ao nível dessas lesões. Na *pars reticularis*, infiltração moderada por histócitos, alguns, não numerosos, parasitados, na vizinhança de folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas.

Um segundo fragmento de pele, revela ligeira infiltração por histócitos, alguns, não numerosos, parasitados, dispostos em torno do plexo sub-papilar e de glândulas sudoríparas. Epiderme normal.

Um terceiro fragmento de pele apresenta volumoso abcesso no hipoderma; ausência de *Leishmanias* nessa lesão. Em sua vizinhança imediata, intensa nova formação de vasos sanguíneos, e moderada proliferação de células fusiformes. Na epiderme, duas pequenas pústulas, nenhuma *Leishmania* sendo aí encontrada. Em redor de folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, existe moderada infiltração por histócitos, alguns, não raros, encerrando grande número de *Leishmanias*.

Um quarto fragmento de pele, mostra a epiderme normal, tendo a camada córnea grande desenvolvimento. Na *pars papillaris*, dilatação dos vasos sanguíneos e ligeiro aumento do número de histócitos. Ausência de parasitos.

Em um quinto fragmento de pele, verifica-se a presença de pústulas epidérmicas, uma delas estendendo-se para a *pars papillaris*. Infiltração por histócitos, alguns encerrando grande número de *Leishmanias*, e células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, em torno do plexo sub-papilar.

Finalmente, um sexto fragmento de pele examinado, mostra um extenso foco de infiltração celular (células fusiformes, macrófagos), com limites nítidos, situado no hipoderma, correspondendo, aparentemente, a um abcesso em via de absorção e reparação dos tecidos. Na região adjacente, nota-se atrofia de folículos pilosos e de glândulas sebáceas. Dilatação de glândulas sudoríparas, transformadas em pequenos cistos. Proliferação de fibroblastos, e discreta infiltração por macrófagos, nas proximidades de tais estruturas. Células contendo *Leishmanias* são bastante raras nessas lesões crônicas.

Resumindo:

Um cão joven (cerca de dois meses de idade), inoculado e reinoculado três vezes, com culturas de *Leishmanias* do Kala-Azar sul-americano, recentemente isoladas de dois cães com infecção espontânea, apresentou-se infectado no fim de 98 dias (três meses). *Leishmanias* encontradas na pele, no 150.º dia (quinto mês). A necropsia, feita no décimo mês, mostrou a presença de *Leishmanias*, abundantes em um fragmento de pele, ausentes ou pouco abundantes, em cinco outros, colhidos por ocasião da necropsia, ausentes no baço e no fígado.

O estudo sistemático das lesões cutâneas, a partir do 73.º dia (segundo mês) de inoculação, revela alterações circulatórias (edema e dilatação dos vasos sanguíneos) e infiltração celular (macrófagos e heterófilos), localizados na *pars papillaris* e porção vizinha da *pars reticularis*, antes, mesmo, da presença de *Leishmanias* no tecido conjuntivo cutâneo (entre o segundo e o quarto mês, Fig. 15). Já nesse primeiro período, aparece uma dermatose pustulosa e ulcerosa, a qual, apresentando remissões, persiste até a morte, por vezes associada a uma foliculite supurada.

As lesões atribuíveis ao Kala-Azar constam de aumento do número de histocitos, na *pars papillaris* e porção superficial da *pars reticularis*, os quais, a princípio, não contêm parasitos. A partir do 179.º dia (sexto mês) de inoculação, são notados histocitos parasitados, quer isolados, quer na vizinhança de vasos do plexo superficial. Já, em biopsia feita no 196.º dia, alguns histocitos parasitados mostram modificações indicativas de sua transformação em fibroblastos, bem manifestas em fases posteriores (Figs. 18, 19 e 20). O número de células parasitadas apresentou ligeiro aumento, na biopsia feita no 213.º dia de inoculação, não tendo sido, nunca, consideravel. As biopsias cutâneas quinzenais permitiram verificar uma localização cutânea persistente das *Leishmanias*, a qual durou cinco meses, desde o quinto mês de inoculação até a morte, sobrevivendo no décimo mês. Ao contrário disso, a infecção do fígado teve caráter transitório: verificada no terceiro mês (punção do órgão), não mais existia no fígado e baço do cadaver (décimo mês de inoculação).

A partir do 196.º dia (seis meses e meio), além da infiltração histocitária relacionada, diretamente, com a presença de *Leishmanias*, verifica-se uma infiltração perivascular por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, quer no plexo superficial (Fig. 21), quer nos ramos verticais, que estabelecem comunicação com o plexo sub-dérmico (Fig. 23). Seguindo, tais vasos, trajeto paralelo e vizinho ao do folículos pilosos e ao de glândulas sudoríparas, o quadro histológico semelha o de uma perifoliculite e inflamação em torno das glândulas sudoríparas. Células parasitadas são ausentes, em tal tipo de lesão. Nítida proliferação de células fusiformes (fibroblastos), em redor de folículos

pilosos e glândulas sebáceas é notada, em fragmentos de pele colhidos no nono mês, e por ocasião da necropsia (décimo mês).

Este animal apresentou a tumefação das patas (representada na Fig. 2, Estampa 1, do trabalho de CUNHA, 1938), referida por vários autores, quer no *hamster*, quer no cão infectados pelos agentes do Kala-Azar mediterrâneo e sul-americano. As lesões microscópicas, nas patas tumefatas, constam de edema e de infiltração celular, particularmente intensa, do derma. Em virtude de compressão, os histocitos apresentam contornos poliédricos, em certos campos microscópicos (Fig. 22). No corpo papilar, as células dominantes são histocitos, por vezes, parasitados, e, em menor número, heterófilos. Na *pars reticularis*, onde os parasitos são, geralmente, ausentes, o infiltrado, em relação com os anexos da pele, é constituído, de modo dominante, por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, por células plasmáticas, e, ocasionalmente, por "mast-cells" histogênicas.

Em suma, além do infiltrado celular dérmico, predominantemente histocitário, em relação direta com as *Leishmanias*, o qual sofre uma regressão espontânea, por transformação dos macrófagos em fibroblastos, este cão apresentou um infiltrado celular dérmico (células amebóides migradoras, do tipo monocitóide), relacionado com os anexos da pele, e, bem assim, uma dermatite pustulosa e ulcerosa, e foliculite supurada, remitentes.

A migração, contínua ou periódica, de células sanguíneas para os tecidos conjuntivos da pele, manifesta-se pela ocorrência, em períodos diversos da infecção (196.º, 213.º, 242.º, 251.º dias), de infiltração por linfocitos e por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide (Figs. 16, 17 e 21). Dispõe-se elas, em torno do plexo superficial e dos ramos verticais que estabelecem comunicação com o plexo sub-dérmico (Figs. 23 e 24).

Alguns aspectos sugerem a transformação ocasional, do infiltrado por células amebóides migradoras, em granuloma histocitário (Figs. 21 e 22).

Cão D.

Inoculado, por via intra-peritoneal, aos dois meses de idade, com culturas em placa, de *Leishmanias* isoladas de um caso humano de Kala-Azar sul-americano (doente Braulino), sendo reinoculado, com o mesmo material, 6, 17 e 21 dias depois da primeira inoculação.

Punção de fígado, positiva, para *Leishmanias*, no 216.º e 239.º dias. *Leishmanias* (muito raras), encontradas em biopsia de pele, no 255.º dia, sendo muito raras, em preparados microscópicos de pele, raros, em esfregaços de baço e de fígado, abundantes nos de medula óssea, feitos por ocasião da necropsia (300.º dia).

Necropsia: — Cão adulto, de pelo curto, sem raça determinada, do sexo masculino, medindo 55 cms. de comprimento, pesando 5,500 grs. Tegumento cutâneo com aspecto normal, nenhuma modificação sendo notada nos pelos. Conjuntivas pálidas, córneas transparentes,

pupilas igualmente dilatadas. Não há tumefação das patas. Ao corte, gordura subcutânea e do epiploon, moderadamente desenvolvida. Peritônio liso, úmido e brilhante. Gânglios linfáticos inguinais, de volume normal, mesentérico e lombares, moderadamente aumentados de volume. Os lobos inferiores de ambos os pulmões, são aumentados de volume, com a superfície de cor violácea escura. A crepitação é abolida, os tecidos tendo consistência algo semelhante à do fígado. Superfície do corte, de cor violácea, sendo o conteúdo de ar abolido. A pleura, nos lobos superiores de ambos os pulmões, apresenta extensas áreas, de cor vermelha viva. Baço mede, sobre a convexidade, 13 x 5 x 1 cms., pesando 35 grs. A sua superfície é irregular, notando-se áreas de contornos irregulares, distintamente abauladas e salientes, na superfície do órgão, embora a sua coloração não seja diferente da do tecido esplênico circunvizinho. Superfície do corte, de cor violácea escura, seca. Polpa não difluente. Tecido conjuntivo, não aumentado. Fígado pesa 230 grs., sem alterações macroscópicas. Ambos os pulmões pesam 255 grs. Um dos rins pesa 35 grs. *Diagnóstico anatômico:* — Pneumonia lobar dos lobos inferiores de ambos os pulmões. Petéquias na pleura.

ALTERAÇÕES CUTÂNEAS:

94.º dia de infecção.

Edema circunscrito do derma, e infiltração perivascular descontínua, do plexo sub-dérmico, por histocitos não contendo *Leishmanias*.

122.º dia.

Aumento discreto de macrófagos (histocitos), não parasitados, em torno do plexo sub-dérmico, em pontos circunscritos.

137.º e 220.º dias.

Pele sem alterações do normal.

299.º dia.

Em vários fragmentos de pele da pata anterior direita e do flanco direito, não são encontradas alterações microscópicas.

255.º dia.

Cortes histológicos de pele da região cervical, mostram aspecto normal.

272.º dia.

Em fragmento de pele do flanco direito, não existem alterações microscópicas.

287.º dia.

Em cortes histológicos de pele da região cervical, não foram encontradas lesões microscópicas.

300.º dia (necropsia).

Pele: estrutura dos tecidos normal, em fragmentos retirados das quatro patas. *Pulmão*: pneumonia lobar. *Testículo e suprarrenal*: sem alterações microscópicas do normal. *Gânglio linfático*: linfadenite aguda catarral. Ausência de *Leishmanias*. *Baço*: esplenite aguda; pequenas hemorragias, na polpa vermelha; ausência de *Leishmanias* em exame não exaustivo. *Medula óssea*: contem numerosas células (proliferação hiperplásica), sendo encontrado grande número de *Leishmanias*, no citoplasma de macrófagos, mais frequentemente, livres no parenquima, em células do retículo, e, ocasionalmente, em células que revestem a parede dos seios venosos ("Ufferzellen").

Resumindo:

Um cão, com cerca de dois meses de idade, inoculado e reinoculado, quatro vezes, com culturas de *Leishmanias* isoladas de um caso humano de Kala-Azar sul-americano, só se mostrou infetado, no fim de sete meses.

A infecção, verificada pela punção e cultura do fígado, no sétimo e oitavo meses, e por biopsia de pele, aos oito meses e meio, foi pouco intensa. A morte sobreveio, no décimo mês, em consequência de doença infectuosa intercorrente (pneumonia lobar). Dentre os órgãos, por essa ocasião examinados, apenas a medula óssea continha *Leishmanias*, as quais eram numerosas. Os parasitos eram raros, em cortes histológicos de pele, e em esfregaços de baço e fígado.

Lesões cutâneas só foram encontradas, no terceiro e quarto meses de infecção, constando de edema circunscrito do derma e de infiltração perivascular, descontínua, do plexo sub-dérmico, por macrófagos (histocitos) não parasitados.

Nenhuma alteração do normal apresentou a pele examinada aos quatro meses e meio, sete, oito, oito e meio, nove, nove e meio e dez meses (necropsia).

Os parasitos foram encontrados na pele, após exame exaustivo, ocupando o citoplasma de macrófagos isolados, a sua presença não sendo associada a lesão microscópica digna de nota.

Cão H.

Com cerca de dois meses de idade, foi inoculado, por via intraperitoneal, com cultura de primeira passagem, de *Leishmanias* isoladas de caso humano (Florisvaldo) de Kala-Azar sul-americano, com duas passagens pelo *hamster*. Reinoculado com a mesma amostra (culturas em tubo, segunda, terceira, quarta, sexta e sétima passagens, e cultura em placa), 7, 14, 28, 33, 38, 42 e 46 dias depois da primeira inoculação.

Punção de medula óssea positiva, para *Leishmanias*, no 148.º, 163.º, 177.º e 194.º dias de inoculação. A pesquisa de *Leishmanias* foi, sempre, negativa, em punções de fígado praticadas nos 105.º, 120.º, 133.º, 148.º, 163.º e 177.º dias, e em biopsias de pele, nos 105.º,

120.º, 133.º, 148.º, 163.º, 194.º, 211.º, 226.º, 246.º e 290.º dias de inoculação. Ausência de *Leishmanias* em preparação microscópicas de pele, baço, fígado, medula óssea, gânglio linfático e rim, retirados por ocasião da necrópsia (310.º dia).

Sacrificado quando o estado geral fazia prever a morte em breve tempo.

Necropsia (no décimo mês de inoculação): Animal adulto, do sexo masculino, em relativo bom estado de nutrição, pesando 7,600 grs. Pele glabra, com perda de pelos e descamação (sarna), na região dorsal. Os fragmentos para estudo microscópico foram retirados de porções de pele onde os pelos conservam distribuição normal aparente. Aberta a cavidade peritoneal, aí se encontra livre, um Nematódio, de dimensões e aspecto semelhantes aos de um *Ascaris* adulto. Pulmões arejados, pesando, ambos, 66 grs., com raras petéquias na pleura. Nenhum helminto no interior das cavidades cardíacas. Baço e fígado, sem alterações do normal, pesando, o primeiro, 54 grs., e o segundo, 530 grs. Na superfície de ambos os rins, pequenos nódulos esbranquiçados, em relação aparente com a cápsula do órgão. Peso do rim esquerdo, 34 grs., do direito, 31 grs. Gânglios linfáticos axilares volumosos, mostrando, ao corte, a arquitetura conservada.

ALTERAÇÕES CUTÂNEAS:

105.º dia de infecção.

Infiltração celular e proliferação conjuntiva, em torno de um folículo piloso. Ectasia de glândulas sudoríparas.

120.º dia.

Dilatação dos vasos sanguíneos do plexo sub-papilar, e estase de heterófilos em sua luz. Edema do derma circunvizinho e infiltração por histocitos não parasitados.

133.º dia.

Sem alterações no normal.

148.º dia.

Proliferação conjuntiva, discreta, em torno de alguns folículos pilosos e glândulas sudoríparas. Dilatação dos vasos sanguíneos do plexo sub-papilar, e discreta infiltração histocitária perivascular. Ausência de *Leishmanias*.

163.º dia.

Em pele da pata, focos de infiltração por heterófilos e formação de fibrina, na vizinhança de glomérulos sudoríparos, no hipodérma. Alguns desses pequenos abscessos, contêm um Acarino não identificado. Transformação da bainha epitelial de um pelo em tecido fibroso; calcificação do material contido no interior do respectivo folículo piloso. Edema do corpo papilar, infiltração mononuclear discreta, e edema intersticial da epiderme regional, em áreas circunscritas.

Em pele do pescoço, proliferação conjuntiva em torno de folículos pilosos e glândulas sebáceas. Acarino não identificado, no interior de uma glândula sebácea. Ausência de *Leishmanias*.

177.º dia.

Em pele do pescoço, proliferação conjuntiva e infiltração celular inflamatória, na vizinhança de alguns folículos pilosos. Nódulos constituídos por células epitelióides, encerrando, em sua parte central, um Acarino não identificado.

A pele da pata anterior mostra proliferação conjuntiva conduzindo à formação de anel fibroso descontínuo, em torno de um folículo piloso, em cujo interior aparece um Acarino não identificado. Isolados, no derma, nódulos formados por células gigantes e células epitelióides. Pequeno abscesso intraepidérmico, encerrando Acarino não identificado. No centro de nódulo inflamatório, constituído por células epitelióides e células gigantes, *Demodex canis* cortado longitudinalmente. Ausência de *Leishmanias*.

194.º dia.

Em pele do pescoço, proliferação conjuntiva dando lugar à formação de anéis conjuntivos descontínuos, em torno de alguns folículos pilosos. Cortes longitudinais e transversais de vários *Demodex canis*, na cavidade dilatada de folículos pilosos. Na pata anterior, microabscesso, na *pars reticularis*, com Acarino no centro. Ausência de *Leishmanias*.

211.º dia.

Em pele da pata, diversos exemplares de *Demodex canis*, no interior de numerosos folículos pilosos, por vezes interpostos entre a bainha epitelial e o pelo ainda conservado. Granuloma inflamatório e Acarino, na cavidade de folículo piloso, cujas bainhas epiteliais estão atrofiadas e destruídas. Infiltração por macrófagos, e moderada proliferação de fibroblastos, nos glomérulos sudoríparos. Epiderme com espesura normal. Pesquisa negativa de *Leishmanias*.

226.º dia.

Na pata anterior esquerda, diversos *Demodex canis* no interior de grande número de folículos pilosos. Ectasia de glomérulos sudoríparos. Infiltração por macrófagos e proliferação conjuntiva descontínua, em torno de alguns folículos pilosos. No derma, diversos pequenos nódulos, constituídos por células epitelióides e células gigantes de corpo estranho (estrutura tuberculóide da reação inflamatória). Em alguns deles, Acarino em via de reabsorção. No flanco direito, o número de folículos pilosos contendo Acarinos, é um pouco menor; em torno de alguns, infiltração por macrófagos e heterófilos. Ausência de *Leishmanias*.

246.º dia.

Na pele da pata anterior esquerda, e na da região cervical, cerca de 50% dos folículos pilosos abrigam *Demodex canis*, sendo encontradas as lesões habituais da sarna demodécica. Em um preparado de pele da pata, infiltração perivascular do plexo sub-papilar por células plasmáticas. Ausência de *Leishmanias*.

280.º dia.

Na pele da pata e na do flanco, lesões intensas de sarna demodécica, tais como aparecem em fase adiantada da doença (abscessos, no derma, pseudo-folículos tuberculosos con-

tendo o Acarino, etc.) Infiltração perivascular por células plasmáticas. Ausência de *Leishmanias*.

310.º dia (necropsia).

Pele: Diversos *Demodex canis* no interior de numerosos folículos, na pele da face dorsal de uma pata, e na da região cervical. Em torno deles, proliferação de tecido conjuntivo, e infiltração celular inflamatória, com predominância de células plasmáticas. Ausência de *Leishmanias*.

Rim: Nódulo inflamatório, encerrando Helminto não identificado.

Medula óssea: Hiperplasia celular. Ausência de *Leishmanias*.

Baço: Hiperplasia de folículos linfóides, e da polpa vermelha. Numerosas células gigantes multinucleadas. Ausência de *Leishmanias*.

Fígado: Pequenos focos de necrose de células hepáticas, e de infiltração mononuclear circunscrita. Ausência de *Leishmanias*.

Gânglio linfático: Linfadenite aguda catarral. Ausência de *Leishmanias*.

Resumindo:

Um cão, com cerca de dois meses de idade, foi inoculado, repetidas vezes, com culturas de *Leishmanias* isoladas de um caso humano, de Kala-Azar sul-americano, com duas passagens pelo *hamster*. Veio a morrer, de sarna demodécica, no décimo mês de inoculação.

A infecção pela *Leishmania* foi positivada, em esfregaços de medula óssea, praticados durante o quinto e sexto meses de inoculação. Ela mostrou-se contudo, discreta e passageira, de modo que a pesquisa de *Leishmanias*, em dezoito fragmentos de pele, retirados no decurso da infecção, e em fragmentos de pele e de vísceras, colhidas por ocasião da necropsia, resultou negativa.

Lesões de sarna demodécica, progressivamente mais intensas, foram verificadas, desde o quinto mês de inoculação.

Nenhuma alteração cutânea, atribuível à leishmaniose, pode ser evidenciada.

Cão I.

Tendo cerca de dois meses de idade, foi inoculado e reinoculado com idêntico material, e nas mesmas datas que o cão H.

Punção de medula óssea positiva, para *Leishmanias*, no 215.º dia de inoculação. A pesquisa de *Leishmanias* mostrou-se negativa, em punções de fígado praticadas nos 105.º, 120.º, 133.º, 148.º, 163.º, e 177.º dias, em punções de medula óssea, nos 133.º, 148.º, 163.º, 177.º e 194.º dias, e em biopsia de pele, nos 105.º, 120.º, 133.º, 148.º, 163.º, 194.º, 211.º, 226.º, 246.º e 280.º dias de inoculação. Foi, igualmente, negativa, em preparações microscópicas de pele, baço, fígado, medula óssea e rim, retirados por ocasião da necropsia.

O animal pesava 2.500 grs., seis meses após a inoculação.

Sacrificado, agonizante, no 306.º dia (décimo mês) de inoculação.

Necropsia: Animal adulto, do sexo masculino, emagrecido, pesando 3.600 grs. Pele recoberta por crostas, mostrando extensas áreas depiladas (sarna). Pelos conservados nas regiões de onde foram retirados fragmentos para exame microscópico. Baço pesando 24 grs., flácido, deformando-se quando mantido em plano horizontal, por uma pinça presa em uma de suas extremidades. Superfície do corte violácea, brilhante, seca, sendo os folículos linfóides volumosos, bem reconhecíveis. Fígado pesando 225 grs., sem alterações do normal. Os pulmões, reunidos, pesam 47 grs., mostrando pequenas áreas de cor violácea, em sua superfície. Rins pesam 17 grs., cada um; em ambos aparecem pequenos nódulos, do tamanho de uma cabeça de alfinete e um pouco maiores, visíveis, quer na superfície do órgão, através da cápsula, quer na superfície do corte, na camada cortical. Parênquima renal, de cor vermelha-escura.

ALTERAÇÕES CUTÂNEAS:

105.º dia de infecção.

Pele do flanco direito, sem alterações do normal.

120.º dia.

Pele da região cervical, sem alterações do normal.

133.º dia.

Na pele da região cervical, proliferação conjuntiva na vizinhança de alguns folículos pilosos.

148.º dia.

Na pele da região cervical, pelos destruídos em alguns folículos pilosos, cuja cavidade, dilatada, é preenchida por células descamadas. Proliferação conjuntiva, na vizinhança de alguns.

163.º dia.

Na pele da região cervical, acúmulo de heterófilos, na cavidade dilatada de um folículo piloso que contém Acarino não identificado; adelgaçamento e destruição parcial da bainha epitelial. Proliferação conjuntiva e infiltração mononuclear, na vizinhança de outros folículos pilosos.

177.º dia.

Em pele da região cervical, proliferação conjuntiva em torno de alguns folículos pilosos.

194.º dia.

Em pele da região cervical, diversos exemplares de *Demodex canis*, na cavidade dilatada de alguns folículos pilosos; proliferação conjuntiva, em torno de alguns.

211.º dia.

Em pele da pata, nódulos formados por células epitelióides, células gigantes e heterófilos (pseudo-tuberculos), na vizinhança de folículos pilosos. Diversos exemplares de *Demodex canis*, na cavidade dilatada de muitos folículos pilosos. Proliferação conjuntiva e infiltração mononuclear, em torno de vários folículos pilosos.

226.º dia.

Em pele da pata anterior esquerda, nódulos constituídos por células epitelióides, células gigantes e heterófilos, na vizinhança de quase todos os folículos pilosos, associados a proliferação de fibroblastos e infiltração mononuclear. *Demodex canis* na cavidade dilatada de alguns folículos pilosos. Na *pars reticularis*, os folículos pilo-sebáceos, com processo inflamatório crônico a eles intimamente associado, contrastam com zonas intermediárias, livres de inflamação.

Em pele do flanco direito, nódulos inflamatórios (pseudo-tubérculos) anexos a diversos folículos pilosos. *Demodex canis* na cavidade dilatada de alguns folículos pilosos.

246.º dia.

Em fragmentos de pele da pata anterior direita e do lado direito da região cervical, proliferação de células epitelióides e de fibroblastos. infiltração por heterófilos em torno de folículos pilosos, em cuja cavidade dilatada existem diversos exemplares de *Demodex canis*.

280.º dia.

Na pele da pata, além de proliferação de fibroblastos e células epitelióides, e, também, infiltração por heterófilos em torno de folículos pilosos com *Demodex canis*, verifica-se infiltração (moderada) por células plasmáticas.

Lesões semelhantes, em pele do flanco direito.

306.º dia (necropsia).

Pele: Fragmentos de pele, provenientes de várias regiões, mostram as lesões características da sarna demodécica, descritas nos exames anteriores. Pesquisa de *Leishmanias*, negativa.

Medula óssea: Hiperplasia de células, tanto da série branca, como da vermelha. Ausência de *Leishmanias*. *Rim*: Pequenos focos de infiltração celular inflamatória, em torno de um Nematódio.

Baço e fígado: Pesquisa negativa de *Leishmanias*.

Resumindo:

Um cão, com cerca de dois meses de idade, inoculado e reinoculado com culturas de *Leishmanias* isoladas de caso humano de Kala-Azar sul-americano, com duas passagens pelo *hamster*, apresentou infecção pouco intensa, e de curta duração, positivada por uma única punção de medula óssea, praticada

sete meses depois da inoculação. A pesquisa de *Leishmanias* foi negativa, em cinco outras punções de medula óssea, em seis punções de fígado, em quatorze biopsias de pele feitas desde o terceiro até o nono mês de inoculação, e em preparações microscópicas de pele, baço, fígado e medula óssea retiradas de material de necropsia, no décimo mês.

Nenhuma lesão cutânea atribuível ao Kala-Azar, foi verificada.

Entre o quarto e o quinto mês, surgiram lesões cutâneas de sarna demodéica. O *Demodex canis* foi identificado, em biopsias feitas no sexto mês. As lesões tornaram-se, progressivamente, mais intensas até a morte.

CONCLUSÕES

1.^a — As lesões cutâneas diretamente produzidas, no cão, pelos parasitos do Kala-Azar sul-americano, constam de infiltração do derma (*pars papillaris* e porção superficial da *pars reticularis*) por histocitos. Tais células contêm, a princípio, pequeno número de *Leishmanias*, em seu citoplasma. Mais tarde, o número de células parasitadas, e a quantidade de parasitos contidos em cada célula, aumentam consideravelmente.

Não é raro disporem-se os histocitos, parasitados ou não, lado a lado, constituindo um nódulo conspícuo no derma (granuloma histocitário).

O granuloma histocitário (Figs. 8 e 22) localiza-se em torno dos capilares da *pars papillaris* e das glândulas sudoríparas, dos vasos do plexo superficial ou supradérmico, e dos ramos comunicantes verticais entre o plexo superficial e o sub-dérmico.

2.^a — Algumas das alterações cutâneas do cão, no Kala-Azar sul-americano, apresentam caráter transitório e tendência natural para regressão completa, sem acarretarem lesões permanentes dignas de nota.

A regressão natural se efetua pela transformação progressiva dos histocitos, parasitados ou não, em células fixas do tecido conjuntivo. A *evolução fibroblástica do granuloma histocitário leishmaniotico* é bem exemplificada nas Figs. 3, 5, 18, 19 e 20.

3.^a — As lesões cutâneas, diretamente produzidas pelas *Leishmanias* não ocorrem, simultaneamente: a mesma fase evolutiva da lesão sobrevem em períodos diferentes de evolução da doença.

Assim, a transformação de histocitos parasitados em fibroblastos, indicando a regressão do granuloma histocitário, é verificada, no cão C, tanto em biopsia, feitas no 196.^o dia de infecção, como nas realizadas nos 213.^o (Figura 18) e 231.^o dias (Fig. 19).

4.^a — No Kala-Azar experimental do cão observa-se uma inundação do tecido conjuntivo da pele, por células oriundas do sangue (monocitos e linfocitos), além de multiplicação *in-loco*, de células próprias do tecido conjuntivo.

Tal migração é verificada já, nas primeiras semanas da infecção experimental, quando nenhuma *Leishmania* é, ainda, encontrada na pele (fase prodrômica). Traduz-se, histologicamente, por aumento do número de células do tecido conjuntivo da pele, especialmente as “*ruhende Wanderzellen*” (Figs. 4 e 15).

A migração prossegue, de modo contínuo ou periódico, durante toda a doença experimental. Revela-se, no ponto de vista morfológico, por infiltração de células amebóides migradoras, com dimensões semelhantes às de monocitos típicos do sangue (Fig. 21), associada a pequeno número de linfocitos e células plasmáticas (Figs. 9, 17, 21 e 24), em torno do plexo superficial, e dos ramos verticais que estabelecem comunicação com o plexo sub-dérmico (Figs. 17, 23 e 24).

A circulação, mais lenta, observada nesses territórios vasculares, é provavelmente, responsável por tal localização.

5.^a — Histocitos contendo *Leishmanias* são achados, de preferência, na vizinhança de capilares do corpo papilar (Figs. 11 e 12), na do retículo capilar anexo à membrana basal de glândulas sudoríparas (Fig. 1), e à bainha conjuntiva de glândulas sebáceas, na dos capilares próximos da bainha externa ou dérmica de folículos pilosos, na dos ramos do plexo superficial ou supradérmico, e ramos comunicantes verticais, entre os plexos supradérmico e sub-dérmico.

6.^a — As diferenças notadas na quantidade de *Leishmanias* achada nos fragmentos de pele dependem, até certo ponto, do estágio da doença. Contudo, entram, ainda, em causa, variações locais, o que se torna aparente quando praticado o estudo sistematizado das lesões cutâneas (v. Cão B, biopsias feitas nos 231.^o e 242.^o dias).

7.^a — Os cães com infecção experimental pelo Kala-Azar sul-americano são sujeitos a uma dermatite vésico-pustulosa e ulcerosa recidivante (Figs. 13 e 14), aparentemente não relacionada, de modo direto, com os parasitos do Kala-Azar.

Também, sem relação direta com o Kala-Azar, são a foliculite aguda supurada e perifoliculite ocasionalmente assinaladas.

8.^a — No Kala-Azar sul-americano experimental, a infecção cutânea por *Leishmanias* aparece mais tardiamente que a do fígado e a do baço, oferecendo, contudo, longa persistência (seis meses, do quarto ao décimo, no cão B, cinco meses, do quinto ao décimo, no cão C) (v. CUNHA, 1938).

Em alguns cães, inoculados com *Leishmanias* isoladas do cão com infecção natural, necropsiados ao cabo de dez meses de doença, as *Leishmanias* não eram mais encontradas nos tecidos reticulados do baço e gânglios linfáticos, e, mesmo, em células fagocitárias do fígado, ao passo que se mostraram abundantes no tecido conjuntivo da pele.

Assim, a infecção cutânea, no Kala-Azar sul-americano experimental, produzido por amostras provenientes de cães com a doença natural, sendo mais tardia que a do aparelho retículo-endotelial do baço, medula óssea, gânglios linfáticos e fígado, é constante e mais duradoura.

Em cães inoculados com *Leishmanias* isoladas de casos humanos de Kala-Azar sul-americano, as lesões cutâneas, atribuíveis ao Kala-Azar, foram discretas e transitórias, encontradas, apenas, nos primeiros meses de infecção, em um animal, inteiramente ausentes, em dois outros.

Isso confirma que a infecção experimental foi fugaz, nos cães inoculados com amostras isoladas do homem, conforme se depreende da leitura do trabalho de CUNHA (1938).

9.^a — Em um dos cães que apresentou a tumefação das patas referidas, pelos autores, no Kala-Azar, as lesões microscópicas constam de edema e de infiltração celular considerável do derma. Em virtude da notável distensão dos tecidos, os macrófagos, comprimidos, apresentam, em certas áreas, contornos poliédricos (Fig. 22). No corpo papilar, as células dominantes são histocitos, por vezes, parasitados e em menor número, heterófilos. Na *pars reticularis*, onde as *Leishmanias*, geralmente, não existem, o infiltrado, em relação com os anexos da pele, é constituído, principalmente, por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide (Fig 21), por células plasmáticas e, ocasionalmente, por “mast-cells” histogênicas.

10.^a — A estase linfática faz parte do quadro histopatológico das manifestações cutâneas, no Kala-Azar sul-americano (Figs. 2, 6 e 7). A abundância de células com *Leishmanias*, nas paredes dos linfáticos cutâneos em ectasia (Figs. 2, 6 e 7), e em seus arredores, constitue detalhe histológico de importância. Com efeito, ele justifica a possibilidade de células parasitadas se encontrarem na linfa contida nos espaços linfáticos celulares e nos plexos linfáticos cutâneos, e serem, assim, sugadas pelo hematófago transmissor.

Outras verificações histológicas interessantes a citar, relacionadas com a epidemiologia, são a abundância de células com *Leishmanias*, nas próprias paredes dos capilares da *pars papillaris* (Figs. 11 e 12), e a longa persistência da infecção cutânea.

ABSTRACT

According to E. CHAGAS (1938), South-American Kala Azar is a widespread disease from the jungle, several cases being reported from North Brazil (Estado do Pará: Marajó Island, Tocantins and Gurupi river valleys; Estados do Piauí and Ceará: coast and hinterland). Other cases were found in Northeast Brazil (Estados de Pernambuco, Alagoas and Sergipe: coast and hinterland; Estado da Bahia: hinterland). A few cases were described from Estado de Mato-Grosso (Brazil), Provincia de Salta and Territorio do Chaco (Argentine), and Zona contestada do Chaco (Paraguai-Bolivia).

A well defined secondary anemia associated with enlargement of the liver and spleen are the chief symptoms. Death usually occurs in cachexia and with symptoms of heart failure. Half the patients were children aged less than ten years (CHAGAS, CASTRO & FERREIRA, 1937). Quite exhaustive epidemiological researches performed by CHAGAS, FERREIRA, DEANE, DEANE & GUIMARÃES (1938) in Municipio de Abaeté (Estado do Pará, Brazil) gave the incidence of 1.48% for the natural infection in human, 4.49% in dogs, and 2.63% in cats.

The infection was ascribed (CUNHA & CHAGAS, 1937) to a new species of *Leishmania* (*L. chagasi*). Latter CUNHA (1938) state, that it is identical to *L. infantum*. ADLER (1940) found that so far it has been impossible to distinguish *L. chagasi* from *L. infantum* by any laboratory test but a final judgment must be reserved until further experiments with different species of sandflies have been carried out.

Skin changes in canine Kala Azar were signaled by many workers, and their importance as regards the transmission of the disease is recognized by some of them (ADLER & THEODOR, 1931, 2, CUNHA, 1933).

Cutaneous ulcers in naturally infected dogs are referred by CRITIEN (1911) in Malta, by CHODUKIN & SCHEVTSCHENKO (1928) in Taschkent, by DONATIEN & LESTOCQUARD (1929) and by LESTOCQUARD & PARROT (1929) in Algeria, and by BLANC & CAMINOPETROS (1931) in Greece.

Depilation is signaled by YAKIMOFF & KOHL-YAKIMOFF (1911) in Tunis, by YAKIMOFF (1915) in Turkestan. Eczematous areas or a condition described as "eczema furfurace" is sometimes noted in the areas of depilation (DONATIEN & LESTOCQUARD).

The skin changes noticed by ADLER & THEODOR (1932) in dogs naturally infected with Mediterranean Kala Azar can be briefly summarized as a selecti-

ve infiltration of macrophages around hair follicles including the sebaceous glands and the presence of infected macrophages in normal dermis. The latter phenomenon in the complete absence of secondary infiltration of round cells and plasma cells is the most striking characteristic of canine Kala Azar and differentiates it from *L. tropica*.

In the more advanced stages the dermis is more cellular than that of normal dogs and may even contain a few small dense areas of infiltration with macrophages and some round cells and polymorphs. The external changes, *i. e.*, seborrhea and depilation are roughly proportional to the number of affected hair follicles.

In dogs experimentally infected with South-American Kala Azar the parasites were regularly found in blocks of skin removed from the living animal every fortnight (CUNHA, 1938). The changes noticed by CUNHA, besides the presence of *Leishmania*, were perivascular and diffuse infiltration of the cutis with mononuclears sometimes more marked near hair follicles, as well as depilation, seborrhea and ulceration. The parasites were first discovered and very numerous in the paws.

Our material was obtained from dogs experimentally infected by Dr. A. MARQUES DA CUNHA, and they were the subject of a previous paper by CUNHA (1938). In this study, however, several animals were discarded as it was found that they did develop a superimposed infection by *Demodex canis*.

This paper deals with the changes found in 88 blocks of skin removed from five dogs, two infected with two different canine strains, and three with two distinct human strains of South-American Kala Azar.

CUNHA's valuable material affords serial observations of the cutaneous changes in Kala Azar as most of the blocks of skin were taken every fortnight.

The following conclusions were drawn after a careful microscopic study.

(1) Skin changes directly induced in the dog by the parasites of South-American Kala Azar may be described as an infiltration of the corium (*pars papillaris* and upper portion of the reticular layer) by histocytes. Parasites are scanty, at first, latter becoming very numerous in the cytoplasm of such cells.

Sometimes the histocytes either embedding or not leishman bodies appear as distinct nodes of infiltration or cell aggregations (*histocytic granuloma*, Figs. 8 and 22) having a perivascular distribution. The capillary loops in the papillae, the vessels of the sweat glands, the subpapillary plexus, the vertical twigs connecting the superficial and deep plexuses are the ordinary seats of the histocytic Kala Azar granulomata.

(2) Some of the cutaneous changes are transient, and show spontaneous tendency to heal. A gradual transformation of the histocytes either containing or not leishman bodies into fixed connective tissue cells or fibroblasts occur and accounts for the natural regression just mentioned. Figs. 3, 5, 18, 19 and 20 are good illustrations of such *fibroblastic transformation of the histocytic Kala Azar granulomata*.

(3) Skin changes induced by the causative organism of South-American Kala Azar are neither uniform nor simultaneous. The same stage may be found in the same dog in different periods of the disease, and not the same changes take place when pieces from several regions are examined in the same moment. The fibroblastic transformation of the histocytic granulomata marking the beginning of the process of repair, e. g., was recognised in dog C, in the 196th as well as in the 213rd (Fig. 18) and 231st (Fig. 19) days after the inoculation.

(4) The connective tissue of the skin in dogs experimentally infected with South-American Kala Azar is overflowed by blood cells (monocytes and lymphocytes) besides the proliferation *in situ* of undifferentiated mesenchymal cells. A marked increase in the number of cells specially the "ruhende Wanderzellen" (Figs. 4 and 15) is noticed even during the first weeks after inoculation (prodromal stage) when no leishman bodies are yet found in the skin. Latter a massive infiltration by amoeboid wandering cells similar to typical blood monocytes (Fig. 21) associated to a small number of lymphocytes and plasma cells (Figs. 9, 17, 21, and 24) indicates that the emigration of blood cells proceeds continuously or intermittently during the whole disease.

The infiltration appears by preference near the superficial plexus and around the small vertical anastomotic branches between the subpapillary and the subcutaneous plexuses (Figs. 17, 23 and 24) where incidentally the flow of blood is slower.

Accordingly in Kala Azar and likewise in other protozoan diseases, sometimes the cellular infiltration of the tissues is not a response to the presence of the causative organism but is rather a consequence of associated changes in the blood and blood-forming organs.

(5) Histocytes loaded with leishman bodies are most often found about and in the walls of the papillary loops (Figs. 11 and 12), around the capillary loops near the basement membrane of sweat glands (Fig. 1), near the small vessels in the external, or dermal coat of hair follicles and of sebaceous glands,

in the vicinity of the subpapillary plexus and the small vertical anastomotic branches.

(6) Differences in the number of cells filled with leishman bodies found in the skin are partly dependent of the stage of the disease, and partly of local conditions. The latter circumstance is more apparent when a serial study of the skin changes is carried into effect (s. protocols from the 231st and 242nd days, dog C).

7) Dogs experimentally infected with South-American Kala Azar are particularly prone to develop a recurrent acute inflammation of the skin resulting in vesicle and pustule formation and occasional ulceration which are not related apparently to the causative organism of Kala Azar. This applies also to a suppurative folliculitis and perifolliculitis sometimes recorded in the protocols.

(8) In dogs injected with canine South-American Kala Azar the infection of the skin appears in a latter stage of the experimental disease than that of the liver and spleen. Once recorded, however, it persists till the death of the animal (six months, from the 4th to the 10th, in dog B, five months, from the 5th to the 10th, in dog C) (CUNHA, 1938).

The skin changes were transient and slight in one animal, lacking completely in two other injected with human strains.

This is in agreement with the data brought out by CUNHA (1938) according to which the infection was slight and ephemeral when human strains were employed.

(9) Swelling of the paws described by some workers in *hamsters* infected with *Leishmania infantum* was noticed in one dog. Microscopically, there was edema and extensive cellular infiltration of the cutis. Most of the cells were histocytes, sometimes misshaped and polyhedral in contour (Fig. 22) as a consequence of pressure. In *pars reticularis*, uninfected macrophages, most of them little if any larger than the typical blood monocytes (Fig. 21), and a few plasma cells and histogenic mast-cells were found. Parasites are rare or entirely lacking in such infiltrate, as a rule.

(10) Lymphatic stasis was part of the picture in the skin changes of South-American Kala Azar (Figs. 2, 6 and 7). The great number of cells filled with leishman bodies in the walls of the lymphatics of the skin and their immediate neighbourhood (Fig. 2) renders possible an infection of the invertebrate host after ingestion of lymph contained in the intercellular lymph spaces and superficial lymph plexus.

Infected cells in the walls of the papillary loops (Figs. 11 and 12), and the long persistency of the skin infection are other interesting data bearing some relation to the epidemiology of the disease.

TRABALHOS CITADOS

ADLER, S.

1940. Notas sobre a *Leishmania chagasi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 35: 173-179.

ADLER, S. & THEODOR, O.

1931,I. Investigations on Mediterranean Kala Azar. I. — Introduction and Epidemiology. Proc. Roy. Soc., Series B, 108: 447-452.

1931,II. Skin infection in canine visceral leishmaniasis. Brit. Med. J., 2: 1179.

1932. Investigations on Mediterranean Kala Azar. IV. — Canine visceral leishmaniasis. Proc. Roy. Soc. London, Series B, 110: 402-412.

1935. Investigations on Mediterranean Kala Azar. VII. — Further observations on canine visceral leishmaniasis. Proc. Roy. Soc. London, Series B, 116: 494-504.

BLANC & CAMINOPETROS

Cit. por Adler & Theodor, 1931, I. pg. 448.

CHAGAS, E.

1938. Estudos sobre as grandes endemias do Brasil. O Hospital, 14: 1323.

CHAGAS, E., CASTRO, G. O. & FERREIRA, L. C.

1937. Leishmaniose visceral americana. VI — Epidemiologia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 32: 354-358.

CHAGAS, E., FERREIRA, L. C., DEANE, G., DEANE, L. & GUIMARÃES, N.

1938. Leishmaniose visceral americana. II — Estudo epidemiológico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 33: 138-206.

CHODUKIN & SCHEVTSCHENKO

Cit. por Adler & Theodor, 1932.

CRITIEN

Cit. por Adler & Theodor, 1932.

CUNHA A. M.

1938. Infecções experimentais na leishmaniose visceral americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 33: 581-598.

CUNHA, A. M. & CHAGAS, E.

1937. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania*, patogênico para o homem (*Leishmania chagasi* n. sp.) Nota prévia. O Hospital, XI: 148.

DONATIEN & LESTOCQUARD

Cit. por Adler & Theodor, 1932.

LESTOCQUARD & PARROT

Cit. por Adler & Theodor, 1932.

YAKIMOFF

Cit. por Adler & Theodor, 1932.

YAKIMOFF, W. L. & KOHL-YAKIMOFF, N.

1911. La leishmaniose canine. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 6: 249.

(Trabalho da Secção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro.)

ESTAMPA 1

Fig. 1 — Cão B, biopsia de pele no 133º dia de inoculação. Histocitos contendo Leishmanias, situados na vizinhança de capilares na membrana basal de glândula sudorípara.

Histocytes loaded with leishman bodies around capillary loops near the basement membrane of sweat gland.

Aumento: 1.600 vezes.

Fig. 2 — Cão B, biopsia de pele no 231 dia de inoculação. Área marcada nas figuras 6 e 7, mostrando estase linfática e a presença de grande número de células com Leishmanias nas paredes de um vaso linfático e seus arredores.

Squared areas in Figs. 6 and 7, showing lymphatic stasis and the presence of great number of cells filled with leishman bodies in the walls of lymphatic vessel and his surroundings.

Aumento: 700 vezes.

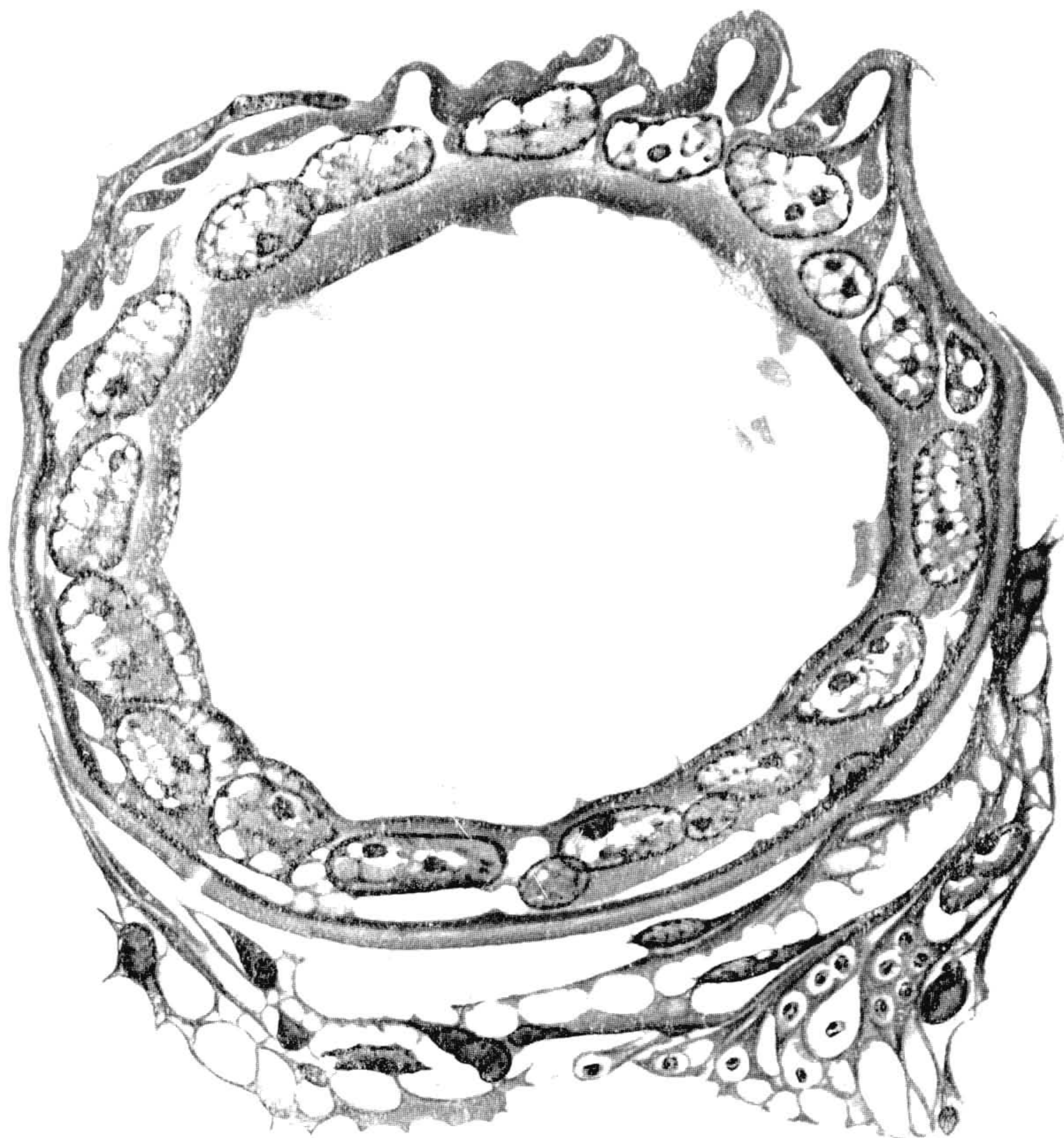


Fig. 1

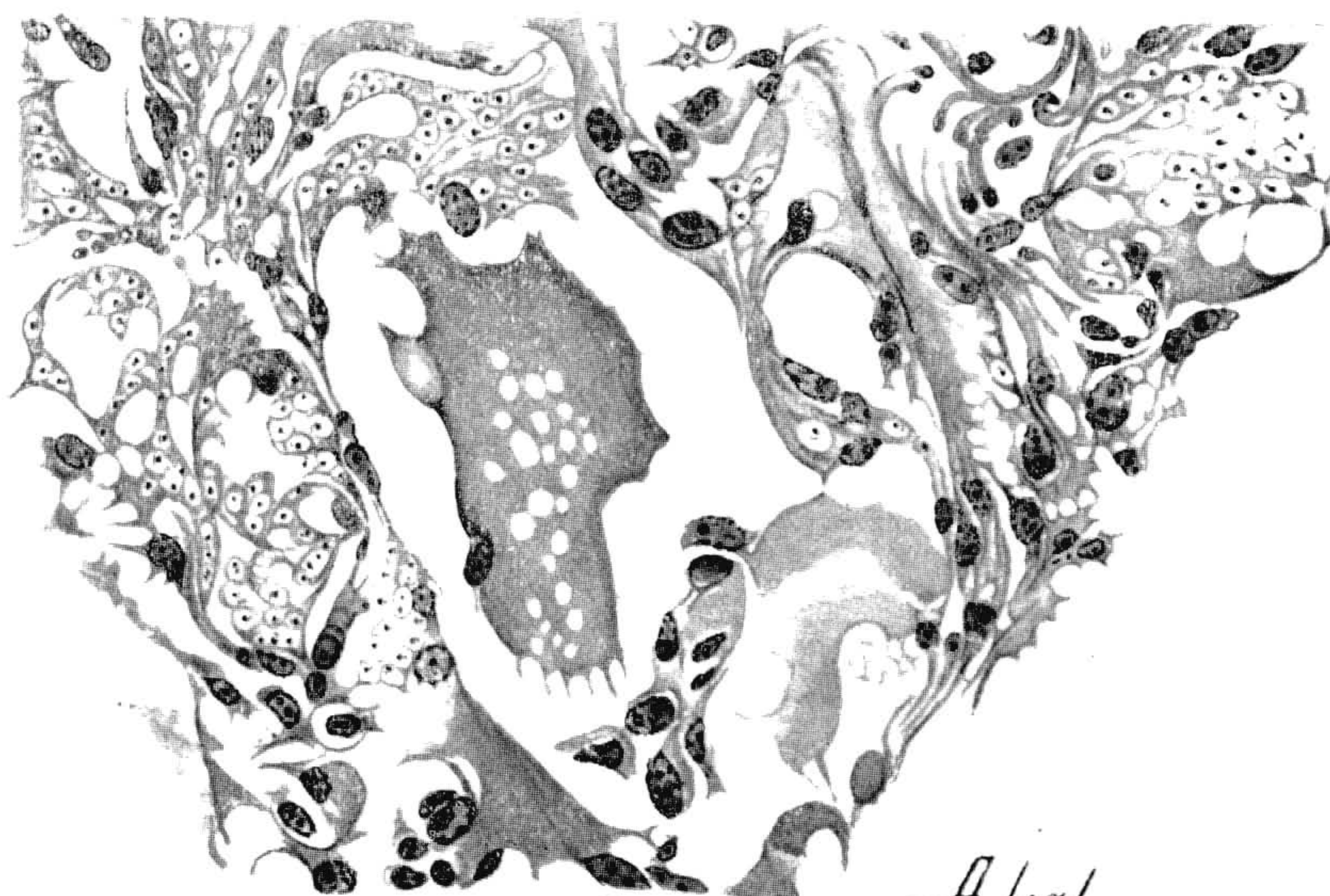


Fig. 2

A. Leal,

ESTAMPA 2

Fig. 3 — Cão B, biopsia de pele no 164º dia de inoculação. Área marcada na figura 5, mostrando a evolução fibroblástica do granuloma histocitário leishmaniótico.

Squared area in Fig. 5, showing fibroblastic transformation of the histocytic Kala Azar granuloma.

Aumento: 700 vezes.

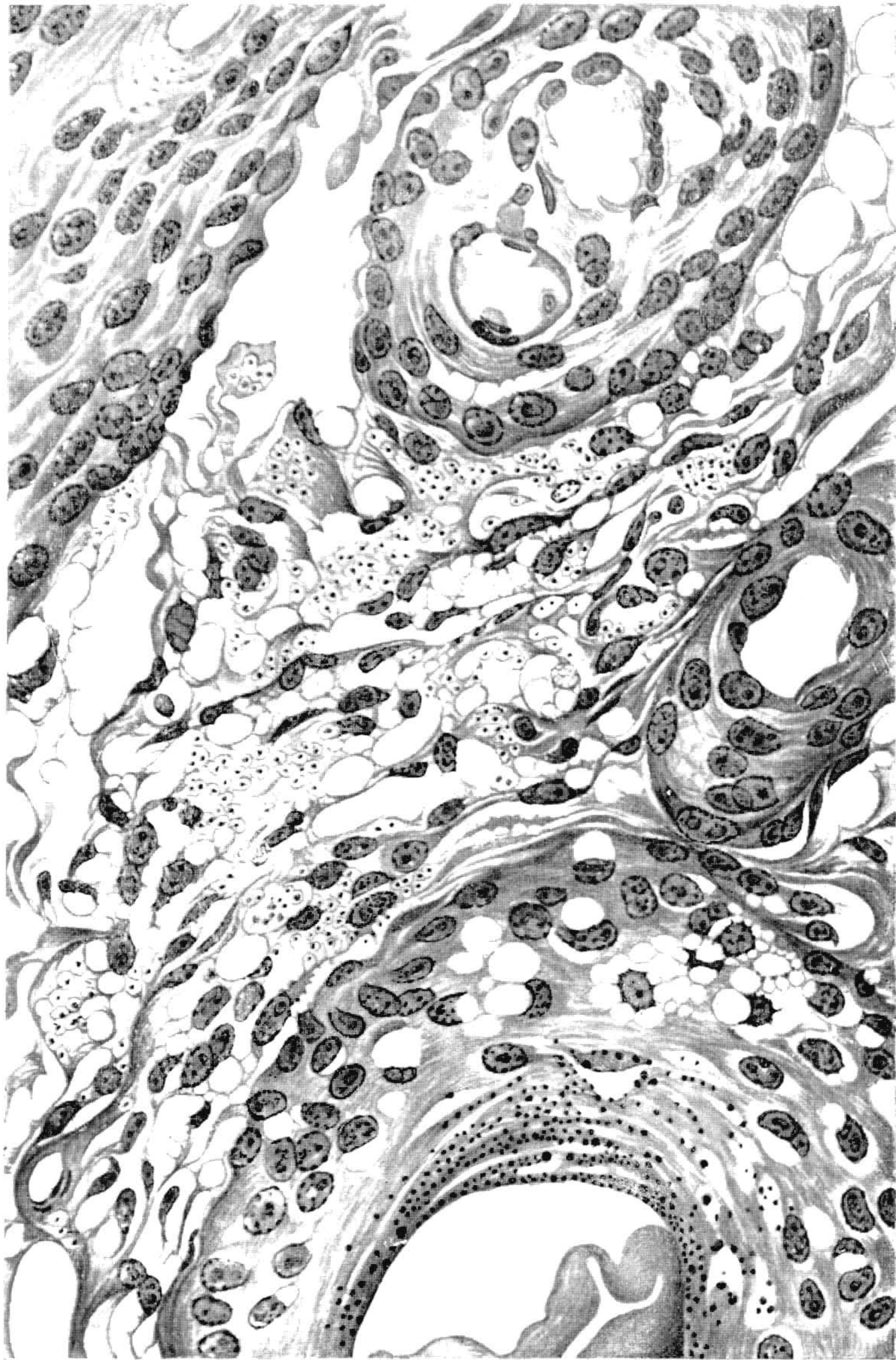


Fig. 3

A. Leal del.

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 3

Fig. 4 — Cão B., biopsia de pele no 101º dia de inoculação (fase prodrômica). Aumento do número de células, especialmente das "ruhende Wanderzellen", edema e ligeira infiltração por heterófilos, no derma. Tumefação do endotélio dos pequenos vasos. Ausência de parasitos.

Connective tissue of the skin showing increase in the number of cells specially the "ruhende Wanderzellen". Edema of the cutis and slight infiltration with heterophils. Swelling of the endothelial lining in the small vessels. No parasite.

Aumento: 290 vezes.

Fig. 5 — Cão B, biopsia de pele no 164º dia de inoculação. Transformação fibroblástica do granuloma histocitário do Kala Azar, com pequeno aumento.

Fibroblastic transformation of the histocytic Kala Azar granuloma (low power view).

Aumento: 140 vezes.

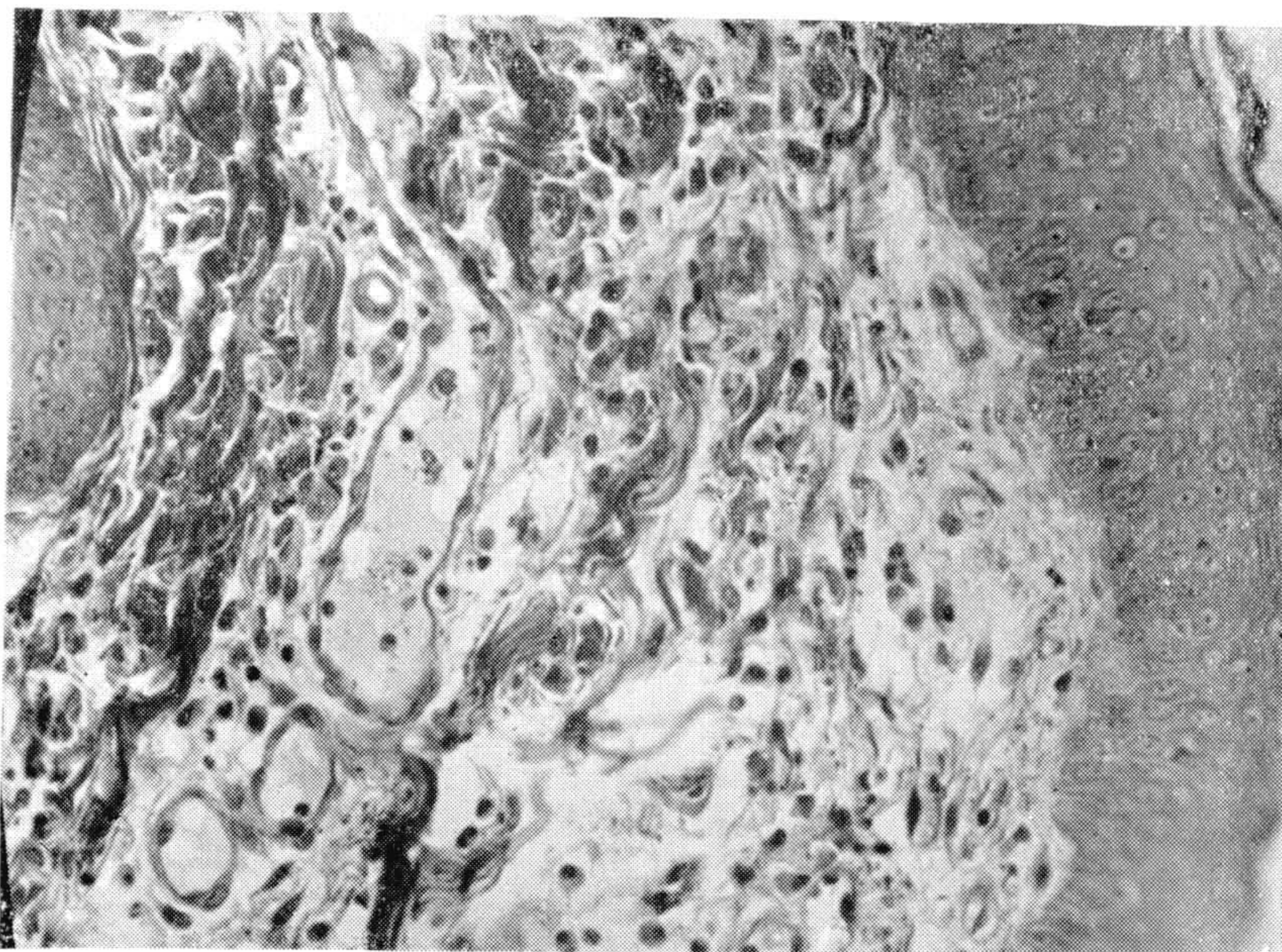


Figura 4

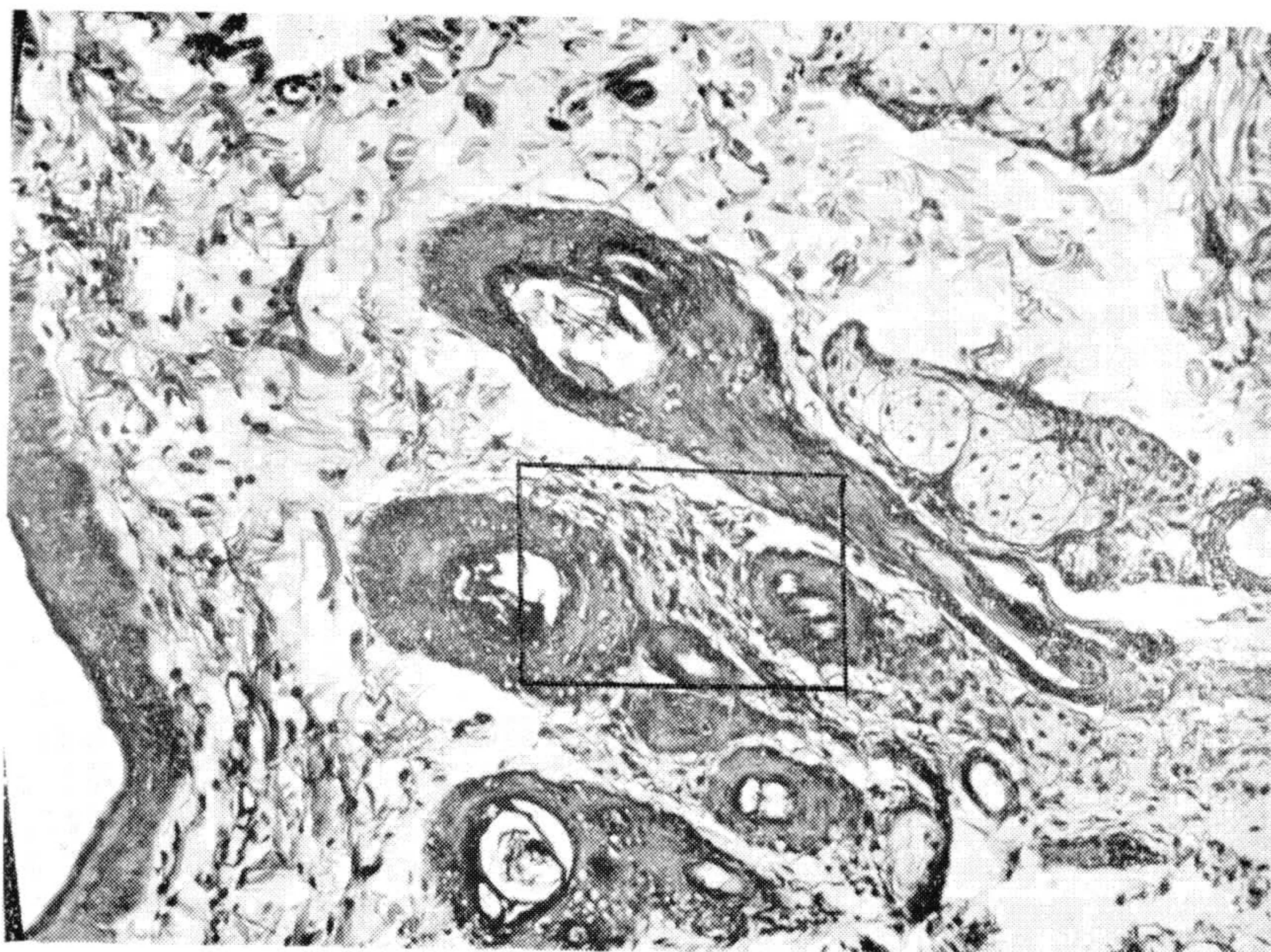


Figura 5

ESTAMPA 4

Fig. 6 — Cão B, biopsia de pele no 231º dia de inoculação. Infiltração celular do derma, mais acentuada em torno dos vasos superficiais. Na área marcada, estase em vaso linfático.

Cellular infiltration in the cutis more marked around the superficial vessels. Stasis in lymphatic vessel in the squared area.

Aumento: 105 vezes.

Fig. 7 — Cão B, biopsia de pele no 231.º dia de inoculação. Área marcada na Fig. 6, mostrando estase em vaso linfático e presença de Leishmanias no citoplasma de células das paredes e arredores do linfático.

Squared area in Fig. 6, showing stasis in lymphatic vessel and the presence of leishman bodies in the cytoplasm of cells in and about his walls.

Aumento: 290 vezes.

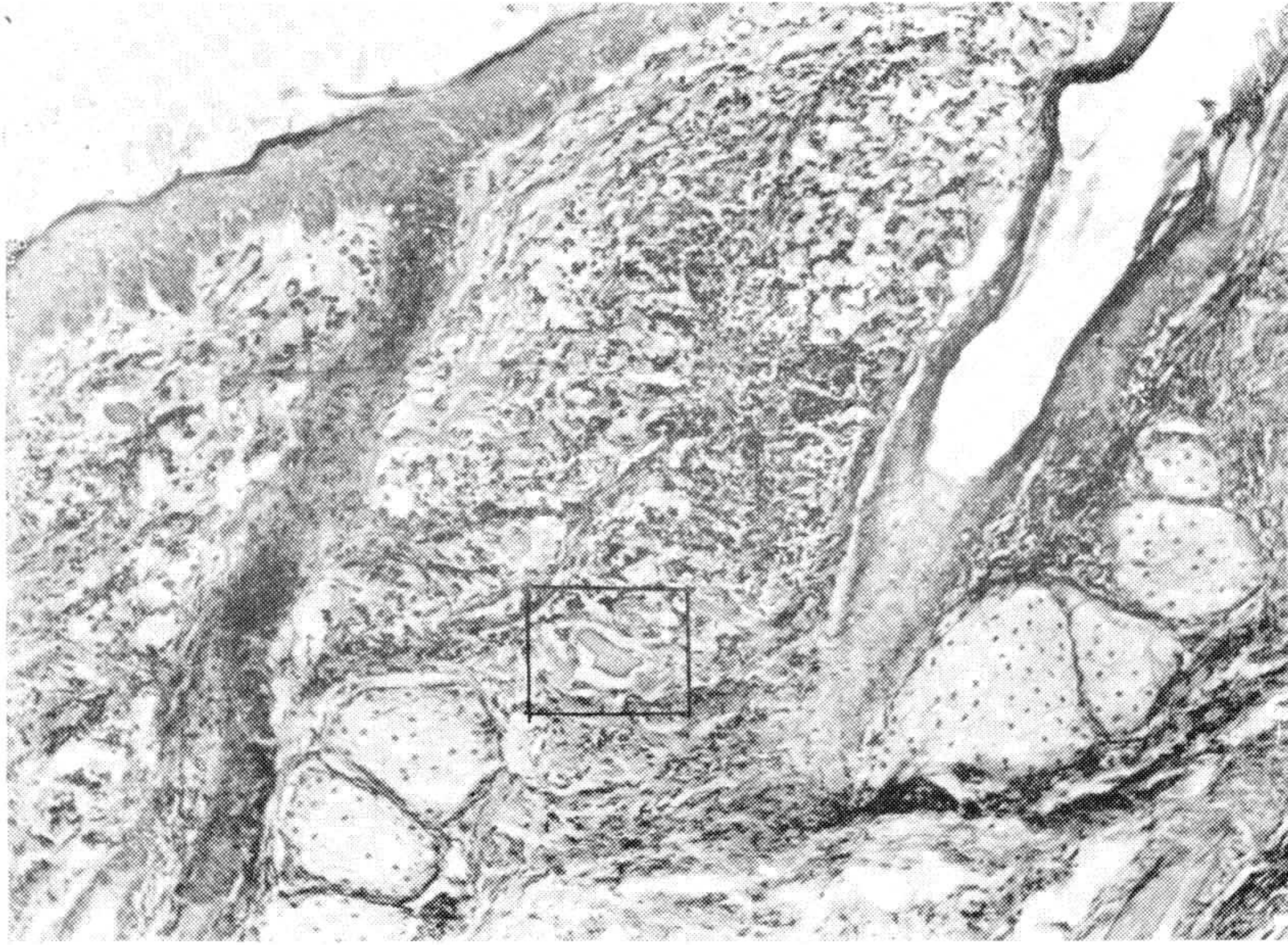


Figura 6

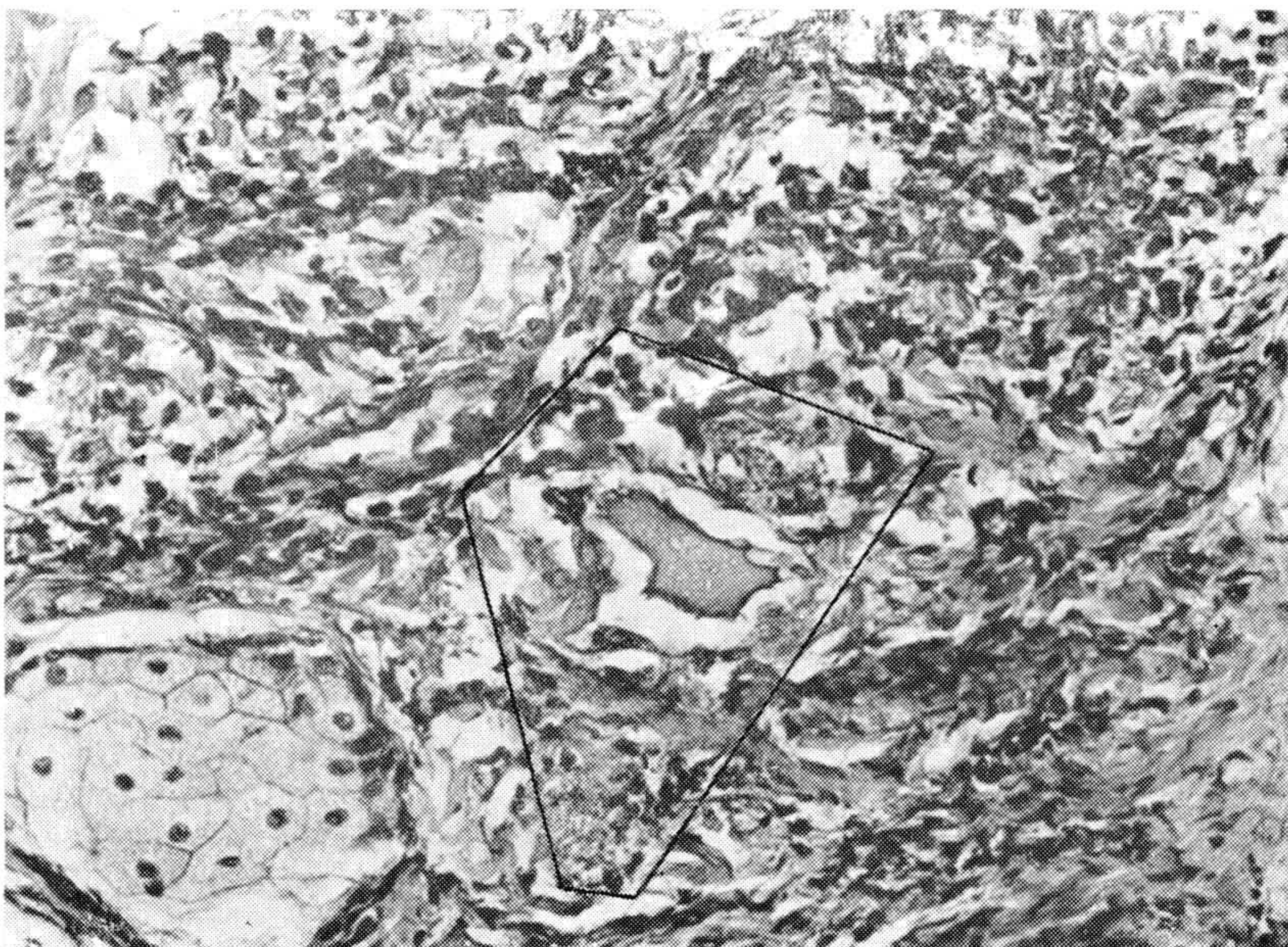


Figura 7

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 5

Fig. 8 — Cão B, biopsia de pele no 251º dia de inoculação. Histiocitos, parasitados ou não, formam nódulos distintos ou agregados celulares (*granuloma histocitário*) com distribuição perivascular.

Histocytes either embedding or not leishman bodies appear as distinct nodes of infiltration or cell aggregations (*histocytic granuloma*) showing a perivascular arrangement.

Aumento: 290 vezes.

Fig. 9 — Cão B, biopsia de pele no 251º dia de inoculação. Acúmulo de macrófagos não infetados, em sua maioria de volume e estrutura semelhantes a monocitos típicos do sangue, de células plasmáticas e linfocitos em torno de glândula sudorípara.

Accumulation of uninfected macrophages most of them little if any larger than the typical blood monocytes, and a few plasma cells and lymphocytes about sweat gland coils in the subcutis. No parasite.

Aumento: 290 vezes.

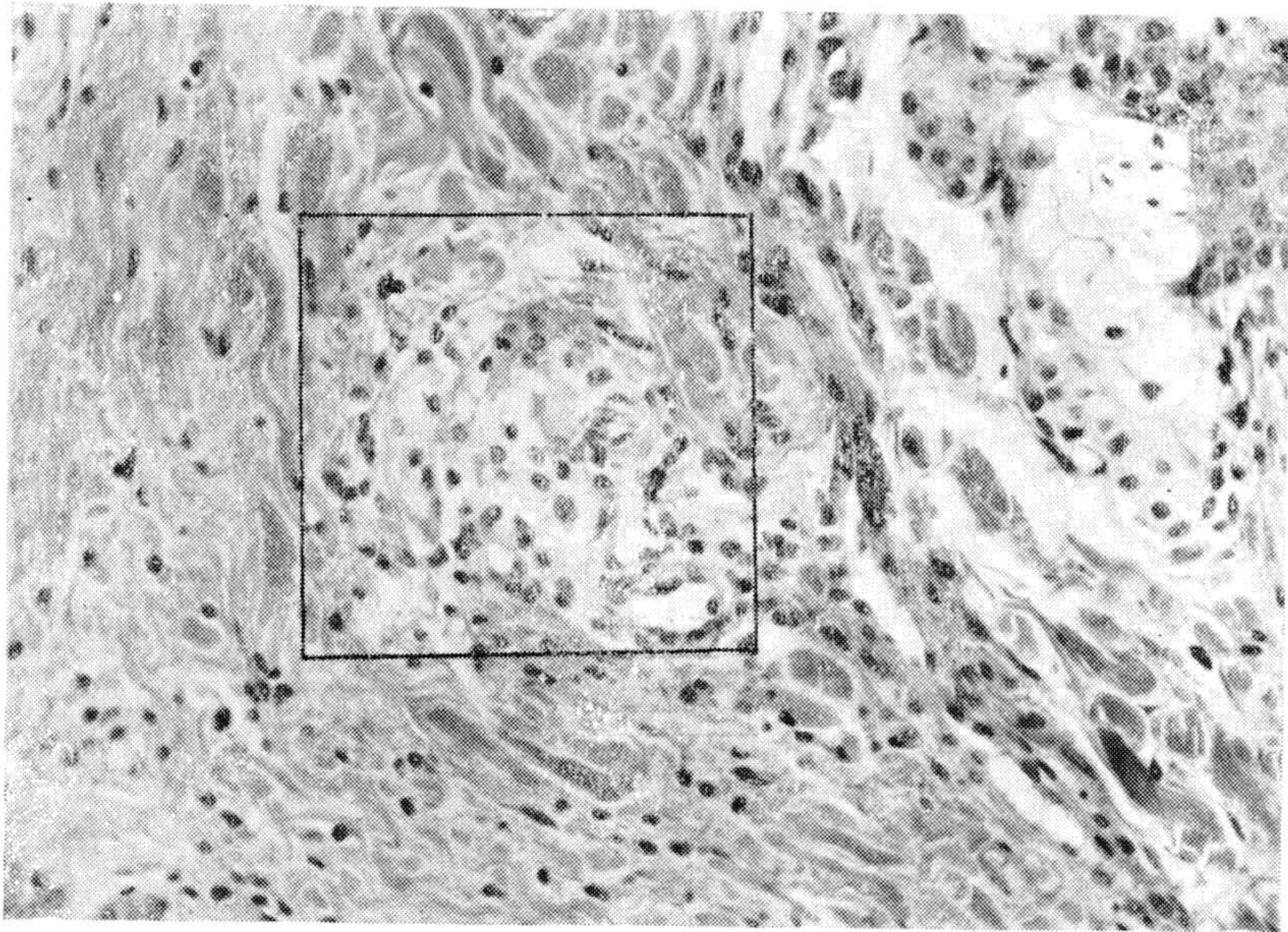


Figura 8

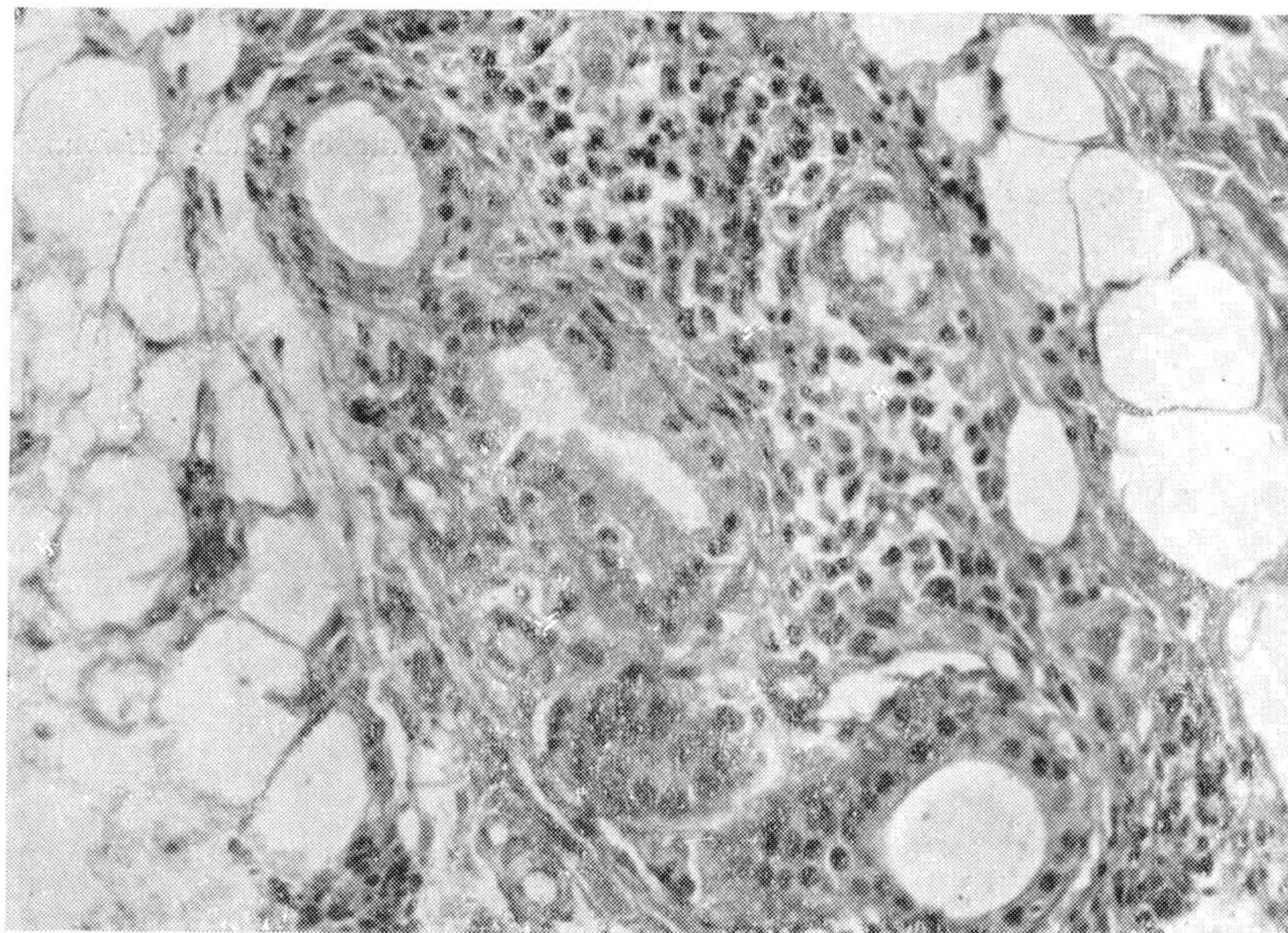


Figura 9

Torres: Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 6

Fig. 10 — Cão B, (necropsia). Fragmento de pele (290° dia de inoculação). Infiltração perivascular, por histocitos parasitados, na *pars papillaris* e porção superior da *pars reticularis*. Hiperacantose.

Perivascular infiltration in *pars papillaris* and upper portion of the reticular layer by infected histocytes. Hyperacanthosis.

Aumento: 150 vezes.

Fig. 11 — Cão B (necropsia). Fragmento de pele. Célula contendo *Leishmanias*, nas paredes de capilar da papila.

Cell loaded with leishman bodies in the wall of papillary loop.

Aumento: 630 vezes.

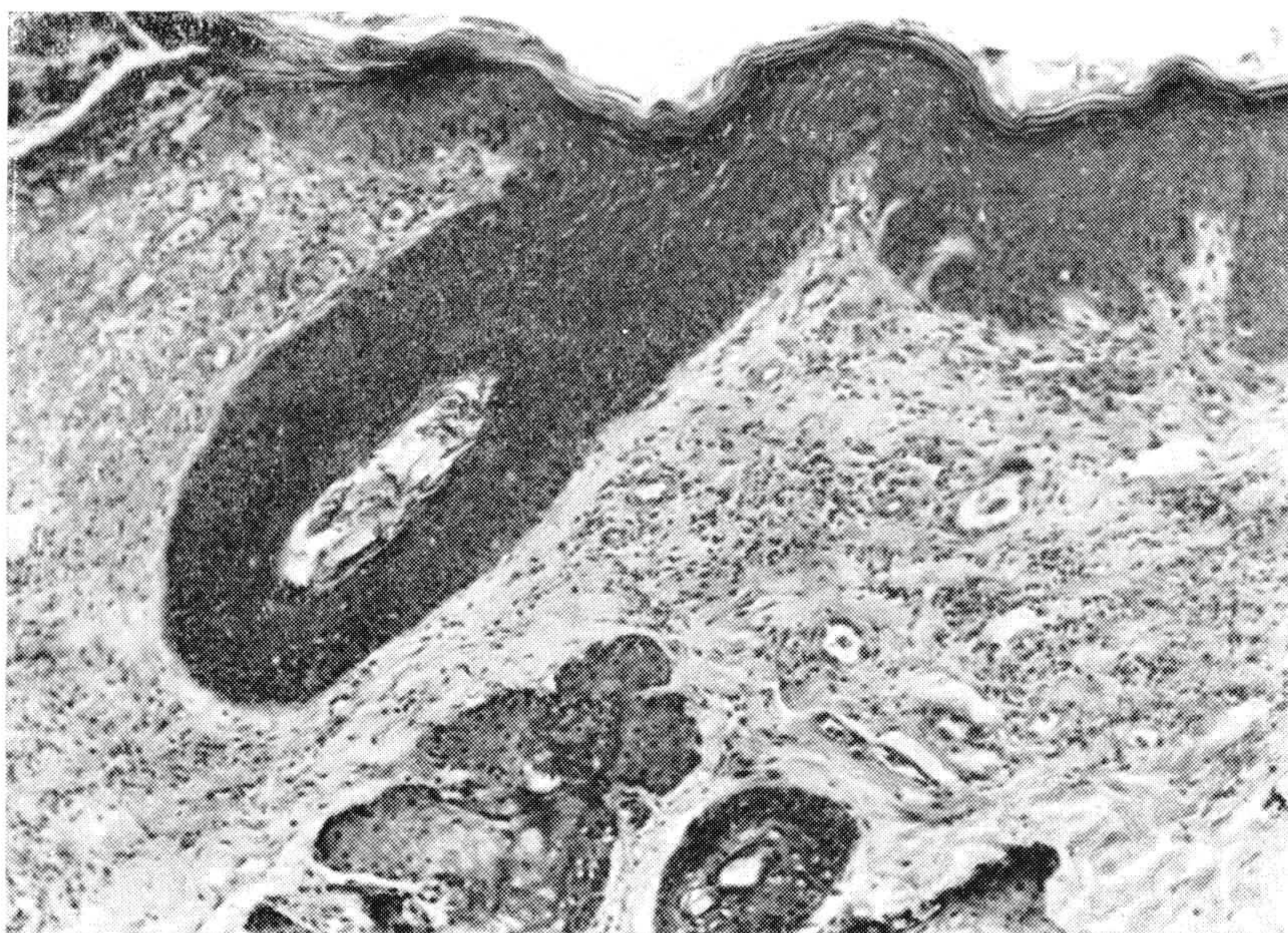


Figura 10

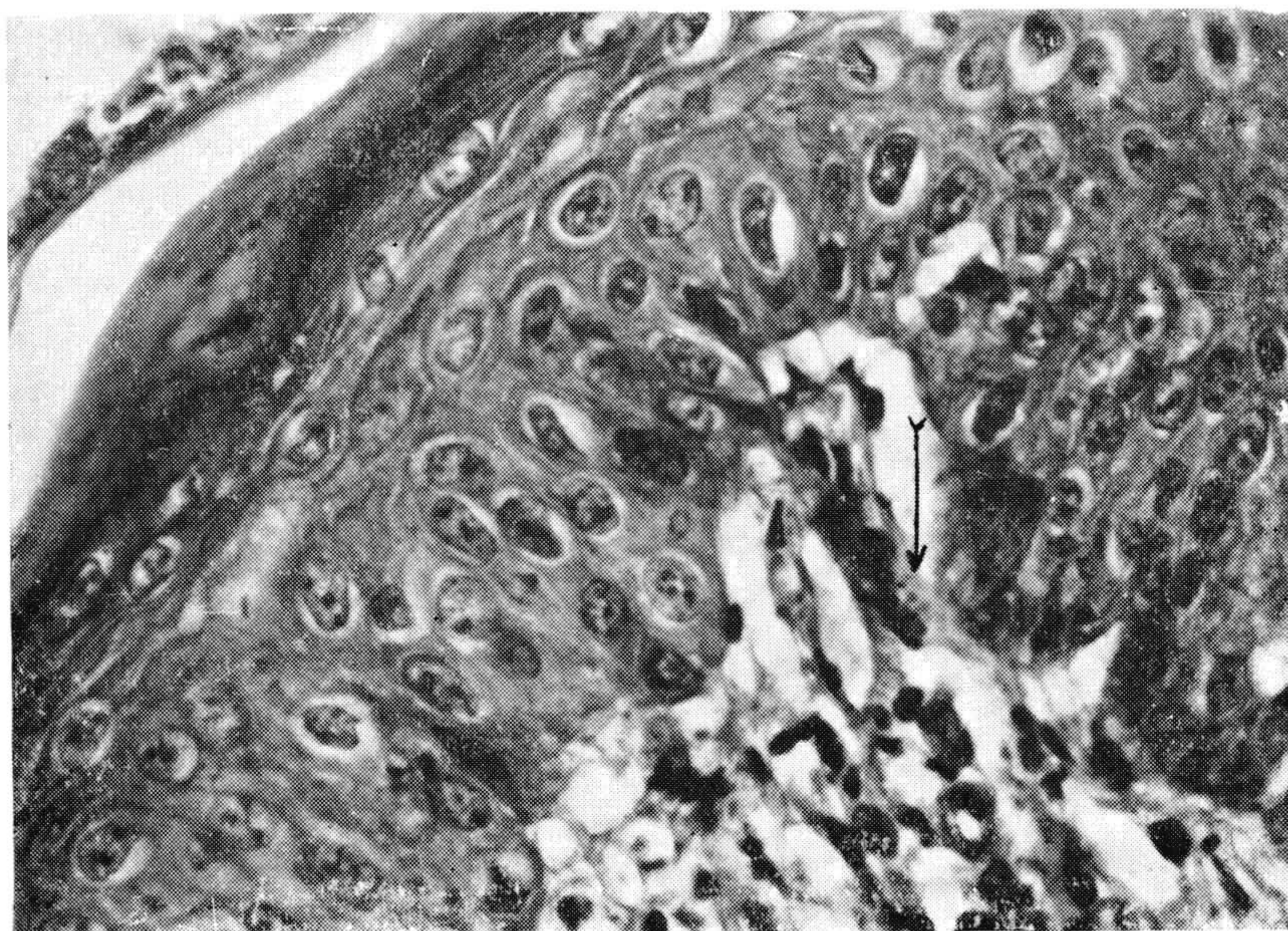


Figura 11

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 7

Fig. 12 — Cão B (necropsia). Fragmento de pele. Célula infetada, nas paredes de capilar da papila.

Infected cell in the wall of papillary loop.

Aumento: 1.450 vezes.

Fig. 13 — Cão B (necrópsia). Fragmento de pele. Erupção pustulosa, aparentemente não relacionada com o agente do Kala Azar sul-americano.

Recurrent acute inflammation of the skin resulting in pustule formation not related apparently to the causative organism of South-American Kala Azar.

Aumento: 150 vezes.

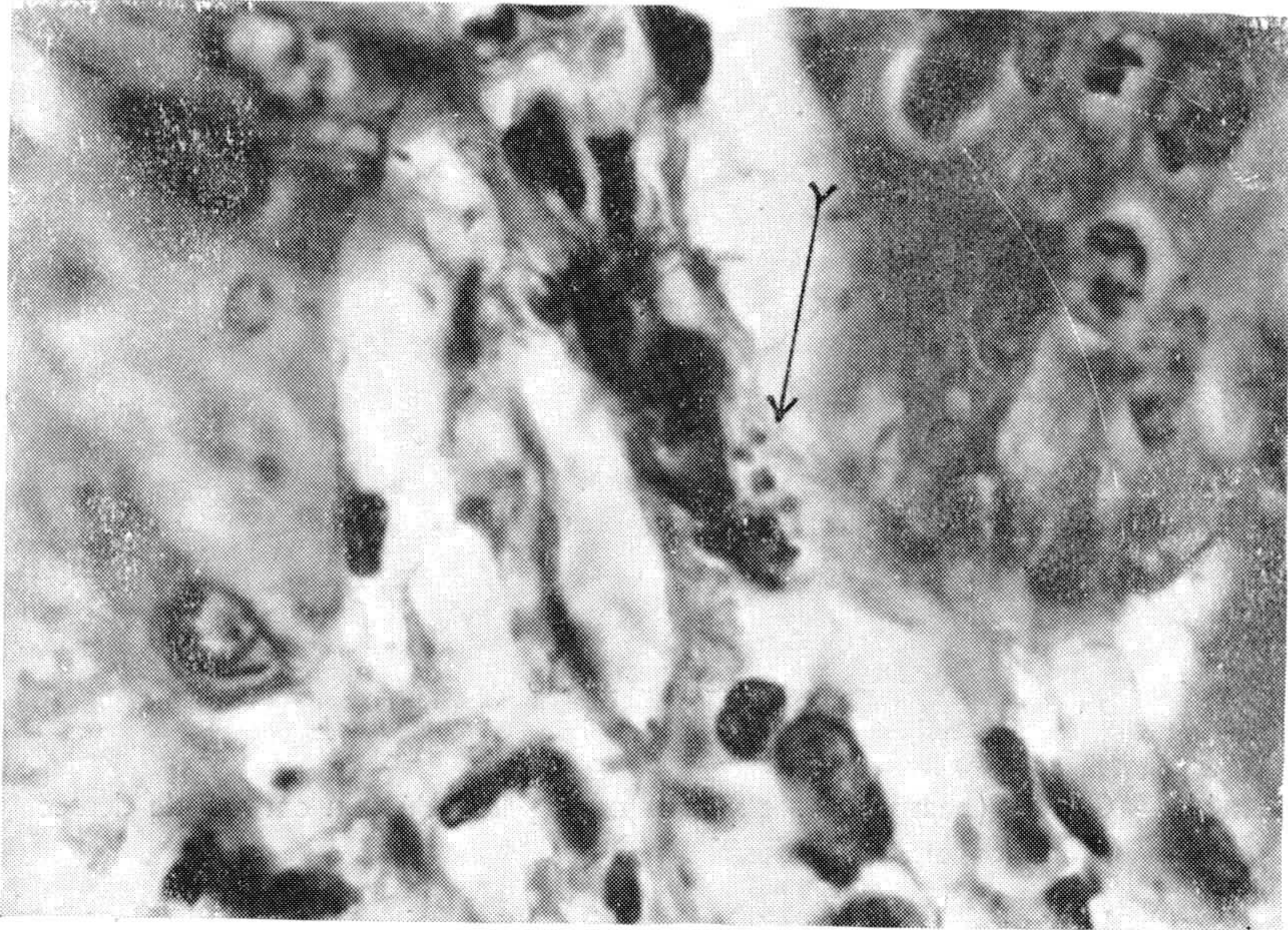


Figura 12

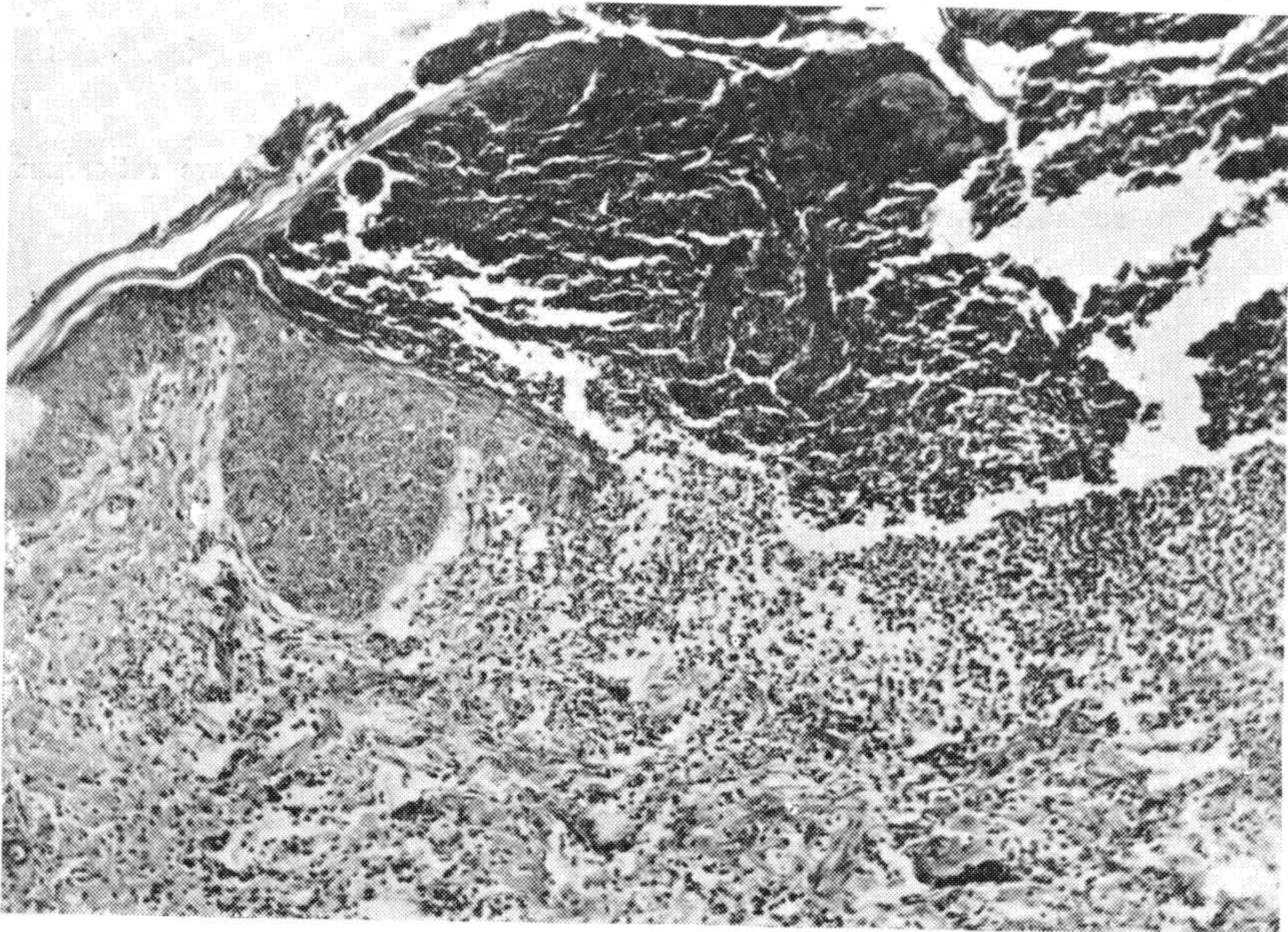


Figura 13

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 8

Fig. 14 — Cão B (necrópsia). Fragmento de pele. Pústula em via de dessecação. Infiltração celular do derma.

Drying out of a pustule, and formation of a crust. Cellular infiltration in cutis.

Aumento: 150 vezes.

Fig. 15 — Cão C, biopsia de pele no 73.º dia de inoculação (fase prodrômica). Edema e infiltração celular, na *pars papillaris*. Reticulo delicado de fibrilas basófilas nos espaços conjuntivos.

Edema and cellular infiltration in *pars papillaris*. Delicate reticulum of basophilic fibrils in connective space.

Aumento: 630 vezes.

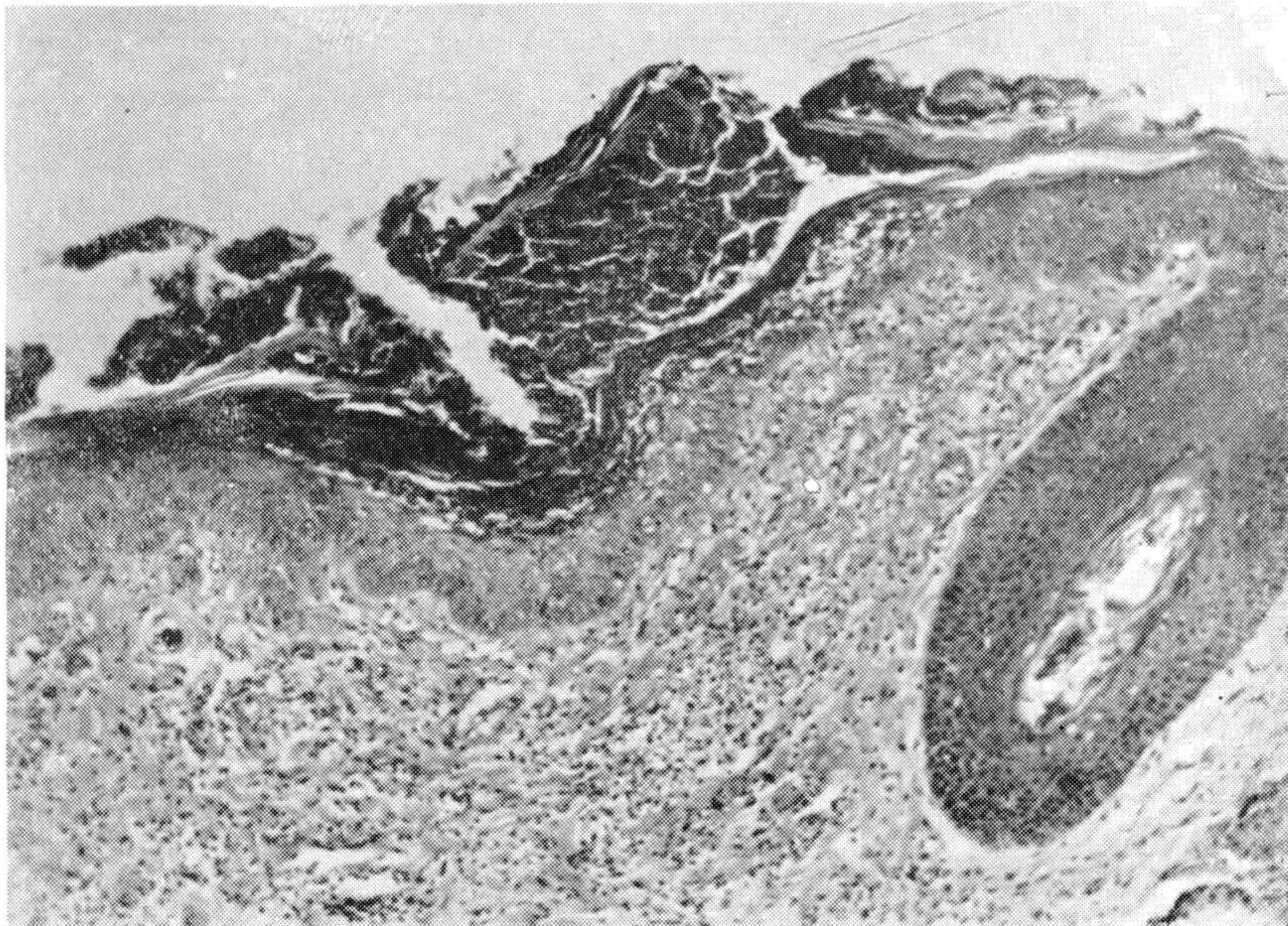


Figura 14

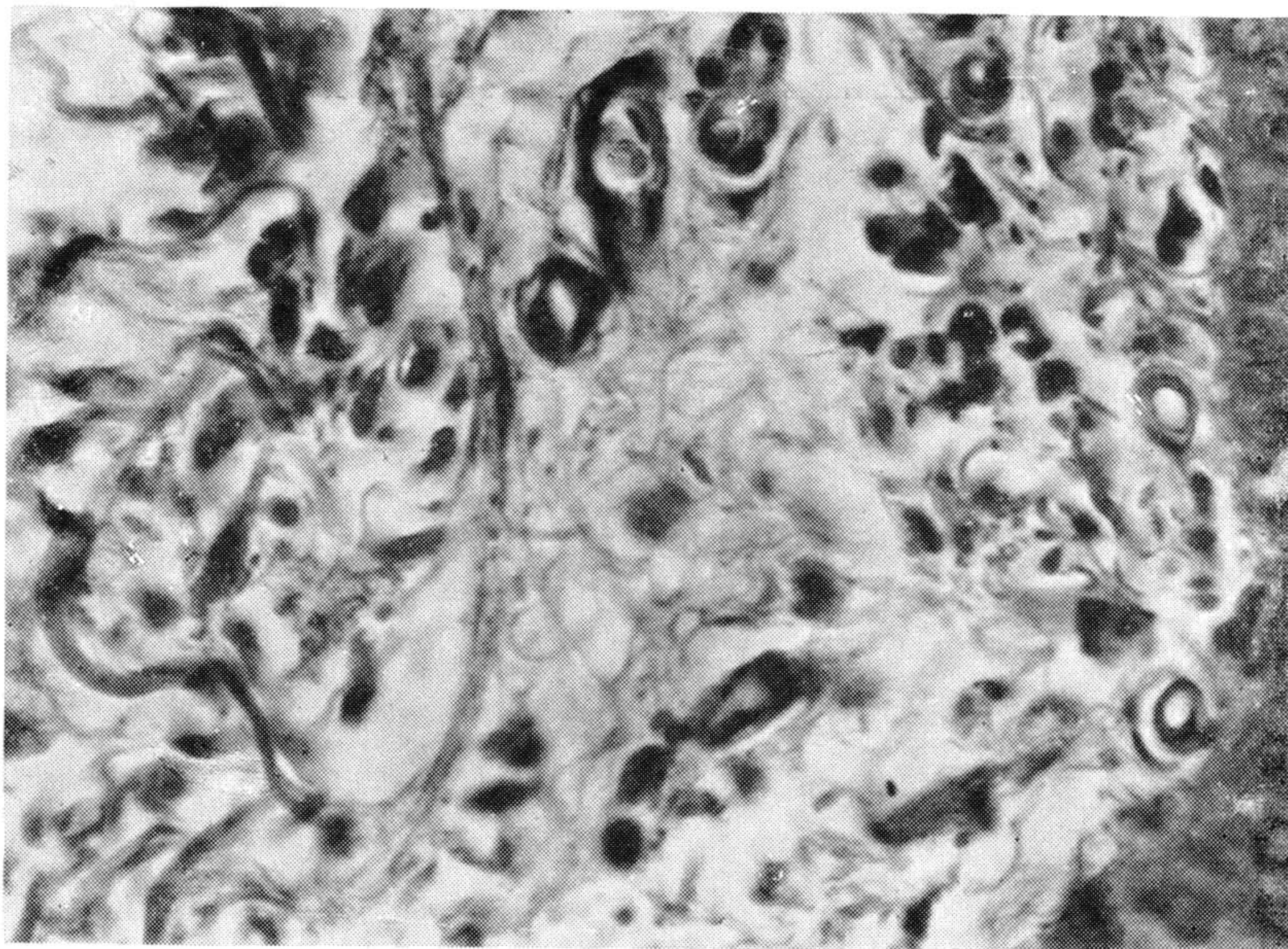


Figura 15

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 9

Fig. 16 — Cão C, biopsia de pele (região cervical) no 196.º dia de inoculação. Considerável infiltração por macrófagos não infectados, os quais apresentam aspecto semelhante ao de monocitos típicos do sangue, por células plasmáticas e linfocitos, em torno da glândula sudorípara. Ausência de parasitos.

Massive infiltration with uninfected macrophages, most of them little if any larger than the typical blood monocytes, plasma cells and lymphocytes around the coiled portion of a sweat gland.

Aumento: 105 vezes.

Fig. 17 — Cão C, biopsia de pele (região cervical), no 196º dia de inoculação. Macrófagos não infectados, semelhando monocitos típicos do sangue, dispõe-se em torno dos ramos anastomóticos verticais entre os plexos subpapilar e subcutâneo. Ausência de parasitos. Existem, também, células plasmáticas e linfocitos

Infiltration with uninfected macrophages similar to typical blood monocytes, plasma cells and lymphocytes around small vertical anastomotic branches between the subpapillary and the subcutaneous plexuses. No parasite.

Aumento: 290 vezes.

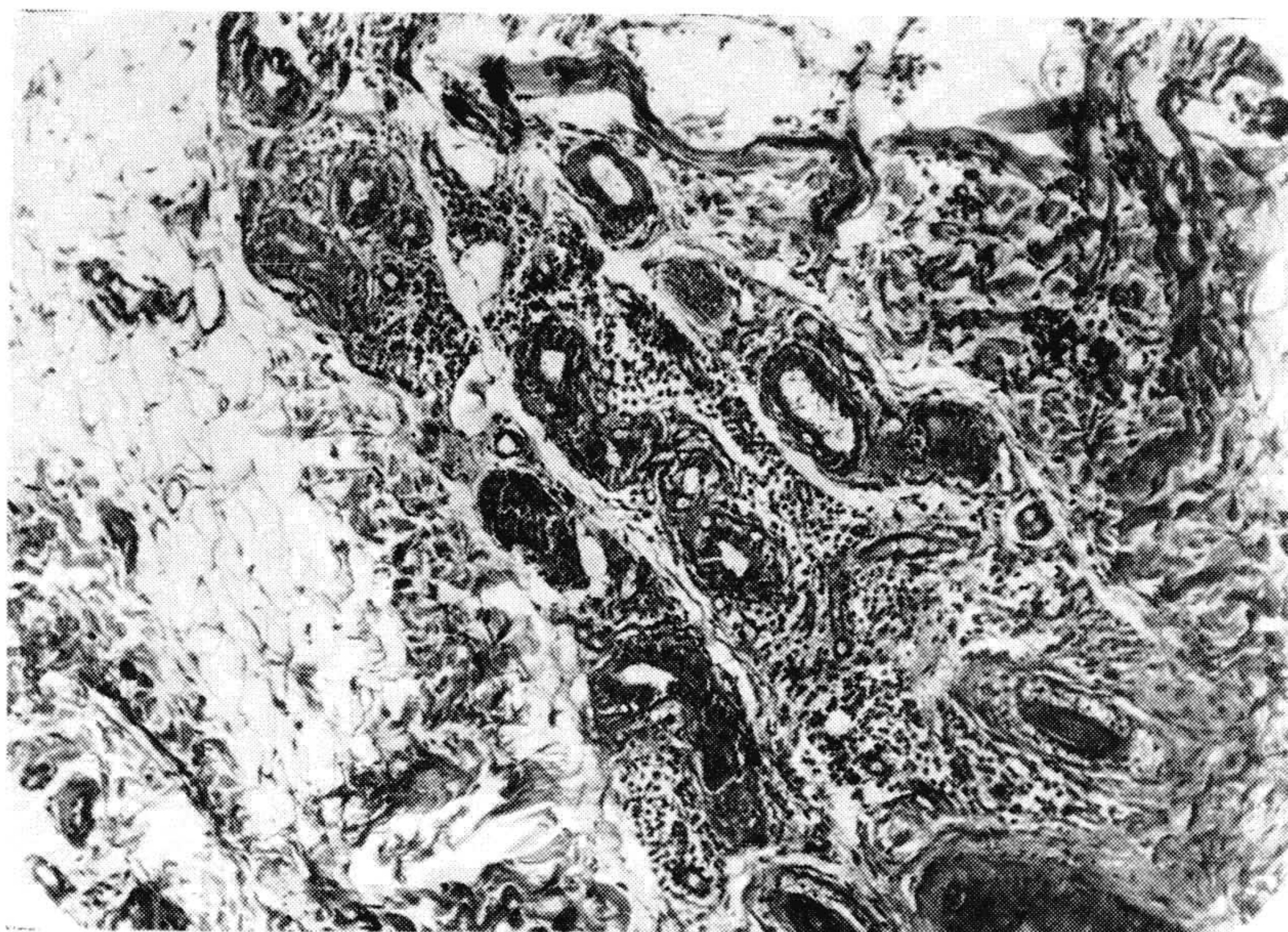


Figura 16

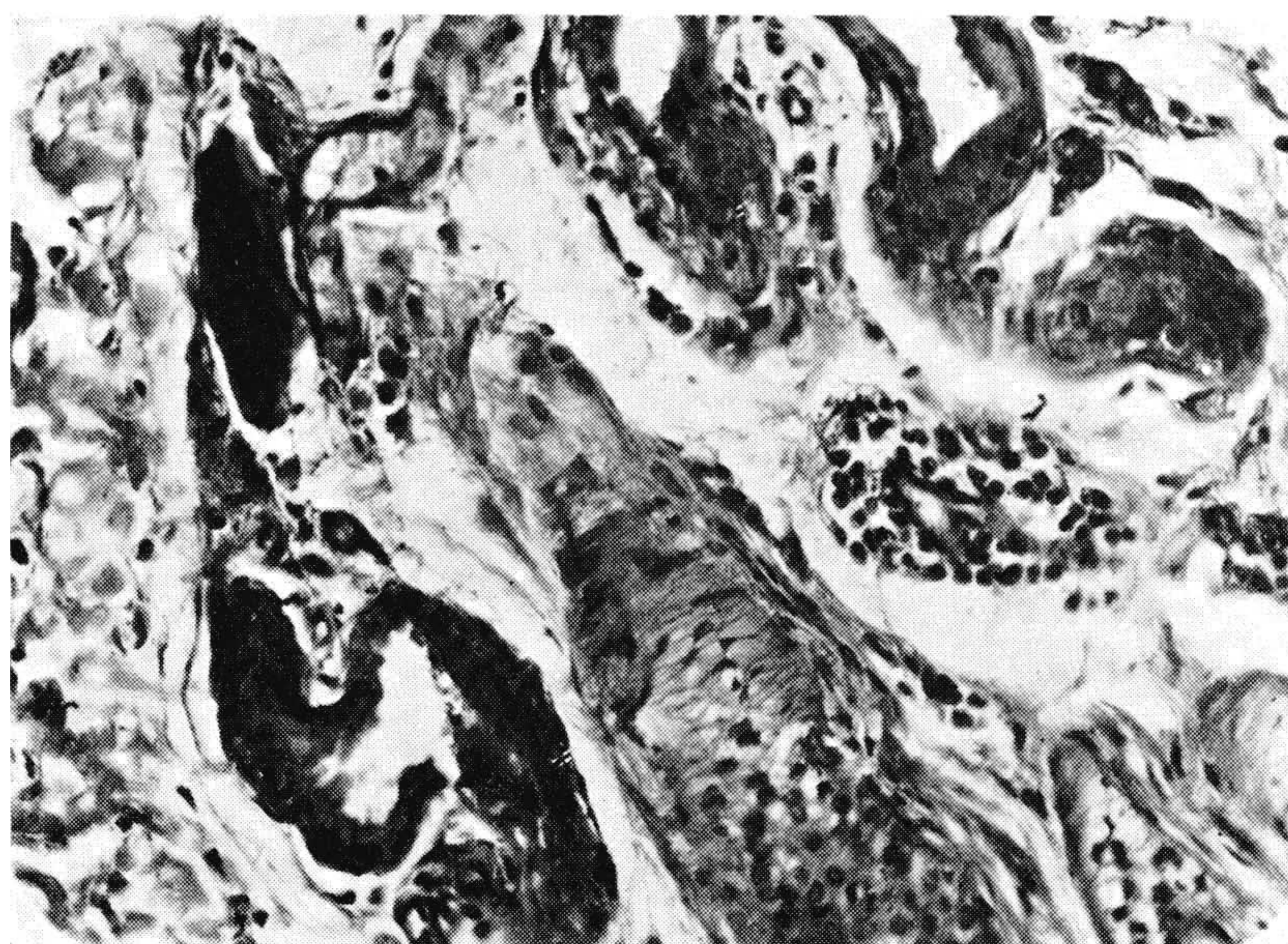


Figura 17

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 10

Fig. 18 — Cão C, biopsia de pele no 213º dia de inoculação. Transformação fibroblástica de histocito contendo *Leishmanias*.

Fibroblastic transformation of histocyte filled with leishman bodies.

Aumento: 1.450 vezes.

Fig. 19 — Cão C, biopsia de pele no 231º dia de inoculação. Transformação fibroblástica do granuloma histocitário do Kala Azar.

Fibroblastic transformation of the histocytic Kala Azar granuloma.

Aumento: 210 vezes.

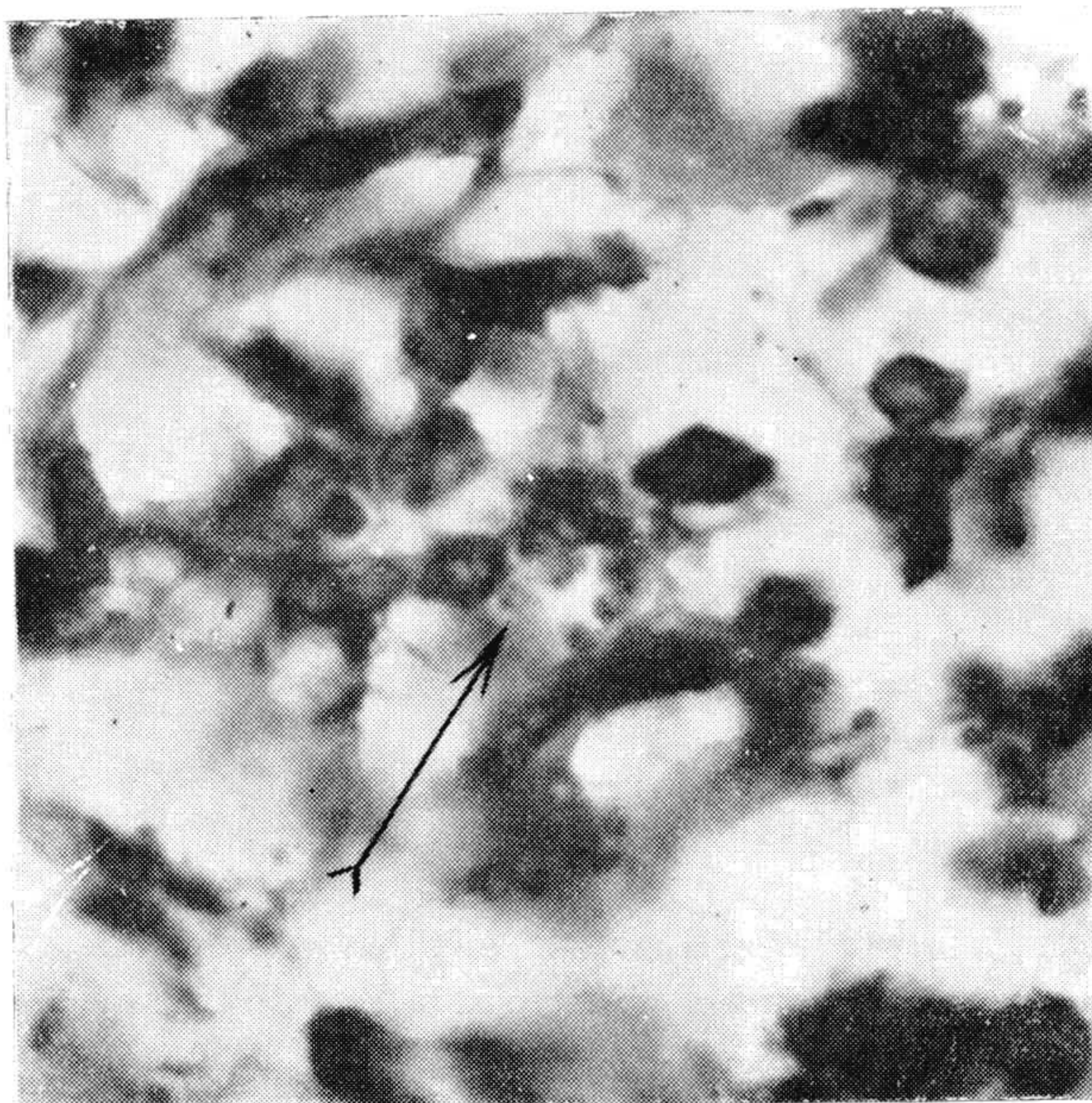


Figura 18

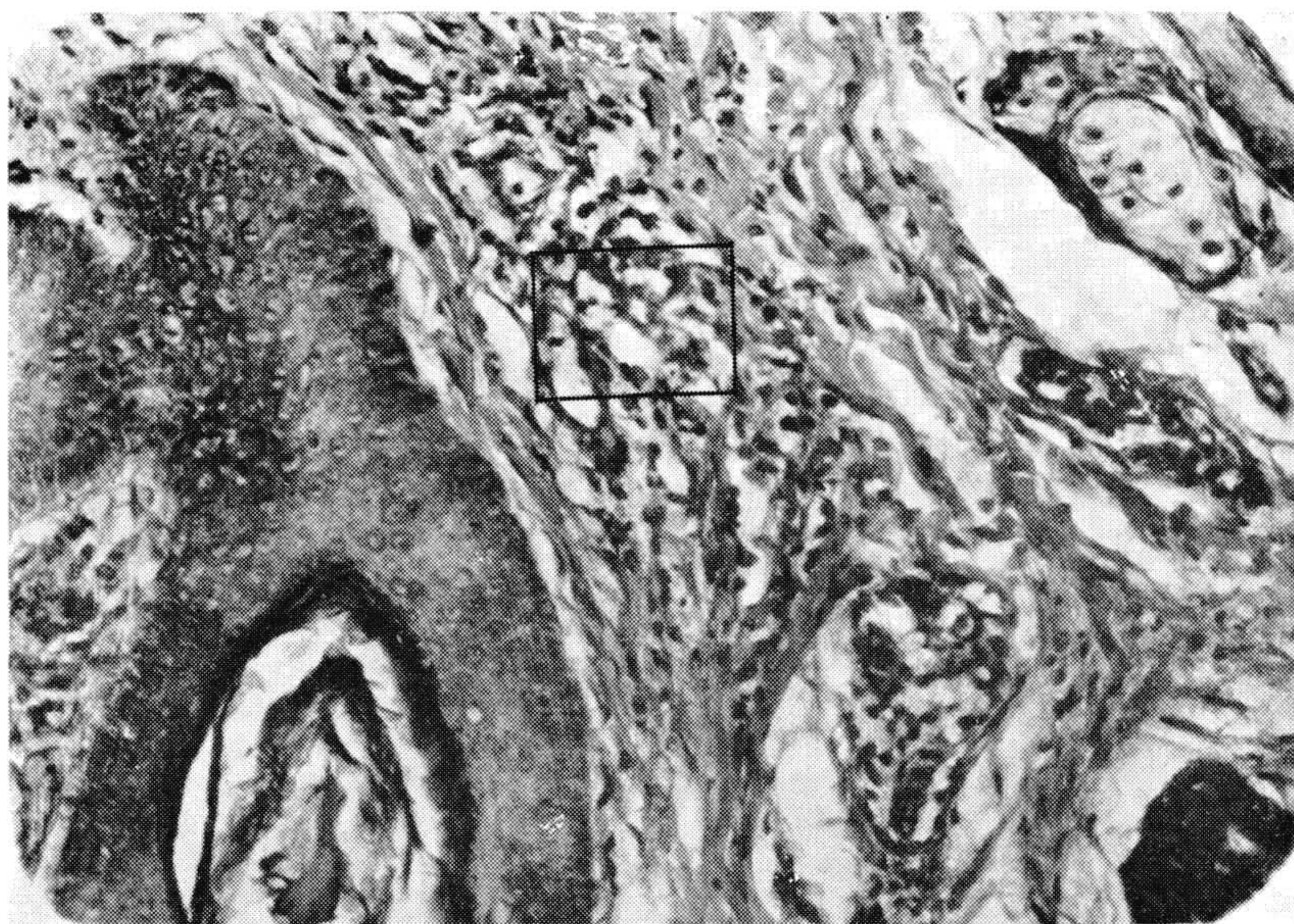


Figura 19

Torres : Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 11

Fig. 20 — Cão C, biopsia de pele no 231º dia de inoculação. Área marcada na Fig. 19, mostrando *Leishmanias* no citoplasma de macrófagos.

Squared area in Fig. 19 showing leishman bodies in cytoplasm of macrophages.

Aumento 1.450 vezes.

Fig. 21 — Cão C, biopsia de pele no 242º dia de inoculação. Infiltração por células ameboides migradoras dos tipos monocitóide e linfocitóide em torno de folículo piloso.

Infiltration with ameboid wandering cells of monocytoïd and lymphocytoïd types around hair follicle.

Aumento: 630 vezes.

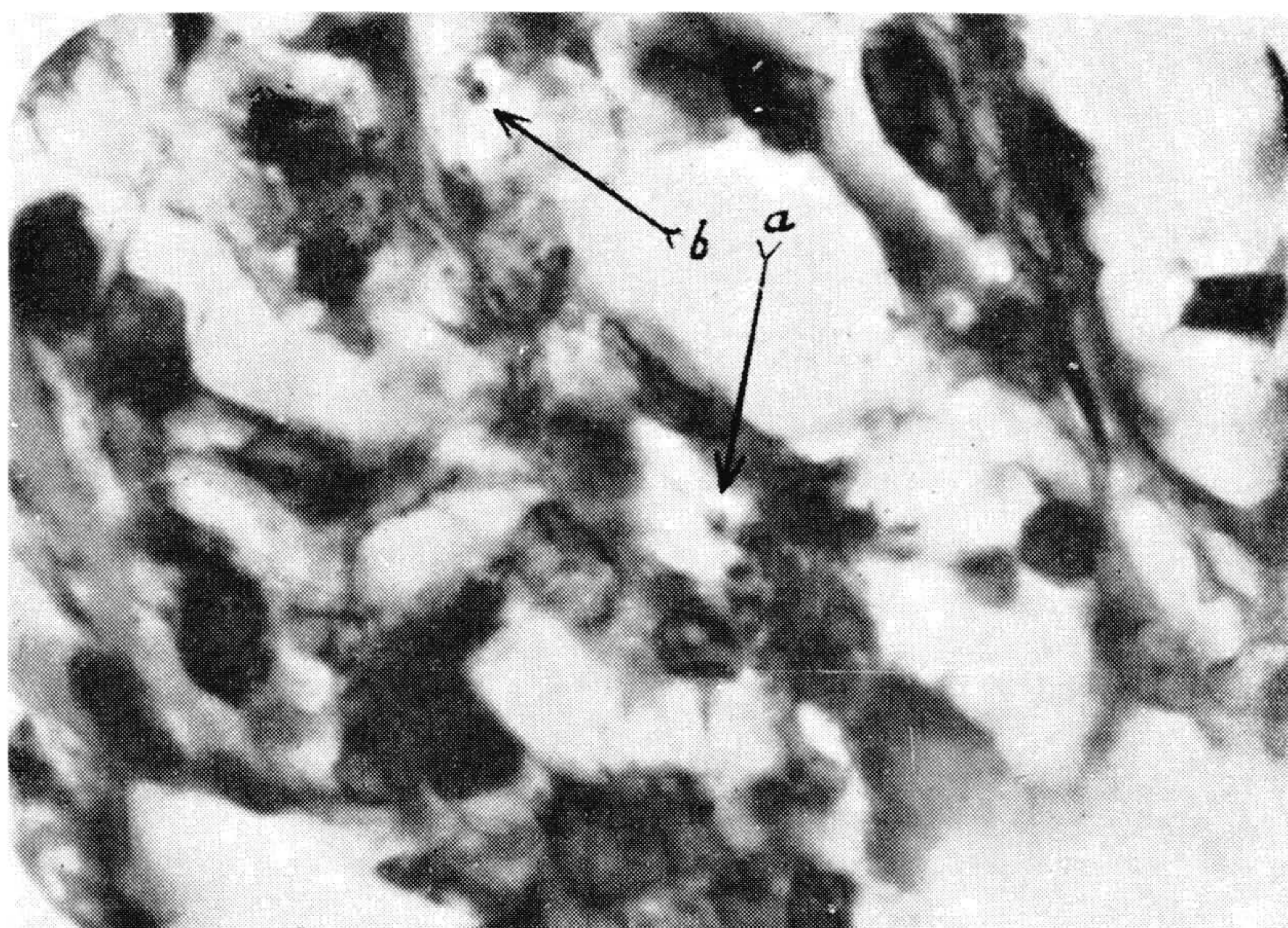


Figura 20

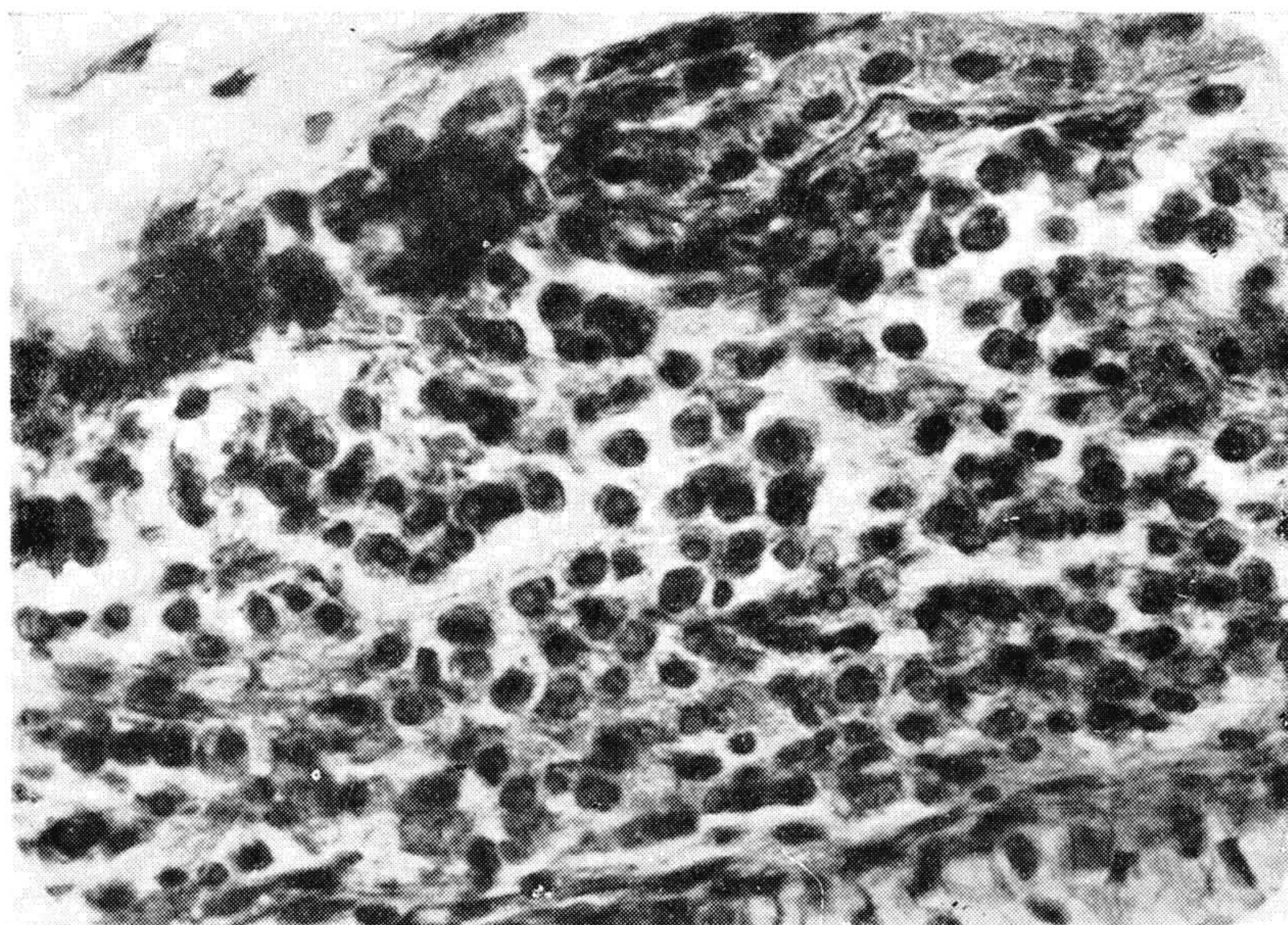


Figura 21

Torres: Kala-Azar sul-americano

ESTAMPA 12

Fig. 22 — Cão C, biopsia de pele no 242º dia de inoculação, praticada em pata com tumefação. Intensa infiltração do derma por células, em sua maioria, histocitos, deformados, de contornos poliédricos, em consequência da compressão.

Swelling of the paw. Extensive cellular infiltration in the cutis. Most of the cells are histocytes sometimes misshaped and polyhedral in contour as a consequence of pressure.

Aumento: 630 vezes.

Fig. 23 — Cão C, biopsia de pele no 251º dia de inoculação. Infiltração perivascular, no derma, por células amebóides migradoras, dos tipos monocitóide e linfocitóide.

Perivascular infiltration with ameboid wandering cells of monocytoïd and lymphocytoïd types in cutis.

Aumento: 105 vezes.

Fig. 24 — Cão C, biopsia de pele no 251º dia de inoculação. Infiltração perivascular, no derma, por células amebóides migradoras, do tipo monocitóide, e por células plasmáticas.

Perivascular infiltration with ameboid wandering cells of monocytoïd type and plasma cells in cutis.

Aumento: 1.000 vezes.

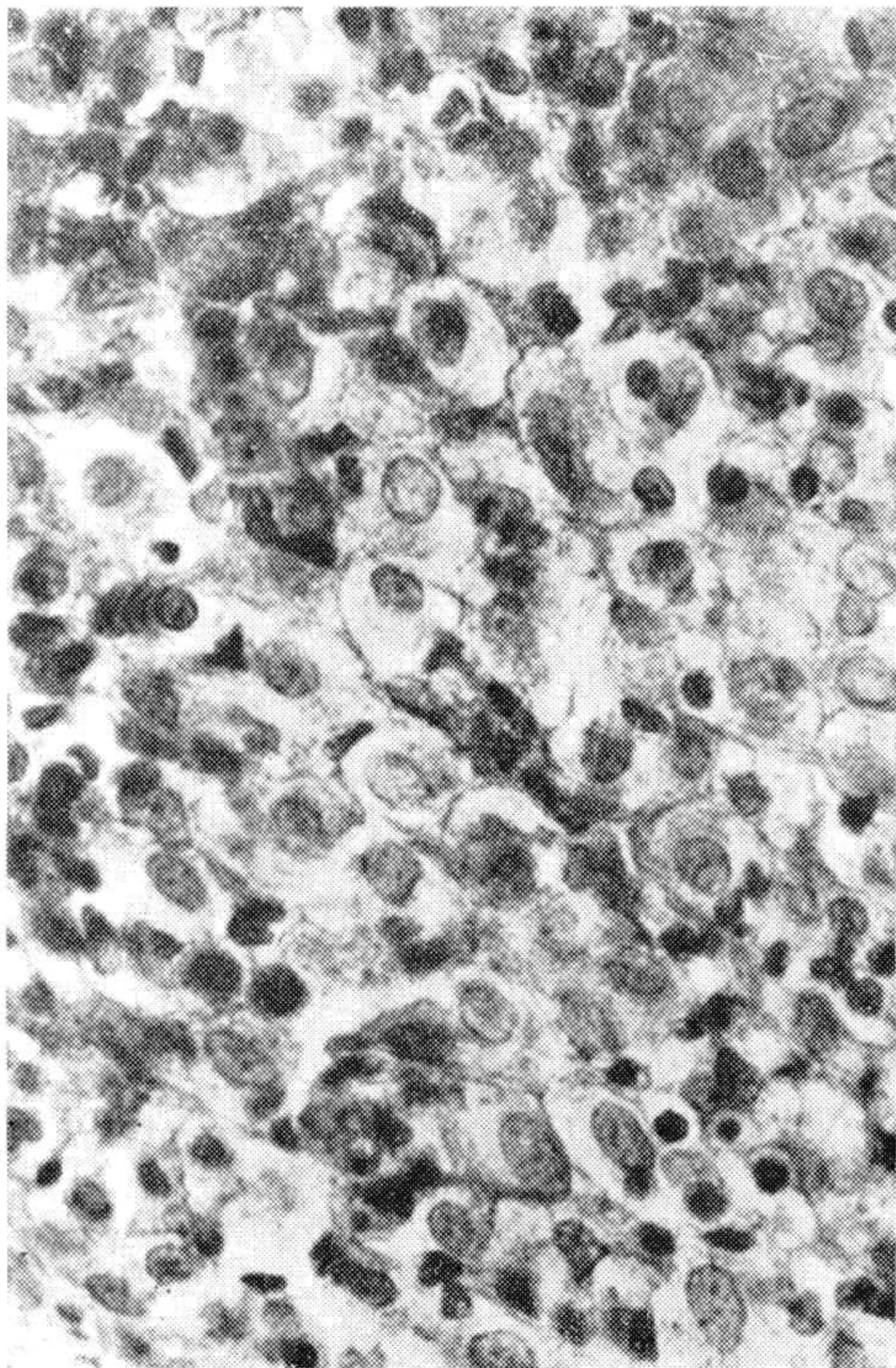


Figura 22

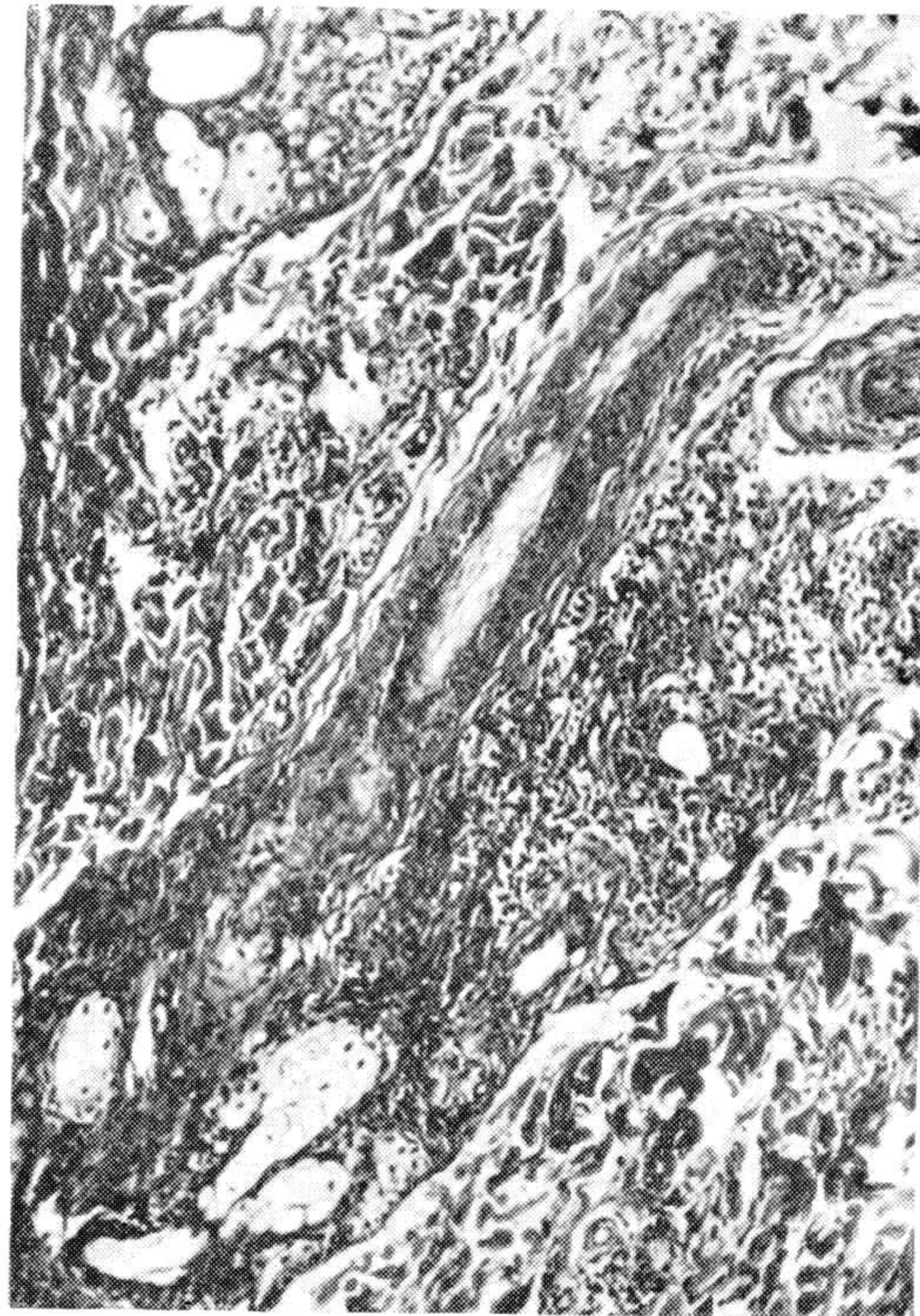


Figura 23

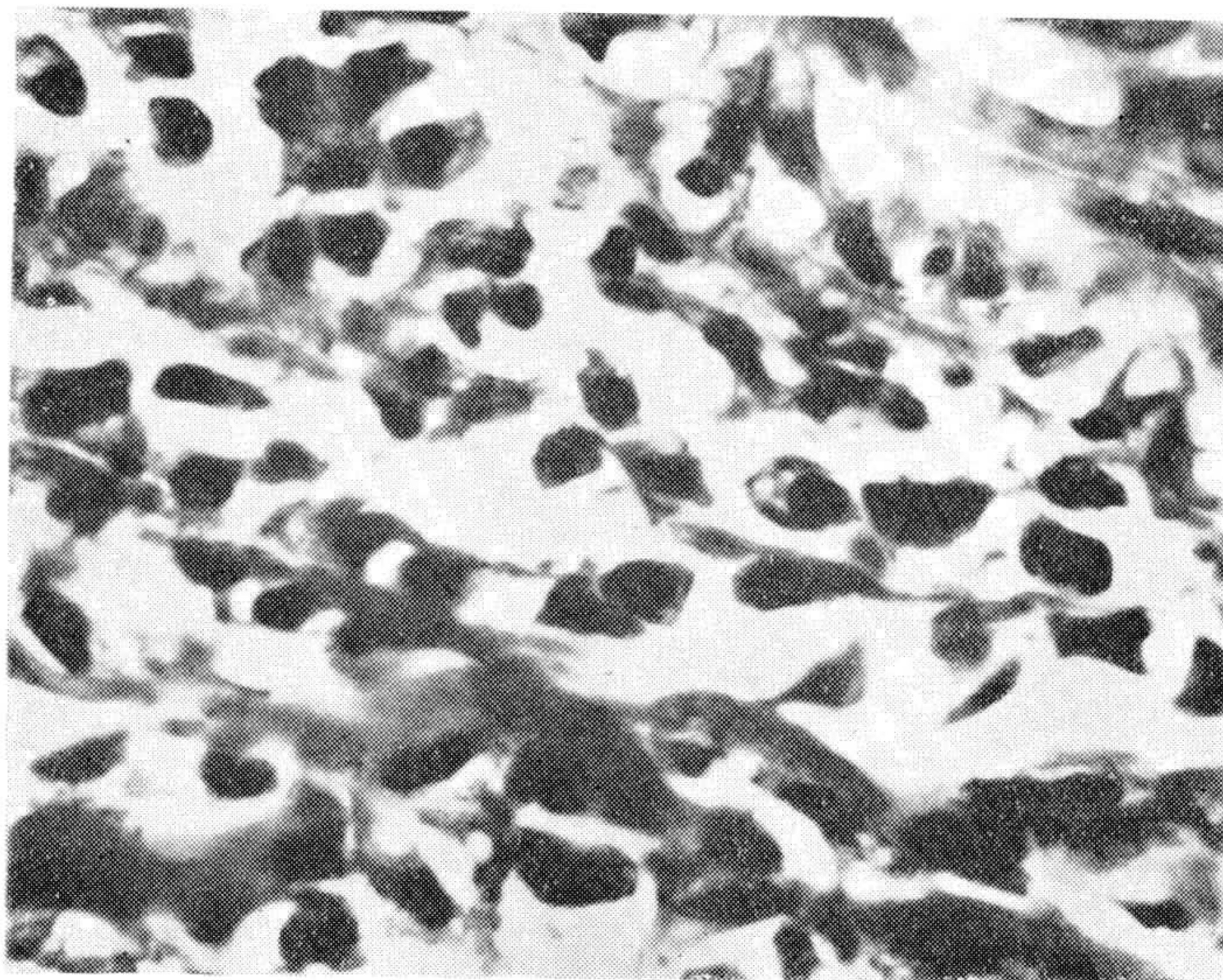


Figura 24