

ALGUMAS OBSERVAÇÕES SÔBRE O COMPORTAMENTO DA *LEISHMANIA BRAZILIENSIS* EM CÃES "

OSWALDO P. FORATTINI *

DINO PATTOLI **

JOSÉ R. AUN ***

O comportamento da *L. braziliensis* em cães tem sido objeto de várias pesquisas, quer no que concerne à infecção natural, quer no aspecto das inoculações experimentais. Todavia, os resultados dessas observações estão longe de serem concordantes. Desde os primeiros autores que trabalharam no assunto, até as últimas pesquisas publicadas, observamos disparidade de conclusões. Em vista disso, é nossa intenção, com o presente trabalho, tentar contribuir para a melhor compreensão desse interessante problema de Parasitologia em nosso meio.

Apresentamos as observações que conseguimos realizar, no espaço de tempo compreendido entre os anos de 1951 e 1953. Essas observações foram levadas a efeito, tanto em zonas endêmicas de Leishmaniose Tegumentar Americana dos Estados de São Paulo e Paraná, a procura de infecções naturais, como nas inoculações experimentais que levamos a cabo no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

INFECÇÃO NATURAL

Entre nós, deve-se a Pedroso (1913)¹⁶ a primazia do encontro de cães naturalmente infectados pela *Leishmania braziliensis*. Esse autor con-

Recebido para publicação em 5 de agosto de 1953.

" Trabalho realizado na Cadeira de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo (Prof. Paulo C. A. Antunes). Apresentado na sessão de 4 de agosto de 1953, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* e ** Assistentes da Cadeira de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

*** Estagiário da Divisão do Serviço do Interior (Dr. A. Cortez), do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo.

seguiu observar dois casos na região da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, no Estado de São Paulo. Esses animais apresentavam ulcerações nasais que, ao exame, se revelaram portadoras de leishmanias. Em trabalho posterior na mesma região, Brumpt e Pedroso (1913)⁷ referem o encontro de cinco cães naturalmente infectados e supõem que essa espécie seja a única doméstica a se apresentar infectada em condições naturais. Apesar desses achados, no mesmo ano Migone (1913)¹⁰ não conseguia encontrar cães infectados nas zonas endêmicas do Paraguai por ele estudadas. Gordon e Young (1922)⁷, examinando 50 cães em Manaus, encontraram apenas um com ulceração nasal, na qual, porém, não conseguiram demonstrar a presença de leishmanias. Pedroso (1923)¹⁷ descreve com maiores pormenores os casos descobertos com Brumpt em 1913⁷. Strong et al. (1926)²⁰ chegam a resultados negativos depois de examinar grande número de cães em Manaus. Mazza (1926 e 1927)^{11, 12}, na região de Tabacal (Salta, Argentina), encontra cães com lesões leishmanióticas na raiz das orelhas. A natureza dessas lesões foi comprovada pelo encontro do parasito. Montano (1938)¹¹, em Guatemala, refere o encontro de cerca de 50 cães com úlceras nas orelhas ou em outras partes do corpo. A despeito disto, Shattuck (1938)²² manifesta a seguinte opinião: "That the dog or any other domestic animal is now an important reservoir of leishmaniasis in America seems unlikely.". Pifano (1940)¹⁸, no Estado de Yaracuy (Venezuela), encontra um cão com ulceração nasal positiva para leishmanias. Pessoa e Barretto (1945)¹⁸, trabalhando em zonas endêmicas do Estado de São Paulo, referem o encontro de oito cães com lesões ulcerosas. Nenhum deles, porém, revelou leishmanias, quer ao exame das lesões quer ao exame dos órgãos internos. Romãia et al. (1949)²¹, pesquisando na Província de Tucumán (Argentina), num total de 58 animais examinados, encontraram três infectados. Em outros cinco, embora a biópsia tenha revelado processo infiltrativo semelhante ao dos primeiros, não foi possível encontrar o parasito. As leishmanias, nos três casos positivos, foram sempre pouco numerosas. Sob o ponto de vista macroscópico, as lesões apresentavam-se com o aspecto de ulcerações, nódulos e escoriações, nas orelhas. Herrer (1949-1951)⁹, na Província de Huarochiri (Perú), conseguiu observar infecção natural em 46 cães. Este achado é interessante principalmente pelo aspecto macroscópico que as lesões apresentavam. De modo geral benignas, quando ulceradas tendiam à cicatrização espontânea. As ulcerações observadas por Herrer eram muito superficiais e, em alguns casos, havia mesmo ausência de qualquer alteração macroscópica.

Desde que nos dispusemos a levar a efeito algumas observações epidemiológicas sobre Leishmaniose Tegumentar Americana do Estado de São

Paulo e regiões vizinhas, a nossa atenção esteve particularmente voltada para a infecção natural em cães. Tendo presente as últimas observações de Pessoa e Barretto (1945)¹⁸, Romaña et al. (1949)²¹ e Herrer (1949-1951)⁹, procuramos examinar todos os animais que apresentavam qualquer lesão no tegumento, por pequena e superficial que ela fôsse. Assim, pois, tivemos a nossa atenção chamada para lesões de diversos aspectos, como sejam, peladas, crostas, escoriações, úlceras e nódulos. Dessa maneira, tivemos ocasião de examinar 32 cães portadores de lesões no tegumento. Em nenhum deles, no entanto, conseguimos demonstrar a presença de leishmanias nas lesões.

Com maior freqüência encontram-se cães com uma só lesão. Em alguns animais encontramos mais de uma, sendo que, num caso, pudemos observar seis lesões ulcerosas distribuídas por vários pontos da superfície cutânea. Na sua maioria as lesões se apresentaram com aspecto de úlceras pouco profundas e de bordas mais ou menos bem delimitadas. Todavia, como já assinalamos, tivemos ocasião de examinar lesões de aspectos macroscópicos diversos. Dêsse modo, examinamos também várias peladas e escoriações, assim como, em alguns casos, raspamos a pele nas proximidades do nariz e pavilhão das orelhas para pesquisa, mesmo na ausência de lesão macroscópicamente apreciável. A localização dessas lesões foi muito variada. Encontramo-las nas patas, dorso, testículos e focinho. Em dois casos, observamos lesões na raiz e pavilhão das orelhas (fig. 1). Em um caso pudemos encontrar uma lesão interessando o focinho e mucosa nasal.

As regiões onde foram encontrados êsses animais são as seguintes: Estado de São Paulo — Ribeirão do Moinho (Município de Andradina) e Martilândia (Município de Santo Anastácio); Estado do Pará — Tamboara (Município de Paranaíba). Em tôdas elas encontramos casos humanos autóctones de Leishmaniose Tegumentar Americana.

O resultado negativo de nossas observações concorda com os de Pessoa e Barretto (1945)¹⁸, ao passo que está em desacôrdo com os resultados a que chegaram Romaña et al. (1949)²¹ e Herrer (1949-1951)⁹, para citar sômente os trabalhos mais recentes.

O método por nós usado, consistia na pesquisa em esfregaços de material das lesões, feitos em lâminas. Segundo Romaña et al. (1949)²¹, êsse processo não seria tão aconselhável como a biópsia da lesão e ulterior exame histopatológico. Dadas porém as dificuldades locais em realizar essas biópsias (já apontadas por Pessoa e Barretto, 1945¹⁸), tivemos que nos contentar com simples esfregaços. Todavia, acreditamos que a eficiência do nosso método não ficou muito aquém do da biópsia. Isso por-

que o número de lâminas preparadas para cada lesão sempre foi mais de uma, variando com o número de lesões que o animal apresentava no seu tegumento. Se o cão possuía uma só lesão a pesquisar, o número de lâminas preparadas era suficientemente grande. Tal fato, a nosso ver, de muito aumenta a probabilidade do encontro das formas parasitárias se elas existirem na lesão pesquisada.

Não é fácil, portanto, interpretar estes resultados, à luz das pesquisas realizadas até agora. É possível que a *Leishmania braziliensis* que ocorre nas regiões acima citadas, atualmente, seja uma variedade que, de maneira diferente da que ocasiona a Uta no Peru, não se adapte facilmente aos cães. Dessa maneira, o cão não seria um animal muito sensível ao parasito, sendo que, nos casos em que este consegue se implantar, produz lesões de evolução benigna, fugazes e sempre em pequeno número ou mesmo ausência de formas parasitárias, como observaram Romãña et al. (1949)²¹. Estamos inclinados a aceitar esta hipótese, especialmente depois dos resultados que obtivemos com inoculações experimentais.

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS

O primeiro autor a tentar a inoculação experimental da *Leishmania braziliensis* em cães, parece que foi Splendore (1912)²². Inoculou quatro cães, com material positivo de lesão humana, com resultados negativos. A idênticos resultados chegaram as experiências de Silva (1912)²³, Migone (1913)¹³ e Rebagliati (1914)²⁰. Os primeiros resultados positivos foram obtidos por Wenyon (1913)²⁷, o qual, usando material retirado de lesão, obteve a reprodução da mesma na orelha de um cão. Seguem-se outros resultados positivos de Strong et al. (1915)²⁵ e D'Utra e Silva (1915)¹. Aragão (1922)¹, obtém resultado positivo, inoculando cão jovem com material de *Phlebotomus intermedius* naturalmente infectado com leptomonas. São, porém, os trabalhos de Pedroso (1923)¹⁷, na época, os mais completos sobre a inoculação da *L. Braziliensis* em cães. Este autor empregava sistematicamente a via intradérmica no focinho, usando culturas e material retirado de lesões humanas. Inoculando cães novos obteve resultados positivos e negativos. Observou que todos os casos positivos evoluíam para a cura espontânea e conseqüente cicatrização das lesões experimentais. Segundo suas próprias palavras: "Esta experiência vem demonstrar que não se consegue sempre infeccionar o animal e que a gravidade e a extensão da doença variam de acôrdo com fatores ainda não determinados". Pedroso chama ainda a atenção para o fator idade do animal. Quanto mais novo o cão, mais graves serão as lesões produzidas. Montenegro (1923)¹⁵ resume as observações de Pedroso, tecendo al-

gumas considerações sobre a localização mucosa do parasito. Fonseca (1928)⁵ obtém êxito pela inoculação de cultura num cão, ao mesmo tempo que realiza três tentativas infrutíferas em outros tantos animais. No único caso positivo, a lesão ulcerosa sempre apresentou um número muito reduzido de formas em leishmania. Geiman (1940)⁶ chega a resultado negativo usando material de lesão, e positivo, com passagem ulterior, utilizando culturas. Cunha (1944)⁷ inocula intradèrmicamente três cães, com resultados positivos em todos. As lesões eram nodulares, sem tendência à ulceração e terminando pela cura espontânea. O exame histológico revelou infiltrado de mononucleares, alguns deles com leishmanias. Herrer e Battistini (1949-1951)¹⁰, no Perú, trabalhando com amostras de leishmanias procedentes de casos de Uta, verificaram que as culturas velhas davam resultados negativos, ao passo que resultado inverso era obtido com culturas de isolamento recente. As regiões escolhidas para inoculação foram o nariz e orelhas, obtendo-se resultado principalmente no nariz. Macroscopicamente, ocorria a formação de nódulos com pouca tendência à ulceração. As formas parasitárias tendiam a diminuir sensivelmente de número com o correr do tempo. Por fim, temos o recente trabalho de Nery Guimarães (1951)⁸, o qual chega a resultados completamente negativos em 14 cães inoculados por via subcutânea e intraperitoneal.

Vamos expor, em seguida, os resultados que obtivemos com a inoculação de culturas de *L. braziliensis* em cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Tendo presente as verificações de Herrer e Battistini (1949-1951)¹⁰ no que concerne à ineficácia do uso das culturas velhas, tivemos inicialmente a preocupação de trabalhar com amostras de isolamento recente. Foram utilizadas três amostras de *L. braziliensis* isoladas por nós de casos humanos. Tais culturas foram as seguintes:

Amostra 13HC — Isolada de paciente portador de lesões cutâneas, internado no Hospital das Clínicas (Clín. Dermatológica — Serviço do Prof. J. Aguiar Pupo). O doente era procedente de Pôrto Vargas (Pôrto do Tabuado), margem do Rio Paraná, Município de Jales, E. de São Paulo. Data do isolamento: 1-3-1952.

Amostra 18HC — Isolada de paciente portador de lesões cutâneas, internado no Hospital das Clínicas (Clín. Dermatológica — Serviço do Prof. J. Aguiar Pupo). O caso era procedente do Estado de Pernambuco. Data do isolamento: 7-8-1952.

Amostra 19WAL — Isolada de paciente portador de lesão cutânea, na região de Martilândia, Município de Santo Anastácio, E. de São Paulo. Data do isolamento: 11-8-1952.

As culturas destas três amostras foram mantidas em meios de NNN e Rugai.

Empregamos as vias intradérmica e subcutânea, preferindo a região nasal (focinho) e, em algumas ocasiões, também as orelhas. Algumas inoculações foram realizadas com material de lesão obtida experimentalmente.

Alguns animais, decorrido certo tempo da inoculação inicial, foram re-inoculados com o mesmo material.

Segundo as observações de Herrer e Battistini (1949-1951)¹⁰, nem sempre o resultado da inoculação se traduz por lesões macroscòpicamente apreciáveis. Em vista disso, realizávamos pesquisas periódicas do parasito, por insignificante que fôsse a alteração observada na região inoculada, ou mesmo, sem qualquer vestígio de lesão. Ao terminar a observação, caso o animal nada apresentasse digno de nota, a região inoculada era examinada, colhendo-se o material por raspagem local. Quando ocorria a morte do animal, procedia-se à retirada da região inoculada para exame histológico.

Com o aparecimento de qualquer lesão apreciável macroscòpicamente, além da colheita de material por raspagem para esfregaços, praticávamos a biópsia para ulterior exame histológico.

Levando em consideração as verificações de Pedroso (1923)¹⁷, tivemos sempre o cuidado de trabalhar com animais jovens.

RESULTADOS OBTIDOS

Damos, em seguida, a descrição sumária das diversas inoculações realizadas:

1ª inoculação. — Foram utilizados três cães com as seguintes idades: cão 6 (30 dias), cão 7A (12 dias) e cão 7B (12 dias). Foi inoculada a cultura 13HC no seu primeiro repique. Cada animal recebeu uma dose de 20 milhões de leptomonas. A região escolhida foi o dorso do nariz (focinho) por via intradérmica e subcutânea. Data da inoculação: 19-3-1952.

Os animais 6 e 7B nada apresentaram digno de nota num período de observação que durou até setembro desse mesmo ano.

O cão 7A, embora por motivos imprevisíveis não pudéssemos surpreender o início da lesão, apresentou a 7-7-1952 na região inoculada,

uma ulceração de contornos circulares e fundo granuloso (fig. 2). O exame de material retirado da lesão, e espalhado em lâmina, revelou pequeno número de leishmanias. A 15-7-1952 praticamos uma biópsia da lesão. Do fragmento retirado, reservamos uma parte para cortes histológicos, e o restante, após trituração em solução fisiológica, foi inoculado com a mesma técnica em outros dois cães (19A e 19B). A 1-8-1952 a lesão regredira sensivelmente, e a 22-9-1952 nada mais restava senão uma pequena cicatriz acompanhada de ligeira pelada.

O exame histológico da lesão revelou infiltrado de mononucleares, alguns deles apresentando escassos parasitos.

2ª inoculação. — Realizada a 15-7-1952, foram utilizados três cães: 19A, 19B e 19C, de um mês e meio de idade. A região e as vias escolhidas foram as mesmas da inoculação anterior. Os dois primeiros foram inoculados com material da lesão experimental do cão 7A. O cão 19C foi inoculado com uma dose de 18 milhões de leptomonas do 7º repique da cultura 13HC.

O cão 19A, a 4-8-1952 apresentou à palpação da região inoculada, um pequeno nódulo. Feitas pequenas incisões e raspagens no local, as pesquisas de leishmanias foram negativas. A 25-8-1952, o animal morreu e a região inoculada foi retirada para exame histológico. Êste, revelou o mesmo aspecto observado no cão 7A, sem, contudo, têmos podido observar parasitos.

O cão 19B, também revelou um pequeno nódulo sensível à palpação da região inoculada, em 11-8-1952, o qual, examinado pelos mesmos processos usados no caso anterior, também não revelou a presença de leishmanias. A 3-11-1952, o nódulo já crescera o suficiente para poder se revelar como ligeira saliência na região inoculada. A partir dessa data o crescimento acentuou-se sensivelmente e, a 15-11-1952, apresentava-se um nódulo bem apreciável, fazendo grande saliência na região inoculada (fig. 3). Novo exame parasitológico realizado e novo resultado negativo. Nessa ocasião, ao mesmo tempo que colhíamos material para exame (biópsia e esfregaços), realizávamos com parte desse material, inoculação pela mesma via e região, em um outro animal (cão 31). O tamanho do nódulo permaneceu estacionário por mais de um mês e a 12-1-1953 pudemos observar ligeira diminuição de seu volume. Essa regressão continuou lenta mas progressivamente até que em 10-7-1953 estava quase que totalmente desaparecido (fig. 4). Durante todo êsse tempo de observação foram feitos novos exames com resultados constantemente negativos para leishmanias.

O cão 19C, inoculado com cultura, nada apresentou digno de nota até 12-1-1953. Nessa data foi reinoculado com a mesma cultura no lado direito do nariz e orelhas, recebendo um total de 100 milhões de leptomonas em cada região. Todavia, continuou sem nada apresentar até maio de 1953, quando demos por finda esta observação.

3ª inoculação. — Dois cães: 20A com um mês e meio de idade e 20B com vinte dias. O material inoculado foi a cultura 18HC no seu primeiro repique, com uma dose de 22 milhões de leptomonas para cada animal. As vias utilizadas foram a intradérmica e subcutânea no nariz (focinho). Data da inoculação: 8-8-1952.

Os dois animais nada apresentaram digno de nota durante um período de observação que durou até maio de 1953.

4ª inoculação. — Feita a 20-8-1952, utilizando o primeiro repique da cultura 19WAL, totalizando uma dose de 14 milhões de leptomonas para cada animal. A técnica de inoculação e região escolhida, foram as mesmas da anterior. Foram usados três animais, com as seguintes idades: cão 22A, um mês e meio, cão 22B, vinte dias e cão 22C, vinte dias.

O animal 22A a 10-9-1952 apresentou na região inoculada um pequeno nódulo sensível à palpação. Foram feitas incisão e raspagem com coleta de material para pesquisa de leishmanias, com resultado negativo. A 22-9-1952, o nódulo desaparecera completamente. Novo exame de material coletado no ponto inoculado, com resultado negativo. Nada mais apresentou digno de nota até o fim do período de observação, que foi em maio de 1953.

Os cães 22B e 22C nada revelaram até as datas em que morreram, e que foram, respectivamente, 6-9-1952 e 9-9-1952. O exame histológico da região inoculada e dos órgãos internos nada revelou.

5ª inoculação. — Foram utilizados cinco cães, com as seguintes idades: 23A, dois meses, 23B, 23C, 23D e 23E, 10 dias. Inoculados intradérmica e subcutaneamente na região nasal. O material usado foi a cultura 19WAL no seu terceiro repique, com uma dose de 20 milhões de leptomonas para cada animal. Data da inoculação: 13-9-1952.

Os cães 23A, 23C, 23D e 23E nada revelaram até 12-1-1953, época em que foram reinoculados com a mesma cultura em concentração maior (90 milhões de leptomonas para cada animal). Essa nova inoculação foi feita no nariz e orelhas. Todavia, os animais continuaram negativos por um período de observação que se prolongou até maio de 1953.

O cão 23B apresentou pequeno nódulo perceptível à palpação na região inoculada, em 29-11-1952. Esse nódulo cresceu, tornando-se visível como saliência da região inoculada, em 10-12-1952 (fig. 5). Nessa ocasião foi feita incisão da lesão, retirado material para exame parasitológico. Este foi positivo, revelando pequeno número de leishmanias. A 15-12-1952 o animal morreu, a lesão foi retirada. Uma parte do nódulo foi destinada a cortes histológicos, e o restante foi triturado em solução fisiológica e inoculado com a mesma técnica em outros dois animais (cães 34A e 34B). O exame histológico da lesão revelou quadro semelhante ao apresentado pelo animal 7A, já descrito. Infiltrado de mononucleares, alguns deles com escassas formas parasitárias.

6ª inoculação. — Realizada a 23-9-1952 com dois cães: 24A de três meses e 24B de dois meses. A via e região usadas foram as mesmas da inoculação anterior. Foi inoculada a cultura 19WAL, numa concentração tal que foi possível administrar a cada animal uma dose de 170 milhões de leptomonas.

O cão 24A morreu a 12-11-1952, sem nada ter revelado o exame da região inoculada e dos órgãos internos.

O cão 24B apresentou dois pequenos nódulos na região inoculada, sensíveis à palpação, em 3-12-1952. O exame desses nódulos foi negativo. Desapareceram completamente a 10-1-1953. A 12-1-1953 o animal foi reinoculado na mesma região anteriormente usada e no pavilhão das orelhas, com a mesma cultura. Recebeu uma dose total de 90 milhões de leptomonas. Observado até maio de 1953, nada mais apresentou digno de nota.

7ª inoculação. — Foi utilizado um animal de dois meses de idade, o cão 31. A inoculação foi feita pelas vias intradérmica e subcutânea na região nasal com material retirado da lesão do cão 19B, em 15-11-1952.

A 13-12-1952 apresentava pequeno nódulo na região inoculada, revelável à palpação. O exame realizado não conseguiu demonstrar a presença de parasitos. A 20-12-1952 o nódulo desaparecera completamente. Nada mais apresentou, durante um período de observação que terminou em maio de 1953.

8ª inoculação. — Dois cães: 34A e 34B, de dois e três meses de idade, respectivamente. Inoculados na região nasal (intradérmica e subcutaneamente) com material da lesão experimental do cão 23B. Data da inoculação: 15-12-1952.

A 20-1-1953, o animal 34A revelou pequeno nódulo na região inoculada, perceptível à palpação. O exame foi negativo para leishmanias. A 27-1-1953 o nódulo tinha desaparecido completamente.

Os dois animais nada mais apresentaram digno de nota, observados que foram até junho de 1953.

9ª inoculação. -- Foram usados cinco cães, a saber: 36A, 36B, 36C, 36D, com dois meses de idade e 36E com cerca de cinco meses de idade. Inoculados a 12-1-1953, por vias intradérmica e subcutânea na região nasal e pavilhão das orelhas. O material inoculado foi a cultura 13HC, numa concentração tal que permitiu a administração de 100 milhões de leptomonas para cada animal.

Esses animais nada apresentaram que fôsse digno de nota, num período de observação que se prolongou até junho de 1953.

Resumimos no quadro anexo o resultado das diversas inoculações descritas.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

No espaço de tempo decorrido de março de 1952 a janeiro de 1953, inoculamos um total de 26 cães. Os animais eram todos jovens, variando a idade de 10 dias a 5 meses. O material inoculado foi culturas de *Leishmanias braziliensis* de isolamento recente.

Dos 26 cães, apenas 8 apresentaram alguma alteração macroscópica na região inoculada. Essas alterações eram constituídas principalmente por nódulos. Com exceção de um caso, todos regrediram espontaneamente sem se ulcerarem. Em um caso (cão 7A) houve ulceração, a qual posteriormente regrediu, cicatrizando completamente. Alguns nódulos desenvolveram-se o suficiente para serem notados a um simples exame visual (cães 19B e 23B); os outros, perceptíveis à palpação, regrediram rapidamente, não chegando a se tornarem visíveis.

Nem sempre o aparecimento dessas alterações na região inoculada coincidiu com a presença do parasito, pelo menos em número suficiente para ser evidenciado ao exame rotineiro. Assim é que, a presença de leishmanias nas lesões, só nos foi possível demonstrar em dois casos (animais 7A e 23B). Sempre porém, em número muito pequeno, sendo necessário mesmo, examinar várias preparações, para poder observar um número suficiente de formas. Nos outros seis casos, não foi possível encontrar o parasito, apesar da repetição freqüente das pesquisas.

Os dois cães que apresentaram leishmanias nas lesões, forneceram material para inoculação em outros animais. Essas passagens foram positi-

vas em alguns casos, no que concerne ao aparecimento de alterações macroscópicas na região inoculada. Os parasitos porém, não foram mais encontrados nestes outros animais. Em um caso (cão 19B), inoculado com material positivo de lesão experimental (animal 7A), chegou a se formar um nódulo bastante apreciável (fig. 3). Nêle porém, nunca conseguimos demonstrar a presença de leishmanias, e a passagem de material dêsse nódulo em outro cão (animal 31), deu como resultado uma pequena formação nodular, perceptível à palpação, negativa ao exame parasitológico e que regrediu rapidamente em sete dias, sem deixar sinal. O mesmo fato observamos por ocasião da inoculação com material positivo da lesão do cão 23B, no animal 34B. A própria lesão do cão 19B regrediu espontaneamente, embora de maneira mais lenta, a tal ponto que em julho de 1953 (decorridos onze meses do aparecimento da lesão), quase nada apresentava digno de nota na região inoculada. Notava-se apenas ligeira saliência em nada comparável com o volume atingido pela lesão nodular que nunca chegou a se ulcerar (figs. 3 e 4).

O tempo que mediou entre a inoculação e o aparecimento das lesões com ou sem leishmanias, variou de um mínimo de 20 dias a um máximo de 77 dias.

Como já dissemos, pudemos observar ulceração apenas no caso do cão 7A (fig. 2). Êsse foi um dos casos em que a pesquisa de leishmanias forneceu resultado positivo. No outro caso, em que obtivemos a mesma positividade (cão 23B, fig. 5), não conseguimos observar a ulceração do nódulo porque êsse animal morreu pouco tempo depois do aparecimento da lesão. E' possível que tal ulceração viesse a se realizar, como ocorreu no caso 7A. Neste caso, a ulceração regrediu espontaneamente para a cicatrização completa, o que ocorreu, decorridos seis meses da data da inoculação.

Os nossos resultados não concordam com os de Herrer e Battistini (1949-1951)¹⁰, aproximando-se mais daqueles obtidos por Nery Guimarães (1951)⁸. Nunca conseguimos demonstrar abundância de parasitos nas lesões obtidas, e muito menos na ausência de alterações macroscópicas da região inoculada. Pedroso (1923)¹⁷ já assinalava o fato de nem sempre serem obtidos resultados positivos. A mesma verificação encontramos em Fonseca (1928)⁵.

Num fato porém, as nossas observações concordam, em geral, com as da maioria dos autores que trabalham neste assunto. E' a regressão espontânea das lesões obtidas, tendendo para o desaparecimento total ou cicatrização, se elas foram de natureza ulcerosa.

Em resumo, podemos dizer que o cão, em nossas mãos, não se revelou satisfatoriamente receptível à inoculação experimental da *Leishmania braziliensis* em culturas. Isso embora tivéssemos tido a preocupação de trabalhar em condições favoráveis, como sejam, cães jovens e culturas de isolamento recente.

CONCLUSÕES

Da análise dos dados obtidos, tanto pela pesquisa de animais naturalmente infectados como pelas inoculações experimentais, chegamos à conclusão de que o cão, em nosso meio, não constitui animal satisfatoriamente sensível à infecção pela *Leishmania braziliensis*. Tal conclusão não concorda com a de Herrer (1949-1951)⁹ e Herrer e Battistini (1949-1951)¹⁰. Pensamos porém, podê-la comparar com as verificações de Romãña et al. (1949)²¹. Com efeito, êstes últimos, examinando 58 cães em zona endêmica, encontraram somente três infectados e outro cinco, embora com processo infiltrativo revelado pela biópsia, negativos para o parasito. Nas nossas observações nunca conseguimos encontrar cães positivos para leishmanias "in natura". À luz dos resultados de nossas inoculações experimentais podemos pensar, porém, que alguns dos animais por nós examinados nas regiões endêmicas, fôsse portador de lesão de natureza leishmaniótica. Essa lesão, todavia, dada a pobreza de parasitos que possivelmente apresentava (no que concordamos com Romãña et al., 1949)²¹, tornaria difícil o diagnóstico. Daí provavelmente o resultado negativo a que chegou na pesquisa de cães naturalmente infectados.

Sob o ponto de vista epidemiológico porém, não há evidência de que o cão constitua um reservatório natural de importância na manutenção de uma epidemia de Leishmaniose Tegumentar Americana, em nosso meio. Neste particular, os nossos resultados são concordes com os de Fonseca (1928)⁵, Cunha (1944)³ e Romãña et al. (1949)²¹.

Acreditamos, portanto, que seriam necessárias novas pesquisas, a fim de elucidar essas diferenças de resultados. Estes poderiam correr por conta de possíveis raças diversas do parasita ou de animais inoculados.

RESUMO

Os Autores apresentam o resultado de suas observações na pesquisa de cães infectados e na inoculação desses animais, pela *Leishmania braziliensis*. Foram pesquisados 32 animais portadores de lesões de variado aspecto, em várias regiões endêmicas de Leishmaniose Tegumentar Americana dos Estados de São Paulo e Paraná (Brasil). Em nenhum deles

foi possível determinar a natureza leishmaniótica das lesões de que eram portadores. Foram inoculados 26 animais jovens, com culturas de isolamento recente. Em 8 foi possível observar o aparecimento de alterações macroscópicas na região inoculada. Em apenas dois, conseguiu-se demonstrar, ao lado dessas alterações, a presença do parasito. Os Autores concluem pela pouca receptividade, em nosso meio, do cão à infecção pela *Leishmania braziliensis* e, conseqüentemente, pela sua reduzida importância epidemiológica.

SUMMARY

The Authors give the results of observations in researchs of naturally infected dogs and in the inoculations of these animals by *Leishmania braziliensis*. Thirty two animals with lesions of several aspects were examined in several endemic regions of Mucocutaneous Leishmaniasis in the States of São Paulo and Paraná (Brazil). In none of these animals it was possible to determine the leishmaniotic nature of the lesion they had. Twenty six young animals were inoculated with recent isolated cultures of the parasite. In eight of them it was possible to observe macroscopic alterations in the inoculated region. Only in two of them it was possible to find the parasite in these lesions. The Authors conclude by little receptivity of dogs by *Leishmania braziliensis* infection and consequently by its little epidemiologic value in these regions of Brazil.

BIBLIOGRAFIA

1. Aragão, H. B.: Transmissão da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedius*. Brasil-méd. **36**:129-130, 1922.
2. Brumpt E. & Pedroso, A. M.: Pesquisas epidemiológicas sobre a Leishmaniose americana das florestas no Estado de São Paulo (Brasil). An. paulist. med. e cir. **1**:97-132, 1913.
3. Cunha, A. M.: Infecções experimentais na Leishmaniose Tegumentar Americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **41**:263-282, 1944.
4. D'Utra & Silva (1915): In Pessoa & Barretto¹⁸, 1945. p. 304.
5. Fonseca, F.: Infecção experimental do cão por cultura de *Leishmania braziliensis* Vianna 1911. An. Fac. med. Univ. São Paulo **3**:53-57, 1928.
6. Geiman, Q. M.: A study of four Peruvian strains of *Leishmania braziliensis*. J. Parasitol. (Supplem.) **26**:22-23, 1940.
7. Gordon, R. M. & Young, C. J.: Parasites in dogs and cats in Amazonas. Ann. Trop. Med. **36**:297-300, 1922.
8. Guimarães, F. N.: Leishmaniose experimental III. A) Comportamento da *L. braziliensis* em camundongos (*Mus musculus*, var. *albinus*). B) Infecções ligeiras em "cotton-rats" (*Sigmodon hispidus hispidus*). C) Animais refratários. Hospital **40**:11-20, 1951.

9. Herrer, A.: Leishmaniasis natural en perros procedentes de localidades autógenas. *Rev. med. exper.* **8**:87-118, 1949-1951.
10. Herrer, A. & Battistini, M. G.: Infección experimental de perros con cepas de leishmanias procedentes de casos de Uta. *Rev. med. exper.* **8**: 12-28, 1949-1951.
11. Mazza, S.: Existencia de la leishmaniosis cutánea en el perro en la República Argentina. *Bol. Inst. clín. quir.* **2**:147-148, 1926.
12. Mazza, S.: Leishmaniosis cutánea en el caballo y nueva observación de la misma en el perro. *Bol. Inst. clín. quir.* **3**:462-464, 1927.
13. Migone, L. E.: La buba du Paraguay. leishmaniose américaine. *Bull. Soc. path. exot.* **6**:210-218, 1913.
14. Montano (1938): *In* Shattuck, G. C.²², 1938, p. 70.
15. Montenegro, J.: Leishmaniose em cães. *An. paulist. med. e cir.* **11**:156-157, 1926.
16. Pedroso, A. M.: Leishmaniose local do cão. *An. paulist. med. e cir.* **1**: 33-39, 1913.
17. Pedroso, A. M.: Infecção do cão pela *Leishmania tropical*. *Rev. med. do C. A. Oswaldo Cruz* **7**(23)42-45 e **7**(24)42-44, 1923.
18. Pessoa, S. B. & Barretto, M. P.: *Leishmaniose Tegumentar Americana*. Rio de Janeiro, Minist. Ed. e Saúde, 1945.
19. Pifano C., F.: La leishmaniasis tegumentaria en el Estado Yaracuy. Venezuela. *Rev. Policlínica Caracas* **9**:3139-658, 1940.
20. Rebagliati, R. (1914): *In* Herrer & Battistini⁹, 1949-1951.
21. Romaña, C., Najera, L., Conejos, M. & Abalos, J. W.: I. Leishmaniosis Tegumentaria en perros de Tucumán. II. Foco domestico de leishmaniosis. *An. Inst. Med. Regional* **2**:283-292, 1949.
22. Shattuck, G. C.: A medical survey of the Republic of Guatemala. *Carnegie Inst. Washington*, 1938.
23. Silva, Pirajá: La leishmaniose cutanée à Bahia. *Rev. med. São Paulo* **15**:275-281, 1912.
24. Splendore, A.: Leishmaniosi con localizzazione nelle cavità mucose (nuova forma clinica). *Bull. Soc. path. exot.* **5**:411-436, 1912.
25. Strong, R. P., Tyzzer, E. E., Brues, C. T., Sellards, A. W. & Castiaburu. R. C. (1915): *In* Pessoa & Barretto¹⁸, 1945, p. 304.
26. Strong, R. P., Shattuck, G. C., Bequaert, J. C. & Wheeler, R. E.: Medical report of the Hamilton Rice seventh expedition to the Amazon, in conjunction with the Department of Tropical Medicine of Harvard University, 1924-1925. Cambridge, 1926, p. 54-62.
27. Wenyon, C. M.: A further note on a case of dermal leishmaniasis from South American with results of inoculation experiments. *J. London Sch. Trop. Med.* **2**:117-119, 1913.

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS REALIZADAS EM CÃES COM AMOSTRAS DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS*
ISOLADAS DE CASOS HUMANOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Cão nº	Material inocul.	Nº de leptomonas inoculadas	R e s u l t a d o s		Tempo de incubação	Data da inoculação	Tempo de observação
			Presença de leishmanias	Presença de alt. maceros-cópicas			
6	Cult. 13 HC	20 milhões	negativo	negativo	-	19- 3-1952	Até setembro 1952.
7A	Cult. 13 HC	20 milhões	positivo	positivo	--	19- 3-1952	Até 22-9-1952.
7B	Cult. 13 HC	20 milhões	negativo	negativo	--	19- 3-1952	Até setembro 1952.
19A	Lesão 7 A	--	negativo	positivo	20 dias	15- 7-1952	Morreu a 25-8-1952.
19B	Lesão 7 A	--	negativo	positivo	27 dias	15- 7-1952	Até 10-7-1953.
19C	Cult. 13 HC Cult. 13 HC	18 milhões 100 milhões	negativo negativo	negativo negativo	--	15- 7-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
20A	Cult. 18 HC	22 milhões	negativo	negativo	--	8- 8-1952	Até maio 1953.
20B	Cult. 18 HC	22 milhões	negativo	negativo	--	8- 8-1952	Até maio 1953.
22A	Cult. 19 WAL	14 milhões	negativo	positivo	21 dias	20- 8-1952	Até maio 1953.
22B	Cult. 19 WAL	14 milhões	negativo	negativo	--	20- 8-1952	Morreu a 6-9-1952.
22C	Cult. 19 WAL	14 milhões	negativo	negativo	--	20- 8-1952	Morreu a 9-9-1952.
23A	Cult. 19 WAL Cult. 19 WAL	20 milhões 90 milhões	negativo negativo	negativo negativo	--	13- 9-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
23B	Cult. 19 WAL	20 milhões	positivo	positivo	77 dias	13- 9-1952	Morreu a 15-12-1952.

Cão nº	Material inocul.	Nº de leptomonas inoculadas	R e s u l t a d o s		Tempo de incubação	Data da inoculação	Tempo de observação
			Presença de leishmanias	Presença de alt. macros-cópicas			
23C	Cult. 19 WAI, Cult. 19 WAL	20 milhões 90 milhões	negativo negativo	negativo negativo	-- --	13- 9-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
23D	Cult. 19 WAL Cult. 19 WAL	20 milhões 90 milhões	negativo negativo	negativo negativo	-- --	13- 9-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
23E	Cult. 19 WAI, Cult. 19 WAL	20 milhões 90 milhões	negativo negativo	negativo negativo	-- --	13- 9-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
24A	Cult. 19 WAI.	170 milhões	negativo	negativo	--	23- 9-1952	Morreu a 12-11-1953.
24B	Cult. 19 WAI, Cult. 19 WAI.	170 milhões 90 milhões	negativo negativo	positivo negativo	71 dias --	23- 9-1952 12- 1-1953	Nova inoculação a 12-1-1953. Até maio 1953.
31	Lesão 19 B	--	negativo	positivo	28 dias	15-11-1952	Até maio 1953.
34A	Lesão 23 B	--	negativo	positivo	36 dias	15-12-1952	Até junho 1953.
34B	Lesão 23 B	--	negativo	negativo	--	15-12-1952	Até junho 1953.
36A	Cult. 13 HC	100 milhões	negativo	negativo	--	12- 1-1953	Até junho 1953.
36B	Cult. 13 HC	100 milhões	negativo	negativo	--	12- 1-1953	Até junho 1953.
36C	Cult. 13 HC	100 milhões	negativo	negativo	--	12- 1-1953	Até junho 1953.
36D	Cult. 13 HC	100 milhões	negativo	negativo	--	12- 1-1953	Até junho 1953.
36E	Cult. 13 HC	100 milhões	negativo	negativo	--	12- 1-1953	Até junho 1953.



Fig. 1 - Cão de Martilândia (Município de Santo Anastácio, Estado de São Paulo), mostrando lesão na raiz da orelha. Pesquisa negativa para leishmanias.



Fig. 2 — Cão 7A. Fotografia tirada em 7-7-1952.



Fig. 3 — Cão 19B. Fotografia tirada em 15-11-1952.



Fig. 4 — Cão 19B. Fotografia tirada em 10-7-1953.



Fig. 5 Cão 23B. Fotografia tirada em 10-12-1952.