

ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E ULTRA-ESTRUTURAIIS DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA DIFUSA (LCD)

DIFFUSE CUTANEOUS LEISHMANIASIS (DCL) – HISTOLOGICAL AND ULTRAESTRUCTURAL ASPECTS

Achiléa Lisboa Bittencourt

Serviço de Anatomia Patológica do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia - UFBA

Neste capítulo serão considerados os aspectos histopatológicos da leishmaniose cutânea difusa (LCD) polar, da LCD subpolar e da leishmaniose cutânea dimorfa. Nas lesões não involuídas da LCD polar, observam-se macrófagos vacuolados e repletos de parasitos, obscurecendo as estruturas da derme e, muitas vezes, da hipoderme (padrão macrofágico). Este aspecto é, frequentemente, associado à atrofia epidérmica com faixa de Unna e, profundamente, a discreta infiltração linfoplasmocitária. Nas lesões involuídas espontaneamente ou por ação de tratamento antimonial pentavalente (Sb^{+5}), vêem-se acentuação do infiltrado linfoplasmocitário, diminuição do volume dos macrófagos e do parasitismo e áreas de fibrose ao lado de necrose citolítica. Na LCD subpolar, o padrão macrofágico é menos acentuado e alterna-se com áreas de infiltrado linfoplasmocitário, de necrose citolítica e, por vezes, de infiltração de eosinófilos. Na LC dimorfa, aspectos de ambas as formas polares da leishmaniose são observados em uma mesma lesão ou em lesões diferentes. O parasitismo é menos acentuado e células gigantes e epitelioides são observadas ao lado de infiltrado linfoplasmocitário mais intenso. No entanto, granulomas bem organizados não são vistos. O principal diagnóstico diferencial destas formas de leishmaniose é a leishmaniose dérmica pós-calazar. Ultraestruturalmente observam-se, na LCD, lise de macrófagos, destruição parasitária no interior dos macrófagos, contato íntimo entre linfócitos e macrófagos parasitados e entre linfócitos e amastigotas. Tais aspectos associados à infiltração linfoplasmocitária e a fibrose sugerem ocorrer uma resposta imune celular limitada nestas formas de CL, embora insuficiente para controlar a infecção, a resposta imune poderia ser capaz de causar a involução espontânea de algumas lesões. Na LCD subpolar, estudos ultra-estruturais mostraram contato íntimo entre eosinófilos e macrófagos parasitados e líticos e a presença de grânulos de eosinófilos no citoplasma de macrófagos parasitados ou entre as membranas dessas duas células, o que leva a crer que a degranulação do eosinófilo possa constituir outro importante mecanismo parasiticida.

Palavras-chave: leishmaniose cutânea difusa (LCD), histopatologia, estudos ultra-estrutural, *Leishmania amazonensis*.

In this chapter, the histopathological aspects of diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL), subpolar DCL and borderline cutaneous leishmaniasis are described. Microscopically, DCL consists of a monotonous infiltrate of vacuolated and heavily parasitized macrophages replacing the dermis and sometimes the hypodermis (macrophagic pattern). This pattern is frequently associated with epidermal atrophy and Unna's band. In the deep dermis foci of mild lymphoplasmacytic infiltration is usually seen. The increase of lymphoplasmacytic infiltration, the presence of fibrosis and the occurrence of macrophages with smaller vacuoles and fewer parasites are generally associated with involution of lesions that may occur spontaneously or under pentavalente antimonial (Sb^{+5}) treatment. In the subpolar DCL, the parasitism and macrophagic pattern is less marked, and is intermingled with lymphoplasmacytic infiltration, cytolytic necrosis and eosinophils. In the borderline form of leishmaniasis aspects of both polar forms of infection are observed in the same lesion or in different lesions. The parasitism is less marked and giant and epithelioid cells are present associated with a more intense lymphoplasmacytic infiltration. However, well organized granulomas are not observed. Ultrastructurally it has been observed in DCL macrophage lysis, parasitic destruction within intact macrophages, close contact between parasitized macrophages and lymphocytes, and between parasites and lymphocytes. Such aspects associated with the lymphoplasmacytic infiltration and fibrosis suggest a limited CMI response in DCL. Although insufficient to control infection, the immune response may be able to promote the spontaneous regression of some lesions.

Key words: Diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL), histopatology, ultrastructural studies, *Leishmania amazonensis*.

Assim como a hanseníase, a leishmaniose cutânea apresenta um espectro de aspectos clínico-imuno-patológicos variando das formas clássicas cutânea e mucocutânea, representando o polo responsivo, à leishmaniose cutânea

Recebido em 16/05/2009

Aceito em 08/06/2009

Endereço para correspondência: Dra. Achiléa L. Bittencourt. Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Rua Dr. Augusto Viana, s/nº. - Canela - CEP: 40.110-060, Salvador, Bahia, Brazil.

difusa (LCD) que constitui o polo não responsivo ou anérgico⁽¹²⁾. Entre estas formas polares, já se descreveram as formas dimorfa e subpolar, esta última com aspecto intermediário entre as formas difusa e dimorfa^(1,12,14).

A LCD foi descrita, pela primeira vez, em 1945, por Silva,⁽²¹⁾ em um paciente natural da Bahia, sob a denominação de leishmaniose dérmica não ulcerada em nódulos e placas infiltradas e hiperpigmentadas, com estudo clínico e histopatológico. Este paciente foi, posteriormente, re-estudado e acompanhado durante vários anos na Clínica Dermatológica da Faculdade de Medicina da Bahia e incluído,

em 1968, em uma publicação sobre imunopatologia da LCD⁽²⁾. Várias denominações têm sido propostas para esta forma de leishmaniose. Alguns autores preferiram designá-la como leishmaniose anérgica hansenóide⁽²²⁾, devido algumas semelhanças que apresenta com a hanseníase virchowiana. No entanto, a designação de LCD é a de uso mais generalizado e parece ser a mais adequada. Embora existam casos esporádicos de LCD com lesões localizadas, sabe-se que essas formas disseminam-se posteriormente, num espaço de tempo que varia de poucos meses a alguns anos⁽¹¹⁾.

A LCD apresenta aspectos clínicos, imunológicos, parasitológicos e anatomopatológicos bem diversos da leishmaniose cutânea (LC) e cutâneo-mucosa (LCM) (Tabela 1). Não se deve confundir a LCD com a leishmaniose cutânea (LC) disseminada que é uma forma diferente de LC, entidade bem caracterizada nos seus aspectos clínicopatológicos e imunológicos⁽⁹⁾.

Neste capítulo serão abordados os aspectos patológicos e ultra-estruturais da LCD americana.

Patologia da leishmaniose cutânea difusa

Descreve-se, geralmente, na LCD um quadro monótono constituído por macrófagos vacuolados e repletos de parasitos, obscurecendo as estruturas da derme e da hipoderme (Figura 1)^(12,21). Este aspecto é chamado de padrão macrófágico. Os vacúolos são produzidos pelo acúmulo de parasitos e não contêm gordura, como na hanseníase virchowiana. *In vivo*, devem apresentar-se abarrotados de parasitos, que, em sua maioria, perdem-se durante o processamento do tecido. Os macrófagos vacuolados diminuem de volume à medida que se aproximam dos planos profundos da pele, embora permaneçam parasitados⁽⁷⁾. Para melhor avaliar o grau de parasitismo das lesões, deve-se avaliar o índice parasitário das mesmas⁽¹⁾. Têm sido usados, para esta avaliação, os critérios adotados por Ridley & Jopling⁽¹⁷⁾ para a hanseníase.

Considerando que alguns autores referem o padrão macrófágico da LCD como reação granulomatosa^(12,18), é importante definir o critério de granuloma usado neste capítulo. Granuloma é considerado como lesão inflamatória crônica, onde além de células mononucleares são vistas células epitelioides e ou células gigantes multinucleadas^(10,19). De acordo com este conceito, quando os pacientes não são submetidos a imunoterapia, não existe granuloma na LCD polar e subpolar.

O aspecto macrófágico é frequentemente associado à atrofia epidérmica e a presença de faixa de tecido conjuntivo não infiltrado (faixa de Unna), logo abaixo da epiderme, do mesmo modo como ocorre na hanseníase virchowiana (Figura 1). No entanto, esse achado não é constante, vendo-se, por vezes, principalmente em biópsias de zonas de atrito, acantose e o infiltrado macrófágico invadindo a membrana basal da epiderme e, menos frequentemente, a própria epiderme (Figura 2)⁽⁷⁾. Já foram observados parasitos também no interior de células de ductos sudoríparos⁽²⁾. As biópsias de LCD em sua

maioria, mostram profundamente, discreta a moderada infiltração linfoplasmocitária.

Nas lesões involuídas espontaneamente ou por ação de tratamento, vêem-se acentuação do infiltrado linfoplasmocitário e áreas de fibrose (Figura 3) e de necrose citolítica⁽⁷⁾. Estudando biópsias de LCD, realizadas em lesões ativas e em involução, com ou sem ação de tratamento com antimonial pentavalente (Sb⁺⁵), observou-se que as lesões em involução apresentavam maior intensidade do infiltrado linfoplasmocitário e de fibrose e menor parasitismo. A variação dos aspectos histopatológicos foi observada, inclusive, em um mesmo paciente em biópsias realizadas no mesmo dia⁽³⁾.

Nos casos de LCD polar e subpolar, não há referência ao encontro de reação granulomatosa em qualquer fase evolutiva da doença, exceção feita a casos submetidos a tratamento com interferon- γ associado ao antimônio, quando se observa este aspecto histológico associado a acentuado infiltrado linfoplasmocitário e hiperplasia epidérmica (observação pessoal) (Figura 4). A presença de eosinófilos na LCD é raramente observada⁽¹⁾.

Convit & Kerdel-Vegas⁽¹¹⁾, referem que nas lesões iniciais da LCD é visto o mesmo aspecto macrófágico das lesões mais avançadas. No entanto, no BALB/c infectado por *L. amazonensis*, que mostra aspectos semelhantes a LCD humana, foi observado, nas primeiras 24 horas pós-infecção, acentuado predomínio de neutrófilos, os quais foram os principais responsáveis pela fagocitose e destruição dos parasitos. Encontraram-se, em menor proporção, macrófagos e eosinófilos parasitados. No período de uma a quatro semanas, o infiltrado foi misto, com predomínio de macrófagos e com um número razoável de eosinófilos. Estas células, por vezes, chegaram a constituir 20% do infiltrado inflamatório. Neste período, as células mais frequentemente parasitadas foram os macrófagos. O número de linfócitos aumentou progressivamente até ficar em torno de 7%, no final da quarta semana. Na fase tardia da infecção, entre a sétima e a 13ª semana, observou-se infiltrado inflamatório misto alternando com áreas constituídas por macrófagos parasitados e vacuolados. Contudo, no final desta fase, o aspecto histológico foi monótono, constituído quase que exclusivamente por macrófagos volumosos e repletos de parasitos. Nesse estudo, viu-se que logo no início da infecção os neutrófilos foram às células mais efetivas na destruição parasitária⁽¹⁶⁾.

Patologia das leishmanioses dimorfa e leishmaniose cutânea difusa subpolar

Há referência a dois casos de LC dimorfa na literatura nacional, ambos com teste de Montenegro negativo. Um deles apresentou, simultaneamente, pápulas, nódulos e úlceras. Os aspectos histológicos variaram nas diferentes lesões. Em uma biópsia, encontrou-se aspecto macrófágico e, na outra, infiltrado linfoplasmocitário com reação granulomatosa desorganizada ao lado de pequena quantidade de macrófagos parasitados (Figura 5)⁽¹⁴⁾. O outro caso mostrou nódulos e

Figura 1. LCD Polar. Atrofia epidérmica, faixa de Unna e difusa infiltração de macrófagos vacuolados e parasitados. Profundamente, há discreto infiltrado mononuclear. HE, Aumento original 100.

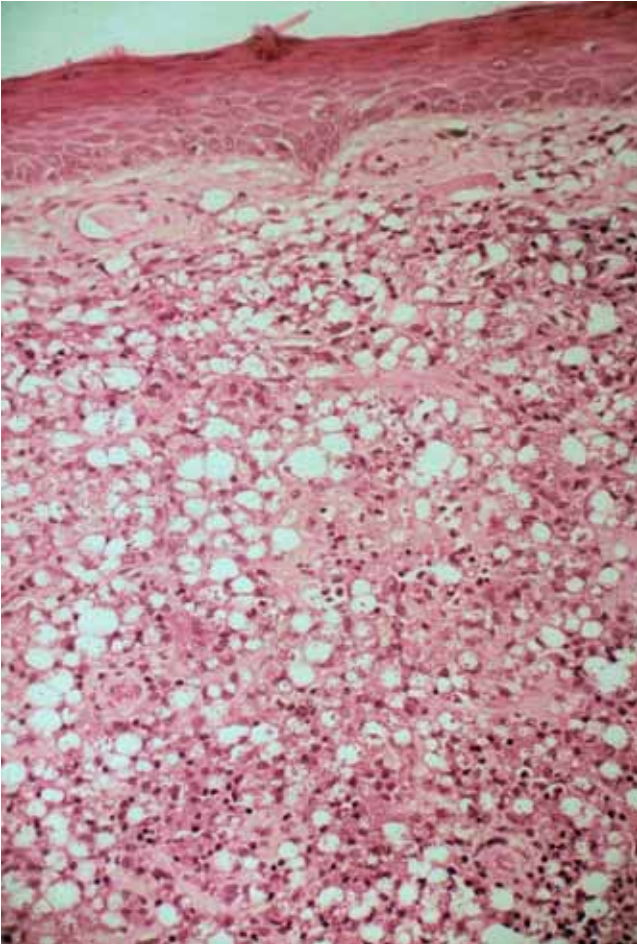


Figura 3. Lesão de LCD em regressão. Vêem-se fibrose e denso infiltrado linfoplasmocitário. HE, Aumento original 125.

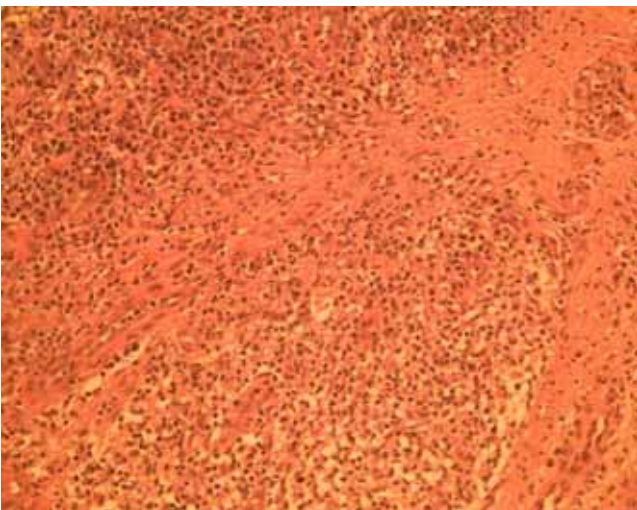


Figura 2. LCD Polar. Epiderme com acantose invadida por macrófagos parasitados. Há destruição da camada basal da epiderme e aspecto macrofágico na derme. HE, Aumento original 125.

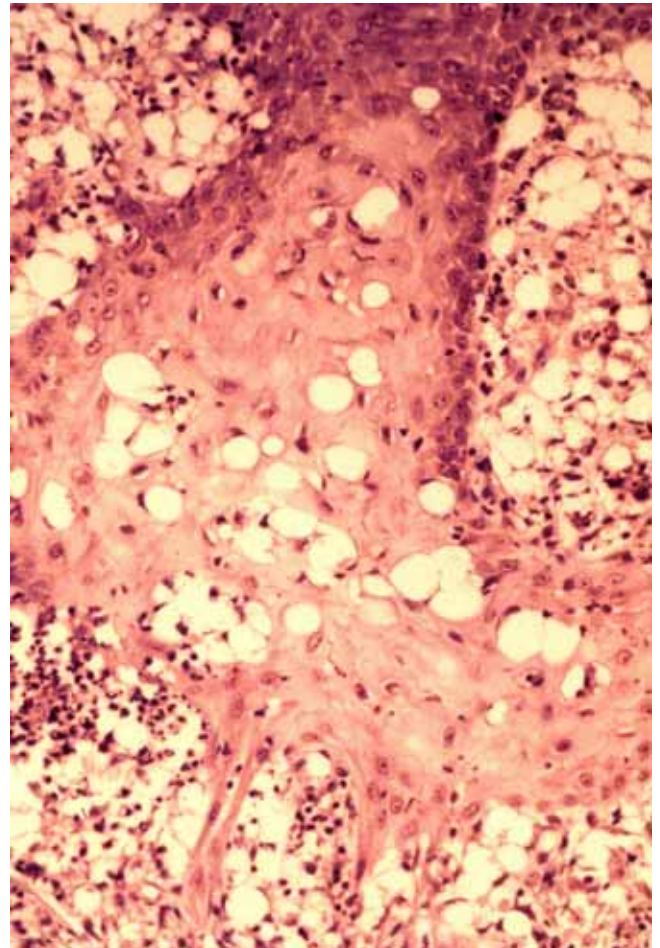


Figura 4. Caso de LCD polar após tratamento com IFN-gama. A – Vê-se hiperplasia epidérmica e infiltrado linfoplasmocitário. HE, Aumento original 50. B – Reação granulomatosa. HE, Aumento original 125.

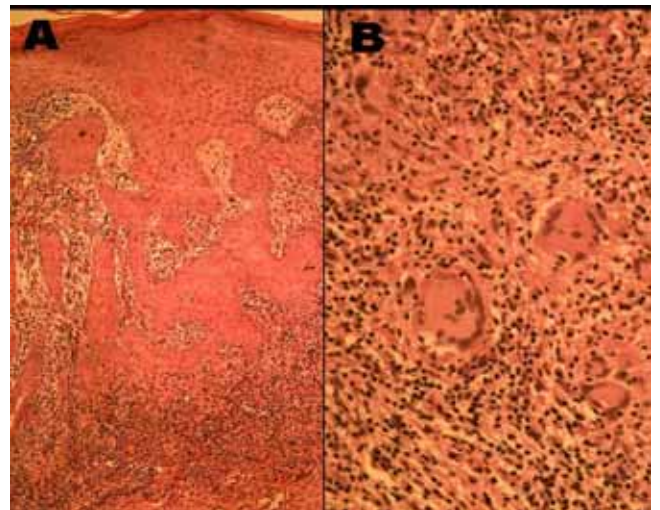


Figura 5. LC dimorfa. Granuloma desorganizado com célula gigante multinucleada (seta). HE, Aumento original 400.

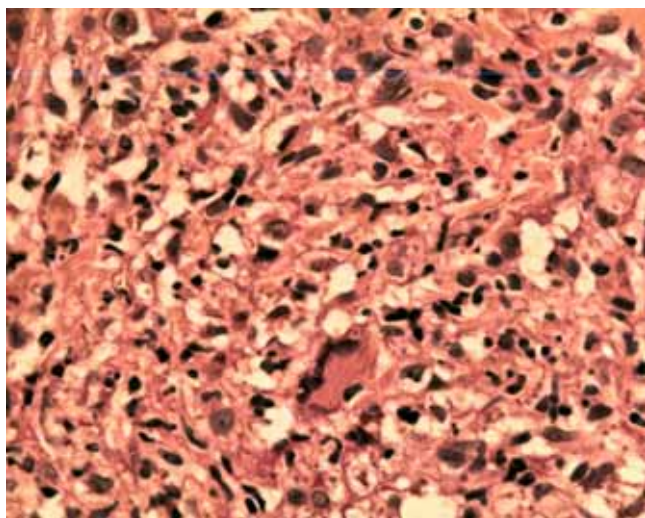


Figura 7. LCD subpolar sem tratamento. Presença de múltiplas áreas de necrose citolítica. HE, Aumento original 250.

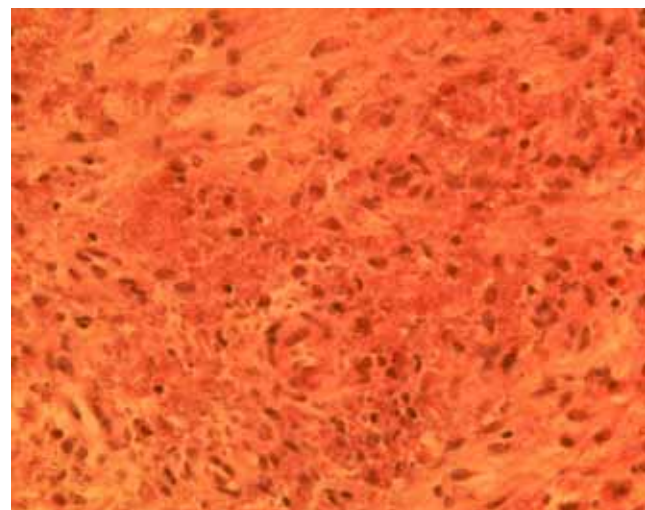


Figura 6. LCD subpolar, lesão ulcerada. Presença de vários eosinófilos. HE, Aumento original 125.

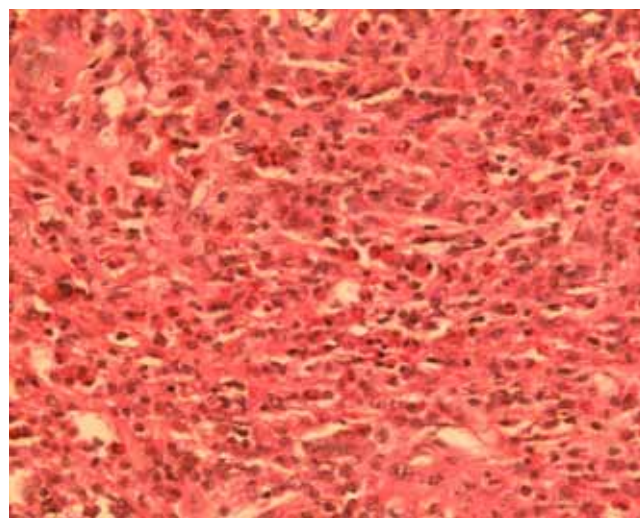


Figura 8. Esfregaço de lesão de LCD. Observar o núcleo e o cinetoplasto das amastigotas. Giemsa, Aumento original 1.200.

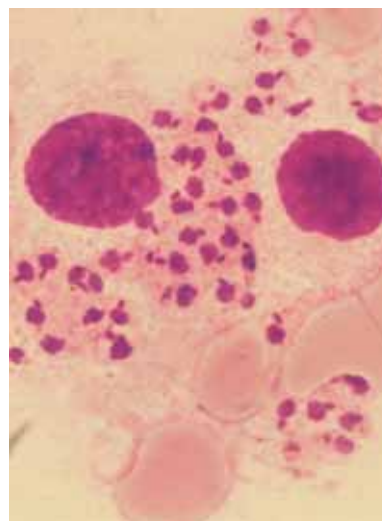


Tabela 1. Principais diferenças entre leishmaniose difusa (LCD), leishmaniose cutânea (LC), cutâneo-mucosa (LCM) e leishmaniose cutânea disseminada (LD).

	LCD	LC/LCM	LC Disseminada
Apresentação clínica	nódulos	úlceras	pápulas, úlceras e lesões acneiformes
Número de lesões	muitas	uma ou poucas	muitas
Destruição de mucosa	ausente	presente ou ausente	presente ou ausente
Agente etiológico	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. amazonensis</i> <i>L. braziliensis</i>	<i>L. amazonensis</i> <i>L. braziliensis</i>
Parasitismo no tecido	intenso	raro ou ausente	raro ou ausente
Epiderme	em geral, atrófica	com hiperplasia	com discreta hiperplasia
Reação granulomatosa	ausente	presente ou ausente	presente ou ausente
Reação de Montenegro	negativa	positiva	positiva
Título de anticorpos	muito elevado	baixo	geralmente elevado
Resposta linfoproliferativa	ausente	presente	presente ou ausente
Resposta a tratamento antimonial	ausente	presente	presente

Figura 9. LCD Subpolar. Macrófagos com amastigotas coradas ao lado de macrófagos degenerados e células líticas. Imunohistoquímica com anticorpos anti-*Leishmania amazonensis*. Aumento original 640.

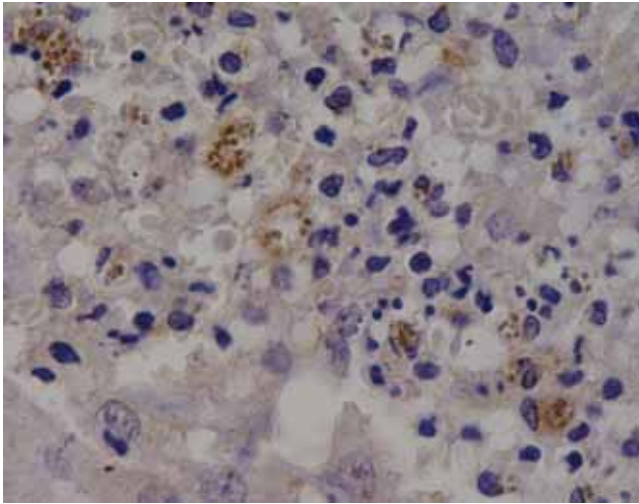
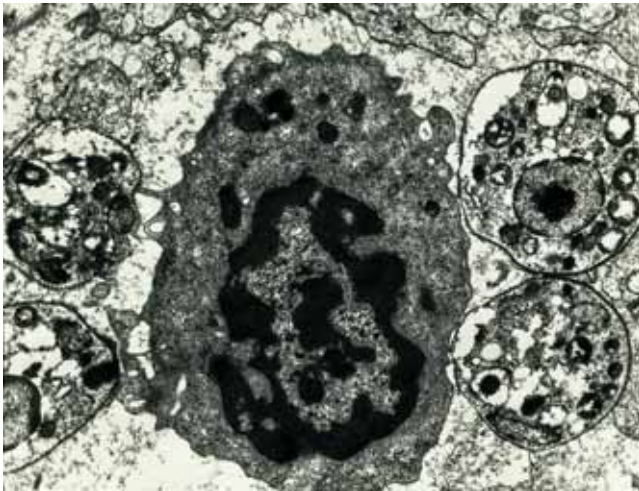


Figura 11. LCD polar. Lesão em atividade. Íntimo contato entre um linfócito e amastigotas lesadas. Aumento original 7.000.



placas infiltradas. Clinicamente, foram vistos aspectos semelhantes à hanseníase dimorfa, tais como, coloração acobreada, lesões em “saca bocado” e distribuição assimétrica das lesões. Em uma mesma biópsia deste caso, observaram-se índice parasitário 3 (numa escala de 1 a 6), moderado infiltrado linfoplasmocitário, padrão macrofágico 1 (numa escala de 1 a 4), freqüentes eosinófilos e células epitelioides e gigantes multinucleadas dispostas esparsamente⁽¹⁾.

Já foram descritos dois casos de LCD subpolar, nos quais se observaram índice parasitário 3, freqüentes eosinófilos (Figura 6) e muitos focos de necrose citolítica (Figura 7)⁽¹⁾. O padrão macrofágico variou, nestes casos, de 1 a 2. Como se viu, nesta forma de LCD, o padrão macrofágico e o parasitismo, são menos intensos que na LCD polar, há maior freqüência de eosinófilos e presença de necrose citolítica. Nestes casos os

Figura 10. Lesão de LCD em atividade. Macrófago com volumoso vacúolo parasitóforo contendo amastigotas degeneradas. Em torno e em contato íntimo com o macrófago, notam-se alguns linfócitos. Aumento original 3.000.

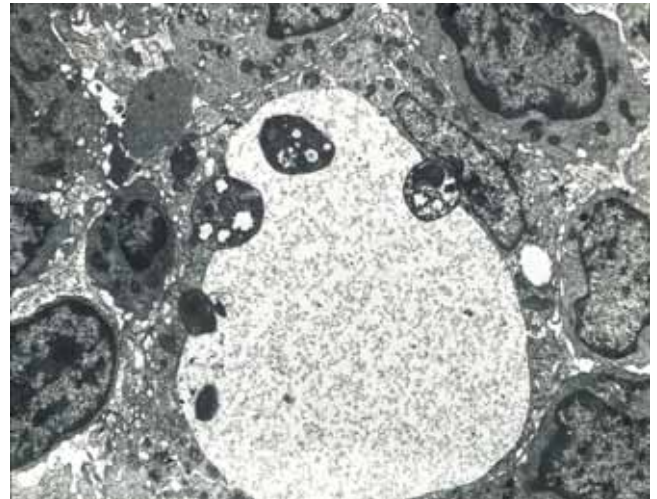
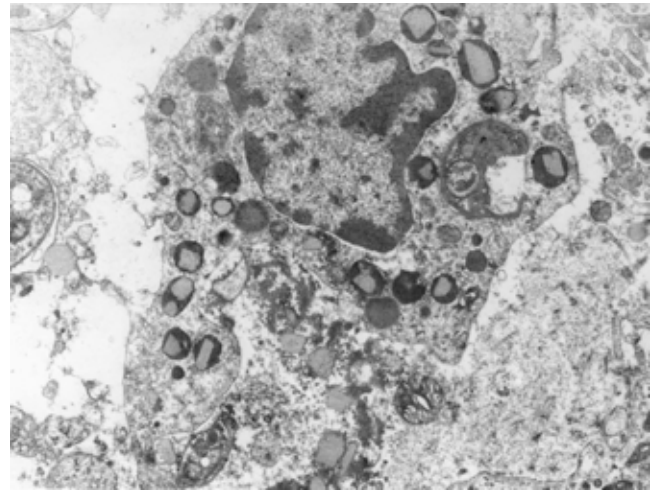


Figura 12. LCD subpolar. Lesão ulcerada. Eosinófilo com amastigota lesada. No interstício, presença de parasitos degenerados e grânulos de eosinófilos. Aumento original 7.000.



eosinófilos predominaram nas lesões ulceradas⁽¹⁾. A principal diferença da leishmaniose dimorfa é a presença de reação granulomatosa neste tipo de leishmaniose.

Diagnóstico diferencial histopatológico

O exame citológico nestas formas de LCD permite fazer o diagnóstico, facilmente, pelo exame direto. São vistas nos esfregaços numerosas amastigotas livres ou no interior de macrófagos. São organismos ovais ou redondos, com 2 – 3µm de diâmetro que nas preparações de Giemsa ou Wright mostram em vermelho duas estruturas, o núcleo redondo e o cinetoplasto (Figura 8)⁽⁷⁾. No entanto, é imprescindível fazer o estudo anatomopatológico para poder dar o diagnóstico desta entidade e fazer o diagnóstico diferencial com outros tipos de leishmanioses também ricos em parasitos. Nas secções

histológicas coradas pela hematoxilina-eosina (HE) é também possível visualizar a estrutura das amastigotas, quando íntegras.

Para o diagnóstico anátomopatológico da LCD é essencial fazer correlação dos achados histológicos com o quadro clínico e imunológico do paciente para diferenciar a LCD polar das formas subpolar e dimorfa. Devem ser biopsiadas as lesões mais exuberantes, evitando aquelas em involução, cuja histologia pode criar problemas no diagnóstico diferencial. O ideal é sempre que possível avaliar biópsias de lesões em atividade e não submetidas a tratamento.

Os aspectos histopatológicos mais importantes que devem ser considerados para classificar estas formas de LC são a frequência do parasitismo e a presença ou ausência de reação granulomatosa. Não há dificuldade no diagnóstico diferencial com a LC do pólo responsivo, com a LCM e com a LC disseminada porque nestas formas de leishmaniose os parasitos são escassos ou inexistentes (Tabela 1).

Um diagnóstico diferencial importante é com a leishmaniose dérmica pós-kalazar (LDPC), porque tanto a LDPC como a LCD podem mostrar riqueza parasitária ao exame direto e histopatológico. Quando a LDPC manifesta-se sob forma de pápulas e nódulos, observam-se, na derme, muitos macrófagos parasitados, ao lado de infiltrado linfoplasmocitário e de proliferação vascular^(13,20). Como já referido, as lesões da LCD podem, também, apresentar infiltração linfoplasmocitária e menor frequência de macrófagos parasitados, principalmente quando estão em involução espontânea ou sob ação de tratamento imunológico. A proliferação vascular também pode ser observada nas lesões involuídas de LCD. De qualquer modo, o diagnóstico diferencial deve basear-se, também, na história pregressa e na avaliação clínica do paciente. Como é sabido, além da pele e, raramente da mucosa nasal, não há envolvimento de outras áreas do corpo na LCD⁽²⁾.

Sempre que possível, é importante cultivar o material obtido nas lesões desses pacientes, no sentido de isolar o parasito e caracterizá-lo. A caracterização do parasito pode também ser feita “*in situ*”, em cortes de blocos de parafina de biópsias fixadas em formol, fazendo-se a imunomarcagem com anticorpos anti-*L. amazonensis* (Figura 9)⁽⁴⁾.

Estudos ultra-estruturais

Vários autores já mostraram ultra-estruturalmente, na LCD, amastigotas íntegras no interior de macrófagos, aparecendo lesados apenas após o tratamento^(8,23). No entanto, estudando, ultra-estruturalmente, quatro biópsias de LCD de um mesmo paciente, com lesões bem desenvolvidas e involuídas, Bittencourt *et al.*⁽⁵⁾ observaram predominância de parasitos degenerados e necróticos no interior dos macrófagos (Figura 10). Registraram, também, fibrose, lise de macrófagos e contato íntimo entre leucócitos e macrófagos parasitados e líticos e entre linfócitos e parasitos degenerados (Figura 11). Achados semelhantes foram observados na fase tardia da infecção do BALB/ pela *L. amazonensis*⁽¹⁵⁾.

A lise de macrófagos, a destruição parasitária no interior dos macrófagos, o contato íntimo entre linfócitos e macrófagos parasitados e entre linfócitos e amastigotas, a presença de infiltrado linfocitário e de fibrose são aspectos que caracterizam uma resposta imunecelular, sugerindo que na LCD há uma resposta imune de tipo celular e focal, mas insuficiente para controlar a infecção. Esse tipo de resposta poderia explicar a regressão espontânea de algumas lesões⁽⁵⁾.

A observação, em estudos ultra-estruturais, em um caso de forma subpolar de LCD, de contato íntimo entre eosinófilos e macrófagos parasitados e líticos e a presença de grânulos de eosinófilos no citoplasma de macrófagos parasitados (Figura 12) ou entre as membranas dessas duas células, nas áreas de contato íntimo, leva a crer que a degranulação do eosinófilo após aderir à membrana do macrófago parasitado constitui outro importante mecanismo parasiticida⁽⁶⁾.

Já foi referido acima, que amastigotas podem aparecer no interior da epiderme. Ultra-estruturalmente observou-se que os parasitos na epiderme podem localizar-se no interior dos ceratinóticos ou entre estas células, dentro de macrófagos⁽⁵⁾.

Referências

1. Barral A, Costa JML, Bittencourt AL, Barral-Neto M, Carvalho EM. Polar and subpolar diffuse cutaneous Leishmaniasis in Brazil: Clinical and immunopathologic aspects. *Int J Derm* 34: 474-479, 1995.
2. Bittencourt AL, Guimarães N. Imunopatologia da leishmaniose tegumentar difusa. *Med Cut ILA* 2: 395-402, 1968.
3. Bittencourt AL & Feritas LAR. Leishmaniose tegumentar difusa. Aspectos anatomopatológicos. *Med Cut ILA* 11: 265-270, 1983.
4. Bittencourt AL, Barral A, Jesus AR, Almeida RP, Grimaldi G Jr. In situ identification of *Leishmania amazonensis* associated with diffuse cutaneous leishmaniasis in Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84: 585-586, 1989.
5. Bittencourt AL, Freitas LAR, Pompeu ML, Vieira ML, Barral A. Distinct ultrastructural aspects in different biopsies of a single patient with diffuse cutaneous leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 53-59, 1990.
6. Bittencourt AL, Barral A, Costa JM, Saldanha AC, Badaró F, Barral-Neto M, Freitas LA. Diffuse cutaneous leishmaniasis with atypical aspects. *Int J Derm* 31: 568-570, 1992.
7. Bittencourt AL, Barral-Neto M. Leishmaniasis. In: Doerr, W. & Seifert, G. (eds.) *Tropical Pathology*. Springer-Verlag, Hamburgo, 1995 p 597.
8. Breña A, Avila JL, Lizardo G, Convit J, Rondón AJ. *Leishmania* species: comparative ultrastructure of experimental nodules and diffuse human cutaneous lesions in American leishmaniasis. *Exp Par* 55: 377-385, 1983.
9. Carvalho EM, Barral A, Costa J, Bittencourt AL, Marsden P. Clinical and immunological aspects in disseminated cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop* 56: 315-325, 1994.
10. Cawson RA, McCracken AW, Marcus PB. *Inflammation and repair. Pathologic mechanisms and human disease*. CV Mosby Co, London, 1982 p 56.
11. Convit J, Kerdel-Vegas F. Disseminated cutaneous leishmaniasis. *Arch Derm* 91: 439-447, 1965.
12. Convit J, Pinará ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to an immunological defect of the host. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 66: 603-610, 1972.

13. Majumdar TD. Post calazar dermal leishmaniasis. *Derm Int* 6: 174-177, 1967.
14. Moriarty P, Bittencourt AL, Pereira C, Teixeira R, Barreto E, Guimarães N. Borderline cutaneous leishmaniasis Clinical, immunological and histological differences from mucocutaneous leishmaniasis. *Rev Med Trop* 20: 15-21, 1978.
15. Pompeu ML, Vieira dos Santos ML, Barral-Netto M, Freitas LAR. Ultrastructural analysis of cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice immunized against *Leishmania m. amazonensis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 82: 72, Supp. I, 1987.
16. Pompeu MML. Análise imunopatológica do curso da infecção por *Leishmania mexicana amazonensis* em camundongos BALB/c imunizados. Salvador, Universidade Federal da Bahia p 105 Tese, 1988.
17. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 34: 255-273, 1966.
18. Ridley DS & Ridley MJ. The evolution of the lesion in cutaneous leishmaniasis. *J Pathol* 141: 83-96, 1983
19. Robbins SL & Cotran RS. *Pathologic basis of disease* WB Saunders Co, 1991 p 71.
20. Sen Gupta PC, Bhattacharjee B. Histology of post-kalazar dermal leishmaniasis. *J Trop Med Hyg* 56: 110-116, 1953.
21. Silva F. Forma raríssima de leishmaniose tegumentar. Leishmaniose dérmica não ulcerada em nódulos e extensas placas infiltradas e hiperpigmentadas. 1ª Reunião Anual de Dermatossifilógrafos Brasileiros, Rio de Janeiro, 1945 p 97-108.
22. Silva AD. Leishmaniose anérgica hansenóide. *An Bras Derm* 57: 147-150, 1982.
23. Zaar K & Wunderlich E. Electron microscopical studies on cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. I – The diffuse form and its treatment with pentamidine. *Ann Trop Med Parasitol* 76:59, 1982.