

HISTOPATOLOGIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR POR LEISHMANIA BRAZILIENSIS BRAZILIENSIS. 2. Resposta humoral tissular (1)

Albino Verçosa de MAGALHÃES (2), Mário A. P. MORAES (2), Alberto N. RAICK (2), Alejandro LLANOS-CUENTAS (3), Jackson M. L. COSTA (3), César C. CUBA (3) & Philip D. MARSDEN (3)

R E S U M O

Os A.A. analisaram a resposta humoral nas lesões de 90 pacientes de Leishmaniose Tegumentar — causada por *Leishmania braziliensis braziliensis* —, utilizando o método da imunoperoxidase para identificar nos tecidos a presença de IgA, IgG, IgM, fração C₃ do complemento e fibrina. Constataram a presença de IgA, IgC e IgM nos plasmócitos tissulares, com predomínio de IgG. Admitiram que a passagem dessas imunoglobulinas para os tecidos possibilitando a opsonização do parasitos e/ou de seus antígenos, permitiria a ocorrência de fenômenos necróticos que representam um dos mecanismos eficazes de redução da carga parasitária. Efetivamente, nas áreas de necrose e nas paredes dos vasos inflamados identificaram depósito de imunoglobulinas, fração C₃ do complemento e fibrina — elementos do hospedeiro que fazem parte dos imunocomplexos. Interpretaram essa necrose tissular como o resultado da ação de imunocomplexos na região de equivalência ou com discreto excesso de antígenos (tipos ARTHUS). A presença de antígenos parasitários, expressos nas membranas dos macrófagos quando em contato com imunoglobulinas tissulares, na fase inicial da lesão, possibilitaria a instalação de uma reação antígeno-anticorpo, a qual explicaria o aparecimento da necrose na Leishmaniose Tegumentar.

UNITERMOS: Leishmaniose tegumentar — *Leishmania braziliensis* —
Histopatologia. Resposta humoral tissular.

I N T R O D U Ç Ã O

O estudo da resposta humoral nas lesões de Leishmaniose Tegumentar só recentemente tem sido objeto de interesse (BRENNER et al. — 1984⁵, FERREIRA et al. — 1981⁸, MAGALHÃES et al. — 1982¹³ — 1983¹⁵ — 1984¹², MORIEARTY et al. — 1982¹⁷, RIDLEY & RIDLEY — 1984²¹, SOTTO et al. — 1984²²). O presente estudo, realizado com material de biópsias praticadas em pacientes da localidade endêmica de Três Braços (Estado da Bahia), teve por objetivo um melhor entendimento do

componente humoral tissular da resposta imunitária na Leishmaniose Tegumentar notadamente quanto à sua participação nos fenômenos necróticos que se destacam pela grande freqüência nas lesões causadas por *Leishmania braziliensis braziliensis* (MAGALHÃES et al. — 1985¹⁶).

MATERIAL E MÉTODOS

Procedeu-se ao estudo imunopatológico nos tecidos tomados por biópsia de 90 pacientes

(1) Trabalho realizado com auxílio do CNPq (Proc. 40.6338/84 e 40.1186/85)

(2) Laboratório de Patologia do Departamento de Medicina Complementar da Universidade de Brasília, 70910 Brasília, DF, Brasil

(3) Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília

de Três Braços (BA). Dos pacientes biopsiados, 69 eram portadores de lesões cutâneas e 21 de lesões mucosas.

Três Braços ou Ilha Formosa fica situada na zona da mata do planalto da Conquista, nos limites dos municípios baianos de Cravolândia, Ubaira e Wenceslau Guimarães. Trata-se de uma região endêmica para *Leishmania tegumentar*, cujo agente tem sido repetidamente identificado como *Leishmania braziliensis braziliensis*.

Para a obtenção das biópsias utilizou-se um punch de 5 mm de diâmetro; os fragmentos removidos eram fixados em FMA (de LOWY, modificado por RIDLEY & RIDLEY — 1975¹⁰) durante 2 a 4 horas e depois transferidos para álcool a 80%, antes do envio ao Laboratório de Patologia, onde se efetuou o processamento do material. Depois de embebidos em parafina, eram os fragmentos seccionados em cortes semi-seriados, na espessura de 3 µm por meio de micrótomo rotativo. A montagem em lâminas fez-se com o uso de adesivo.

Procurou-se identificar a presença de IgA, IgG, IgM, fração C₃ do complemento e fibrina pelo método da imunoperoxidase utilizando reagentes da IMMULOK (USA) para tecidos fixados e embebidos em parafina.

A quantidade de plasmócitos contendo imunoglobulinas, bem como a intensidade da reação nos depósitos de imunoglobulinas, complemento e fibrina, no interior das áreas de necrose, foram avaliadas de modo semiquantitativo atribuindo-se +, ++ e +++ para valores discretos, moderados e acentuados, respectivamente (MAGALHÃES — 1984¹¹).

A técnica da imunoperoxidase foi a de TAYLOR (1978¹²).

A fim de verificar a associação das variáveis, em escala nominal, utilizou-se o teste estatístico do Quiquadrado (X²), para grandes amostras e o teste de FISHER, para pequenas amostras (n ≤ 40), e para medir a intensidade de correlação, o coeficiente de correlação linear de PEARSON (p ≤ 0,05). Na análise da diferença entre distribuições, em escala ordinal, utilizou-se o teste de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para duas amostras rela-

cionadas, o teste de FRIEDMAN e o teste de comparações múltiplas de FRIEDMAN, para K amostras relacionadas. Finalmente, para medir a correlação ordinal entre variáveis, utilizou-se o coeficiente de correlação de postos de SPEARMAN (p ≤ 0,005) (CAMPOS — 1983⁶).

RESULTADOS

A presença de IgA, IgG e IgM foi observada no citoplasma dos plasmócitos presentes nas lesões (Figuras 1, 2 e 3 — Tabelas 1 e 2). Nos casos de forma cutânea, o teste de Friedman para amostras relacionadas, demonstrou que existe pelo menos uma diferença altamente significativa, ao nível de 0,1%, entre as médias representativas dos níveis de intensidade das imunoglobulinas presentes nas lesões. Pelo teste de comparações múltiplas de FRIEDMAN, verificou-se que IgG apresentava níveis altamente significativos (p ≤ 0,001) de intensidade média, maiores que os níveis de IgA e de IgM; verificou-se, também, que IgA apresentava níveis altamente significativos (p = 0,001) de intensidade média maiores que os níveis de IgM. Nos casos de forma mucosa, pelo teste de FRIEDMAN, não se constatou diferença significativa entre as médias dos níveis de intensidade das imunoglobulinas. Constatou-se, também correlação altamente significativa entre o nível das imunoglobulinas presentes nos tecidos e o número de plasmócitos encontrados nas lesões (r_s: 0,01 > p > 0,001). Outro achado foi a falta de correlação significativa entre o número de plasmócitos nas lesões e os títulos de imunoglobulinas no soro (IFI). Também não se encontrou correlação significativa entre os níveis de imunoglobulinas nos tecidos e no soro.

TABELA 1
Participação das imunoglobulinas na lesão (Método da Imunoperoxidase). Casos cutâneos

Níveis de participação	Imunoglobulinas					
	IgA		IgG		IgM	
	F	%	F	%	F	%
Ausência	12	17,3	6	8,6	38	55,2
Discreta	31	45,0	9	13,0	27	39,1
Moderada	26	37,7	43	62,5	4	5,7
Acentuada	0	0	11	15,9	0	0
Total	69	100,0	69	100,0	69	100,0

TABELA 2

Participação das imunoglobulinas na lesão (Método da Imunoperoxidase). Casos mucosos

Níveis de participação	Imunoglobulinas					
	IgA		IgG		IgM	
	F	%	F	%	F	%
Ausência	6	28,6	6	28,6	10	47,6
Discreta	4	19,0	1	4,8	10	47,6
Moderada	11	52,4	12	57,1	1	4,8
Acentuada	0	0	2	9,5	0	0
Total	21	100,0	21	100,0	21	100,0

As imunoglobulinas, complemento e fibrina foram ainda pesquisados nas áreas de ne-

crose tissular vistas no material de 33 casos (29 casos de forma cutânea e 4 casos de forma mucosa) (Figuras 4, 5 e 6 — Tabelas 3 e 4). Nos casos de forma cutânea, o teste de FRIEDMAN, para amostras relacionadas, demonstrou que existe pelo menos uma diferença altamente significativa ($X^2_p \leq 0,001$) entre as médias dos níveis de intensidade dos componentes observados nas áreas de necrose. Pelo teste de comparações múltiplas de Friedman verificou-se que fibrina, complemento e IgG apresentavam, cada um, níveis altamente significativos ($p \leq 0,001$) de intensidade média maiores que os níveis de IgM.

TABELA 3

Caracterização dos componentes encontrados na necrose tissular (Método da Imunoperoxidase) Casos cutâneos

Níveis de participação	Componentes									
	IgA		IgG		IgM		Complemento		Fibrina	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Ausência	18	62,2	10	34,4	27	93,2	4	17,5	7	24,1
Discreta	0	0	0	0	0	0	2	8,3	1	3,4
Moderada	9	31,0	14	48,4	2	6,8	12	50,2	9	31,0
Acentuada	2	6,8	5	17,2	0	0	6	25,0	12	41,5
Sem dados	0	—	0	—	0	—	5	—	0	—
Total	29	100,0	29	100,0	29	100,0	29	100,0	29	100,0

TABELA 4

Caracterização dos componentes encontrados na necrose tissular (Método da Imunoperoxidase) Casos mucosos

Níveis de participação	Componentes									
	IgA		IgG		IgM		Complemento		Fibrina	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Ausência	1	25,0	0	0	2	50,0	—	—	0	0
Discreta	0	0	1	25,0	0	0	—	—	0	0
Moderada	2	50,0	2	50,0	2	50,0	1	100,0	2	50,0
Acentuada	1	25,0	1	25,0	0	0	—	—	2	50,0
Sem dados	0	—	0	—	0	—	3	—	0	—
Total	4	100,0	4	100,0	4	100,0	4	100,0	4	100,0

Nos três casos de vasculite em que se aplicou o método da imunoperoxidase, verificou-se, na parede vascular, a presença de fibrina em todos os três, de imunoglobulinas em dois e de complemento em apenas um.

DISCUSSÃO

A presença de imunoglobulinas, principalmente IgG, nos plasmócitos indicou que elas estão sendo produzidas nas lesões. MORIEAR

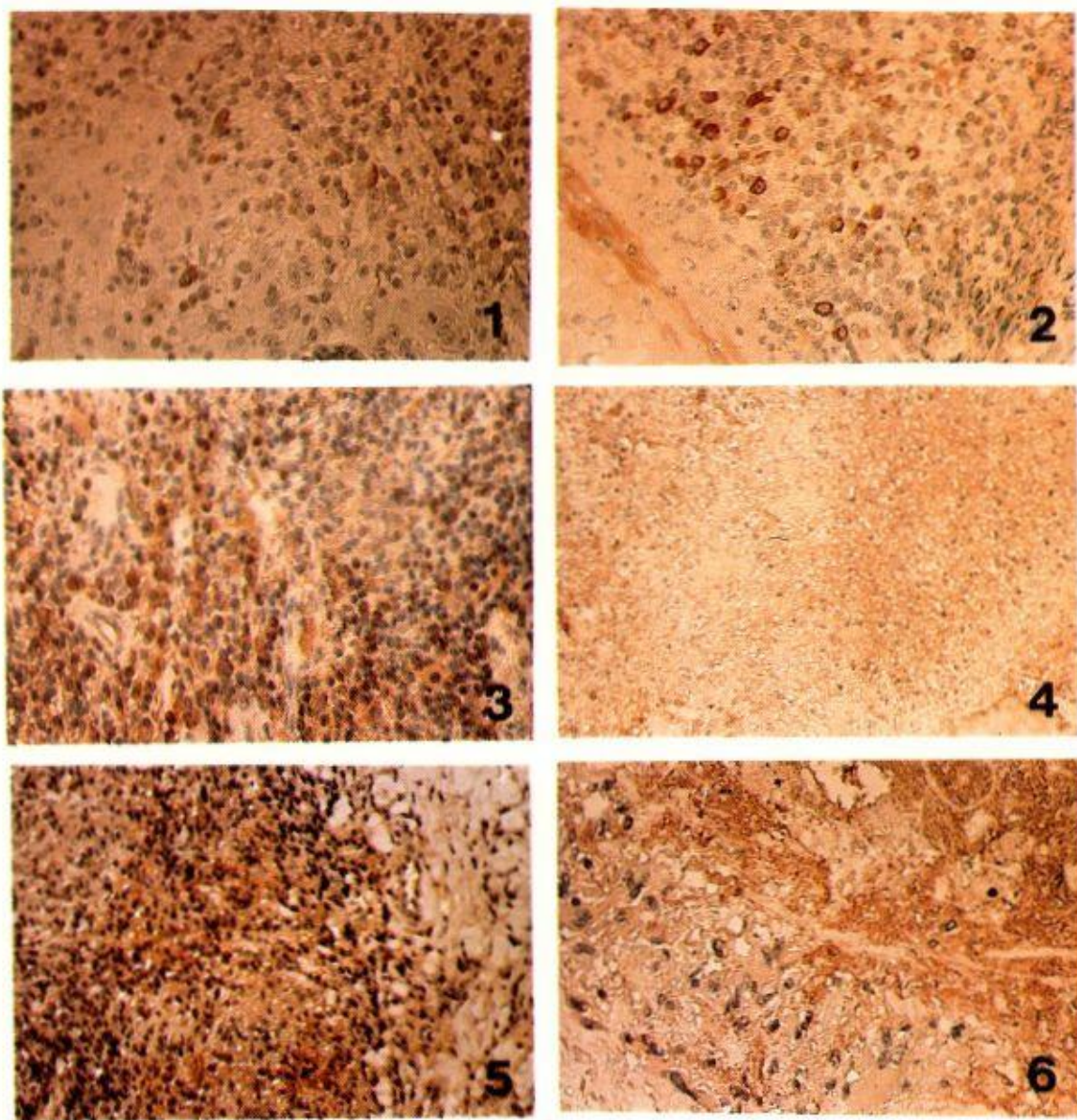


Fig. 1 — IgM em pequeno número de plasmócitos. Método da imunoperoxidase. 320x.

Fig. 2 — IgA em moderado número de plasmócitos. Método da imunoperoxidase. 320x.

Fig. 3 — IgG em grande número de plasmócitos. Método de imunoperoxidase. 320x.

Fig. 4 — Necrose tissular tipo poeira nuclear. Depósito acentuado de IgG na lesão. Método da imunoperoxidase. 160x.

Fig. 5 — Necrose tissular tipo poeira nuclear associada à reação granulomatosa inicial. Depósito moderado de C₃ na lesão. Método da imunoperoxidase. 160x.

Fig. 6 — Necrose tissular do tipo eosinofílico associada à reação granulomatosa preminente. Depósito acentuado de fibrina na lesão. Método de imunoperoxidase. 320x.

TY et al. (1982¹⁷) também encontraram em todos os seus casos, imunoglobulinas nas lesões, com predomínio de IgG, o que não coincide com os resultados de FERREIRA et al. (1981⁸)

os quais observaram predomínio de IgM em casos da região Amazônica. Recentemente, SOTTO et al. — (1984²²) utilizando o método da imunofluorescência, encontraram IgG e IgM

intracelulares, correlacionadas com o abundante infiltrado de plasmócitos nas lesões estudadas.

A presença de imunoglobulinas, em quantidade significativa, permitiria a opsonização dos parasitos e/ou de seus antígenos e, fundamentalmente, a ocorrência dos fenômenos necróticos, que representam um dos mecanismos eficazes de redução da carga parasitária (RIDLEY — 1979¹⁸, MAGALHÃES et al. — 1982^{13,14} — 1983¹², ANDRADE et al. 1984^{1,2}, RIDLEY & RIDLEY — 1983²⁰ 1984²¹).

MAGALHÃES et al. (1982¹³) foram os primeiros a identificar, pelo método da imunoperoxidase, nas áreas de necrose, imunoglobulinas e fibrina. Com a extensão do trabalho, puderam identificar ainda a presença da fração C₁ do complemento (MAGALHÃES et al. — 1983¹⁵ — 1984¹²). Demonstraram, assim, os elementos do hospedeiro que constituem o imunocomplexo. O antígeno ainda não foi demonstrado entre nós, mas RIDLEY & RIDLEY (1984²¹) já conseguiram reconhecê-lo em material do Velho Mundo.

BERMAN & DWYER (1983³) verificaram em cultura *in vitro* de macrófagos, que estas células podem expressar antígenos parasitários em suas membranas, quando infectados com leishmânias. GRIMALDI Jr. (1984⁹) e SOTTO, YAMASHIRO & CUCÉ (1984²²), pelos métodos da imunoperoxidase e da imunofluorescência, respectivamente, observaram também a presença de antígenos de leishmânias ao nível das membranas celulares em secções histopatológicas. Estes achados são fundamentais para a compreensão dos mecanismos de formação da necrose tissular observada em cerca de 30% dos casos estudados neste trabalho (MAGALHÃES et al. — 1985¹⁶). Exo-antígenos celulares, quando presentes na fase inicial da lesão e após contato com imunoglobulinas tissulares, propiciariam as condições necessárias a uma reação antígeno-anticorpo, com equivalência ou ligeiro excesso de antígenos, semelhante ao que se observa no fenômeno de ARTHUS. O imunocomplexo assim formado atrairia granulócitos neutrófilos, os quais ao se desintegrarem, liberariam enzimas lisossômicas responsáveis, em última instância, pela desintegração dos tecidos no local (BJORK & SMEDEGARD —

1984⁴, CRAWFORD et al. — 1982⁷, THEOFILOPOULOS & DIXON — 1980²⁴). Por causa desse mecanismo, nas áreas de necrose, além de restos tissulares e de granulócitos neutrófilos, são também encontrados imunoglobulinas, complemento de fibrina. Esses dados confirmam a hipótese formulada anteriormente (MAGALHÃES — 1979¹⁰) de que a origem da necrose tissular estaria ligada a mecanismos imunitários por depósito de imunocomplexos. Tal interpretação não é compartilhada por ANDRADE et al. — 1984², que verificaram, em material experimental, o aparecimento da necrose fibrinóide quando os sinais de hipersensibilidade retardada tornavam-se evidentes. Para esses A.A., a necrose apareceria como mecanismo mais importante para a eliminação dos parasitos das lesões. A destruição dos macrófagos parasitados, pelos linfócitos T sensibilizados, através da citotoxicidade destes ao reconhecerem antígenos do parasito nas membranas faria com que as leishmânias acabem expostas às condições adversas do líquido intersticial, podendo ser este o mecanismo de resistência. Recentemente, RIDLEY & RIDLEY — 1984²¹ — demonstraram, na Leishmaniose Cutânea do Velho Mundo, redução da carga parasitária com a ascensão nos tecidos dos níveis de IgG, IgM, IgE e complemento.

Observaram lise de macrófagos quando houve equivalência aproximada de antígeno e de anticorpo junto com a deposição de componentes de imunocomplexo na lesão. Para esses A.A., a lise dos macrófagos, no tipo agudo focal, é acompanhada por liberação maciça de antígeno de leishmânia logo seguida da redução deste mesmo antígeno, o que indicaria eliminação do parasito. Outrossim, constituída a necrose, amastigotas revestidos por imunoglobulinas aparecem fagocitados por macrófagos jovens e polimorfonucleares. Para RIDLEY & RIDLEY²¹, a lise celular imunologicamente induzida — resultante da formação de imunocomplexo na relação apropriada — é mais importante que a ativação de macrófagos no estágio agudo das lesões.

A verificação, no presente trabalho, de depósitos de componentes de imunocomplexo, derivados do hospedeiro, nas áreas de necrose, foi confirmada pelos recentes achados de

RIDLEY & RIDLEY²¹. Desta maneira, fica confirmada a hipótese aqui defendida, de que a necrose presente na Leishmaniose Tegumentar decorre da ação de imunocomplexos na lesão. Nas áreas necrosadas há depósito não só de imunoglobulinas fixadoras do complemento — como IgG e IgM —, mas também de IgA. Em todos os casos em que ocorreu depósito de C₃, constatou-se igualmente a presença de IgG. A IgA presente ou não contribuiu para a ativação do complemento, ou processou essa ativação pela via alternada (THEOFILOPOULOS & DIXON — 1980²⁴).

Nos casos com vasculite aguda, houve a identificação de imunoglobulinas, complemento e fibrina na parede dos vasos comprometidos, o que também foi observado por BRENNER et al. (1984⁵) e por SOTTO et al. — (1984²²), sugerindo que esta lesão tem o mesmo mecanismo patogênico.

AGRADECIMENTOS

Os A.A. agradecem às Sras. Justina Martins Medeiros e Rosa Maria Parreira Antonino, pelo esmero na realização das técnicas de imunoperoxidase, e aos Srs. Pedro Berto de Araújo e Bráulio Silva Santos Filho, pelos trabalhos de histotecnologia.

SUMMARY

Histopathology of mucocutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis braziliensis*.
2. Tissue humoral response.

The Authors analysed the humoral response in biopsy material from 90 patients with Mucocutaneous Leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis braziliensis*, utilising the immunoperoxidase method to identify IgA, IgG, IgM, C₃ complement fraction and fibrin in the tissue. The presence of IgG, IgA and IgM was found in tissue plasma cells with a predominance of IgG and this was correlated significantly with the number of plasma cells in the lesion. The presence of immunoglobulins in the tissues stimulated the opsonisation of parasites and/or their antigens resulting in necrosis which represents one of the effective mechanisms to reduce parasite load. In ne-

crotic areas and the walls of inflamed vessels immunoglobulins were deposited as well as the C₃ fraction of complement and fibrin — immunocomplex fractions derived from the host. This tissue necrosis was interpreted as the result of the action of immunocomplexes in a region with equivalent or a small excess of antigen (Arthus type reaction). The presence of parasite antigens expressed on the macrophage membrane in the initial phase of the lesion when in contact with tissue immunoglobulins, leads to the installation of an antigen-antibody reaction resulting in the appearance of necrosis in Mucocutaneous Leishmaniasis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, Z. A.; REED, S. G.; ROTERS, S. B. & SADIGURSKY, M. — Immunopathology of experimental leishmaniasis. Amer. J. Path., 114: 137-148, 1984.
2. ANDRADE, Z. A.; REED, S. G.; ROTERS, S. B. & SADIGURSKY, M. — Patogenia da leishmaniose cutânea experimental (importância da necrose na eliminação dos parasitos das lesões). Rev. Soc. bras. Med. trop., 17: 187-197, 1984.
3. BERMAN, J. D. & DWYER, D. M. — Expression of leishmania antigen on the surface membrane of infected human macrophages in vitro. Clin. exp. Immunol., 44: 342-348, 1981.
4. BJORK, J. & SMEDEGARD, G. — The microvasculature of the hamster cheek pouch as a model for studying acute immune-complex-induced inflammatory reactions. Int. Arch. Allergy, 25: 85-94, 1984.
5. BRENNER, S.; SREBRNIK, A.; HAZAR, B. & KRAKOWSKI, A. — Immunofluorescence in Cutaneous Leishmaniasis. Dermatologica (Basel), 138: 175-177, 1984.
6. CAMPOS, H. — Estatística experimental não-paramétrica. 4. ed. Piracicaba, ESALQ, 1983.
7. CRAWFORD, J. P.; MOVAT, H. Z.; RENEDINE, N. S. & HAY, J. B. — Pathways to inflammation induced by immune complexes: development of the Arthus reaction. Fed. Proc., 41: 2583-2587, 1982.
8. FERREIRA, L. C. L.; LOUREIRO, J. A. S.; BARROS, M. L. B.; FAES, M. G. & ARAÚJO, J. R. — Aspecto imunopatológico tissular da leishmaniose tegumentar e cutâneo-mucosa. In CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGISTAS, 14., Anais, 1981 p. 140.
9. GRIMALDI, Jr. G. — Informação pessoal, 1984.
10. MAGALHAES, A. V. — Leishmaniose tegumentar na região Amazônica e região Centro-Oeste. Estudo clínico-patológico comparativo. Belo Horizonte, 1979. (Dissertação de mestrado)

11. MAGALHÃES, A. V. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar em Três Braços (BA). Belo Horizonte, 1984 (Tese de doutoramento).
12. MAGALHÃES, A. V.; LLANOS, A.; COSTA, J. M. L.; ARAÚJO, P. B.; ANTONINO, R. M. P.; MEDEIROS, J. M.; ROCHA, M. S. P.; CUBA, C. A. C.; BARRETO, A. C.; ROSA, A. C. O. C.; MARSDEN, P. D. & RAICK, A. N. — Patologia da leishmaniose tegumentar em Três Braços (BA). 3. Resposta humoral. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 20., Salvador, 1984. Programa e resumos. Salvador, Gráfica Econômico, 1984. p. 100-101.
13. MAGALHÃES, A. V.; LLANOS, A.; CUBA, C. C.; ARAÚJO, P. B.; PARREIRAS, R. M.; MEDEIROS, J. M.; BARRETO, A. C.; MARSDEN, P. D. & RAICK, A. N. — Imunoglobulinas na leishmaniose tegumentar. In REUNIAO ANUAL SOBRE PESQUISA BASICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 9., Caxambu, 1982. Programa e resumos. Belo Horizonte, Imprensa Universitária, 1982. p. 61.
14. MAGALHÃES, A. V.; LLANOS, A.; CUBA, C.; ARAÚJO, P. B.; PARREIRAS, R. M.; MEDEIROS, J. M. & RAICK, A. N. — Aspectos imuno-histológicos na leishmaniose tegumentar. In: CONGRESSO DA REGIONAL CENTRO-LESTE DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGISTAS, 6., Uberlândia, 1982. Anais. p. 68-69.
15. MAGALHÃES, A. V.; LLANOS, A.; CUBA, C. C.; BARRETO, A. C.; MARSDEN, P. D.; PARREIRAS, R. M.; MEDEIROS, J. M. & RAICK, A. N. — O componente humoral na leishmaniose tegumentar. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19., Rio de Janeiro, 1983. Programa e resumos. Rio de Janeiro, Imprinta, 1983. p. 50.
16. MAGALHÃES, A. V.; MORAES, M. A. P.; RAICK, A. N.; LLANOS-CUENTAS, A.; COSTA, J. M. L.; CUBA, C. C. & MARSDEN, P. D. — Histopatologia da Leishmaniose Tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. 1. Padrões histopatológicos e estudo evolutivo das lesões. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 28: 253-262, 1986.
17. MORIEARTY, P. L.; GRIMALDI JR., G.; GALVAO CASTRO, B.; NETTO, M. P. D. & MAZOCCHI, M. C. A. — Intralesional plasma cells and serological responses in human Cutaneous Leishmaniasis. *Clin. exp. Immunol.*, 47: 49-64, 1982.
18. RIDLEY, D. S. — The pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 73: 150-160, 1979.
19. RIDLEY, D. S. & RIDLEY, M. S. — Fixation of skin biopsies. *Leprosy Rev.*, 46: 309-310, 1975.
20. RIDLEY, D. S. & RIDLEY, M. J. — The evolution of the lesion in cutaneous leishmaniasis. *J. Path.*, 141: 83-96, 1983.
21. RIDLEY, M. J. & RIDLEY, D. S. — Cutaneous leishmaniasis: immunocomplex formation and necrosis in the acute phase. *Brit. J. exp. Path.*, 65: 327-336, 1984.
22. SOTTO, M. N.; YAMASHIRO, E. H. & CUCÉ, L. C. — Immunopathology of American Cutaneous Leishmaniasis. *Annales de le Colloque international sur la taxonomie et la phylogeneze des Leishmania*, Montpellier, 1984.
23. TAYLOR, C. R. — Immunoperoxidase techniques. Practical and theoretical aspects. *Arch. Path. Lab. Med.* 102: 113-121, 1978.
24. THEOFILOPOULOS, A. N. & DIXON, F. J. — Immune complexes in human diseases. *Amer. J. Path.*, 100: 529-598, 1980.

Recebido para publicação em 5/11/1985.