ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome XXXVIII

1963

N° 5

Annales de Parasitologie (Paris), t. **38**, 1963, n° 5, pp. 741 à 755

MÉMOIRES ORIGINAUX

La Leishmaniose canine à Lisbonne

Par J. FRAGA DE AZEVEDO et Vêrter Maria DAS NEVES

Sommaire

1. INTRODUCTION.
2. ETUDES RÉALISÉES.
3. RÉSULTATS.
 - 3-1. TAUX D'INFECTION PAR *Leishmania*.
 - 3-2. EPREUVES SÉROLOGIQUES.
4. CONCLUSIONS.
5. RÉSUMÉ.
6. BIBLIOGRAPHIE.

1. — Introduction

Considérant l'importance des chiens au Portugal, en tant que porteurs de *Leishmania* du Kala-azar, il importe de connaître périodiquement leur taux d'infection, afin de déterminer l'évolution de la protozoose humaine dans le Pays et d'en tirer des éléments du plus haut intérêt pour l'orientation de la lutte contre cette maladie.

Dans les conditions actuelles, nous devons ajouter que l'on a constaté chez nous dans les dernières années, une réduction notable des cas de Kala-azar, et que, par consé-

quent, il nous intéresse au plus haut point de savoir comment a évolué simultanément l'infection canine, et cela pour les raisons suivantes :

En premier lieu, la connaissance de l'état de l'enzootie permettra d'orienter la lutte contre la maladie humaine, car nous ne devons pas oublier que la prophylaxie de celle-ci ne sera pas complète si l'on néglige les porteurs de l'agent causal ; en effet si l'infection persiste chez ces derniers, ceci signifie que la menace continue à peser sur l'homme.

D'autre part, si parallèlement à la réduction de l'infection humaine, en conséquence de certaines mesures prophylactiques, on n'enregistre pas de réduction correspondante de l'infection canine, nous pouvons en déduire que les moyens de lutte contre la seconde doivent être différents de ceux qui sont utilisés dans la prophylaxie de la maladie humaine, puisque les facteurs qui président à la dissémination de la maladie chez l'homme d'une part, et chez les chiens d'autre part sont différents.

Et, en vérité, du moment qu'à été prouvée la contagion directe de la maladie, nous sommes portés à admettre que ce moyen de transmission puisse être courant parmi les chiens, étant donné la fréquence avec laquelle ils se battent, se mordent, étant donné les nombreux contacts qu'ils ont entre eux et le fait que *Leishmania* sont largement disséminées dans la peau, le sang et les divers organes de ces animaux et sont éliminées avec les « excréta » à l'extérieur, où leur résistance est relativement grande.

Compte-tenu de toutes ces raisons, nous avons jugé opportun de réétudier le taux d'infection canine par les *Leishmania* chez les chiens errants de Lisbonne, afin de comparer également les résultats de cette véritable « ère des insecticides » où nous vivons avec ceux qui ont été constatés en des époques antérieures.

2. — Etudes réalisées

Grâce à l'amabilité habituelle du Dr. António Cabral, à qui nous exprimons notre profonde gratitude, il nous a été possible d'étudier les chiens capturés par les Services de Prophylaxie de la Municipalité de Lisbonne.

Une fois déterminés l'âge, le sexe et la race et une fois apprécié leur état physique, en particulier en matière de nutrition et en ce qui concerne la présence de symptômes de maladie, les animaux étaient abattus par électrocution et immédiatement autopsiés. En premier lieu, on recueillait le sang en vue des examens sérologiques ultérieurs et l'on prélevait un fragment de rate destiné à la culture en milieux NNN, de Row et de Wenyon.

On préparait ensuite des frottis de rate, de foie, et de moelle osseuse costale et de muqueuse nasale en la raclant jusqu'au sang avec une curette.

3. — Résultats

Nous considérons sous ce titre les taux d'infection par *Leishmania* et les résultats des épreuves de laboratoire.

A) TAUX D'INFECTION PAR *Leishmania*. — Les résultats sont indiqués sur les tableaux I à IV, où sont appréciées les données relatives à l'infection évaluée par la

recherche des *Leishmania* dans les organes mentionnés et en fonction du sexe et de l'âge. On n'a pas procédé à l'appréciation de l'infection par quartiers, puisque ces animaux mènent une vie errante, non plus que par mois de l'année, car, vu le caractère évolutif chronique de la maladie, nous pensons que cette donnée ne pouvait nous apporter pratiquement aucun élément d'intérêt sur les conditions qui président à la dissémination de la maladie.

En ce qui concerne les organes étudiés, nous constatons (tableau I) que la rate est le lieu d'élection pour la recherche des *Leishmania*, car le pourcentage de cas positifs y a été le plus élevé, sans compter que les *Leishmania* y étaient toujours plus abondantes.

Quant à la recherche dans la moelle osseuse et dans le foie, elle a été positive dans tous les cas, à l'exception d'un seul, correspondant à un chien âgé d'une année où les frottis de rate ont révélé de rares leishmanies, ce qui traduit, probablement, une infection récente.

TABLEAU I

RÉSULTATS DE LA RECHERCHE DES *Leishmania* DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES

Années	Rate			Foie		Moelle		Muqueuse nasale		Total	Positifs	
	Obs.	E.D.	Culture	Obs.	E.D.	Obs.	E.D.	Obs.	E.D.		Obs.	%
1945/47	137	9	—	132	5	26	2	26	1	137	9	6,5
1961/62	140	5	0	140	4	140	4	95	2	140	5	3,5

Pour ce qui est de l'infection en relation avec l'âge, nous constatons (tableau II) que les chiens âgés et les chiens d'un an, sont ceux qui ont fourni le plus fort contingent ; mais nous estimons que le nombre d'examen est trop limité pour pouvoir en tirer des conclusions définitives. Cependant, les résultats obtenus se rapprochent de ceux qui avaient déjà été constatés lors de l'enquête de 1945-47. L'appréciation des résultats enregistrés dans les deux enquêtes révèle cependant les taux d'infection les plus élevés chez les animaux les plus âgés, ce qui est en opposition avec ce qui se passe pour le Kala-azar méditerranéen, où le grand pourcentage d'infectés correspond, comme on le sait, aux enfants jusqu'à l'âge de 3 ans, ce qui, à équivalence d'âge entre l'homme et le chien, correspondrait chez ces derniers à des animaux âgés de quelques mois. Ce fait vient également à l'appui du concept suivant lequel la dissémination de l'infection canine s'opère d'une manière différente chez le chien et chez l'homme, puisque chez le premier les taux d'infection augmentent avec l'âge.

Considérons maintenant le sexe (tableau III), nous constatons que les femelles accusent un taux d'infection plus élevé, mais il faudrait vérifier sur de plus nombreuses observations si ce concept se trouve ou non confirmé. En comparaison avec l'enquête de

TABLEAU II

INFECTION DES CHIENS EN RELATION AVEC L'ÂGE

Ages	Chiens observés					Chiens infectés			
	Total			%		Total pour les 2 enquêtes			
	Total			1945/47	1961/62	1945/47	1961/62	Obs.	%
	1945/47	1961/62	Total	1945/47	1961/62	1945/47	1961/62	Obs.	%
Moins d'un an	24	31	55	0	0	0	0	0	0
1 an	38	21	59	0	2	0	9,5	2	3,4
2 ans	32	19	51	2	0	6,2	0	2	3,9
3 ans	12	9	21	0	0	0	0	0	0
4 ans	9	10	19	1	0	11,1	0	1	5,3
5 ans*	10	5	15	4	0	40,0	0	4	26,6
De plus de 5 ans	0	45	45	0	3	0	6,6	3	6,6
Non déterminé	12	0	12	2	0	—	—	2	—
Totaux	137	140	277	9	5	6,5	3,5	14	5,0

1945-47, nous voyons cependant que le pourcentage des femelles infectées était alors plus élevé que maintenant, et c'est ainsi que l'appréciation conjointe des deux enquêtes révèle un taux d'infection des femelles (6,7 %) supérieur au taux d'infection des mâles (4,0 %).

TABLEAU III
INFECTION DES CHIENS EN RELATION AVEC LE SEXE

Sexe	Années	Observations		Infectés			
		Par années	Total	Observations		%	Total
				Par années	Total	Par années	
♂	1945/47	98	202	4	8	4,08	4,0
	1961/62	104		4			
♀	1945/47	38	74	4	5	10,5	6,7
	1961/62	36		1		2,7	
Indéterminé	1945/47	1	1	1	1	1	1
Total		277		14		5,0	

TABLEAU IV
INFECTION CANINE EN FONCTION DE LA RACE

Race	Chiens observés	Cas positifs
Indéterminé	134	5
« Serra da Estrela »	2	0
Seter	1	0
Pudengo	1	0
Perdigão	1	0
Pudengo anão	1	0

En ce qui concerne la race (tableau IV), tous les cas positifs ont été décelés chez des animaux de race indéterminée, ce qui était d'ailleurs le cas de la presque totalité des chiens capturés.

TABLEAU V
INFECTION CANINE EN FONCTION DE L'ÉPOQUE DE L'ANNÉE

Mois	1910-1912		1936-1938		1945-1947		1961-1962		Total		
	Chiens obs.	Chiens infect.	Chiens obs.	Chiens infect.	Chiens obs.	Chiens infect.	Chiens obs.	Chiens infect.	Chiens obs.	Chiens infectés	
										Total	%
Janvier	50	0	17	0	18	1	15	1	100	1	1
Février	50	1	18	0	25	2	15	0	108	3	2,7
Mars	62	1	12	0	32	3	8	0	114	4	3,5
Avril	36	1	18	2	3	0	15	1	72	4	5,5
Mai	75	1	38	2	1	0	16	1	130	4	3,0
Juin	33	3	39	0	6	0	18	1	96	4	4,1
Juillet	28	0	23	0	8	0	19	1	78	1	1,2
Août	3	0	24	0	2	1	21	0	50	1	2,0
Septembre	0	0	2	0	14	1	0	0	16	1	6,2
Octobre	0	0	17	1	11	0	0	0	28	1	3,5
Novembre	30	2	18	0	12	0	0	0	60	2	3,3
Décembre	32	3	14	0	5	1	13	0	64	4	6,2
Total	399	12	240	5	137	9	140	5	916	30	3,2

Quant à la distribution des cas de leishmaniose en fonction du quartier de la ville, nous ne pouvons tirer des conclusions, car nous n'avons enregistré le lieu de provenance que pour 32 animaux dont aucun n'était infecté. Ces 32 animaux provenaient de divers quartiers très écartés les uns des autres. Lors des travaux antérieurement réalisés en 1910-12 et en 1936-38, des cas de leishmaniose ont été constatés dans les quartiers plus éloignés de Lisbonne, ce qui semble prouver, comme il avait lieu de le prévoir, la large dispersion de la maladie canine dans la capitale, bien que la constitution éventuelle en tel ou tel endroit ou quartier d'un foyer de plus grande incidence, soit naturelle.

Considérant finalement la relation entre les chiens infectés et les mois de l'année, nous procéderons à une appréciation conjointe des résultats des enquêtes réalisées depuis 1910.

Une telle appréciation nous conduit à conclure (tableau V), malgré le nombre encore relativement limité des observations, qu'il semble n'exister aucune relation entre le degré d'infection et la saison ce qui était d'ailleurs à prévoir, étant donné l'évolution lente de la maladie et l'absence de manifestations aiguës se produisant à des périodes déterminées de l'année.

B. EPREUVES SÉROLOGIQUES. — Nous avons vu que la recherche des *Leishmania* a été effectuée par l'examen direct des frottis de divers organes, et indirectement au moyen de cultures de pulpe splénique.

Cependant, nous signalerons que les cultures ont toujours donné un résultat négatif bien que nous ayons utilisé dans la presque totalité des recherches, les milieux de NNN, Row et Wenyon.

Nous pensons, par conséquent, que, pour les objectifs de l'enquête, l'examen direct des frottis de la rate est, sans aucun doute, la meilleure méthode à utiliser.

Toutefois, considérant l'importance que certains auteurs attribuent aujourd'hui à la formol-gélification, surtout comme réaction simple permettant d'orienter des enquêtes épizootologiques dans la leishmaniose canine, nous l'avons exécutée sur 114 échantillons de sérum, 25 sur les 139 recueillis, ayant été rejetés en raison d'une forte hémolyse, bien que nous ayons pris tous les soins pour éviter cet accident.

Cependant, lorsque nous avons voulu recueillir les impressions de divers auteurs sur la question, nous avons constaté les opinions les plus contradictoires quant à la signification de l'épreuve, à la technique de son exécution et à la manière d'en exprimer les résultats.

Comme il s'agit d'une épreuve de gélification il est évident que les résultats peuvent s'exprimer non seulement par l'intensité de la réaction, mais encore, comme il est habituel dans des épreuves de cette nature, en fonction du temps que le phénomène met à se produire.

Mais tandis que certains auteurs (Ethés, 1952) n'attribuent de valeur qu'au résultat apprécié à la fin de 30 mn, d'autres (Donatien et Lestoquard, 1935, Gil et Rodriguez, 1955, Stitt, Clough and Braham, 1948) considèrent que l'appréciation des résultats doit être faite au bout de 2 à 24 heures.

Les résultats sont alors exprimés en fonction du temps nécessaire pour que s'opère

la gélification. Quant à l'intensité du phénomène, tandis que certains auteurs apprécient la valeur de l'épreuve d'après le degré de consistance gélatineuse acquise par le sérum (Gradwohl et Konn, 1948), d'autres l'apprécient en fonction de l'opalescence provoquée, opalescence qui de son côté est évalué d'après le degré de transparence, apprécié par une méthode arbitraire (Cookson, 1947) ; d'autres encore (Donatien et Lestoquard, 1935) considèrent que la signification de la gélification est différente de celle de l'opalescence et ils n'attribuent de signification à la réaction que lorsqu'il y a opalescence.

Ces interprétations divergentes suffisent à montrer clairement l'imprécision de l'épreuve, qui d'ailleurs souffre de l'insuffisance de connaissance dans laquelle nous nous trouvons aujourd'hui encore quant à sa signification et à son mécanisme véritables.

En fait, bien que l'on sache qu'elle est en relation avec l'apparition et l'augmentation d'une globuline déterminée, il n'en est pas moins certain que nous n'avons aucune notion précise sur la constitution de cette globuline et sur ce qu'elle peut exprimer dans le tableau pathogénique des leishmanioses.

Signalons encore que l'épreuve ne peut être appliquée que tardivement, déjà dans une phase avancée de la maladie, jamais avant quatre mois, semble-t-il, et qu'elle n'est pas spécifique, puisqu'elle donne des résultats positifs également chez des animaux non infectés.

Etant donné que nous disposons actuellement des méthodes beaucoup plus précises pour apprécier les altérations de la constitution protéique du sérum des animaux infectés (protéinogramme, lipidogramme, glucidogramme), il est évident que la formol-gélification a perdu toute valeur dans ce sens. En outre, les méthodes de diagnostic fondées

TABLEAU VI

RÉSULTATS DES RÉACTIONS DE FORMOL-GÉLIFICATION OBTENUES AU BOUT DE 2 ET 24 HEURES
(TOTAL DES SÉRUMS RECUEILLIS : 139 ; HÉMOLYSÉS : 25 ; TOTAL DE RÉACTIONS : 114)

Degré de réaction	Chiens infectés		Chiens sans leishmanies	
	Observés	%	Observés	%*
++++	1	20,0	5	4,6
+++	1	20,0	13	12,0
++	0	0	8	7,3
+	1	20,0	20	18,3
-----	2	40,0	63	57,7
Total	5		109	

* La technique suivie a été la suivante : *Réactif* : solution de formaldéhyde à 37 % neutralisée. *Technique* : verser 1 cc de sérum dans un tube d'environ 10 x 100 mm. Ajouter une goutte de solution de formaldéhyde. Mélanger et fermer avec un bouchon de caoutchouc pour éviter l'évaporation. Examiner le sérum au bout de 2 et 24 heures et voir s'il y a gélification. Le matériel a été scrupuleusement préparé et la technique pratiquée avec toute la rigueur voulue.

TABLEAU VII

RÉSULTATS DE L'ÉPREUVE DE LA FORMOL-GÉLIFICATION EN FONCTION DE L'ÂGE DES CHIENS EXAMINÉS

Age	Chiens infectés						Chiens non infectés						Total général
	++++	+++	++	+	—	Total	++++	+++	++	+	—	Total	
Moins d'un an							1	1	1	6	15	24	24
Un an	1				1	2		2	1	1	12	16	18
Deux ans								2	1	3	9	15	15
Trois ans								2			5	7	7
Quatre ans							2	1		1	4	8	8
Cinq ans									1		2	3	3
Plus de cinq ans ..		1		1		3	2	5	4	9	16	36	39
Total	1	1	0	1	2	5	5	13	8	20	63	109	114

sur la recherche de leishmanies, c'est-à-dire, celles qui doivent être fondamentalement et toujours utilisées, ont été simplifiées et généralisées et, c'est pourquoi de ce côté également, l'épreuve de la formol-gélification doit être considérée comme dévalorisée..

Cependant, comme nous l'avons dit, des auteurs réputés continuent à la recommander pour sa simplicité, en comparaison avec la difficulté et la lenteur inhérentes aux autres épreuves. Elle vise seulement à déterminer les altérations de la constitution protéique du sérum, et est, par conséquent, utilisable en tant que méthode rapide en une première phase des enquêtes épizootologiques ; c'est pourquoi nous avons décidé de déterminer l'intérêt qu'elle peut présenter pour nous.

Nous avons appliqué la technique exposée par Levinson et MacFate (1957) (*), car il nous a semblé avantageux d'employer une solution neutre de formaldéhyde pour éviter l'interférence possible de l'acidité naturelle de la solution dans la réaction, et nous avons procédé à la lecture au bout de 2 et 24 heures, en exprimant les résultats d'une manière identique à celle qui est utilisée pour la réaction de Takata-Ara, avec laquelle cette méthode est apparentée.

C'est pourquoi nous avons apprécié la réaction en fonction de l'intensité de la gélification et en fonction du temps durant lequel le phénomène se produit, exprimant les résultats par le signe (+) de la manière suivante : Réaction fortement positive (+++), gélification totale au bout de 2 heures ; réaction positive (+++—), gélification totale au bout de 24 heures ; très faiblement positive (+— — —), légère gélification au bout de 24 heures ; réaction négative (— — — —) absence totale de gélification en 24 heures.

Dans les conditions actuelles, nous ne disposons pas d'éléments qui nous permettent d'évaluer la signification à attribuer aux réactions non fortement positives ; mais les résultats obtenus (tableau VI) nous permettent de conclure que des réactions fortement positives se produisent sur des chiens indemnes de leishmaniose, bien qu'à un taux inférieur à celui qui a été enregistré pour les chiens infectés. En ce qui concerne la relation entre la formol-gélification et l'âge, il semble (tableau VII) qu'il n'y ait aucune interdépendance entre ces deux facteurs et, comme nous avons enregistré des réactions négatives chez des chiens âgés et fortement parasités (n°s 62 et 73), ce qui doit traduire une infection ancienne, il faut conclure que cette réaction négative ne peut être attribuée à l'infection récente des animaux.

En présence des résultats obtenus, il semble que nous puissions conclure que la valeur pratique de la formol-gélification, en tant que réaction d'orientation préalable à pratiquer dans toute enquête épizootologique, soit faible ou même nulle.

Nous avons également procédé à la détermination du protéinogramme de quatre chiens atteints de leishmaniose et de sept chiens non infectés choisis au hasard, d'âges divers et dont les sérums ne présentaient aucune hémolyse.

Les résultats de ces déterminations, que nous présentons sur les figs 1 à 3, semblent prouver que l'on ne constate pas toujours l'augmentation de la globuline γ signalée comme caractéristique de la leishmaniose et qu'il ne semble pas y avoir toujours des différences significatives dans les protéinogrammes des animaux sains et des animaux malades.

Si l'on compare les résultats de l'épreuve de la formol-gélification avec ceux du protéinogramme, nous constatons que chez les animaux infectés cette épreuve a été positive quand il y avait hypergammaglobulinémie (figs. 2 a et 2 c) et négative dans les deux cas où cet aspect n'a pas été constaté (figs. 2 b et 2 d).

Dans les sérums des animaux non infectés, nous avons constaté parfois une augmentation de certaines globulines, y compris de la globuline γ (fig. 1 γ), mais seulement

FIG. 1. — Protéinogrammes de sérums de chiens sans leishmaniose, choisis au hasard : α) 2 ans ; β) 2 ans ; γ) 10 mois ; δ) plus de 5 ans. (x) Formol-gélification

dan l'un des cas qui ont été soumis à cette épreuve, et dont la globuline β était élevée, la formol-gélification a été positive (fig. 1 δ).

Ces discordances confirment ainsi la faible valeur que l'on doit attribuer à la formol-gélification.

FIG. 2. — Protéinogrammes de sérums de quatre chiens avec leishmaniose. a) 1 an; b) plus de 5 ans; c) plus de 5 ans; d) 1 an. (X) Formol-gélification

FIG. 3. — Protéinogrammes de sérums de trois chiens sans leishmaniose. 1) 8 mois; 2) 1 an; 3) 10 mois. (x) Formol-gélification

TABLEAU VIII

COMPARAISON DES TAUX DE LEISHMANIOSE CANINE ENREGISTRÉS A LISBONNE

Auteur et date	Résultats	
	Nombre d'examens	Positifs (%)
Pereira da Silva (1910-1912)	416	3,1
Correia Mendes (1936-1938)	240	2,08
Fraga de Azevedo et cols. (1945-1947) .	137	6,5
Fraga de Azevedo et Vérter das Neves (1961-1962)	140	3,5

4. — Conclusions

Si l'on compare les résultats des observations actuelles avec les résultats des années précédentes (tableau VIII), on peut conclure qu'il n'y a pas entre eux de différences significatives, ce qui montre que l'enzootie est stationnaire à Lisbonne, situation d'ailleurs constatée en divers endroits de la zone méditerranéenne.

En présence de ces résultats, il semble que nous pouvons conclure qu'il n'existe pas dans la leishmaniose canine de la capitale une réduction parallèle à celle des cas de Kala-azar, ce qui prouve que les mesures de prophylaxie adoptées pour cette dernière maladie, à la base de l'utilisation d'insecticides, n'ont pas donné les mêmes résultats pour l'infection des chiens.

On peut donc en déduire, croyons-nous, que le mécanisme de la transmission de la leishmaniose canine s'opère d'une manière différente de celle du Kala-azar. Il convient donc de pas l'oublier dans la lutte contre l'endémie, le combat contre l'enzootie, car la maladie présente chez nous le caractère d'une véritable anthropolozoonose.

La formol-gélification a été positive chez quelques animaux sans leishmaniose et négative chez deux animaux fortement infectés et d'un âge avancé, c'est pourquoi nous pensons que malgré les résultats obtenus par d'autres auteurs, cette épreuve est de peu de valeur pour le diagnostic. Le protéinogramme du sérum des chiens infectés n'a pas accusé pour tous de l'hyperglobulinémie et l'on n'a pas constaté de parallélisme entre l'hyperglobulinémie et la formol-gélification.

5. — Résumé

Les auteurs présentent les résultats de la recherche de *Leishmania* dans la rate, le foie, la moelle osseuse et la muqueuse nasale de 140 chiens errants de Lisbonne, capturés par le Service de Prophylaxie de la Rasse de la Municipalité. On a constaté un taux d'infection de 3,5 %. De même qu'en 1945-1947, ce sont les chiens les plus âgés qui ont fourni le plus fort contingent d'infectés contrairement à ce qui se produit pour le Kala-azar méditerranéen, qui existe surtout chez les enfants jusqu'à trois ans.

La comparaison de ces résultats avec ceux qui ont été enregistrés lors d'observations précédentes remontant à 1910, semblent prouver le caractère stationnaire de l'enzootie, car il n'y a pas entre ces résultats de différences significatives.

D'autre part, comme on constate chez l'homme une réduction notable des cas de Kala-azar, on peut en conclure que les mesures qui ont affecté l'évolution de cette maladie, tout au moins à Lisbonne, n'ont pas d'influence sur l'infection des chiens, et que, par conséquent, dans la prophylaxie de la maladie, il faut également agir sur ce réservoir naturel.

La réaction de la formol-gélification s'est révélée sans valeur pour le diagnostic, même comme réaction d'orientation, et l'électrophorèse n'a pas toujours mis en évidence l'hyperglobulinémie caractéristique de la leishmaniose.

Nous exprimons notre profonde gratitude à M. le Dr António Cabral, Chef des Services médico-vétérinaires de la Municipalité de Lisbonne, pour les services qu'il nous a rendus, toujours avec le plus vif intérêt, dans la réalisation de ce travail.

6. — Bibliographie

- COOKSON (L. O. C.), 1947. — The serum-Formalin Reaction in *Trypanosoma rhodesiense* sleeping sickness. *J. Trop. Med. and Hyg.*, 50, 134-140.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.), 1935. — Observations et réflexions sur la leishmaniose généralisée du chien. *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie*, 13, 320-338.
- ETHÉS (Y.), 1952. — Leishmanioses. In *Médecine Tropicale*, Marcel Vancel, Flammarion, Paris, I, 611-640.
- FRAGA DE AZEVEDO (J.), TEIXEIRA (A. W.), GOMES e COITO (Am. M.), 1947. — « Sobre a infestação por leishmanias dos cães de Lisboa ». (L'infestation des chiens de Lisbonne par les leishmanies). *Anais. Inst. Med. Trop.*, 4, 99-106.
- e NEVES (V. M.) das, 1962. — « Sobre a leishmaniose canina em Lisboa ». (La leishmaniose canine à Lisbonne), présenté le 11 juillet 1962 à la Société Portugaise de Biologie.
- GIL (G.), PIEDROLA y RODRIGUEZ (V. Garcia), 1955. — Manual Prático de Laboratório. Madrid.
- GIRAUD (P.), 1959. — Epidémiologie et prophylaxie de la leishmaniose viscérale humaine (Kala-azar) méditerranéenne. *Proc. VIth Int. Cong. Trop. Med. and Mal.*, 3, 658-679.
- J. Trop. Med and Hyg.*, 1947. — Editorial. The Formalin-Serum Tests, 50, 125-126.
- LEITAO (J. S.), 1962. — « Prática do diagnóstico da leishmaniose canina ». (Pratique du diagnostic de la leishmaniose canine), XXVI, Congrès luso-espagnol pour le progrès des Sciences, Porto, 1962.
- LEVINSON (S. A.) et MACFATE (R. P.), 1957. — Clinical Laboratory Diagnosis. Lea and Febiger, Philadelphia.
- MENDES (A. B. C.), 1938. — « Leishmaniose nos cães de Lisboa ». (La leishmaniose chez les chiens de Lisbonne). *Arq. Inst. Bact. Câmara Pestana*, 7, 389-395.
- NAPIER (L. E.), 1921. — Kala-azar. *Indian Med. Gaz.*, 56, 401-404.
- PEREIRA da SILVA (A.), 1912. — Notes sur le Kala-azar. *Arch. Inst. Bact. Câmara Pestana*, 4-5, 147-172.
- STITT (E. R.), CLOUGH (P. W.) et BRAHAM (S. E.), 1948. — Practical Bacteriology, Hematology and Parasitology, 10th Ed., Philadelphia, Toronto.
-