

# RELACIONES BIOLÓGICAS ENTRE PARACOCCIDIODES, BLASTOMYCES E HISTOPLASMA

WILFREDO E. GARDINI TUESTA \*\*

## INTRODUCCION

Gilchrist, en 1896 (69), encontró el microorganismo productor de la Blastomycosis norteamericana en cortes de piel de apariencia tuberculosa y fue en 1898 que Gilchrist y Stokes (70) lo cultivaron por primera vez a partir de un caso denominado pseudo-lupus vulgaris, identificando al hongo como *Blastomyces dermatitidis*, por sus caracteres morfológicos y su poder patógeno en animales de experiencia.

Darling, en 1906 y 1909 (38, 39), describe al causante de la Histoplasmosis como un protozooario similar a los cuerpos intracelulares de Leishman-Donovan del Kalazar, dándole el nombre genérico de *Histoplasma capsulatum*, en razón a su morfología encapsulada y ovoidea. Da Rocha Lima (40), supone que es un hongo y De Monbreun (42, 43), Hansmann y Schenken (77), lo cultivaron estableciendo su verdadera naturaleza de hongo. DeMonbreun demuestra, a su vez, el carácter dimórfico del mismo cultivando los tejidos patológicos en dos temperaturas diferentes, a 37°C para la fase levaduriforme y a temperatura del laboratorio para la fase filamentosa. DeMonbreun (42, 43), Ciferri y Redaelli (32), Moore (107), Conant (36), Negroni (111, 112), Howell (83), describen la morfología y el ciclo sexual del hongo situándolo dentro de los hongos imperfectos. De otra parte, en numerosos casos de Histoplasmosis procedentes del Africa, se observaron levaduras gi-

---

\* Tesis Doctoral recomendada para su publicación en Sesión del Consejo de la Facultad de Medicina, el 11 de Mayo de 1965.

\*\* Profesor Asociado de Bacteriología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

gantes en gemación de 4 a 5 veces más grande que las formas clásicas de 2 a 3 micras (31, 48, 49, 124) y Vanbreuseghem en 1953 (158), la describió como *Histoplasma duboisii*, una variedad distinta del *Histoplasma capsulatum* en su fase levaduriforme mas no en la fase filamentosas. Posteriormente, se ha demostrado la naturaleza dimórfica (159) y el poder patógeno del *Histoplasma duboisii* en animales de laboratorio (45, 46, 50, 98, 99, 157, 160).

Lutz (95), Carini (29), en 1908, describen los primeros casos de Paracoccidioidomicosis o enfermedad de Lutz-Splendore-Almeida, caracterizada por una infección crónica de los ganglios y órganos internos, de la piel, de las mucosas. Lutz, identifica al microorganismo como relacionado al *Coccidioides immitis*. Splendore, en 1909 y 1912 (152, 153, 154), lo denomina *Zymonema brasiliensis* y estudia el primer caso de infección generalizada. Habersfeld, en 1919 (76), lo considera como *Zymonema histosporocelularis*, mientras que Fonseca en 1928 y 1929 (59, 60), cree que se trata del *Coccidioides immitis*. Almeida, en 1930 (11), crea el género *Paracoccidioides* y lo clasifica como *Paracoccidioides brasiliensis*. Moore, en 1935 y 1938 (106, 108), describe dos especies adicionales el *P. tenuis* y el *P. cerebriformis*, pero que hoy en día, se las considera como sinónimos del *Paracoccidioides brasiliensis*. Cifferri y Redaelli en 1936 (33), haciendo estudios más completos del microorganismo, llegan a clasificarlo al igual que Almeida dentro del género *Paracoccidioides* como *Paracoccidioides brasiliensis*. Esta denominación, es aceptada actualmente por Lacaz (87) y la mayoría de los autores.

Ha pasado más de medio siglo desde el conocimiento inicial sobre la etiología de estas micosis profundas; sin embargo, no están todavía bien estudiadas las relaciones biológicas entre el *Paracoccidioides brasiliensis*, el *Blastomyces dermatitidis*, el *Histoplasma capsulatum* y el *Histoplasma duboisii*, las cuales proporcionarían argumentos taxonómicos más estables para un mejor diagnóstico y una terapéutica apropiada. La mayoría de los trabajos internacionales se refieren sólo a investigaciones aisladas sobre la morfología (11, 36, 39, 42, 45, 46 52, 54, 59, 83, 108, 113, 123, 124, 131, 147, 159, 160), efecto patogénico (2, 26, 50, 60, 75, 81, 87, 89, 99, 108, 137, 157), aspectos epidemiológicos (3, 4, 5, 7, 8, 16, 17, 34, 53, 56, 82, 87, 96, 103, 104, 125, 127, 166, 167) y características bioquímicas (10, 67, 91, 120, 136). Se ha logrado algún avance en el conocimiento inmunoserológico de *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum*, pero no se ha estudiado todavía la inmunoserología del *Histoplasma duboisii*. En el Perú, desde los primeros estudios

sobre la etiología de la Paracoccidioidomycosis por Lozada Benavente en 1919 y 1920 (92, 93, 94), Weiss y Zavaleta en 1937 (163) y los de la Histoplasmosis en 1955 por Arellano y Gálvez Brandon (14) y otros (15, 88), las investigaciones fueron orientadas principalmente a descubrir focos endémicos en diferentes zonas del territorio mediante estudios del suelo (9,88), reacciones intradérmicas (12, 13, 21, 22, 23, 63, 65, 105, 116, 129, 161, 162), búsqueda de casos clínicos (30, 57, 102, 109, 119, 122, 128, 151, 164) y otros (64, 114); no se hicieron investigaciones sobre las relaciones biológicas de las cuatro especies de hongos ni se registraron casos a *Histoplasma duboisii*.

Con el presente trabajo, se inicia una serie de estudios que tienen por fin encontrar los caracteres diferenciales fisiológicas é inmunoserológicos más estables de *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* e *Histoplasma duboisii*, los cuales complementarán el diagnóstico que actualmente se emplea basado sólo en caracteres variables como la morfología y el poder patógeno en animales de experiencia. En esta primera etapa, el trabajo comprende estudios experimentales sobre la fermentación de los carbohidratos, asimilación del carbono y reacciones antígeno-anticuerpo usando la fijación del complemento y el método de difusión en agar.

## MATERIAL Y METODOS

Se emplean 20 cepas de hongos patógenos, procedentes de los ceparios del Instituto de Higiene de Bonn (Prof. Seeliger) y de la Universidad de Sao Paulo (Prof. Lacaz). Se incluyen, además, 14 cepas diferentes de hongos filamentosos saprofitos, aisladas en nuestro medio y utilizadas para las pruebas de fermentación comparativas.

### **Paracoccidioides brasiliensis:**

- |          |   |
|----------|---|
| Pb — P13 | Bonn (Göetz, München), en fase levaduriforme y filamentosa.   |
| Pb — 4   | Sao Paulo (aislada el 17.10.1941, paciente A. Eugenio, del labio, boca e infarto ganglionar), en fase filamentosa.                  |
| Pb — 204 | Sao Paulo (aislada el 24.6.1961, paciente M. Dezdina G. Da Rocha, Hosp. Clin. Fac. Med. de Sao Paulo, Nº 1791) en fase filamentosa. |
| Pb — 696 | Sao Paulo (Venezuela, 1950 por H. Campins, caso E. Oropeza), en fase filamentosa.   |
| Pb — 377 | Sao Paulo (S. Lacaz, 18.5.1962, aisladas de absceso cerebral en autopsia, paciente J. Carbalho), en fase filamentosa.               |
| Pb — 909 | Sao Paulo (aislada por mielocultivo el 16.5.1957, paciente G. Strovabolis), en fase filamentosa.                                    |

**Blastomyces dermatitidis:**

- Bd — P14 Bonn (D.U., cepa reinoculada a ratón), en fase levaduriforme y filamentosa.
- Bd — 1131 Sao Paulo (Conant - U.S.A., 1944, N° 836), en fase filamentosa.
- Bd — 1158 Sao Paulo (Conant - U.S.A., 1945) en fase filamentosa.
- Bd — 1156 Sao Paulo (Conant - U.S.A., 1945, N° 830), en fase filamentosa.
- Bd — 1157 Sao Paulo (Conant - U.S.A., 1945, N° 835), en fase folamentosa.
- Bd — 1159 Sao Paulo (Conant - U.S.A., 1945, N° 837), en fase filamentosa.

**Histoplasma capsulatum:**

- Hc — P18 Bonn (N° 2913, Inst. Oswaldo Cruz), en fase levaduriforme y filamentosa.
- Hc — 191 Sao Paulo (Japón, 1959, paciente Okayama Yamoto), en fase filamentososa.
- Hc — 584 Sao Paulo (Emmons - U.S.A., 1950, aislada de gato N° 6598), en fase filamentosa.
- Hc — 622 Sao Paulo (Saraiva, 1958, paciente Kishmiro Nazaki), en fase filamentosa.
- Hc — 927 Sao Paulo (Darling, N° 2470, Weidmann), en fase filamentosa.
- Hc — 998 Sao Paulo (Littmann - U.S.A., 1945, Mount Sinai Hosp., N° 11378), en fase filamentosa.

**Histoplasma duboisii, Vanbreuseghem**

- Hd — P183 Bonn (Walker, Monkey strain, Inglaterra), en fase levaduriforme y filamentosa.
- Hd — P177 Bonn (Janke, Marburg), en fase filamentosa.

*Hongos saprofitos contaminantes*

|                              |          |                              |              |
|------------------------------|----------|------------------------------|--------------|
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | (A - 6)  | <i>Aspergillus nigricans</i> | (A - 17)     |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | (A - 11) | <i>Aspergillus oryzae</i>    | (A - 12)     |
| <i>Alternaria</i>            | (A - 2)  | <i>Cunninghamella</i>        | (A - 16)     |
| <i>Cladosporium herbarum</i> | (A - 19) | <i>Fusarium roseum</i>       | (A - 3)      |
| <i>Glenospora</i>            | (A - 22) | <i>Hormodendrum</i>          | (A - 1)      |
| <i>Penicillium bicolor</i>   | (A - 5)  | <i>Penicillium, sp.</i>      | (A - C1 - 9) |
| <i>Rhizopus</i>              | (A - 9)  | <i>Trichophyton, sp.</i>     | (A - 13)     |

En la prueba de la asimilación del carbono, se empleó el medio sintético de levadura nitrogenada a base de sulfato de amonio, aminoácidos, vitaminas, sales (44). Para determinar la acción fermentativa, se usó la neopeptona purificada (44). En ambas experiencias, se

prepararon series de cada medio con diferentes carbohidratos a una concentración final del 2% y 3%, después de haber agregado el indicador púrpura de bromocresol y cloromicetina 0.2 mg por cc. de medio. Los carbohidratos se esterilizaron por filtración. Las siembras se dejaron a 25° C. hasta los 30 días. La reacción positiva estaba dada por un viraje total del medio hacia el color amarillo y por la formación de colonias exuberantes.

En la prueba de fermentación comparativa con hongos filamentosos saprofitos, se utilizó la neopeptona con los mismos carbohidratos y el indicador de pH. Las siembras se dejaron a 25°C. hasta los 15 días.

Para las inmunizaciones y pruebas serológicas, se prepararon antígenos en suspensión celular, filtrados de cultivo y extractos, a partir de las cepas en fase levaduriforme: Pb-P13-Bonn, Bd-P14-Bonn, Hc-P18-Bonn, Hd-P183-Bonn; mantenidas en agar sangre de Francis (24,25) y en agar cerebro-corazón (44) a 37° C. En la elaboración de los antígenos, los hongos fueron sembrados en agar cistina-corazón (44) a pH 7.0-7.4, adicionado de 50 unidades de penicilina y 50 mcg de estreptomina por cc. La incubación óptima para la fase levaduriforme fué realizada a 37° C, durante 8 días. Para obtener el antígeno en suspensión celular, se lavó el desarrollo microbiano con suero fisiológico estéril y para los autolisados con agua bidestilada. La autólisis fué provocada manteniendo la suspensión celular a 37° C. durante 3 días, tras la adición de antibióticos para evitar la contaminación bacteriana; y posteriormente, sometiénola a congelaciones y descongelaciones rápidas por 5 veces consecutivas a -30° C y a + 40° C. El autolisado se filtró por bujía. Una parte del filtrado se trató con etanol al 80% a -5° C, durante tres días y después de centrifugado a 3,000 rpm., el sedimento se reemulsionó en tampón al veronal mertiolado a 1:10,000 (6, 100, 145). Los antígenos se guardaron a 4° C. y al abrigo de la luz.

Para la producción de sueros inmunes, se inocularon conejos de 4 a 5 kilogramos de peso con los tres tipos de preparados antigénicos de cada variedad de hongo ajustados a la densidad de Mac Farland N° 3, en dosis intercalada. Las aglutininas fueron negativas en cada animal, antes de efectuar las inoculaciones. Con el fin de obtener títulos óptimos se experimentó un esquema de 7 inyecciones: 0.4 cc-0.5 cc-1.0 cc-1.5 cc-2.0 cc - 2.5 cc - 3.0 cc., inoculando por vía intraperitoneal las tres primeras dosis y las subsiguientes por vía intravenosa. La sangría, fué practicada 8 días después de la última inyección. Los sueros fueron

mantenidos a 4°C. con mertiolato hasta 1:10,000 y al abrigo de la luz. Se registraron los sueros inmunes como Pb-P13, Bd-P14, Hc-P18, Hd-183.

En la determinación del título de las reacciones específicas y cruzadas con la fijación del complemento, se adaptó la técnica del 50% de hemólisis "punto final", usando solución tamponada al veronal (18, 27, 145). El poder anticomplementario del antígeno fué titulado con 1.25, 2.5 y 5 unidades de complemento al 50% de hemólisis; se consideró anticomplementario cuando se obtuvo menos del 80% de hemólisis con 2.5 Unidades. Los antígenos y las diluciones seriadas del suero inactivado se titularon con 0.25 cc. de complemento conteniendo 5 Unidades al 50% de hemólisis. Para la fijación, se dejó a 4°C por 15-18 hs. En el sistema hemolítico indicador, se empleó la suspensión de glóbulos rojos de carnero al 2%, sensibilizados a temperatura ambiente por 10 minutos, en la proporción de 1:1 con 4 Unidades de hemolisina en 0.25 cc. y de esta mezcla se agregó a la reacción cantidades de 0.5cc. La lectura de la prueba final, se hizo después de una segunda incubación a 37°C por 30 minutos en Baño de María, registrándose los resultados de las diluciones más altas de los sueros inmunes que dieron 2, 3, 4 cruces de reacción. El título de los tres tipos de antígenos del *Blasomyces dermatitidis*, cepa Bd-P14-Bonn y de los del *Histoplasma capsulatum*, cepa Hc-P18-Bonn, fueron controlados con sueros conocidos procedentes del C.D.C. (U.S.A.), disponibles en el Instituto de Higiene de Bonn.

Para el estudio de las reacciones de precipitación específica y cruzada, se adaptó el método de difusión en agar de Ouchterlony (1, 80, 117, 118, 165), con algunas modificaciones de carácter experimental. Se usaron placas de vidrio fotográfico y agar especial, Noble (44) al 1% en agua bidestilada, filtrado al vacío y preparado en el momento de la prueba. Las placas se colocaron sobre una superficie rigurosamente plana de agar corriente y se vació sobre ésta el agar especial caliente a un espesor previamente calculado de 3 milímetros. Las placas se removieron y sobre el agar se hicieron orificios cilíndricos de 4 milímetros de diámetro con 6 milímetros de separación entre sí: uno central y 4 a 6 periféricos. Como molde para obtener los orificios característicos se usó una aguja de punción lumbar, seccionada a un centímetro de la punta y el agar que quedaba en los sitios seccionados por el molde fue removido con aguja de coser. Las reacciones se efectuaron colocando 0.2' cc. de suero inmune en el orificio central y 0.2 cc. de los antígenos en los orificios periféricos. Las lecturas se registraron después de 4 a 6 días de difusión en cámara húmeda y algunos casos positivos

fueron fotografiados. Los antígenos de cada especie, se probaron a una concentración normal y a una concentración 20 veces mayor, mientras que los sueros se usaron puros.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se estudia las relaciones biológicas entre *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* e *Histoplasma duboisii*, mediante la asimilación del carbono, la fermentación de los carbohidratos y las reacciones serológicas. Las experiencias de asimilación y fermentación en los hongos filamentosos patógenos se hicieron comparando con las de los hongos aislados del medio ambiente. Las pruebas serológicas se realizaron empleando sólo antígenos procedentes de la fase levaduriforme de cada especie.

En el Cuadro N° 1, se consigna los resultados de la asimilación del carbono en medio-base levadura nitrogenada y los de la fermentación en medio de neopeptona, registrados después de 30 días de incubación a 25°C. Se observa que todas las cepas del *P. brasiliensis*, del *Bl. dermatitidis*, del *H. capsulatum* y del *H. duboisii*, sembradas en medio levadura nitrogenada, asimilan bien el carbono de glucosa, levulosa, maltosa, d-manitol, manosa, sacarosa; el carbono de la arabinosa no es asimilado por el *P. brasiliensis*, pero sí por el *Bl. dermatitidis* y esta asimilación es escasa en el *H. capsulatum* y en el *H. duboisii*; a partir de la galactosa, sólo el *Bl. dermatitidis* asimila bien y el *H. duboisii* lo hace escasamente; a partir del sorbitol, el *Bl. dermatitidis* es la única especie que asimila bien y a partir de la trehalosa no asimila el *P. brasiliensis* pero sí el *Bl. dermatitidis* y escasamente el *H. capsulatum* y el *H. duboisii*. A partir de adonitol, dulcitol, inositol, lactosa, melecitosa, melibiosa, rafinosa, xilosa, salicina y ramnosa, no se ha observado asimilación del carbono por ninguna cepa de las cuatro especies. En el mismo Cuadro N° 1, se encuentra que las cepas del *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* e *H. duboisii*, no fermentan ningún carbohidrato al 2% y 3% en medio agar neopeptona, más bien algunos carbohidratos como la glucosa, levulosa, manosa, sorbitol, estimulan mejor el desarrollo de la fase filamentosa del hongo. Por los resultados obtenidos de la asimilación del carbono, a partir de 20 carbohidratos, puede apreciarse que no existen diferencias significativas entre *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* e *H. duboisii*; pero sí todos poseen caracteres comunes como la capacidad de asimilar el carbono a partir de la glucosa, levulosa, maltosa, d-manitol, manosa,

Cuadro N° 1. Asimilación del carbono y Fermentación del Paracoccidioides Blastomyces e Histoplasma en fase filamentososa.

| CARBOHIDRATO | ASIMILACION<br>en<br>Medio Levadura Nitrogenada |                   |                  |                | FERMENTACION<br>en<br>Medio Neopeptona |                   |                  |                |
|--------------|---|-------------------|------------------|----------------|--|-------------------|------------------|----------------|
|              | Paracocci-<br>doides                            | Blastomy-<br>ces  | Histoplasma.     |                | Paracocci-<br>doides                   | Blastomy-<br>ces  | Histoplasma      |                |
|              | brasili-<br>ensis                               | dermati-<br>tidis | capsula -<br>tum | duboi -<br>sii | brasili-<br>ensis                      | dermati-<br>tidis | capsula -<br>tum | duboi -<br>sii |
| ADONITOL     | -/6 <sup>(*)</sup>                              | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| ARABINOSA    | -/6   | 6/6               | 1/6              | 1/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| DULCITOL     | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| GALACTOSA    | -/6   | 6/6               | -/6              | 1/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| GLUCOSA      | 6/6d  | 6/6d              | 6/6d             | 2/2d           | -/6d                                   | -/6d              | -/6d             | -/2d           |
| INOSITOL     | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| LACTOSA      | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| LEVULOSA     | 6/6d  | 6/6d              | 6/6d             | 2/2d           | -/6d                                   | -/6d              | -/6d             | -/d            |
| MALTOSA      | 3/6   | 6/6               | 5/6              | 2/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| d-MANITOL    | 6/6   | 6/6               | 6/6              | 2/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| MANOSA       | 2/6d  | 6/6d              | 6/6d             | 2/2d           | -/6d                                   | -/6d              | -/6d             | -/6d           |
| MELECITOSA   | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| MELIBIOSA    | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| RAFINOSA     | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| SACAROSA     | 6/6   | 6/6               | 6/6              | 2/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| SORBITOL     | -/6d  | 6/6d              | -/6d             | -/2d           | -/6d                                   | -/6d              | -/6d             | -/2d           |
| XILOSA       | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| SALICINA     | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| TREHALOSA    | -/6   | 6/6               | 3/6              | 1/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |
| RAMNOSA      | -/6   | -/6               | -/6              | -/2            | -/6                                    | -/6               | -/6              | -/2            |

(\*) El numerador, indica el número de cepas que dieron la prueba positiva hasta los 30 días a 25°C y el denominador, el número de cepas estudiadas. En cuadro, las pruebas positivas. Los carbohidratos se emplearon al 2% y 3%.

d: Carbohidratos que estimulan el desarrollo de la fase filamentososa.



sacarosa, y la de no utilizar el carbono a partir del adonitol, dulcitol, inositol, lactosa, melecitosa, melibiosa, rafinosa, xilosa, salicina y ramnosa. No es posible establecer, igualmente, una diferencia entre el *H. capsulatum* y el *H. duboisi*; en cambio, entre el *P. brasiliensis* y el *Bl. dermatitidis*, se observa que sólo este último asimila el carbono de la arabinosa, galactosa, sorbitol y trehalosa. Estos hallazgos comparativos entre las cuatro especies no han sido referidos por autores extranjeros ni nacionales. Gilardi y Laffer, en 1962 (68), estudian la asimilación del carbono en el *P. brasiliensis* y el *Bl. dermatitidis*, utilizando só-

Cuadro Nº 2. Fermentación de carbohidratos en *Neopeptona* por hongos aislados del medio ambiente.

| GRUPOS                              | CARBOHIDRATOS |           |          |           |         |          |         |          |         |        |             |           |          |          |          |          |          |           |
|-------------------------------------|---------------|-----------|----------|-----------|---------|----------|---------|----------|---------|--------|-------------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
|                                     | Adonitol      | Arabinosa | Dulcitol | Galactosa | Glucosa | Inositol | Lactosa | Levulosa | Maltosa | Manosa | Melcitososa | Melibiosa | Rafinosa | Rhamnosa | Sacarosa | Sorbitol | Salicina | Trehalosa |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> (A-6)  | -             | -         | -        | +         | +       | -        | -       | +        | -       | +      | -           | -         | +        | -        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Aspergillus nigricans</i> (A-17) | -             | +         | +        | +         | +       | +        | +       | +        | +       | +      | +           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> (A-11) | -             | +         | -        | +         | +       | -        | -       | +        | +       | +      | -           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Aspergillus oryzae</i> (A-12)    | +             | +         | +        | +         | +       | -        | +       | -        | +       | +      | +           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Alternaria</i> (A-2)             | +             | +         | -        | +         | +       | -        | +       | +        | +       | +      | +           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Cunninghamella</i> (A-16)        | -             | -         | -        | +         | -       | -        | -       | +        | +       | +      | +           | -         | -        | -        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Cladosporium herbarum</i> (A-19) | -             | +         | -        | +         | +       | -        | -       | -        | +       | +      | -           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Fusarium roseum</i> (A-3)        | +             | +         | -        | +         | -       | -        | +       | +        | +       | +      | +           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Glenospora</i> (A-22)            | +             | +         | -        | +         | +       | +        | +       | +        | +       | +      | -           | +         | +        | +        | +        | +        | +        | +         |
| <i>Hormodendrum</i> (A-1)           | -             | -         | -        | +         | -       | +        | +       | -        | +       | +      | -           | -         | -        | -        | +        | -        | -        | -         |
| <i>Penicillium bicolor</i> (A-5)    | +             | +         | -        | +         | +       | +        | +       | +        | +       | +      | +           | +         | +        | +        | +        | -        | -        | +         |
| <i>Penicillium, sp.</i> (AC1-9)     | -             | -         | -        | +         | -       | -        | -       | -        | -       | +      | -           | -         | +        | -        | +        | -        | -        | -         |
| <i>Rhizopus</i> (A-9)               | +             | +         | -        | +         | +       | -        | +       | +        | +       | +      | -           | +         | +        | +        | +        | +        | -        | +         |
| <i>Trichophyton, sp.</i> (A-13)     | +             | +         | +        | +         | -       | -        | +       | +        | +       | +      | -           | +         | +        | +        | +        | -        | -        | -         |

El registro de las reacciones se efectuaron hasta los 15 días de incubación a 25°C.

Los carbohidratos se emplearon al 2% y 3%.

lo la d-gucosa, d-fructosa, d-galactosa, d-manosa y obtienen resultados similares a los nuestros.

En el Cuadro N<sup>o</sup> 2, se muestran los resultados de la fermentación de los carbohidratos al 2% y 3% en medio agar neopeptona, producidos por los hongos filamentosos saprofitos. Se encontró que el *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nigricans*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus oryzae*, *Alternaria*, *Cunninghamella*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium roseum*, *Glenospora*, *Hormodendrum*, *Penicillium bicolor*, *Penicillium* (cepa ACI-9), *Rhizopus* y *Trichophyton* sp., fermentan principalmente galactosa, maltosa, manosa, melibiosa, rafinosa, sacarosa. Puede observarse, a su vez, que hay capacidad fermentativa diferencial entre *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nigricans*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus oryzae*, usando el adonitol, arabinosa, dulcitol, melecitosa. Comparando los resultados de la fermentación de los carbohidratos en neopeptona (Cuadros N<sup>o</sup> 1 y 2), se aprecia que los hongos patógenos *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* e *H. duboisi*, no fermentan ninguno de los 20 carbohidratos, mientras que los grupos de hongos saprofitos poseen esta capacidad en grado elevado y aun selectivo (66). Estos hallazgos de importancia sobre la fisiología de los hongos pueden constituir bases taxonómicas estables. Nuestros resultados sobre la fermentación producida por *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis* y *H. capsulatum*, concuerdan con lo referido por Niño, F. L. (115) aunque este autor no menciona los carbohidratos estudiados. No se señalan estudios sobre la capacidad fermentativa del *Histoplasma duboisi*.

En el Cuadro N<sup>o</sup> 3, se muestran los resultados de la fijación del complemento empleando antígenos y sueros inmunes no absorbidos, preparados en nuestro laboratorio a partir de la fase levaduriforme. Los títulos específicos alcanzan a 1:40 para el *P. brasiliensis* y a 1:160 para *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*. No se observa marcada diferencia en los títulos específicos que corresponden a los tres preparados de antígenos de cada especie (Cuadro N<sup>o</sup> 3: ByC). En las pruebas cruzadas estos títulos alcanzan algo más de 1:20, haciendo reaccionar el antígeno del *P. brasiliensis* con los sueros inmunes del *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*. Se demuestra por la fijación del complemento que *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*, poseen fracciones antigénicas comunes. Por lo que se sabe, es la primera vez que se señala las relaciones antigénicas del *Histoplasma duboisi* con *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis* y *H. capsulatum*.

La escasa antigenicidad de *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis* y *H. capsulatum*, demostrada por diversos autores (18, 20, 27, 28, 41, 47, 51,

| ANTIGENO<br>Diluído 1:20                 |   | S U E R O I M M U N E D I L U I D O : 1 : |    |    |    |                                 |    |    |    |                              |    |    |    |                                      |    |    |    |
|--|---|---|----|----|----|---------------------------------|----|----|----|------------------------------|----|----|----|--------------------------------------|----|----|----|
|  |   | P. brasiliensis<br>Fb-P13-Bonn            |    |    |    | Bl. dermatitidis<br>Bd-P14-Bonn |    |    |    | H. capsulatum<br>Hc-P18-Bonn |    |    |    | Histoplasma duboisii<br>Hd-P183-Bonn |    |    |    |
|  |   | 10  | 20 | 40 | 80 | 10                              | 20 | 40 | 80 | 10                           | 20 | 40 | 80 | 10                                   | 20 | 40 | 80 |
| P. brasiliensis<br>Fb-P13-Bonn           | A | 4+  | 4+ | 3+ | -  | 4+                              | 3+ | 2+ | -  | 4+                           | 4+ | -  | -  | 4+                                   | 4+ | 2+ | -  |
|  | B | 4+  | 4+ | 3+ | -  | 4+                              | 3+ | -  | -  | 4+                           | 3+ | -  | -  | 4+                                   | 3+ | 1+ | -  |
|  | C | 4+  | 4+ | 3+ | -  | 4+                              | 3+ | -  | -  | 4+                           | 3+ | -  | -  | 4+                                   | 3+ | 1+ | -  |
| Bl. dermatitidis<br>Bd-P14-Bonn<br>(1)   | A | 3+  | 3+ | 2+ | -  | 4+                              | 4+ | 4+ | 4+ | 4+                           | 4+ | 1+ | -  | 4+                                   | 3+ | 2+ | -  |
|  | B | 3+  | 3+ | -  | -  | 4+                              | 4+ | 4+ | 2+ | 4+                           | 3+ | 2+ | -  | 4+                                   | 3+ | 2+ | -  |
|  | C | 3+  | 3+ | -  | -  | 4+                              | 4+ | 4+ | 3+ | 4+                           | 4+ | 3+ | 1+ | 4+                                   | 3+ | 2+ | -  |
| H. capsulatum<br>Hc-P18-Bonn<br>(1)      | A | 4+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | 1+ | 4+                           | 4+ | 4+ | 4+ | 4+                                   | 3+ | 2+ | -  |
|  | B | 4+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | 1+ | 4+                           | 4+ | 3+ | 3+ | 4+                                   | 3+ | 2+ | -  |
|  | C | 4+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | -  | 4+                           | 4+ | 4+ | 4+ | 4+                                   | 3+ | 3+ | -  |
| Histoplasma du<br>boisii<br>Hd-P183-Bonn | A | 3+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | -  | 4+                           | 3+ | 2+ | -  | 4+                                   | 4+ | 4+ | 3+ |
|  | B | 3+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | -  | 4+                           | 3+ | 2+ | -  | 4+                                   | 4+ | 4+ | 1+ |
|  | C | 3+  | 3+ | 1+ | -  | 4+                              | 4+ | 3+ | -  | 4+                           | 3+ | 2+ | -  | 4+                                   | 4+ | 4+ | 2+ |

(1) : Títulos + 1:160 con sueros patrones del Inst. Higiene, Bonn.

A : Suspensión celular; B: Filtrado celular; C: Extracto celular

4+ : De 0 a 20% de hemólisis; 3+ : De 20-40% de hemólisis; 2+ : De 40-60% de hemólisis

78, 79, 97, 132, 135, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 149, 150, 156), fué observada durante nuestros trabajos experimentales de inmunización. En estas condiciones se encontró que el *H. duboisii* también produce anticuerpos a títulos bajos (Cuadro N° 3). Las razones de esta escasa antigenicidad no son bien conocidas, pero se sabe que los fosfolípidos y polisacáridos de la membrana que rodea las células fúngicas (19, 35, 47, 148, 155) impedirían la difusión de las fracciones más antigénicas situadas en el interior de la célula, por lo cual ensayamos la decapsulación de éstas por el método de congelación y descongelación sucesiva, sin haber obtenido aumento de la sensibilidad y especificidad en las reacciones antígeno-anticuerpo (Cuadro N° 3 y 4). Seeliger (148), encontró escasa antigenicidad en las especies no patógenas de los géneros *Cryptococcus* y *Lipomyces* de cápsula delgada y en especies no capsuladas como las de los géneros *Candida* y *Trichosporum*, demostrando así que tampoco la decapsulación es un método ideal en la preparación de antígenos con células de tal naturaleza química. No obstante las dificultades mencionadas, logramos obtener antígenos y sueros inmunes de las cuatro especies con títulos útiles para el estudio de las reacciones cruzadas.

La enorme importancia clínica y epidemiológica de las micosis profundas ha hecho que el estudio etiológico se base no sólo en la morfología clásica sino también en la investigación de anticuerpos específicos, mediante la aglutinación (37, 51, 141, 144, 148), la precipitación (51, 58, 72, 73, 80, 85, 138, 140), la fijación del complemento (6, 18, 20, 62, 78, 86, 101, 121, 132, 140, 142, 145, 148, 150, 156) y la inmunofluorescencia (71, 126). De estas reacciones, la fijación del complemento y la precipitación en agar, sirvieron para demostrar los anticuerpos con mayor sensibilidad y precisión (146). Ha sido de especial interés para los investigadores la preparación de antígenos de calidad en relación con los tipos de reacciones serológicas empleadas, ya sea a partir de la fase filamentosa (18, 51, 58, 74, 148) como a partir de la fase levaduriforme, cuando ésta se logró cultivar "in vitro" (24, 25, 42, 43, 46, 90, 133, 134, 139).

La presencia de fracciones antigénicas comunes entre las especies dimórficas fue señalada sólo como un problema vinculado con el diagnóstico de las micosis, mediante reacciones alérgicas cutáneas primero y después empleando reacciones serológicas. Emmons, Olson y Eldridge, en 1945 (55), habían demostrado la presencia de reacciones cutáneas a la histoplasmina en animales infectados experimentalmente con *H. capsulatum*, *B. dermatitidis*, *Coccidioides immitis*. Howell, en 1947

(84), encontró reacción cruzada entre la histoplasmina y la blastomicina, haciendo pruebas cutáneas en cuyes infectados con *H. capsulatum* y *Bl. dermatitidis*. Salvin, en 1947 (132), recomendó el uso de la suspensión celular del *H. capsulatum* en fase levaduriforme como antígeno para la fijación del complemento. Saslaw y Campbell, en 1948 (142), empleando la fijación del complemento y suero de conejo hiperinmunizado con antígenos calentados a 56°C por 4 horas, encontró reacciones cruzadas entre el antígeno de la fase levaduriforme del *H. capsulatum* y el suero inmune del *Bl. dermatitidis*, sobre todo, entre el antígeno de la fase levaduriforme del *Bl. dermatitidis* y el suero inmune del *H. capsulatum*. Tenenberg y Howell, en 1948 (156), demuestran que tanto la histoplasmina como la blastomicina producían reacciones cruzadas con la fijación del complemento, en presencia de sueros de animales infectados experimentalmente con *Bl. dermatitidis*. Campbell y Binkley, en 1953 (27), estudian los sueros de 37 casos de histoplasmosis con etiología probada y obtenidos en todas las etapas de la enfermedad y hallan reacciones cruzadas con el antígeno del *Bl. dermatitidis*. Hazen y Greene, en 1956 (78), obtienen reacciones cruzadas a igual título con sueros provenientes de casos humanos de histoplasmosis y blastomycosis norteamericana. Salfelder y Schwarz, en 1964 (130), encuentran que se produce reacción cruzada con el *Bl. dermatitidis* cuando el ratón se infecta con dosis subletal de *H. capsulatum* y, asimismo, observaron cierta protección tisular. Estos resultados sobre las relaciones antigénicas entre el *H. capsulatum* y el *Bl. dermatitidis*, usando la fijación del complemento, confirman nuestros hallazgos experimentales.

En lo referente a la serología de la Paracoccidioidomicosis, Moses en 1916 (110), había ya empleado la fijación del complemento con resultados positivos en 8 casos de 10 pacientes. Lacaz (87), encontró con frecuencia anticuerpos fijadores del complemento en todos los casos severos de esta enfermedad. Friedmann y Conani, en 1953 (61), haciendo estudios comparativos sobre la serología del *Bl. dermatitidis* y del *P. brasiliensis*, encuentran que no existe ninguna relación antigénica; sin embargo, nosotros obtuvimos mediante la fijación del complemento reacciones cruzadas significativas entre ambas especies y a títulos de 1:20, con antígenos de la fase levaduriforme (Cuadro N° 3).

En el Cuadro N° 4, se señalan los resultados de las reacciones de precipitación en agar, según Ouchterlony, empleando sueros inmunes y antígenos en suspensión celular, en forma de filtrado celular y como extracto celular. Al igual que en la fijación del complemento, se ob-

Cuadro N° 4. Reacciones de Precipitación cruzada en agar, según Ouchterlony con antígeno y suero inmune de fose le-  
vaturiforme (Gardini Tuesta & Eichhorn)

| SUERO INMUNE<br>(no diluído)          | A N T I G E N O , no diluído       |   |   |                                 |    |    |                              |    |    |                            |   |   |    |    |    |
|---------------------------------------|------------------------------------|---|---|---------------------------------|----|----|------------------------------|----|----|----------------------------|---|---|----|----|----|
|                                       | P. brasiliensis<br>Pb-Pl5-Bonn (1) |   |   | Bl. dermatitidis<br>Bd-Pl4-Bonn |    |    | H. capsulatum<br>Hc-Pl8-Bonn |    |    | H. duboisi<br>Hd-Pl83-Bonn |   |   |    |    |    |
|                                       | A                                  | B | C | A                               | B  | C  | A                            | B  | C  | A                          | B | C |    |    |    |
| P. brasiliensis<br>Pb-Pl5-Bonn<br>(1) | +                                  | + | + |                                 |    |    | +                            | +  | +  |                            |   |   |    |    |    |
| Bl. dermatitidis<br>Bd-Pl4-Bonn       |                                    |   |   | ++                              | ++ | ++ |                              |    |    | +                          | + | + |    |    |    |
| H. capsulatum<br>Hc-Pl8-Bonn          |                                    |   |   |                                 |    |    | ++                           | ++ | ++ |                            |   |   | +  | +  | +  |
| H. duboisi<br>Hd-Pl83-Bonn            |                                    |   |   |                                 |    |    |                              |    |    | +                          | + | + | ++ | ++ | ++ |

(1) : Antígeno y Antisuero 20 veces concentrado

A : Suspensión celular; B: Filtrado celular; C: Extracto celular

Cuadro Nº 5. Fotografías de las reacciones de precipitación cruzada en agar, empleando sueros inmunes y antígenos de fase levaduriforme.

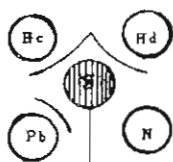


Fig. 1.- Reacción cruzada con suero H. dermatitidis.

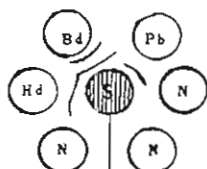
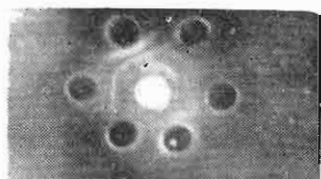


Fig. 2.- Reacción cruzada con suero de H. capsulatum.

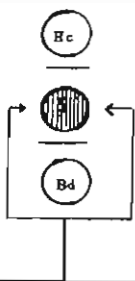
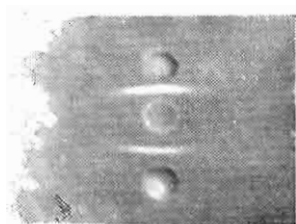


Fig. 3.- Reacción cruzada con suero de H. duboisii.

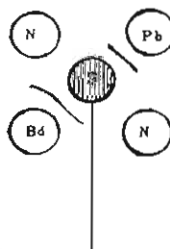
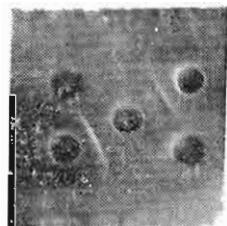


Fig. 4.- Reacción cruzada con suero de H. doboisi.

S: Suero inmune; N: Suero fisiológico.

Hc: Antígeno H. capsulatum; Hd: Antígeno H. duboisii; Pb: Antígeno P. brasiliensis;

Bd: Antígeno B. dermatitidis.

serva una correspondencia de los sueros inmunes con sus antígenos respectivos y por otra parte presencia de fracciones antigénicas comunes entre *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum*, *H. duboisi*. En el Cuadro N° 5, se muestran las fotografías de algunas reacciones cruzadas correspondientes al Cuadro N° 4; se observa en la Fig. 1, la precipitación del suero *Bl. dermatitidis* con los antígenos de *P. brasiliensis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*; en la Fig. 2, la precipitación del suero de *H. capsulatum* con los antígenos de *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis* y *H. duboisi*; en la Fig. 3, la precipitación del suero *H. duboisi* con el antígeno *Bl. dermatitidis* y *H. capsulatum* y en la Fig. 4, la precipitación del suero *H. duboisi* con el *P. brasiliensis* y el *Bl. dermatitidis*. Puede apreciarse en la Fig. 2, la formación de una doble banda de precipitación al reaccionar el suero de *H. capsulatum* con el antígeno *Bl. dermatitidis*, relacionada al parecer con la presencia de otras fracciones antigénicas. Por los hallazgos referidos en los Cuadros N° 4 y N° 5, se deduce que nuestras investigaciones complementan el valor del método de precipitación en agar de Ouchterlony aplicado por nosotros y en forma aislada por otros autores (80, 117, 118, 165); y amplían el conocimiento sobre las relaciones antigénicas no sólo entre el *H. capsulatum* y el *Bl. dermatitidis* sino también entre el *P. brasiliensis* y el *H. duboisi*. Debido a los títulos bajos de nuestros antígenos y sueros inmunes no fue posible encontrar en nuestros experimentos la presencia de las diferentes bandas de precipitación señaladas por Heiner en 1958 (80), al hacer el estudio de sueros provenientes de casos de histoplasmosis; sólo se produjo una doble banda con el suero de *Histoplasma capsulatum* y el antígeno de *Bl. dermatitidis* sin haberse determinado su naturaleza química.

## CONCLUSIONES

Se estudia las relaciones biológicas entre *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* e *Histoplasma duboisi*, mediante la asimilación del carbono, la fermentación de los carbohidratos y las reacciones serológicas, para establecer bases taxonómicas más constantes en la identificación y reagrupación de estas especies.

1. Por los resultados obtenidos de la asimilación del carbono a partir de 20 carbohidratos, puede apreciarse que no existen diferencias entre *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*; todos asimilan el carbono a partir de la glucosa, levulosa, maltosa, d-manitol,



manosa, sacarosa, pero no a partir de adonitol, dulcitol, inositol, lactosa, melecitosa, melibiosa, rafinosa, xilosa, salicina y ramnosa. No es posible, establecer, una diferencia entre las dos especies de *Histoplasma*; en cambio, entre el *P. brasiliensis* y el *Bl. dermatitidis*, se observa que sólo este último asimila el carbono de la arabinosa, galactosa, sorbitol y trehalosa.

2. Comparando los resultados de la fermentación de los carbohidratos en neopeptona, se aprecia que los hongos patógenos: *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*, no fermentan ninguno de los 20 carbohidratos, mientras que, los grupos de hongos sa-profitos estudiados poseen esta capacidad en grado elevado y aun selectivo.

3. Se establece por la fijación del complemento que el *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* y *H. duboisi*, poseen fracciones antigénicas comunes, demostrando así, por primera vez, las relaciones del *Histoplasma duboisi* con los demás hongos patógenos.

4. Por los hallazgos de las reacciones de precipitación en agar, según Ouchterlony, se observa como en la fijación del complemento, una correspondencia de los sueros inmunes con sus antígenos respectivos y presencia de fracciones antigénicas comunes entre el *P. brasiliensis*, *Bl. dermatitidis*, *H. capsulatum* e *H. duboisi*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abernathy, R. S. y Heiner, D. C.: Precipitin reactions in agar in North American Blastomycosis. *J. Lab. clin. Med.*, 57:604-611. 1961.
2. Ajello, L. y Runyon, L. C.: Infection of mice with single spores of *Histoplasma capsulatum*. *J. Bact.*, 66:34-40. 1953.
3. Ajello, L.: Occurrence of *Histoplasma capsulatum* and other human pathogenic molds in Panamanian soil. *Amér. J. trop. Med. Hyg.*, 3:897-904. 1954.
4. Ajello, L.: Subcutaneous and systemic mycosis. A survey of their global distribution. *World Atlas of Epidemic Diseases*. Falk-Verlag. Hamburg. III:133-134. 1958.
5. Ajello, L.: Geographic Distribution of *Histoplasma capsulatum*. *Mykosen*. 1:147-155. 1958.
6. Ajello, L.; Walls, K.; Moore, Jane y Falcone, R.: Rapid production of complement fixation antigens for systemic mycotic diseases. *J. Bact.*, 77:753-756. 1959.
7. Ajello, L.; Briceño-Maaz, T.; Campins, H. y Moore, Jane: Isolation of *Histoplasma capsulatum* from an oil bird (*Steatornis caripensis*) cave in Venezuela. *Mycopathologia (Den Haag)*, 12:199-206. 1960.

8. Ajello, L.; Manson-Bahr, P. E. C. y Moore, Jane: Amboni caves, Tanganyika, a new endemic area [for *Histoplasma capsulatum*. Amer. J. trop. Med. Hyg., 9:633-638. 1960.
9. Ajello, L.; Lazarus, A. S.; Cornejo, A. y Moore, J. C.: Studies on the occurrence of *Histoplasma capsulatum* in Perú. Sabouraudia, 1:83-86. 1961.
10. Al-Doory, Y.: Free lipids and phospholipid phosphorus of *Histoplasma capsulatum* and other pathogenic fungi. J. Bact. 80:565-566. 1960.
11. Almeida, F. P.: Estudos comparativos do granuloma coccidióidico nos Estados Unidos e no Brasil. Novo gênero para o parasito brasileiro. An. Fac. Med. S. Paulo., 5: 125. 1930.
12. Arellano, R. C.; Bouroncle, A.; Gálvez Brandon, J. y Orihuela, F.: Consideraciones sobre la sensibilidad cutánea a la histoplasmina y a la coccidioidina. Bol. Ass. Med. Hosp. Sanat. Nº 1, 1:36. 1953.
13. Arellano, R. C.; Quiroz, M. y Gálvez, B. J.: Reactores a la histoplasmina en la Merced y en San Román, Bol. Cat. Tisiol. (Lima), 2:1. 1955.
14. Arellano, R. C. y Gálvez Brandon, J.: El agente etiológico de la fiebre de "Tingo María". An. Fac. Med. (Lima), 38:1092-1098. 1955.
15. Arellano, R. C.: *Histoplasma capsulatum*. Rev. Vier. Méd. (Lima), 7:29-42. 1956.
16. Baldo, J. I.; Campins, H. y Ayala Paez, C.: Histoplasmosis en Venezuela. Mycopathologia (Den Haag), 15: 177-216. 1961.
17. Ball, O. G.; Lummus, F. L.; Sigrest, M. L.; Busey, J. F. y Allison, F., Jr.: An immunologic survey for systemic fungus infections in General Hospital patients of central Mississippi. Amer. J. Hyg., 72: 231-243. 1960.
18. Binkley, G. E. y Campbell, C. C.: A further evaluation of histoplasmin and yeast phase antigen of *Histoplasma capsulatum* in the complement fixation test. J. Lab. clin. Med., 48: 255-263. 1956.
19. Bishop, C. T.; Blank, F. y Gardner, P. E.: The cell wall polysaccharides of *Candida albicans*: glucan, mannan and chitin. Can. J. Chem. 38:869-881. 1960.
20. Brown, R.; Hazen, E. L. y Greene, C. H.: Fungal antigens for complement fixation tests *Histoplasma capsulatum*. New York State Department of Health. Annual Report of the División of Laboratories and Research. pág. 45-47. 1958.
21. Bouroncle, A.: Sensibilidad a la histoplasmina en algunas localidades del Perú. An. Fac. Med. (Lima), 38: 1099-1112. 1955.
22. Bouroncle, A.: Epidemiología de la histoplasmosis en el Perú. Rev. Vier. Méd., 7:43-49. 1956.
23. Calderón Oblitas, D.: Intradermoreacciones a la histoplasmina y a la tuberculina en el personal de la Armada Peruana. Tesis Bach., Fac. Med. (Lima). 1957.
24. Campbell, C. C.: Use of Francis glucose cystine blood agar in the isolation and cultivation of *Sporotrichum schenckii*. J. Bact., 50: 233. 1945.

25. Campbell, C. C.: Reverting *Histoplasma capsulatum* to the yeast phase. *J. Bact.*, 54: 263-264. 1947.
26. Campbell, C. C. y Saslaw, S.: Use of mucin in experimental infections of mice with *Histoplasma capsulatum*. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 73: 469-472. 1950.
27. Campbell, C. C. y Binkley, G. E.: Serologic diagnosis with respect to histoplasmosis, coccidioidomycosis and blastomycosis and the problem of cross reactions. *J. Lab. clin. Med.*, 42: 896-906. 1953.
28. Campbell, C. C.: The accuracy of serologic methods in diagnosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 89: 163-177. 1960.
29. Carini, A.: Un caso de blastomicose con localisacã primitiva na mucosa da bõca. *Rev. Soc. cient. S. Paulo*, 3: 120. 1908.
30. Casavilca, A.: La Blastomicosis Sudamericana (*Paracoccidioides brasiliensis*) en el Perú. Presentaci3n de cinco casos nuevos. Revisi3n de todos los casos diagnosticados en el Perú. Tesis Bach., Fac. Med. U. N. San Marcos (Lima). 1955.
31. Catanei, A. y Kervran, P.: Nouvelle mycose humaine observée au Soudan Français. *Arch. Inst. Pasteur Algér.*, 23: 169-172. 1945.
32. Ciferri, R. y Redaelli, P.: *Histoplasma capsulatum* Darling, the agent of "histoplasmosis": systematic position and characteristics. *J. Trop. Med. Hyg.*, 37: 278-280. 1934.
33. Ciferri, R. y Redaelli, P.: *Paracoccidioidaceae*, n. fam. instituida per l'agente del "Granuloma *Paracoccidioides*" (*Paracoccidioides brasiliensis*), *Boll. Inst. sieroter. milan.*, 15: 97. 1936.
34. Ciferri, R. y Radaelli, P.: Histoplasmosis and related diseases in man and animals. Fourth International Congresses on Tropical Medicine and malaria. The Department of State Washington, D. C., 9: 10-18. 1948.
35. Cochrane, V. W.: *Physiology of Fungi*, New York. John Willey & Sons, Inc. London. 1963.
36. Conant, N. F.: A cultural study of the life-cycle of *Histoplasma capsulatum* Darling (1906). *J. Bact.*, 41: 563-578. 1941.
37. Cozad, G. C. y Larsh, H. W.: A capillary tube agglutination test for histoplasmosis. *J. Immunol.* 85: 387-390. 1960.
38. Darling, S. T.: A protozoan general infection producing pseudotubercles in lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymph nodes. *J. A. M. A.*, 46: 1283-1285. 1906.
39. Darling, S. T.: The morphology of the parasite (*Histoplasma capsulatum*) and the lesions of histoplasmosis, a fatal disease of tropical America. *J. exp. Med.*, 11: 515-531. 1909.
40. Da Rocha Lima, H.: Histoplasmosis und epizootische lymphangitis. *Arch. Schiffs. u. Tropenhyg.*, 16: 79-85. 1912.
41. Da Silva Lacaz, C.; Caetano, M.; Rocha Passos Filho; Fava Netto, C. y Baraquet Macarr3n: Contribuç3o para o estudo da "Blastomicose infecc3o. Inqu3rito com a *Paracoccidioides*. Estudo sorol3gico e clinico-radiol3gico dos *Paracoccidioides*-positivos. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. 1: 245-259. 1959.

42. De Monbreun, W. A.: The cultivation and cultural characteristics of Darling's *Histoplasma capsulatum*. Amer. J. Trop. Med. 14: 93-125. 1934.
43. DeMonbreun, W. A.: The dog as a natural host for *Histoplasma capsulatum*. Report of a case of histoplasmosis in this animal. Amer. J. trop. Med., 19: 565-588. 1939.
44. Difco Manual, 9<sup>o</sup> ed., Difco Laboratories, Detroit 1, U. S. A. (Michigan). 1953.
45. Drouhet, E. y Schwarz, J.: Comparative studies with 18 strains of *Histoplasma*. Morphology in tissues and virulence of African and American strains. J. Lab. clin. Med., 47: 128-139. 1956.
46. Drouhet, E. y Schwarz, J.: Croissance et morphogénèse d'*Histoplasma*. I. Etude comparative des phases mycélienne et levure de 18 souches d'*Histoplasma capsulatum* d'origine américaine et africaine Ann. Inst. Pasteur, 90: 144-161. 1956.
47. Drouhet, E. y Segretain, G.: Les phénomènes d'immunité dans les mycoses. Path. Biol., 8: 289-296. 1960.
48. Dubois, A.; Janssens, P. G. y Brutsaert, P.: Un cas d'histoplasmose africaine, avec une note mycologique sur *Histoplasma duboisii*, n. sp., par Vanbreuseghem. Ann. Soc. belge Méd. trop., 32: 569-584. 1952.
49. Dubois, A. y Vanbreuseghem, R.: L'histoplasmose africaine. Bull. Acad. roy. Méd. Belg., 17: 551-564. 1952.
50. Dubois, A. y Vanbreuseghem, R.: Inoculation au hamster, *Cricetus auratus*, des cultures d'*histoplasma duboisii* Vanbreuseghem 1952. Ann. Soc. belge Méd. trop., 33: 383-388. 1953.
51. Dulaney, A. D.: Immunologic studies in Blastomycosis. J. Immunol., 19: 357-370. 1930.
52. Edwards, G. A.; Edwards, Mercedes y Hazen, E. L.: Electron microscopic study of *Histoplasma* in mouse spleen. J. Bact., 77: 429-438. 1959.
53. Edwards, P. Q.; Ajello, L.: Moore, Jane; Jacobs, C. F. y Aronson, D. L.: Soil sampling in an urban focus of histoplasmin sensitivity Amer. Rev., 81: 747-751. 1960.
54. Emmons, C. W.: Fungus nuclei in the diagnosis of mycosis. Micologia, 51: 227-236. 1959.
55. Emmons, C. W.; Olson, B. J. y Eldridge, W. W.: Studies of the role of fungi in pulmonary diseases. I. Cross reactions of histoplasmin, Publ. Hlth. Rep., 60: 1383-1394. 1945.
56. Emmons, C. W.: Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil in Washington, D. C. Publ. Hlth Rep., 76: 591-595. 1961.
57. Escudero, J.; Urteaga, O.; Acosta, R.; Rosell, V.; Romero, O. y Herrera, R.: Blastomycosis bilateral caseosa de las suprarrenales con cuadro de insuficiencia glandular. Arch. peru. Pat. clin. (Lima), 11: 1-21. 1957.
58. Fava Netto, C.; Guimaraes Ferri, R. y Da Silva Lacaz, C.: Proteínograma e algumas "Provas da fase aguda do soro" na Blastomicose Sul-Americana. Estudo comparativo com as reações de fixação

- do complemento e de precipitação. Rev. Rio de Janeiro, Med. Cirurgia, Farmacia. Nº 277. 1959 (Cit. 87).
59. Fonseca Filho, O. y Leao, A. E. A.: Sur le granulome coccidioidal. Formes d'évolution du parasite dans le tissu, dans le pus des ganglions lymphatiques et dans les cultures. Position systematique du Coccidioides immitis. Compt. rend. Soc. biol., 98: 619, 1928. (Cit. 87)
  60. Fonseca Filho, O.: Estudo clinico e patológico do granuloma coccidioidico. Rev. med. cir. Brasil, 37: 121, 1929 (Cit. 87).
  61. Friedmann, L. y Conant, N. F.: Immunologic studies on the etiologic agents of North and South American blastomycosis. II. Comparison of serologic reactions. Mycopathologia (Den Haag), 6: 317-324. 1953.
  62. Furcolow, M. L.; Bunnell, I. L. y Tenenberg, D. J.: A complement fixation test for histoplasmosis. II. Preliminary results with human sera. Publ. Hlth Rep., 63: 169-173. 1948
  63. Gálvez Brandon, J.: Algunos aspectos de la inmunidad en histoplasmosis. Rev. Vier. Med. (Lima), 7: 14-28. 1956.
  64. Garayar Ferreira, L.: Algunas consideraciones sobre histoplasmosis. Tesis Bach. Fac. Med. U.N.M. San Marcos (Lima), 1957.
  65. García Rosell, O.: La fiebre de Tingo María. Histoplasmosis. An. Fac. Med. (Lima), 38: 1083-1091. 1955.
  66. Gardini Tuesta, W. E.; Valles, C. R. y Velásquez, J. H.: Afinidades fisiológicas en algunos hongos filamentosos del medio ambiente. I. Estudio preliminar. Primer Congreso Nacional de Microbiol. y Parasitol., Fac. Med., U.N. San Agustín (Arequipa). Oct. 1964.
  67. Garrison, R. G.: Studies of the respiratory activity of *Histoplasma capsulatum*. I. Aspects of the aerobic metabolism of the yeasts phase. J. Infect. Dis., 108: 120-124. 1961.
  68. Gilardi, G. L. y Laffer, N. C.: Nutritional studies on the yeast phase of *Blastomyces dermatitidis* and *Blastomyces brasiliensis*. J. Bact. 83: 219-227. 1962.
  69. Gilchrist, T. C.: A case Blastomycetic dermatitidis in man. Johns Hopk. Hosp. Rep., 1: 269. 1896.
  70. Gilchrist, T. C. y Stokes, W. R.: A case of pseudo-lupus vulgaris caused by a Blastomyces. J. exp. Med., 3: 53-78. 1898.
  71. Gordon, M. A.: Fluorescent staining of *Histoplasma capsulatum*. J. Bact. 77: 678-681. 1959.
  72. Gordon, M. A.; Greene, C. H. y Elliot, J. C.: Gel precipitin test. Annual Report of the Division of Laboratories and Research. Pag. 110-112. 1960.
  73. Greene, C. H. y Gordon, M. A.: Gel precipitin test for histoplasmosis. Division of Laboratories and Research. New York State Department of Health. Albany, pag. 39-40. 1959.
  74. Greene, C. H.; De Lalla, L. S. y Tompkins, V. N.: Separation of specific antigen of *Histoplasma capsulatum* by ion-exchange chromatography. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 105: 140-141. 1960.
  75. Guidry, D. J.; Bujard, A. J.: Comparison of the pathogenicity of the yeast and mycelial phases of *Blastomyces dermatitidis*. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 319-326. 1964.

76. Haberfeld, W.: Granuloma ganglionar maligno de origen "blastomycética" (monografía). Sección de obras "O Estado de São Paulo". 1919.
77. Hansmann, G. H. y Schenken, J. R.: A unique infection in man caused by a new yeast-like organism, a pathogenic member of the genus *Sepedonium*. *Amer. J. Path.*, 10: 731-738. 1934.
78. Hazen, E. L. y Greene, C. H.: Quantitative complement-fixation test for evidence of Histoplasmosis and Blastomycosis. Annual Report of the Division of Laboratories and Research. New York State Department of Health, Albany. 1956.
79. Hazen, E. L. y Greene, C. H.: Serologic test for histoplasmosis and blastomycosis. Annual Report of the Division of Laboratories and Research, New York State Department of Health. Albany, pág. 97-99. 1958.
80. Heiner, D. C.: Diagnosis of histoplasmosis using precipitin reactions in agar gel. *Pediatrics*, 22: 616-627. 1958.
81. Howard, D. H. y Herndon, R. L.: Tissue cultures of mouse peritoneal exudates inoculated with Blastomycosis dermatitidis. *J. Bact.* 80: 522-527. 1960.
82. Howard, W. L.: Natural and experimental epidemiology of histoplasmosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 89: 78-90. 1960.
83. Howell, A., Jr.: Studies on *Histoplasma capsulatum* and similar form species. I. Morphology and development. *Mycologia*, 31: 191-216. 1939.
84. Howell, A.: Studies of fungus antigens. I. Quantitative studies of cross-reactions between histoplasmin and blastomycin in guinea pigs. *Publ. Hlth. Rep.*, 62: 631-651. 1947.
85. Kaufman, L., Brandt, B. y McLaughlin, D.: Evaluation of the fluorescent antibody and agar precipitin tests for detecting *Histoplasma capsulatum* antibodies in anticomplementary sera. *Amer. J. Hyg.*, 79: 181-185. 1964.
86. Knigh, R. A. y Marcus, S.: Polysaccharide skin test antigens derived from *Histoplasma capsulatum* and *Blastomyces dermatitidis*. *Amer. Rev. Tuberc.*, 77: 983-989. 1958.
87. Lacaz, C. S.: South American Blastomycosis. *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 29: 1-120. 1955-1956.
88. Lazarus, A. S. y Ajello L.: Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* del suelo de una cueva en el Perú. *Rev. Méd. exp.*, 9: 5-15. 1955.
89. Levaditi, J.; Drouhet, E.; Segretain, G. y Mariat, F.: Sur le caractère histiocytaire de l'histoplasmosis a petites formes et le caractère gigante-cellulaire de l'histoplasmosis a grandes formes. *Ann. Inst. Pasteur*, 96: 659-668. 1959.
90. Levine, S. y Ordazal, Z. L.: Factors influencing the morphology of *Blastomyces dermatitidis*. *J. Bact.*, 52: 687-696. 1946.
91. Levine, S. y Novak, M.: The effect of fatty acids on the oxygen uptake of *Blastomyces dermatitidis*. *J. Bact.*, 57: 93-94. 1949.
92. Lozada Benavente, S.: La reacción de la tuberculina en la Blastomycosis. *Crón. méd. (Lima)*, 36: 389-390. 1919.

93. Lozada Benavente, S.: Contribución al estudio de la Blastomicosis. An. Fac. Med. (Lima), 6: 109-121. 1920.
94. Lozada Benavente, S.: Contribución al estudio de la Blastomicosis. Consideraciones etiopatogénicas. An. Fac. Med. (Lima), 6: 232-249. 1920.
95. Lutz, A.: Uma micose pseudococcidica localisada na bocca e observada no Brasil. Contribuição de conhecimento das hyfoblastomycoses americanas. Brasil-méd., 22: 121-141. 1908.
96. Manych, J.: Results of testing with histoplasmin, coccidioidin, blastomycetin and paracoccidioidin in Czechoslovak tuberculosis Sanatoria. J. Hyg. Epidem. (Praha), 7: 495-500. 1963.
97. Marcus, S.: Antigens of Blastomyces. Ann. N.Y. Acad. Sci., 89: 193-201. 1960.
98. Mariat, F. y Segretain, G.: Etude mycologique d'une histoplasmose spontanée du singe africain (*Cynocephalus babuin*). Ann. Inst. Pasteur, 91: 874-891. 1956.
99. Mariat, F. y Gardini Tuesta, W. E.: Pouvoir pathogène expérimental d'une souche d' *Histoplasma capsulatum* isolée du singe africain. Ann. Inst. Pasteur, 96: 669-679. 1959.
100. Mayer, M. M.; Osler, A. G.; Bier, O. G. y Heidelberg, M.; The activating effect of magnesium and other cations on the hemolytic function of complement. J. exp. Méd., 84: 535-548. 1946.
101. McDearman, S. C. y Young, J. M.: The development of positive serologic tests with *Histoplasma capsulatum* antigens following single histoplasmin skin tests. Amer. J. clin. Path., 34: 434-438. 1960.
102. Medina Vigil, J.: La histoplasmosis en Tingo María. Estudio clínico, radiológico, inmunológico y epidemiológico. Tesis Bach., Fac. Med., U.N.M.S. Marcos (Lima), 1959.
103. Menges, R. W.: Blastomycosis in animals. A review of an analysis of 116 canine cases. Vet. Med., 55: 45-54. 1960.
104. Mochi, A. y Edwards, P. Q.: Geographical distribution of histoplasmosis and histoplasmin sensitivity. Bull. World. Health. Org. 5: 259-291. 1952.
105. Monge, C.: La fiebre de Tingo María. An. Fac. Med. (Lima), 38: 1080-1082. 1955.
106. Moore, M.: A new species of the *Paracoccidioides* Almeida (1930); *P. cerebriformis* Moore (1935). Rev. biol. hig., 6: 148. 1935.
107. Moore, M.: *Posadasia pyriformis* and *P. capsulata* two causative organisms of Darling's histoplasmosis in the United States. Ann. Missouri Botan. Garden, 22: 335-361. 1935.
108. Moore, M.: Blastomycosis, coccidioidal granuloma and paracoccidioidal granuloma. Comparative study of North American, South American and European organisms and clinical types. Arch. Derm. Syph. 38: 163. 1938.
109. Morales, J. y Romero, O.: Cinco nuevos casos de Blastomicosis Sudamericana diagnosticados en Lima. Arch. peru. Pat. Clin., 9: 1-22. 1955.

110. Moses, A.: Fixação de complemento na blastomicose. Mem. Inst. Osw. Cruz, 8: 68-70. 1916.
111. Negroni, P.: Estudio micológico del primer caso Sudamericano de histoplasmosis. Rev. Inst. Bact. (D.N.H.), 9: 239-294. 1940.
112. Negroni, P.: Un nuevo caso de histoplasmosis. Estudio micológico y terapéutico. Rev. argen. dermatosif., 30: 212-219. 1946.
113. Negroni, P. y Briz de Negroni, C.: Estudio micológico de dos hongos similares al *Histoplasma capsulatum* Rev. Inst. Malbran, 16: 157-164. 1954.
114. Nicho, A.: Contribución al estudio de la micosis profunda en el Perú. Tesis Bach., Fac. Med. U. N. M. S. Marcos (Lima). 1948.
115. Niño, F. L.: Lecciones de Micología y Micopatología Médica. Editorial Cajica S.A., Buenos Aires. 1960.
116. Núñez Torres, A.: Reactividad a la histoplasmina en Pucallpa. Tesis Bach., Fac. Med. U. N. M. S. Marcos (Lima), 1956.
117. Ouchterlony, O.: Antigen-antibody reactions in gel. Acta path. microbiol scand., 26: 507. 1949.
118. Ouchterlony, O.: Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in co-ordinated systems of diffusion. Acta path. microbiol. scand., 32: 231. 1953.
119. Paccini Virhuez, J.: Consideraciones sobre la Blastomicosis Sudamericana en nuestro medio. Tesis Bach., Fac. Med., U. N. M. San Marcos (Lima). 1955.
120. Peck, R. L. y Hauser, C. R.: Chemical studies of certain pathogenic fungi. I. The lipids of *Blastomyces dermatitidis*. J. Amer. Chem. Soc., 60: 2599-2603. 1938.
121. Peck, R. L.; Martin, D. S. y Hauser, C. R.: Polysaccharides of *Blastomyces dermatitidis*. J. Immunol., 38: 449-455. 1940.
122. Pesce, H.: Micosis profundas. Curso de Medicina Tropical. Fac. Med. U.N.M. San Marcos (Lima). 1955.
123. Pine, L.: Morphological and Physiological characteristics of *Histoplasma capsulatum*. Charles C. Thomas-Publishers. Springfield. Illinois. 1960.
124. Pine, L.; Drouhet, E. y Reynolds, Gladys: A comparative morphological study of the yeast phases of *Histoplasma capsulatum* and *Histoplasma duboisii*. Sabouraudia, 3: 211-224. 1964.
125. Príncipe, A.; Convit, J. y Pifano, F.: Resultados de las encuestas epidemiológicas sobre histoplasmosis, coccidioidomicosis y tuberculosis, realizadas en Venezuela. Mycopathologia (Den Haag), 15: 10-52. 1961.
126. Procknow, J. J.; Connelly, P. A. y Ray, G. C.: Fluorescent antibody technique in histoplasmosis as applied to the pathogenesis of experimental infection in the mouse. Arch. Path., 73: 313-324. 1962.
127. Rodríguez, C.; Rincon, N. L. y Troconis García, G.: Contribución al estudio de la Paracoccidioidomicosis brasiliensis en Venezuela. Consideraciones sobre 62 casos estudiados con especial referencia a las localizaciones respiratorias. Mycopathologia (Den Haag), 15: 115-138. 1961.



128. Romero Rivas, O.: Blastomycosis Sudamericana. Distribución geográfica en el Perú. Arch. peru. Pat. Clin. 15: 107-114. 1961.
129. Salazar, V. R.: Las calcificaciones pulmonares y su relación con la histoplasmosis. Rev. peru. Tubercul. y Enfer. Resp., 17: 41-42. 1957.
130. Salfelder y Schwarz, J.: Cross reactions to *Histoplasma capsulatum* in mice. Sabouraudia, 3: 164-166. 1964.
131. Salvin, S. B.: Cultural studies on the yeastlike phase of *Histoplasma capsulatum* Darling. J. Bact., 54: 655-660. 1947.
132. Salvin, S. B.: Complement fixation studies in experimental histoplasmosis. Proc. Soc. exp. Biol., 66: 342-345. 1947.
133. Salvin, S. B.: Cysteine and related compounds in the growth of the yeastlike-phase of *Histoplasma capsulatum*. J. Infect. Dis., 84: 275-283. 1949.
134. Salvin, S. B.: Phase-determining factors in *Blastomyces dermatitidis*. Mycologia, 41: 311-319. 1949.
135. Salvin, S. B.: The serologic relationship of fungus antigens. J. Lab. clin. Med., 34: 1096-1104. 1949.
136. Salvin, S. B.: Hemobysin from the yeastlike phases of some pathogenic fungi. Proc. Soc. exp. Biol., 76: 852-854. 1951.
137. Salvin, S. B.: Endotoxin in pathogenic fungi. J. Immunol., 69: 89-99. 1952.
138. Salvin, S. B. y Furcolow, M. L.: Precipitins in human histoplasmosis. J. Lab. clin. Med., 43: 259-274. 1954.
139. Salvin, S. B. y Smith, R. F.: Antigens from the yeast phase of *Histoplasma capsulatum*. III. Isolation, properties and activity of a protein-carbohydrate complex. J. infect. Dis., 105: 45-53. 1959.
140. Salvin, S. B.; Weber, R. W.; Lackman, D. B.; Nishio Jane y Menges, Gladys: Influence of repeated *Histoplasmin* skin test on precipitins and complement-fixing antibodies. J. Lab. clin. Med., 44: 56-62. 1954.
141. Saslaw, S. y Campbell, C. C.: A method for demonstrating antibodies in rabbit sera against *histoplasmin* by the collodion agglutination technic. Proc. Soc. exper. Biol. 68: 559-562. 1948.
142. Saslaw, S. y Campbell, C. C.: The use of yeast phase antigens in a complement fixation test for histoplasmosis. I. Preliminary results with rabbit sera. J. Lab. clin. Med., 33: 811-818. 1948.
143. Saslaw, S. y Campbell, C. C.: Serologic studies in histoplasmosis. Amer. J. publ. Hlth., 40: 427-435. 1950.
144. Saslaw, S. y Carlisle, H. N.: *Histoplasmin-latex-agglutination* test. II. Results with human sera. Proc. Soc. exp. Biol. 97: 700-703. 1958.
145. Schubert, J. H. y Ajello, L.: Variation in complement fixation antigenicity of different yeast phase strains of *Histoplasma capsulatum*. J. Lab. clin. Med., 50: 304-307. 1957.
146. Schubert, J. H. y Wiggins, Geraldine: The evaluation of serologic tests for histoplasmosis in relation to the clinical diagnosis. Amer. J. Hyg. 77: 240-249. 1963.
147. Schwarz J. y Drouhet, E.: Morphologic features of an African strain of *Histoplasma* in hamsters and mice. Arch. Path. (Chicago), 64: 409-413. 1957.

148. Seeliger, H. P. R.: *Mykologische Serodiagnostik*. Johann Ambrosius Barth, Verlag, Leipzig. 1958.
149. Smith, D. T.: Immunologic types of Blastomycosis. A report on 40 cases. *Ann. intern. Med.*, 31: 463-469. 1949.
150. Sorensen, Ll. J. y Evans, E. E.: Antigenic fractions specific for *Histoplasma capsulatum* in the complement fixation reaction. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 87: 339-341. 1954.
151. Sotelo, M.; Pesce, H. y Romero, O.: Un nuevo caso de Blastomycosis Blastomycoides (Blastomycosis Sudamericana). *An. Fac. Med. (Lima)*, 43: 469-481. 1960.
152. Splendore, A.: Sôbre um novo caso de blastomycose generalizada. *Rev. Soc. cient. S. Paulo*, 4: 52. 1909.
153. Splendore, A.: Una affezione micotica con localizzazione nella mucosa della bocca osservata in Brasile, determinate da funghi appartenenti alla tribu degli Exiascei *Zymonema brasiliensis* n. sp., Extraído do volume "In onore del Prof. Angelo Celli nel 25", anno di insegnamento", Roma, Tip. Naz. di G. Bertero, E. C. 1912 (Cit. 87).
154. Splendore, A.: Zymonematosi con localizzazione nella cavita della bocca, osservata in Brasile. *Bull. Soc. Path. exot.*, 5: 313. 1912 (Cit. 87).
155. Stacey, M. y Barker, S. A.: *Polysaccharides of Microorganisms*. Oxford University Press, Amen House, London E. C. 4. 1960.
156. Tenenberg, D. J. y Howell, A.: A complement fixation test for histoplasmosis. I. Technic and preliminary results on animal sera. *Publ. Hlth. Rep.*, 63: 163-168. 1948.
157. Vanbreuseghem, R.; Dubois, A.; Brutsaert, P. y Janssens, P. G.: Transmissibilit  au cobaye d' *Histoplasma duboisii* a partir de la forme parasitaire humaine. *Ann. Soc. belge. Med. trop.*, 33: 171-176. 1953.
158. Vanbreuseghem, R.: *Histoplasma duboisii* and african histoplasmosis. *Mycologia*, 45: 803-816. 1953.
159. Vanbreuseghem, R.: Dimorphisme parasitaire et dimorphisme saprophytique de l'*Histoplasma duboisii* Vanbreuseghem 1952. *Congres International de Botanique, Paris*. Julio 1954.
160. Vanbreuseghem, R.: *Histoplasma duboisii* and large forms of *Histoplasma capsulatum*. *Myocologia*, 58: 264-269. 1956.
161. Verano Salinas, P.: Investigaci n epidemiol gica de las infecciones histoplasm sica y tuberculosa en algunas zonas del valle del Santa (Ancash). Tesis Bach., Fac. Med. U. N. M. San Marcos (Lima), 1958.
162. Villa, M.; Perez Lagos, F. y Vargas, R.: Intradermoreacci n a la histoplasmina entre los escolares de Tingo Maria. *Rev. Med. exp. (Lima)*, 10: 3-16. 1956.
163. Weiss, P. y Zavaleta, T.: Sobre un caso de linfogranulomatosis mic sica por *Paracoccidioides brasiliensis*, encontrado en Lima. *Actual. M d. peru. (Lima)*, N  11: 442-453. 1937.
164. Weiss, P. y Flores, L.: Nuevos casos de linfogronulomatosis mic sica, encontrados en Lima. *Rev. M d. exp. (Lima)*, 7: 1-14. 1948.

165. Wilson, M. W. y Pringle, B. H.: Experimental studies of the agar-plate precipitin test of Ouchterlony. *J. Immunol.*, 73: 232-243. 1954.
166. Zeidberg, L. D.; Ajello, L.; Dillon, A. y Runyon, L. C.: Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 42: 930-935. 1952.
167. Zeidberg, L. D. y Ajello, L.: Environmental factors influencing the occurrence of *Histoplasma capsulatum* and *Microsporium gypseum* in soil. *J. Bact.*, 68: 156-159. 1954.