

A propósito del centenario del descubrimiento de la paracoccidiodomicosis. Principales hitos de la evolución de su conocimiento con especial énfasis en las contribuciones científicas nacionales

Dr. Ismael A. Conti Díaz*

Resumen

El año 2008 se cumplió el centenario del descubrimiento de la paracoccidiodomicosis (ex blastomicosis sudamericana), grave micosis de carácter sistémico y esencialmente recidivante que afecta a México, Centro América –con excepción de Nicaragua– y particularmente el continente sudamericano, especialmente a Brasil. Nuestro país forma parte del área endémica de la afección con 77 casos clínicos registrados hasta 1997.

El trabajo lleva a cabo un necesario recordatorio de tal importante descubrimiento así como un análisis actualizado de los posteriores avances científicos, verdaderos hitos, en el conocimiento de los principales aspectos etiológicos, clínico-epidemiológicos, etiopatogénicos y de la relación parásito-hospedero, diagnósticos y terapéuticos de la enfermedad.

Se pone especial énfasis en las contribuciones de la Escuela Uruguaya de Micología Médica, presidida por el profesor Juan E. Mackinnon, en particular aquellas relacionadas con la dilucidación definitiva de la patogenia de la afección hoy unánimemente aceptada y realizada a través de experiencias en animales de laboratorio totalmente originales. Diferentes trabajos nacionales fueron también relevantes, entre otros, en el estudio de características estructurales y biológicas del agente etiológico, en el conocimiento de la epidemiología de la micosis en el país y en la determinación de la relación y efecto de diferentes temperaturas ambientales sobre el curso de la enfermedad experimental en animales de laboratorio.

Palabras clave: PARACOCCIDIOIDOMICOSIS - historia.

Keywords: PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS - history.

* Profesor Director de la Cátedra y Departamento de Parasitología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (1986-1996).

Ex Director Departamento de Laboratorios de Salud Pública, División Epidemiología, Ministerio de Salud Pública (1990-1996).

Correspondencia: Dr. Ismael A. Conti Díaz

Ayacucho 3314, CP 11900. Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: ismaelconti@adinet.com.uy

Recibido: 12/11/09.

Aceptado: 21/12/09.

Introducción

En 2008 se cumplió el centenario del descubrimiento por parte del investigador brasileño Adolfo Lutz (1855-1940) de la paracoccidioidomicosis (ex blastomicosis sudamericana), importante micosis profunda sistémica, propia de México, Centroamérica y especialmente de Sudamérica, en particular de Brasil.

Nos pareció necesario por ello recordar tal notable acontecimiento señalando al mismo tiempo los principales avances científicos que le siguieron, verdaderos hitos del conocimiento global de la enfermedad.

En nuestra revisión pondremos especial énfasis en contribuciones de la Escuela Uruguaya de Micología Médica, presidida por el Prof. Juan E. Mackinnon (1904-1987), en virtud de que algunas de ellas, como la dilucidación experimental de la puerta de entrada habitual del parásito por vía pulmonar, goza hoy día de aceptación universal.

Un reciente magnífico simposio realizado en Medellín, Colombia, a propósito también del centenario, nos facilitará sin duda las consideraciones sobre los más recientes estudios y hallazgos sobre la enfermedad y su agente.

Descubrimiento de la enfermedad

En 1908, Adolfo Lutz, trabajando en el Instituto Bacteriológico de San Pablo, observa en lesiones de la mucosa orofaríngea de dos pacientes, que además presentaban adenopatías cervicales, células micóticas levaduriformes grandes y esféricas de carácter multibrotante, por lo que lo consideró inmediatamente como un hongo desconocido hasta entonces. En efecto, aparecían muy diferentes de las células fúngicas endosporulantes de la coccidioidomicosis, afección descrita en 1892 por Alejandro Posadas Martínez (1870-1902) en Argentina, pero también distintas de las células monobrotantes del agente de la blastomicosis norteamericana o enfermedad de Gilchrist conocida desde 14 años antes. Denominó a la nueva enfermedad *mycose pseudococcídica*⁽¹⁾, logrando cultivar el hongo responsable sobre diversos medios obteniendo a la temperatura del laboratorio la fase miceliana del mismo, comprobando así el dimorfismo del parásito. Por eso mismo creó el término “hifoblastomicosis” para las micosis profundas producidas por agentes dimórficos. Lutz fue también el primero en comparar el aspecto del cultivo micelial del hongo con el pelo del ratón blanco.

En 1912, el microbiólogo italiano Splendore estudió en detalle cultivos del agente etiológico considerándolo un ascomiceto y proponiendo denominarlo *Zimonena brasiliensis*⁽²⁾.

Finalmente, Almeida, en 1930, aclaró definitivamente las diferencias morfológicas de las formas parasitarias del

nuevo hongo al que denominó *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb) con las del agente de la coccidioidomicosis⁽³⁾. Por todas las razones antedichas la enfermedad en cuestión se denomina también enfermedad de Lutz, Splendore, Almeida.

Hitos destacables en la evolución del conocimiento de la enfermedad con particular referencia a aquellas investigaciones originales desarrolladas en Uruguay

Agente etiológico

Como ya fuera especificado, las características morfológicas fundamentales de Pb en su vida parasitaria y en cultivos fueron referidas en principio por los descubridores de la enfermedad.

En 1949, Mackinnon y Vinelli⁽⁴⁾, y luego en 1950, Mackinnon y Gurri⁽⁵⁾ en Uruguay, demostraron por primera vez que la pared celular de Pb era bastante más delgada que la del agente de la blastomicosis norteamericana, *Blastomyces dermatitidis*. Ello permitió establecer que los casos descritos hasta entonces en Sudamérica de esta última enfermedad eran en realidad casos de paracoccidioidomicosis (PCM), incluyendo el primer caso uruguayo, publicado por Talice y Mackinnon en 1933.

En 1951, Neves y Bogliolo⁽⁶⁾ publicaron sus hallazgos sobre conidiación del hongo, hecho confirmado luego por otros autores, e importante para la interpretación de aspectos ecológicos y patogenia de la enfermedad.

Carbonell y colaboradores en trabajos realizados entre 1967 y 1970⁽⁷⁾, así como San Blás y San Blás también en Venezuela⁽⁸⁾, determinaron la variable composición en glucanos y quitina de las fases micelial y levaduriforme del agente, lo que permitió comprender la dinámica de conversión de una fase en la otra, o sea su dimorfismo.

Muchmore y colaboradores en 1971, en oportunidad del primer Encuentro sobre Paracoccidioidomicosis realizado en Medellín, Colombia⁽⁹⁾, publican la acción inhibitoria de los estrógenos sobre la fase levaduriforme del parásito, lo que podría explicar el neto predominio de la enfermedad en el sexo masculino.

En el mismo año, Conti Díaz, Mackinnon y Furcolow⁽¹⁰⁾ comprobaron por vez primera la acción deletérea de la desecación ambiental y de una temperatura de 2° C sobre la viabilidad de la fase micelial de Pb en el laboratorio (ver a este propósito consideraciones ecológicas).

Patogenia. Relación hongo-hospedero

El concepto universal generalizado hasta el año 1970⁽¹¹⁾ y mantenido como posibilidad al menos hasta 1990⁽¹²⁾, era que las lesiones mucocutáneas bucales y peribucales que

habían permitido descubrir la enfermedad y motivo habitual de consulta de los pacientes, eran lesiones primarias consecutivas a microtraumatismos con vegetales portadores del agente etiológico.

En el año 1959, Mackinnon obtiene una PCM generalizada en ratones infectados por vía inhalatoria⁽¹³⁾, resultado corroborado a posteriori por numerosos investigadores y confirmando así su hipótesis pionera, formulada a principios de esa década, de que aquellas lesiones consideradas primarias debían ser seguramente secundarias a una generalización hemática a punto de partida pulmonar luego de infecciones subclínicas muchísimo más frecuentes. Previamente en 1953⁽¹⁴⁾, Mackinnon había confirmado en nuestro país experiencias previas de los profesores brasileños Almeida y Lacaz, publicadas en 1941⁽¹⁵⁾, realizadas con un antígeno del agente denominado por ellos paracoccidioidina; los estudios poblacionales mediante pruebas cutáneas con este antígeno revelaron fehacientemente la existencia de tales formas subclínicas, reiteramos infinitamente más frecuentes que las formas clínicas evolutivas.

Diecisiete años después, o sea en 1976, Restrepo y Guzmán⁽¹⁶⁾, en Colombia, confirmaron la observación prínceps de Mackinnon al instilar ratones con aleuriosporos de la fase micelial de Pb y obtener lesiones pulmonares y generalizadas.

En el año 1959, Conti Díaz y colaboradores⁽¹⁷⁾ lograron reproducir en animales de laboratorio (cobayos y conejos) inoculados por vía intracárdica las lesiones metastásicas mucocutáneas periféricas propias del período de diseminación en el hombre y, como ya fuera expresado, motivo de consulta de los pacientes. La peculiar reiterada localización de las lesiones en los animales inoculados hizo sospechar a Mackinnon una posible relación entre tal localización y las respectivas temperaturas de las regiones afectadas. Nuevas experiencias en cobayos apoyaron plenamente la nueva hipótesis⁽¹⁸⁾ e impulsaron una serie importante de investigaciones de laboratorio de carácter también pioneras sobre el efecto de la temperatura ambiental en otras micosis profundas, como la esporotricosis, histoplasmosis, etcétera, todas ellas resumidas en trabajo de 1968⁽¹⁹⁾.

Digno es de señalar enfáticamente que la hipótesis de Mackinnon, confirmada experimentalmente, tiene al día de hoy aceptación universal.

Numerosos e impactantes estudios de biología molecular vienen siendo realizados en los últimos años. Así, por ejemplo, algunos sobre presencia de genes de virulencia relevantes para la sobrevivencia del agente en el huésped u otros responsables de la transformación de los esporos infectantes en células levaduriformes, hecho fundamental en el proceso de infección del huésped. La inmunosupresión, tan común en la enfermedad clínica, sería

el resultado de múltiples factores que vienen siendo estudiados en la actualidad en diferentes laboratorios⁽²⁰⁾.

Aspectos clínico-epidemiológicos

Según recientes estimaciones, la PCM en sus diversas formas clínicas (pulmonar primaria benigna, pulmonar progresiva aguda o crónica, diseminada, juvenil, etcétera) tiene una prevalencia que varía entre 1 y 3 por 100 mil habitantes en las diversas áreas endémicas. Un trabajo nuestro, publicado en 1979 en el Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, analiza las características clínico-patológicas, epidemiológicas, diagnósticas, terapéuticas y evolutivas de nuestros 48 casos diagnosticados hasta esa fecha⁽²¹⁾. Para 1997, según nuestros apuntes, 77 casos habían sido diagnosticados en el país, la gran mayoría de carácter severo de acuerdo a su seguimiento evolutivo. La gran mayoría de los pacientes proceden del litoral del río Uruguay, tratándose de leñadores de árboles autóctonos⁽²²⁾.

Ciento cincuenta casos de PCM asociados al VIH-sida han sido diagnosticados en Brasil hasta estos momentos, revelándose claramente el carácter oportunista de la enfermedad⁽²³⁾.

Finalmente, los detalles de las pruebas cutáneas con paracoccidioidina y su importancia en la determinación de las áreas endémicas de la infección paracoccidioidica fueron analizados en un trabajo de 1972 publicado por la Organización Panamericana de la Salud⁽²⁴⁾.

Ecología

Paracoccidioides brasiliensis ha sido aislado del suelo por numerosos autores, la primera vez por Albornoz y Albornoz en Venezuela en trabajo bien documentado⁽²⁵⁾, lo que ha llevado a postular que el mismo viviría normalmente en aquél como saprófito. Por nuestra parte, en colaboración con Rilla, publicamos en 1989 una hipótesis sobre el verdadero hábitat del agente proponiendo una estrategia altamente eficiente del mismo. Ella estaría basada en un importante reservorio natural en animales heterotérmicos de agua dulce y a partir de allí una vida transitoria de duración variable en el suelo donde los aleuriosporos tendrían una amplia distribución con capacidad de infectar al hombre y a diversas especies animales⁽²⁶⁾. Si bien la hipótesis no ha sido confirmada hasta el momento, diferentes estudios recientes avalarían su factibilidad⁽²⁷⁾.

Diagnóstico

Los estudios inmunoserológicos detectando anticuerpos específicos a través del uso de antígenos específicos del agente son fundamentales para el diagnóstico, sobre todo

de aquellas formas clínicas sin lesiones cutáneo-mucosas accesibles al examen directo y al cultivo.

En 1955, Fava Netto, en Brasil, empleó por primera vez un antígeno apropiado polisacárido para pruebas serológicas como la fijación del complemento y de precipitinas en tubo⁽²⁸⁾. En 1971, Yarzabal, en nuestro medio, aplicó la inmunoelectroforesis (IEF) para el diagnóstico de la enfermedad, encontrando un arco de precipitación catódico, aparentemente específico, que denominó “arco E”⁽²⁹⁾. La especificidad de la fracción antigénica correspondiente fue reconocida a posteriori por todos los autores identificándola con el antígeno específico del hongo gp 43.

En 1974, Restrepo y Moncada, en Colombia, propusieron por vez primera la técnica de doble difusión en agar o inmunodifusión simple (ID) para el diagnóstico serológico de la enfermedad⁽³⁰⁾, técnica luego usada extensamente en la mayoría de los países.

En 1978, publicamos un estudio comparativo entre la IEF y una técnica por nosotros propuesta en 1973 denominada inmunoelectroosmoforesis-inmunodifusión (IEOF-ID)⁽³¹⁾ en el diagnóstico serológico de 16 casos de PCM⁽³²⁾. Cinco arcos de precipitación fueron descritos en IEF y denominados con números arábigos. El arco “1” fue asimilado al arco “E” específico, anteriormente descrito por Yarzabal⁽²⁹⁾.

En los últimos años han sido incorporadas nuevas e interesantes técnicas, entre otras, las de detección rápida del genoma y las microspodias de alta resolución con rayos láser (LMM), que realmente constituyen un puente entre la patología clásica y la biología molecular.

Tratamiento

La introducción de las sulfamidas, por parte de Ribeiro en 1940⁽³³⁾ en el tratamiento de la afección, modificó el pronóstico irremediadamente fatal.

En 1958, Lacaz y Sampaio, en Brasil, recomendaron por vez primera el uso de la anfotericina B por vía intravenosa para tratar las formas diseminadas de la afección⁽³⁴⁾, lo que constituye hasta el presente el tratamiento de elección. Como fármaco de alternativa, sobre todo en casos de nefrotoxicidad, tenemos el itraconazol, comenzado a emplear a fines de la década de 1980⁽³⁵⁾.

Summary

In 2008 was the centennial anniversary of the discovery of paracoccidioidomycosis (former South American blastomycosis), a serious systemic mycosis and an essentially relapsing one affecting Mexico, Central America – with the exception of Nicaragua – and in particular the South American continent, especially Brazil. Our country is part of this condition's endemic area with 77 cases reported

until 1997.

The present study constitutes a much needed reminder as well as an updated analysis of the subsequent scientific progress, in terms of knowing about the main etiological, clinical-epidemiological, and etiopathogenic aspects and the parasite-host interrelationships, diagnosis and therapy of the disease, among other milestones.

An emphasis is made on the contributions by the Uruguayan School of Medical Mycology, presided by Professor Juan E. Mackinnon, particularly those concerning the final explanation/clarification of the pathogenesis of this condition, which is currently unanimously accepted and was made through original lab experiences with animals.

Different national studies were also relevant, as is the case of the study of the structural and biological characteristics of the etiological agent, knowledge about the mycosis epidemiology in the country and the determination of the influence and effects of different environment temperatures on the disease in lab animal experiences, among others.

Résumé

En 2008, on a fêté le centenaire de la découverte de la paracoccidioidomycose (ancienne blastomycose sud-américaine), grave mycose de caractère systémique et essentiellement récidivante, qui atteint le Mexique, l'Amérique Centrale –sauf le Nicaragua– et particulièrement le continent sud-américain, le Brésil en particulier. Notre pays fait partie de l'aire endémique de l'affection avec 77 cas cliniques repérés jusqu'en 1997.

Ce travail fait un rappel nécessaire de cette grande découverte ainsi qu'une analyse actualisée des postérieurs progrès scientifiques, repères fondamentaux, à la connaissance des principaux aspects étiologiques, clinico-épidémiologiques, etiopathogéniques et de la relation parasite-hôtes, aspects diagnostiques et thérapeutiques de la maladie.

On met l'accent sur les contributions de l'École Uruguayenne de Mycologie Médicale, dont le président est le professeur Juan E. Mackinnon, spécialement sur ce qui concerne la nette définition de la pathogénie de la maladie, de nos jours acceptée unanimement, au moyen d'expériences chez des animaux de laboratoire totalement originales.

De divers travaux nationaux furent aussi importants, entre autres, ceux portant sur l'étude des caractéristiques structurales et biologiques de l'agent étiologique, sur la connaissance de l'épidémiologie de la mycose dans le pays et la détermination de la relation et l'effet des différentes températures de l'environnement sur l'évolution de la maladie.

Resumo

Em 2008 comemorou-se o centenário da descoberta da paracoccidioidomicose (ex blastomicose sul americana), uma micose sistêmica grave e recidivante que afeta a México, América Central –exceto Nicarágua– e especialmente a América do Sul principalmente o Brasil. Nosso país está incluído na área endêmica desta afecção com 77 casos clínicos registrados até 1997.

Neste trabalho fazemos uma revisão desta importante descoberta incluindo uma análise atualizada dos avanços científicos dos principais aspectos etiológicos, clínico-epidemiológicos, etiopatogênicos e da relação parasita-hospedeiro, diagnóstico e tratamento da doença.

Destacamos especialmente as contribuições da Escola Uruguaia de Micologia Médica, presidida pelo professor Juan E. Mackinnon, particularmente as relacionadas com a explicação definitiva da patogenia desta afecção, aceita unanimemente e realizada em experimentos com animais de laboratório totalmente originais.

Outros trabalhos nacionais também foram relevantes como por exemplo, o estudo das características estruturais e biológicas do agente etiológico, da epidemiologia da micose no país e da determinação da relação e efeito de diferentes temperaturas ambientais sobre a evolução da doença experimental em animais de laboratório.

Bibliografía

1. **Lutz A.** Una micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hifoblastomicoses americanas. *Brasil Méd* 1908; 22: 121-4.
2. **Splendore A.** Zymomonetosis con localizzazione nella cavità delle bocca osservata in Brasile. *Bull Soc Path Exot* 1912; 5: 313-9.
3. **Almeida F de.** Estudos comparativos do granuloma coccidioidico nos Estados Unidos e no Brasil. Novo genero para o parasito brasileiro. *Ann Fac Med Univ S Paulo* 1930; 5: 3-19.
4. **Mackinnon JE, Vinelli H.** Observaciones sobre la forma multibrotante de *Paracoccidioides brasiliensis* en los cultivos. *An Fac Med Montevideo* 1949; 34:461-70.
5. **Mackinnon JE, Gurri J.** Morfología y mecanismo de multiplicación de *Paracoccidioides brasiliensis* en su forma parasitaria estudiada por el método del carbonato de plata. *An Fac Med Montevideo* 1950; 35: 1033-8.
6. **Neves JS, Bogliolo L.** Researches on the etiologic agents of American Blastomycosis. I. Morphology and systematic of Lutz disease agent. *Mycopathologia* 1951; 5: 133-46.
7. **Carbonell LM, Kanetsuna F, Gil F.** Chemical morphology of glucan and chitin in the cell wall of the yeast phase of *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Bacteriol* 1970; 101(2): 636-42.
8. **San Blás F, San Blás G.** *Paracoccidioides brasiliensis*. In: Szanizlo P, ed. *Fungal dimorphism with emphasis on fungi pathogenic for humans*. New York: Plenum Press, 1985:93-120.
9. **Muchmore HG, McKnow B, Mohr JA** Effect of steroid hormones on the growth of *Paracoccidioides brasiliensis*. In: *Pan. American Symposium on Paracoccidioidomycosis*, 1, Medellin, Colombia, 1971. Washington: PAHO, 1972: 300-372 (Scient. Publ., 254).
10. **Conti Díaz IA, Mackinnon JE, Furcolow ML.** Effect of drying on *Paracoccidioides brasiliensis*. *Sabouraudia* 1971; 9:69-78.
11. **Lacaz C da S, Minami PS, Purchio A.** O grande mundo dos fungos. Sao Paulo: EDUSP, 1970.
12. **Rippon JW.** Tratado de Micología Médica 3ª ed. México: Interamericana, 1990.
13. **Mackinnon JE.** Blastomycosis sudamericana experimental evolutiva obtenida por vía pulmonar. *An Fac Med Montevideo* 1959; 44: 355-8.
14. **Mackinnon JE, Artagaveytia-Allende RC, Arroyo L.** Sobre la especificidad de la intradermoreacción con paracoccidioidina. *An Fac Med Montevideo* 1953; 38: 363-82.
15. **Almeida F de, Lacaz C da S.** Intradermoreacao com paracoccidioidina no diagnostico do granuloma paracoccidioidico. A reacao de Montenegro no granuloma paracoccidioidico. *Folia Clin Biol* 1941; 13: 177-82.
16. **Restrepo A, Guzmán de Espinosa G.** Paracoccidioidomycosis experimental del ratón por vía aerógena. *Sabouraudia* 1976; 14: 299-311.
17. **Conti Díaz IA, Yarzabal LA, Mackinnon JE.** Lesiones cutáneas, orofaríngeas, rectales y musculares por inoculación intracardíaca de *Paracoccidioides brasiliensis* al cobayo y al conejo. *An Fac Med Montevideo* 1959; 44: 601-7.
18. **Mackinnon JE, Conti Díaz IA, Yarzabal LA, Tavella N.** Temperatura ambiental y blastomycosis sudamericana. *An Fac Med Montevideo* 1960; 45: 310-8.
19. **Mackinnon JE.** The effect of temperature on the deep mycoses. In: Wolstenholme G, Porter R, eds. *Systemic mycoses*. London: Churchill Livingstone, 1968: 164-75.
20. **Felipe MS.** Postegomic contribution to the knowledge on the host-pathogen interaction. Proceedings of the X International Congress on Paracoccidioidomycosis. A centennial celebration. *Biomédica* 2008; 28 (Supl.1): 44-5.
21. **Conti Díaz IA, Calegari L.** Paracoccidioidomycosis en el Uruguay: su estado y problemática actuales. *Bol of Sanit Panam* 1979; 86(3): 219-29.
22. **Conti Díaz IA.** Contribución al conocimiento y progreso científico en Micología Médica. S.A. Montevideo (Uruguay): Impresora Federal Nuevo Sur, 1997.
23. **Martínez R.** The coexistence of HIV infection and paracoccidioidomycosis. In: Proceedings of the X International Congress on Paracoccidioidomycosis. A centennial celebration. *Biomédica* 2008; 28 (Supl 1): 102-3.
24. **Conti Díaz IA.** Skin tests with paracoccidioidin and their importance. Proceedings of First Pan American Symposium on Paracoccidioidomycosis. PAHO Scientif Publ 254, Washington DC: PAHO, 1972:197-202.
25. **Albornoz MB.** Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from rural soil in Venezuela. *Sabouraudia* 1971; 9:248-53.
26. **Conti Díaz IA, Rilla F.** Hipótesis sobre el nicho ecológico de *Paracoccidioides brasiliensis*. *Rev Med Urug* 1989; 5(2-3): 97-103.
27. **Conti Díaz IA.** On the unknown ecological niche of *Paracoccidioides brasiliensis*. Our hypothesis of 1989: present status and perspectives. *Rev Inst med Trop S Paulo* 2007; 49(2): 131-4.
28. **Fava Netto C.** Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento no blastomicose sudamericana, com antígeno polissacarídico. *Arq Cirur Clin Exp* 1955; 18: 197-254.
29. **Yarzabal LA.** Anticuerpos precipitantes específicos de la blastomycosis sudamericana revelados por inmunoelectroforesis. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1971; 13:320-7.
30. **Restrepo A, Moncada LH.** Characterization of the precip-

- itin bands detected in the immunodiffusion test for paracoccidioidomycosis. *Appl Microbiol* 1974; 28: 138-44.
31. **Conti Díaz IA, Somma Moreira RE, Gezuele E, et al.** Immunelectrosmophoresis-immunodiffusion in paracoccidioidomycosis. *Sabouraudia* 1973; 11: 39-41.
 32. **Conti Díaz IA, Mackinnon JE, Calegari L, Casserone S.** Estudio comparativo de la inmunolectroforesis (IEF) y de la inmunolectrosmoforesis-inmunodifusión (IEOF-ID) aplicadas al diagnóstico de la paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia* 1978; 63: 161-5.
 33. **Ribeiro DO.** Nova terapeutica para a blastomicose. *Publicacoes médicas Sao Paulo* 1940; 12: 36-54.
 34. **Lacaz C da S, Sampaio SAP.** Tratamento da blastomicose sul-americana con anfotericina B. Resultados preliminares. *Rev Paul Med* 1958; 52: 443-50.
 35. **Restrepo A, Gomez I, Robledo J, Patiño MM, Cano LE.** Itraconazole in the treatment of paracoccidioidomycosis. *Rev Infect Dis* 1987; 9(Suppl 1): S51-6.