
ACTUALIZACIONES

Paracoccidioidomicosis

Existen ciertas enfermedades infecciosas que, aunque no infrecuentes en nuestro medio suelen constituir un problema diagnóstico.

Tal es el caso de la paracoccidioidomicosis, la micosis-sistémica más frecuente en Colombia. Ello obedece a varios factores tales como el poliformismo exhibido por la entidad, la existencia de una serie de conceptos erróneos sobre su patogenia y la semejanza con otros procesos más comunes, como la tuberculosis. A pesar de que existen varias publicaciones colombianas sobre la entidad, ésta no ha sido tratada en forma integrada recientemente, por lo cual la presente revisión es de interés.

La paracoccidioidomicosis es una enfermedad micótica casi siempre progresiva y de curso crónico, que compromete especialmente los pulmones, las mucosas, la piel, el sistema retículo endotelial y las adrenales, pero que puede afectar cualquier otro órgano o sistema. Fuera de la enfermedad clínicamente manifiesta, existen informes documentados sobre la existencia de formas benignas, autolimitadas. La enfermedad está restringida a la América Latina. El agente etiológico es un hongo dimórfico, *Paracoccidioides brasiliensis*, cuyo hábitat natural es exógeno. La entidad y su agente fueron inicialmente descritos y estudiados en Brasil por Lutz, Splendore y de Almeida entre 1.908 y 1.930. Los primeros casos informados en Colombia corresponden a la serie de pacientes diagnosticados por Mendez Lemaitre, en 1.950 (2); actualmente el número de casos informados se eleva a cerca de 600 (3).

El Agente

El agente causal de la paracoccidioidomicosis es un hongo imperfecto (fase sexuada desconocida), que exhibe dimorfismo térmico, es decir, se comporta como un mohó a temperatura ambiente y como una levadura a 37°C. En el primer caso, los cultivos son de crecimiento lento (20 a 30 días) y la colonia presenta micelio aéreo corto, organizado en pequeños manojos pero que posteriormente, suele adquirir un aspecto algodonoso uniforme. La colonia es blanca o crema y presenta con frecuencia un pigmento parduzco en el reverso; cuando se adhiere al agar, la colonia se agrieta y presenta irregularidades en su contorno (4-6). Microscópicamente y en los medios de cultivo usuales la fase micelial produce solo micelios aéreos delgados (3 a 4 micrones de diámetro) y clamidosporos (esporos ovales de pared gruesa, de 15 a 20 micrones); utilizando medios con bajas concentraciones de carbohidratos o sustratos más naturales (agar sémola de maíz, extracto de tierra, por ejemplo), se produce una esporulación más profusa (7-9), compuesta por artrosporos (esporos rectangulares o

cilíndricos que hacen parte del micelio) y aleuriosporos (esporos ovalados producidos lateralmente por el artrosporo, de 3 a 10 micrones de diámetro); las dos últimas estructuras pudieran constituir las formas infectantes del hongo, existentes en la naturaleza (8,9).

Cuando la temperatura de incubación se eleva a 35° - 37°C, se obtiene la fase levaduriforme o tisular del hongo. La colonia se desarrolla más rápidamente (8 a 12 días), adopta un aspecto cerebriforme y es de consistencia blanda; su color es crema o café en leche y se desprende fácilmente del sustrato. Microscópicamente, se observan células ovales o esféricas, de pared doble y cuyo diámetro puede variar entre 6 y 30 micrones.

La esporulación característica es por gemación (blastosporulación) múltiple, observándose una célula madre grande rodeada de numerosos y pequeños blastosporos (célula en "timón de barco"), o bien una célula madre con 2 a 3 blastosporos casi tan grandes como ella misma.

Frecuentemente los blastosporos están adheridos a la células madre por cortos puentes citoplásmicos; pueden también observarse cadenas cortas de 3 a 5 blastosporos e inclusive, células con una sola gema. El cuello que separa una célula de la otra es estrecho. La variación en el tamaño celular, es la regla; la presencia de células colapsadas, rotas e irregulares es de frecuente observación. Si el examen microscópico se realiza en fresco, llama la atención la refringencia de las células así como la presencia de vacuolas intracitoplásmicas que semejan núcleos pero que son, en realidad, depósitos de lípidos (4, 5). Al microscopio electrónico de rastreo se demuestran blastosporos en forma de botella, gemación secundaria de blastosporos hijos y en general, irregularidades en la esporulación de la célula madre (7). Todas las formaciones anteriores se presentan por igual en los tejidos y exudados (6, 10, 11). La identificación del hongo en cultivo requiere su crecimiento a 37°C ya que solo la fase levaduriforme es distintiva; igualmente es necesario observar al microscopio la gemación múltiple para el establecimiento de un diagnóstico a partir de materiales patológicos (4-6, 10, 11).

Existen formas transicionales entre la levadura y el moho, en las cuales el examen microscópico revela elementos de ambas fases. Es fácil conseguir la transformación de una fase en otra por el simple cambio de la temperatura de incubación (5). La naturaleza precisa del dimorfismo no es aún conocida, pero se sabe que la constitución de las paredes celulares de ambas fases es diferente; así, en la fase levadura predomina un alfa-glucán mientras que en la miceliar, este polímero se ve reemplazado por un beta-glucán. La forma esférica (levadura) sería producida al sintetizarse acoplada y simultáneamente a todos los niveles, el alfa-glucán. Por el contrario, la forma cilíndrica (miceliar) se produciría por síntesis de nuevo beta-glucán solo a nivel de la porción apical (12, 13). A este respecto es

importante mencionar la evidencia experimental sugestiva de que la virulencia del microorganismo está relacionada con su capacidad de sintetizar el alfa-glucán. San.Blas y colaboradores (14) hallaron que la cantidad de este glucán estaba disminuida en una cepa mantenida por largos años en el laboratorio; era posible regenerar tal compuesto por pases seriados de la cepa en animales de experimentación y observar entonces, efectos patológicos. Por oposición a lo anterior, una cepa mutante en la que el alfa-glucán había sido reemplazado por alfa-manán, se mostró incapaz de producir patología en experimento similar (15).

Estudios anteriores habían señalado diferencias en la virulencia de diferentes cepas de *P. brasiliensis*, tanto en la fase miceliar como en la levaduriforme, sin relación con la ruta de inoculación (16, 17). Es muy probable que estas variaciones obedezcan a cambios básicos en la estructura celular, que apenas ahora empiezan a ser vislumbrados.

Al microscopio electrónico y en cualquiera de sus fases, la estructura del *P. brasiliensis* es la de un micro-organismo eucariótico, provisto de pared celular rígida y de núcleos múltiples separados del citoplasma por sus respectivas membranas nucleares. Existen mitocondrias, ribosomas, vacuolas, pero el retículo endoplásmico es escaso y no ha sido posible demostrar la presencia de aparato de Golgi. La pared celular tiene varias capas, siendo más gruesas en el micelio; la capa interna corresponde a quitina y la externa, a alfa-glucán; la membrana citoplásmica tiene también varias capas y usualmente se prolonga hacia el interior formando los mesosomas. En el micelio, la invaginación profunda de la capa más interna de la pared, origina el septo; en las formas maduras, el septo tiene un poro bien desarrollado. Cuando se efectúa la transformación levadura-moho, un blastosporo hijo se alarga y adquiere, poco a poco, la forma filamentosa característica. En el paso contrario, moho-levadura, el micelio se dilata a partir del septo, produciéndose algunas fracturas en la pared celular, y tomando paulatinamente forma ovoide.

Es de anotar que en el primer caso, la levadura madre muere mientras que en el segundo, la hifa transformada en levadura continúa viable (18). En la fase levadura, al producirse la gemación múltiple característica, se forma una vacuola central que empuja el contenido citoplásmico hacia la periferia; pequeñas rupturas en la pared celular permiten escapar el material citoplásmico a los blastosporos en desarrollo. Posteriormente se forma un tabique entre éstos y la célula madre, que los independiza y los convierte en células individuales (19).

En cuanto a las capacidades bioquímicas, el *P. brasiliensis* es bastante inactivo, lo cual hace que su clasificación sea efectuada con bases morfológicas (4, 5).

El Ambiente Aspectos Eco y Epidemiológicos

a. Distribución geográfica: la enfermedad está restringida a la América Latina, donde se le observa desde México (23°N) hasta la Argentina (34°S); sin embargo, no todos los países abarcados entre los límites anteriores están afectados; quedan libres algunos como El Salvador, Nicaragua, Chile y las Islas del Caribe. Dentro de los

países endémicos, la enfermedad no está distribuida homogéneamente en todo el territorio, sino que se concentra en áreas con características climáticas especiales. Se han informado casos autóctonos en 15 países a saber: México, Guatemala, Honduras, Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Guayana, Brasil, Uruguay, Paraguay, Argentina, Perú, Ecuador y Bolivia. El número de casos publicados en la literatura- que no representa la totalidad de los pacientes diagnosticados es cercano a 6.000. El centro de la endemia está en Brasil con casi 4.000 pacientes (5, 22, 23); a muy buena distancia siguen Venezuela (6, 10, 11) y Colombia (3, 24-26) con cerca de 700 y 600 informes, respectivamente. Los demás países de Suramérica tienen menos de 100 casos cada uno, mientras que los de Centro América, llegan a un promedio de solo 10 casos por país (3, 20, 21).

La enfermedad ha sido diagnosticada en países por fuera del área endémica pero siempre en pacientes que habían residido en el pasado, en la América Latina. En total se conocen 13 casos en los Estados Unidos (3, 27, 28) y 11 en Europa y Asia (3, 29); no es aceptado como correcto un caso diagnosticado en un niño africano que nunca salió de su país (30). Es notorio el hecho de que en algunos de estos casos no autóctonos, el lapso transcurrido entre la aparición de las lesiones y la residencia en el área endémica, fue de varias décadas (28, 29); esto indica que el microorganismo puede permanecer viable por largo tiempo, en los tejidos del huésped.

b. Características de las zonas endémicas: Si se tiene en cuenta sólo el lugar de residencia de los pacientes al momento del diagnóstico, se encuentra que una gran mayoría de ellos pertenecen a regiones boscosas y húmedas; Sin embargo, este dato puede ser erróneo si se considera que la infección pudo haber sido contraída en otro lugar y en el pasado. De aquí que Borelli (31, 32) crea un término ("reservárea") para designar el área donde el paciente adquiere la infección por encontrarse en ella el parásito; la "reservárea" no necesariamente coincide con el área endémica, o sea, el lugar donde se informan más casos. En Colombia, como lo demuestran los resultados del estudio que analizó la trayectoria residencial de cada paciente (33) la "reservárea" se centra sobre las regiones definidas como Bosques Tropical y Subtropical, húmedo y muy húmedo (24). A nivel de Río Grande do Sul, en Brasil (21, 34), dicha área se encuentra en zonas boscosas y montañosas cercanas a grandes ríos. Como características comunes a todas las zonas de endemia están la temperatura que oscila entre 12° y 28°C, con promedios de 20° a 23°C, e índices pluviométricos anuales de 800 a 2.000 mm.

La altura sobre el nivel del mar, factor aparentemente menos significativo, está entre 300 y 1.000 metros. Experimentalmente, la temperatura y la humedad ejercen marcada influencia sobre la viabilidad del *P. brasiliensis*, mostrándose la fase miceliar más resistente que la levadura (35, 36).

c. Habitat Natural: Todo hace pensar que el habitat natural del hongo sea exógeno, existiendo el microorganismo en la naturaleza bajo la fase miceliar (37). A pesar de la restricción del área endémica- que debería hacer menos difícil el hallazgo del microorganismo en su

fuentes-son pocos los informes fidedignos sobre su aislamiento a partir de sustratos naturales. Negroni (38) y Albornoz (39), recuperaron el hongo de suelos; desafortunadamente, estos aislamientos no han podido ser realizados en forma repetida (3). Un informe (40) relata el aislamiento a partir de guano de murciélago; sin embargo, experimentos posteriores demostraron claramente que el hongo no logra permanecer viable en el tracto gastrointestinal de murciélagos frugívoros (41). Es muy probable que el hábitat del hongo esté restringido a ciertos sitios (micro-nichos), localizados estratégicamente dentro de la "reservárea". Pudiera pensarse que la "reservárea" es susceptible de una delimitación más precisa por medio de encuestas que emplearan, como índice, la susceptibilidad cutánea de los residentes de ciertas zonas a los extractos del hongo (paracoccidioidina). Estudios en tal sentido han sido ya realizados aunque tal vez sin la extensión y precisión requeridas (3, 41, 43, 44). Los resultados no han señalado a una determinada zona como de alta endemia ya que - con una sola excepción - (44) la sensibilidad cutánea ha sido inferior al 50%. Si bien los datos anteriores no han permitido esclarecer el micro-nicho del *P. brasiliensis*, la existencia de individuos normales sensibles a los extractos del hongo, ha demostrado no sólo el contacto anterior con el agente sino también la presencia de una infección sub-clínica (3, 45, 46).

d. Transmisión: Hasta el momento, el hombre es el único huésped conocido del *P. brasiliensis*. La enfermedad naturalmente adquirida no ha sido informada en ningún animal doméstico o salvaje; sin embargo, algunas publicaciones recientes señalan la presencia de sensibilidad cutánea a la paracoccidioidina —indicativa de infección— en caballos, perros y ganado vacuno (47-49). Existe una hipótesis sobre la patogénesis de la enfermedad según la cual habría un animal reservorio propio y restringido a la "reservárea", en el cual el hongo sería mantenido y protegido en su fase levaduriforme, y un insecto se encargaría de transmitirlo por picadura al hombre (32). No se conocen informes sobre epidemias lo que -en parte- podría explicarse por el prolongado periodo de latencia el cual "...permite que, al manifestarse la enfermedad, se haya perdido memoria del "momento" infectante y se hayan tornado confusas las relaciones entre el enfermo y el área del reservorio..." (32). Existen reportes sobre unos pocos casos de aparición familiar (50).

La paracoccidioidomicosis no se considera enfermedad contagiosa; algunas publicaciones sugieren la posibilidad de transmisión de la infección, no de la enfermedad, del paciente a sus convivientes (5, 42, 51). Por medio de estudios adecuadamente diseñados Greer et al. (51) demostraron diferencias estadísticamente significativas en la sensibilidad cutánea a la paracoccidioidina, en las esposas de los pacientes; se descartó la posibilidad de una fuente común de infección dentro de la residencia familiar, por la incidencia significativamente más baja de paracoccidioidino-positivos en el resto de los miembros de la familia.

e. Distribución por edad, sexo, ocupación y raza: En cuanto a la edad, la enfermedad no es frecuente en niños y en jóvenes. La

recopilación de casi 3.000 casos (3, 21) muestra una incidencia de 1. 5% en los primeros 10 años de vida y de 8. 8% entre los 11 y los 20 años. De aquí en adelante, las cifras suben paulatinamente, alcanzado el máximo (27. 8%) entre los 40 y los 50 años. En total, más del 60% de los casos se presentan en personas mayores de 30 años. Se conocen informes sobre 65 casos infantiles (6-14 años), correspondiendo el mayor número al Brasil (52). Es posible que esta distribución refleje menores oportunidades de contacto con el hongo en los primeros años de vida, lo cual parece ser válido ya que la distribución de la sensibilidad cutánea en la paracoccidioidina es mas baja en los niños que en los jóvenes y adultos (42-44). Alternativamente pudiera pensarse que por la lenta evolución de la infección, podría adquirirse en la niñez, pero no se manifestaría sino muchos años después. (3).

Respecto al sexo de los pacientes llama la atención el marcado predominio de los hombres. Si bien la serie mas importante, la del Brasil, con 3.000 casos (5) señala una relación hombre mujer de 12:1, la mayoría de los informes indican proporciones mas altas (3,4). En Colombia no es raro observar 45 pacientes masculinos por 1 femenino (53). Esta relación no se manifiesta en los niños, en los cuales no hay diferencia por sexo (52). La explicación general para este fenómeno es que los hombres, por su ocupación predominantemente agrícola, tienen mayores oportunidades de contacto con el hongo; sin embargo, a nivel rural, donde aparecen la mayoría de los casos, las mujeres trabajan también en el agro. Además, encuestas con paracoccidioidina en población general, han revelado cifras comparables de reactividad cutánea en ambos sexos, lo cual indica que la proporción de infecciones es igual en ambos sexos (42-44, 51). desde el punto de vista ocupacional, la enfermedad es mas frecuente (60. 0%) en agricultores o en personas con ocupaciones relacionadas; aunque se han descrito casos en choferes, empleados de oficina, sastres, carniceros, pescadores, etc. Quedaría por demostrar si esta distribución, corresponde en realidad, a la de los oficios desempeñados por los residentes de países en vía de desarrollo en los cuales predomina el laboreo del campo (3-5, 21).

El único factor importante con respecto a la raza, es la mayor susceptibilidad de los emigrantes europeos y asiáticos, quienes sufren formas muy severas de la entidad (4-6).

f. Prevalencia e incidencia: Es difícil e inseguro determinar prevalencia e incidencia de una enfermedad que no es de información obligatoria (3, 20). Por consiguiente, cualquier cifra es sólo aproximada. Así, se encuentra que por cada 100.000 habitantes, Venezuela tiene una prevalencia de 6. 4; Brasil de 3. 9; Paraguay de 3. 4; Colombia de 2. 6; Ecuador de 1.5; Uruguay de 1. 4; y Argentina de 0.4 (3). En Colombia los departamentos de Valle y Antioquia tienen la mas alta prevalencia, 4. 1 y 4,8 casos por 100.000 habitantes respectivamente. En contraste, otros departamentos en los cuales se encuentra también la enfermedad (Caldas, Risaralda, Cundinamarca) presentan cifras que oscilan entre 1.0 y 1.4; es muy posible que éstas variaciones no correspondan a la realidad, sino al

interés de los grupos encargados del diagnóstico en las distintas áreas.

En cuanto a incidencia por 100.000 habitantes, es menor de 1 en todos los casos, correspondiendo las cifras más elevadas, 0.71- 0.96, al Brasil (20).

El Huésped.

Motivos de consulta: La evolución de la paracoccidioidomicosis es característicamente lenta (4) y por consiguiente, pueden transcurrir años antes de que se presenten los síntomas. Los principales motivos de consulta son los siguientes:

1) Presencia de ulceraciones en la mucosa oral; cerca del 40 a 60% de los pacientes hacen su primera consulta, en veces al odontólogo, por tal causa (4, 5, 22, 25, 26, 53). Las ulceraciones son dolorosas, aumentan en tamaño y a veces también en número y dependiendo de su localización, producen dificultades en la masticación y en la deglución a la par que aumentan el flujo salivar. La progresión de las lesiones orales hacia la laringe ocasiona consultas por cambios en el tono de la voz o por la sensación de cuerpo extraño. Frecuentemente hay lesiones a nivel de las encías que llevan al paciente a la exodoncia. Puede también presentarse hinchazón marcada en los labios y ulceraciones en la lengua. En unos pocos casos el motivo de consulta es la presencia de lesiones ulcerativas o vegetantes a nivel de la mucosa nasal.

2) Aparición de lesiones cutáneas notadas en 3 a 12% de los casos; preferentemente localizadas cerca de orificios naturales (aunque pueden hallarse en cualquier otro sitio), son únicas o múltiples y su aspecto es muy variable; con alguna frecuencia, las lesiones mucosas se extienden hacia la piel, dando formas muco-cutáneas más destructivas (4, 5, 22, 25, 26, 53).

3) Afección respiratoria persistente, relatada por 30 a 50% de los pacientes y caracterizada por tos, producción de esputos muco-purulentos o inclusive, hemoptoicos; dolor costal e incapacidad respiratoria (4, 5, 22, 23, 53, 54).

4) Aumento en el tamaño de los ganglios linfáticos, 2 a 17% de los casos. Usualmente los cervicales son los más prominentes, algunos pueden ulcerarse y dar salida a material purulento (4, 5, 54).

5) Molestias gastro-intestinales, de variada naturaleza, presentes en 2 a 3% de los pacientes.

6) Transtornos relacionados con la función adrenal observados en 4 a 5% de los casos.

7) Afección del sistema nervioso central, el aparato circulatorio, el sistema óseo y otros, anotados para el 1 a 2% de los pacientes (4, 6, 10, 11, 25, 26, 53).

Casi siempre (50-68%) hay fiebre, fatiga, malestar general, pérdida de peso, mareos, etc. (4, 5, 54, 55).

Hallazgos al Examen Clínico: El examen clínico revela un paciente cuyas condiciones generales pueden estar preservadas o mermadas, llegando hasta la caquexia. La mitad de los pacientes presentan fiebre vespéral, pérdida de peso, disnea de medianos o grandes esfuerzos, decaimiento y malestar (4, 5, 25, 53, 56). Las

siguientes son las observaciones del examen clínico:

1) Ulceraciones de la mucosa oral: El porcentaje de pacientes comprometidos no aumenta sensiblemente, confirmándose la presencia de las lesiones descritas por el paciente. Sin embargo, el examen suele demostrar un compromiso más severo de lo sospechado inicialmente, con afección laríngea, faríngea, lesiones en epiglotis, úvula, cuerdas vocales o ulceraciones del paladar duro y blando (4-6, 54, 56).

2) Lesiones cutáneas: En un 8 a 10% de los casos, el examen demuestra la presencia de lesiones cutáneas, de aspecto inespecífico, ignoradas por el paciente (4-6, 54, 56).

3) Afección respiratoria: Es posible descubrir alteraciones auscultatorias en cerca del 50 a 60% de los pacientes. Se encuentran sibilancias, estertores crepitantes, roncancias o matidez, generalmente bilaterales y de predominio basal. En una tercera parte de los pacientes los síntomas y signos pulmonares son escasos y el compromiso pulmonar suele pasar desapercibido. Los rayos X demuestran compromiso en un 60 a 80% de los casos, siendo notoria la discordancia entre los signos respiratorios-relativamente leves-y la extensión y severidad de las lesiones radiológicas. Ocurre hemoptisis en cerca de 25% de los pacientes; en casos avanzados, se comprueba insuficiencia respiratoria, tórax enfisematoso y dedos hipocráticos (4, 6, 22, 23, 37, 55, 56).

4) Ganglios linfáticos, hígado y bazo: Dependiendo de la serie de casos, la hipertrofia de los ganglios linfáticos suele variar del 12 al 65%. No sólo los ganglios de la región cervical están afectados sino también los de otras zonas como la axilar, la inguinal y la abdominal (4, 6, 54, 56). Según Padilha-Goncalves (57), los ganglios linfáticos están siempre comprometidos histológicamente aún cuando se presenten normales a la palpación. Igualmente, todos los casos de autopsia muestran este tipo de lesión (6). En cuanto a hepato y esplenomegalia, el porcentaje de compromisos es menor, alrededor del 15 al 20% de los pacientes (4-6, 10, 11, 57).

Las restantes manifestaciones clínicas suelen ser observadas en 5 a 15% de los casos no fatales. Tal sucede con el compromiso de las adrenales, de los tractos digestivo y genito-urinario, así como de los sistemas nervioso central, circulatorio y óseo. Lo importante aquí es el polimorfismo de la entidad, cuya presentación la asemeja a un síndrome de Addison (4, 6, 54, 55); a un abdomen agudo (4, 6, 54, 55, 58,); a una trombosis mesentérica (6, 10, 11); a una meningitis o a una lesión tumoral cerebral (6, 25, 59) y a un proceso sistémico agudo, tipo leucemia (55).

Aspecto de las Lesiones:

1) Mucosas (4-6, 56): a. Mucosa oral: Al momento del examen las lesiones están generalmente bien constituidas, pudiendo ser erosivas, vegetantes o ulcerosas; tienen bordes mal definidos y son infiltrativas. La base de la ulceración exhibe una superficie granulosa, con abundantes microabcesos y erosión hemorrágica puntiforme (estomatitis moriforme). Las lesiones en la mucosa labial ocasionan edemas que, de ser marcado, origina el labio trombofórmico. Existen

granulomas apicales con o sin ulceración de la mucosa yugal. En amígdalas y úvula predominan las lesiones ulcerosas y destructivas mientras que en la parte posterior de la faringe, son de carácter nodular, vegetante o erosivo,

b. Mucosa nasal: Las lesiones son ulcerosas o polipoides y bastante destructivas; a veces, se afecta también el cartílago.

c. Mucosa laríngea: Las lesiones son ulcerativas o pseudotumorales, de aspecto granulomatoso y suelen localizarse en la epiglotis y las cuerdas vocales. La afección de la primera puede causar estenosis mientras que la destrucción de las segundas causa disfonía o afonía.

d. Mucosa ano-rectal: Priman las lesiones ulcerativas aunque, en veces, suelen ser polipoides.

Es frecuente observar compromiso secundario de la piel circundante.

2) Piel (4-6, 54-56, 58): Las lesiones primarias de piel, es decir, aquellas en las cuales hay un chancro de inoculación seguido de adenopatías satélites, son muy raras. Casi siempre las lesiones de la piel se producen por contiguidad de las existentes en las mucosas, resultan de una siembra hematógena o son secundarias a la fistulización de ganglios linfáticos. En los dos primeros casos, la lesión se inicia con una pápula que progresa y termina por ulcerarse; su crecimiento es centrífugo y su tamaño muy variable.

Por regla general, las lesiones cutáneas son polimorfas y pueden revestir aspectos papuloso, nodular, ulcerativo, costroso, verrucoide o vegetante. Las lesiones de origen hematógeno se caracterizan por ser múltiples, estar localizadas en sitios remotos de la piel y presentar un periodo de evolución similar. Algunas veces y en las formas agudas, adoptan un aspecto acneiforme. Muchas de las llamadas lesiones cutáneas son en realidad, mucocutáneas.

El aspecto histológico de las lesiones mucosas y cutáneas, es el de una hiperplasia pseudoepiteliomatosa con formación de múltiples abscesos intraepiteliales que se abren al exterior. Hay inflamación granulomatosa y purulenta con células gigantes y polimorfonucleares; puede también observarse la infiltración por plasmocitos y linfocitos; el músculo aledaño puede mostrar miositis. El hallazgo del agente etiológico no es difícil con la colaboración de hematoxilina eosina pero el método de Gomori (plata-metanadamina), da mejores resultados. Con frecuencia el hongo se encuentra en el interior de las células gigantes y de los otros macrófagos tisulares (6, 10, 11, 58).

3. Pulmones (4, 23, 37, 55, 60-64): Las lesiones son generalmente bilaterales, simétricas y frecuentemente heterogéneas. Las localizaciones preferidas son las bases y los campos medios, aunque se describe, en las formas muy iniciales, que las lesiones están localizadas preferencialmente en los vértices. Existen varios tipos de clasificaciones radiológicas; según Machado y Miranda (23) es posible diferenciar las lesiones de acuerdo a su forma y dimensión en 3 grupos, a saber: micronodulares, infiltrativas y estriadas; las 2 primeras constituyen el patrón alveolar y la tercera, el patrón intersticial. Las lesiones micronodulares son, como su nombre lo indica, pequeñas, hasta 3 mm., tienen densidad

uniforme, son abundantes y de límites precisos. Las infiltrativas, son mayores (3mm. a 4 cms.), menos numerosas, algodonosas, con densidad variable, límites imprecisos y tendencias a confluir. Las formas estriadas, son sombras lineales que irradian del hilio hacia la periferia y se identifican, posteriormente, con lesiones fibrosas residuales. Las lesiones micronodulares y las infiltrativas se observan en más del 60% de los casos de corta o moderada evolución, mientras que las lineales son la regla en casos de vieja data. Pueden coexistir lesiones infiltrativas y fibróticas en un mismo paciente y generalmente las primeras evolucionan hacia las segundas; con frecuencia se aprecian zonas radio-lúcidas basales debidas a bulas enfisematosas. Al aumentar la fibrosis se produce el cor pulmonale, la secuela más temida. Algunos informes relacionan la fibrosis irreversible con el tratamiento a base de sulfas (23, 65, 66). Se aprecian también cavernas en un 30 a 40% de los casos; son relativamente pequeñas y tienden a situarse hacia los campos medios. Por el contrario, las calcificaciones, atelectasias, derrame pleural y neumotorax son excepcionales. En los niños o adultos jóvenes, pueden presentarse adenopatías mediastinales, con poca participación pulmonar o bien, formas del tipo siembra miliar. Debe anotarse que en un cierto número de casos, la paracoccidiodomicosis pulmonar no produce síntomas clínicos ni alteraciones radiológicas, siendo posible, sin embargo, demostrar el agente etiológico en el tejido ó en las secreciones pulmonares (4, 6, 55, 60).

Estudios sobre la función pulmonar en la paracoccidiodomicosis (67, 68) han revelado gran heterogeneidad, evidenciándose casos con función normal, con defectos en la transferencia de O₂ ó bien, con alteraciones del tipo obstructivo. Reciente investigación empleando métodos de gamagrafía, ha demostrado una marcada baja en la captación de la sustancia radioactiva, inclusive en zonas en las que radiológicamente no se aprecian lesiones (69).

Microscópicamente (4, 6, 10, 11) las lesiones pulmonares son variables; las hay pequeñas, de tipo miliar; nodulares circunscritas; acinares y acino-nodulares; infiltrativas extensas; abscedadas y aún ulcerativas así como fibrosas, extensas, acompañadas de cor pulmonale. Solo ocasionalmente se han observado nódulos discretos, lesiones solitarias y en vías de calcificación (70). En casos avanzados, la pleura puede mostrar engrosamiento y adherencias; generalmente, la superficie del pulmón es irregular con depresiones y proyecciones que corresponden a áreas de fibrosis y enfisema, respectivamente. Al corte hay también variaciones; en el patrón intersticial predominan el engrosamiento de los septos interlobulares y el enfisema. Microscópicamente se comprueba el aumento de fibras colágenas, los alveolos no contienen exudado y los vasos sanguíneos presentan proliferación de la íntima, que puede ocasionar su obliteración. Estas lesiones se asocian a hipertrofia del corazón derecho (4, 6, 10, 11). En el patrón alveolar, pueden existir lesiones nodulares bien sea pequeñas del tipo miliar ó grandes y confluentes. Las lesiones están distribuidas simétricamente y pueden necrosarse, con formación de micro-cavernas. También se presenta el enfisema. Microscópicamente,

los nódulos están constituidos por células epitelioides y células gigantes (Langhans o cuerpo extraño), no abunda el infiltrado linfocitario, salvo cuando los nódulos son del tipo acinar. Los nódulos más grandes suelen ser necróticos y tienen reacción fibrosa periférica. El agente etiológico suele observarse con dificultad en los nódulos de tipo miliar. En cuanto a las cavernas, tienen una superficie interna necrótica y una externa granulomatosa. En todas las formas de paracoccidioidomicosis pulmonar hay lesiones de los ganglios linfáticos hiliares o mediastinales (4, 6, 10, 11).

4) Ganglios Linfáticos (6, 10, 11, 56-58): En orden de frecuencia se observa el compromiso de los ganglios cervicales, pre-auriculares, supraclaviculares, submandibulares, axilares, abdominales, inguinales y epitrocleares. Al comienzo la adenopatía puede ser única, pero posteriormente se hace múltiple. A la palpación los ganglios pueden ser duros o fluctuantes, elásticos o duros y de tamaño variable; algunos se fistulizan y al hacerlo, se producen abscesos subcutáneos. Si el ganglio está localizado internamente puede perforarse hacia las cavidades internas ó hacia órganos torácicos o abdominales. En las formas juveniles hay compromiso simultaneo de varias cadenas linfáticas y si los ganglios afectados en un mismo lugar son numerosos, por ejemplo en la cavidad abdominal, se forman verdaderas masas tumorales que ejercen presión sobre órganos internos y causan síntomas diversos. En ocasiones, las lesiones ganglionares son comprobables sólo al exámen histológico (57). La reacción tisular corresponde , generalmente, a la de un granuloma tuberculoide nodular o difuso; con el tiempo, la totalidad del ganglio se ve afectada y puede presentarse la necrosis. Los centros germinales están hiperplásticos con aumento de las células plasmáticas;el agente etiológico suele observarse en abundancia en las formas granulomatosas y la fagocitosis es frecuente. En cambio, en las formas difusas y a pesar de la abundancia de células y de esporos, tal función no se lleva a cabo con regularidad.

5) Organos abdominales y aparato digestivo (4, 6, 10, 11): El bazo es el órgano más frecuentemente comprometido en este grupo y aunque clínicamente no se haga perceptible, el exámen microscópico e histológico demuestra pequeñas lesiones nodulares o granulomas microscópicos. Las lesiones grandes, palpables, coinciden con casos en los cuales hay extenso compromiso de los ganglios linfáticos.

En el hígado el cuadro es bastante similar, aunque la frecuencia del compromiso es menor. Histológicamente, en ambos órganos, predominan las lesiones granulomatosas con células epitelioides, células gigantes, linfocitos e histiocitos.

En cuanto al aparato digestivo y fuera de las lesiones de mucosa oral y fáríngea ya descritas, el esófago y el estómago son poco atacados, en cambio suele presentarse afección de cualquier porción del intestino, especialmente del íleo, en un mayor número de casos. Las lesiones son aquí ulcerativas y pueden llegar a perforarse. En la forma rectal, las lesiones, también ulcerativas, pueden extenderse al ano y a la región peri-anal (6, 71). La participación intestinal puede resultar en oclusión, parcial o total; en ictericia debido a la compresión

ejercida por los ganglios linfáticos hipertrofiados; en enterocolitis o rectocolitis por las ulceraciones o en abdomen agudo (56,72).

6) Adrenales (4, 6, 10, 11, 58, 73): El aumento en el tamaño de las glándulas es la regla, aunque en ciertos casos las lesiones son pequeñas y poco numerosas; tanto corteza como médula pueden verse afectadas. El compromiso puede ser uni- ó bilateral y dependiendo de su extensión puede ocasionar el síndrome de Addison o una función adrenal disminuida. Las lesiones son predominantemente caseosas, con menos reacción granulomatosa que en otros órganos y con abundantes elementos micóticos. El compromiso adrenal es muy frecuente en casos de autopsia, lo que indica que es importante investigar esta micosis en los pacientes con alteración funcional de las adrenales (55).

7) Sistema nervioso central: (6, 59): Localización relativamente rara y de difícil diagnóstico. Las lesiones pueden revestir 2 formas, una pseudotumoral y otra meníngea. En la primera, la lesión es un nódulo casi siempre necrótico y bien circunscrito, de tamaño variable, usualmente solitario, que ocupa espacio. Se localiza de preferencia en la corteza cerebral y en el cerebelo.

El aspecto histológico es similar al de otros órganos, salvo que la necrosis es predominante y hay vasculitis. En la forma meníngea ocurre inflamación de tipo productivo y granulomatoso, muy similar a la observada en la tuberculosis.

8) Sistema vascular (6, 10, 11, 55, 74): Durante el curso de la forma diseminada de la enfermedad, la aorta y las ilíacas pueden ser afectadas. Casi siempre hay severa arterioesclerosis con ulceración y trombosis; esta última puede ocasionar obliteración completa de la luz arterial con producción de isquemia y gangrena que hacen pensar en un síndrome de Leriche. El agente causal es fácilmente visible en el material del trombo. Fuera de estas localizaciones, los pequeños vasos pulmonares también aparecen comprometidos.

9) Sistema óseo (4, 6, 54, 55) : El compromiso de este sistema suele asociarse a formas diseminadas del tipo juvenil. Las lesiones son únicas o múltiples y se asientan en la epífisis de los huesos largos o en la esponjosa de los planos y cortos. Cualquier hueso puede estar comprometido. Los rayos X muestran lesiones casi siempre bien circunscritas, de tipo osteolítico; otras veces son difusas, apreciándose invasión del tejido subcutáneo vecino, con formación de abscesos.

10) Otros Organos (4, 6, 10, 11, 72): El riñon y el sistema , genital masculino suelen afectarse, si bien infrecuentemente. En el segundo caso, aparecen epididimitis, prostatitis y ulceraciones del pene. Se han descrito aunque raramente, lesiones oculares; la blefaritis es más frecuente (5, 6).

Podría mencionarse, en este momento, que la paracoccidioidomicosis es una enfermedad primaria que no se sobrepone regular o frecuentemente como es el caso de la criptococosis y la aspergilosis (5) a otros procesos patológicos. Es decir, no es una enfermedad totalmente oportunista.

Patogénesis y Formas Clínicas.

Ha sido difícil establecer la fisiopatogenia debido, principalmente al hecho de que el habitat natural del hongo no ha sido repetidamente

demostrado (3). Igual problema han creado los prolongados periodos de latencia, de 30 o más años, descritos para la enfermedad (1,3,29).

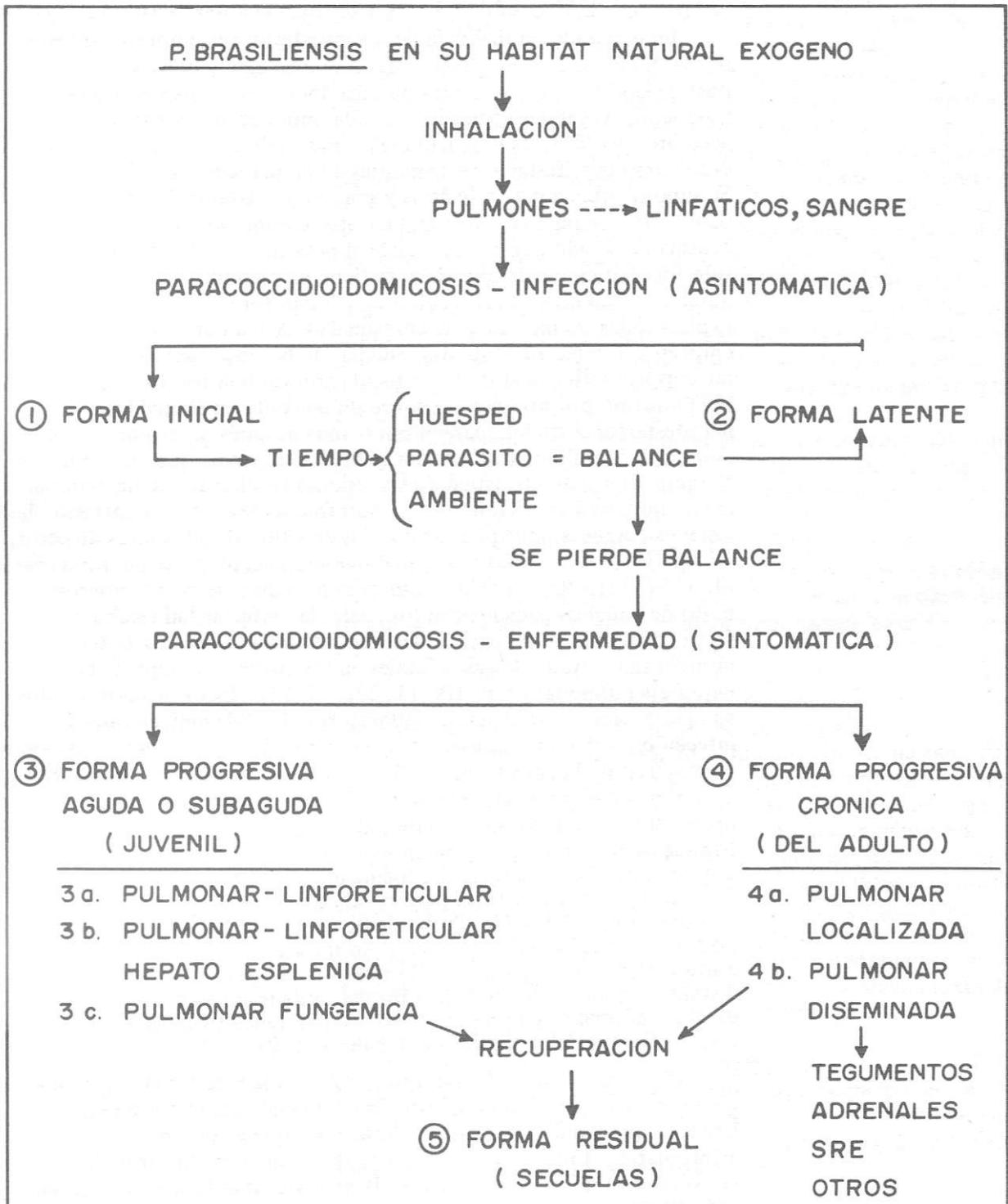
En el pasado, la mayoría de los investigadores, impresionados por la frecuencia y severidad de las lesiones tegumentarias, postularon la implantación traumática del hongo transportado por fragmentos vegetales utilizados para la limpieza oral o anal y aceptaron las lesiones mucocutáneas, especialmente las de cavidad oral, como manifestaciones primarias de la paracoccidiodomicosis. Se suponía que, a partir de éstas y gracias al sistema linfático, ocurría la diseminación a cualquier otro órgano o sistema. Tal postulado ha sido perpetuado hasta el presente (5, 23, 75). Si bien la ruta traumática puede existir - y se tiene un ejemplo en el único caso humano resultante de un accidente de laboratorio (76) - ella no explica todas las facetas de la enfermedad. Así, a partir de 1950, empezó a hacerse aparente que muchas de las observaciones clínicas no correspondían a la ruta de inoculación traumática. González Ochoa (77) informó por primera vez sobre un paciente en el cual las manifestaciones orales aparecieron 6 años después de diagnosticarse el compromiso pulmonar. Posteriormente, se observó que el síndrome chancriforme, característico de las lesiones resultantes de un trauma, era de muy rara aparición (54), siendo frecuentes, por el contrario, las lesiones cutáneas múltiples localizadas en sitios alejados unos de otros, de aparición simultánea y que mal pudieran aceptarse como primarias (4, 6, 54, 78). Otras consideraciones importantes se desprendieron tanto de aquellos pacientes en los cuales la enfermedad estaba restringida a los pulmones, sin lesiones tegumentarias, como del número tan elevado de casos fatales en los cuales se comprobaba patología pulmonar (4, 6, 10, 11,22, 26,54). Estos hechos, unidos a experiencias en animales de laboratorio (17, 79) indican que la infección primaria es pulmonar, y las demás lesiones, manifestaciones secundarias de la enfermedad (10, 11, 22, 53, 55, 60, 77, 78. 80. 81).

Con estas bases, adicionadas del factor distribución etaria, se ha propuesto el siguiente modelo de patogénesis (53): A partir de su habitat natural -muy posiblemente el suelo (39), el hongo alcanza el pulmón por vía inhalatoria. La forma inicial pulmonar es asintomática (ó al menos subclínica) y le permite al microorganismo acomodarse a las condiciones del tejido. Probablemente ocurre simultánea o posteriormente, una diseminación por linfáticos y sangre, también asintomática, que permite la colonización de tejidos cercanos o distantes, como lo demuestra la presencia de lesiones residuales en pulmón, adrenales y bazo, en personas que nunca tuvieron manifestaciones clínicas de la enfermedad (70).

Con el transcurso del tiempo y gracias a la intervención de una respuesta inmune adecuada, esta forma inicial se transforma en latente, que puede ser de larga duración y que es también asintomática. Tanto la forma pulmonar inicial como la forma latente, constituyen una categoría aparte, la paracoccidiodomicosis-infección (45, 46, 78).

La compleja interacción entre los factores del huésped-edad, sexo, capacidad inmune - (1), del parásito -virulencia - (16), y del ambiente

Tabla 1: Posible Fisiopatogenia de la Paracoccidioidomicosis *



* ADAPTADA DE LA REFERENCIA 53

-temperatura- (82), pueden alterar el balance propio de la paracoccidiodomicosis - infección, favoreciendo al parásito y produciéndose la la paracoccidiodomicosis enfermedad, sintomática y clínicamente manifiesta. En la enfermedad se distinguen 2 formas, a saber, la juvenil y la del adulto. En el primer caso, la infección pulmonar (posiblemente la forma inicial misma) se disemina con alguna rapidéz dando lugar a la forma progresiva aguda ó subaguda, características de los niños y de los jóvenes y en la cual fuera de la afección pulmonar (que puede pasar desapercibida), predomina el compromiso de los órganos del sistema retículo endotelial (4, 6, 52).

En los adultos y probablemente muchos años después de establecida la forma latente -tal como lo demuestran los casos diagnosticados en países no endémicos (1,3, 46)- el balance se rompe, el hongo se hace invasor y aparece la forma progresiva crónica. Esta, caracterizada por una lenta evolución, puede manifestarse por compromiso restringido al pulmón - forma pulmonar localizada- (6, 37, 53) ó por compromiso simultáneo del pulmón, los tegumentos, el sistema retículoendotelial las adrenales y cualquier otro órgano o sistema - forma pulmonar diseminada - (6,37,53).

Si el diagnóstico es verificado correctamente y el tratamiento específico conducido con resultados satisfactorios, cualquiera de las dos formas progresivas, juvenil ó del adulto, puede regresar dando la forma residual, temible por sus secuelas.

Existe una posibilidad no considerada en este esquema, a saber, la existencia de una forma inicial sintomática, la cual podría ocurrir poco después del contacto con el hongo y se manifestaría por afección respiratoria o de los tegumentos, dependiendo de si la puerta de entrada fué respiratoria o traumática. Hasta el presente, sin embargo las pruebas a favor de ésta forma son insuficientes (4, 54, 81).

La Tabla 1 presenta el modelo de fisiopatogenia propuesto. La anterior clasificación de las formas clínicas (53), que data de 1976, es apenas una de las muchas existentes (4-6, 37, 77, 81). Cabe anotar que ella presenta muchas semejanzas con la sugerida por Londero et al. (81), aparecida en el mismo año muy probablemente, la fisiopatogenia y la designación de las formas clínicas, evolucionen a medida que se aumenten los conocimientos sobre los factores que han impedido la comprensión del problema , a saber, habitat del agente y período de latencia (3).

**Interacción
Huésped,
Parásito,
Ambiente**

Varias de las peculiaridades de la paracoccidiodomicosis - distribución por sexo, severidad de la afección en los jóvenes - indican que el balance entre el huésped y el parásito es precario. El por qué hombres y mujeres se infectan en la misma proporción (42-44),- manifestándose la enfermedad con mayor frecuencia en los varones (4, 5, 20, 21), parece indicar una menor resistencia del sexo masculino. Lo anterior fué analizado por experimentos in vitro, encontrándose que las hormonas femeninas (estradiol y progesterona) exhiben un cierto poder inhibitorio sobre el crecimiento del hongo, que no tienen la testosterona, ni el colesterol (83). Sin embargo, las concentraciones necesarias para demostrar la inhibición son muchísimo mayores de las que existen en el humano, por lo cual no puede

explicarse la diferencia en sexos con esta sola base.

Experimentos en ratones hembras y machos, gonadectomizados y normales, revelaron que las hembras normales son más resistentes que los machos normales y que los animales de ambos sexos, una vez gonadectomizados, son menos susceptibles a la infección que el respectivo animal normal (84). Lo anterior indica que algún factor ligado al sexo juega papel importante. En reciente estudio, éste aspecto fué examinado inmunológicamente, también en ratones, demostrándose que la inmunidad mediada por células es más activa en las hembras que en los machos.

En efecto, pruebas tales como la intradermorreacción con paracoccidioidina y la producción del factor inhibidor de la migración (MIF), fueron más intensas y más regularmente inducibles en las hembras (85). Las reacciones fueron mayores si la inoculación se hacía con células vivas. Esta evidencia experimental sugiere que, probablemente, las diferencias observadas en el sexo de los pacientes estén relacionadas con la respuesta celular mediada por linfocitos T. El número limitado de casos clínicamente manifiestos en mujeres, hace difícil la realización de estudios orientados en éste sentido, los cuales aclararían las dudas. Es igualmente probable que la mayor severidad de la afección en los niños y jóvenes - en los cuales no hay diferencias por sexo- obedezca a una inadecuada relación hormonal - inmune en la época prepuberal (55).

Con respecto a factores inmunológicos que inciden en la enfermedad, varios grupos de pacientes han sido analizados. Ante todo, se ha demostrado que los pacientes no tienen ninguna incapacidad para la producción de anticuerpos, detectándose en ellos niveles normales, inclusive altos, de las varias inmunoglobulinas séricas (54, 86, 87). La inmunoglobulina G (IgG) se encuentra elevada al momento del diagnóstico, especialmente durante el primer año después de iniciados los síntomas; por el contrario los niveles de inmunoglobulina A (IgA) y M (IgM) son normales. Lo anterior demuestra que la enfermedad no está relacionada con deficiencias en la inmunidad humoral. Estudios sobre la capacidad fagocitaria de los leucocitos periféricos provenientes de pacientes con enfermedad activa, revelaron que tales células son capaces de realizar normalmente su función, llegando hasta la destrucción intracelular del microorganismo. La presencia del suero del paciente durante la reacción favorece tanto el proceso fagocitario como el lítico (88). Es pues evidente que no existe falla en la capacidad de las células fagocitarias que deben interactuar con el agente infeccioso en primer término. Además, en el tejido, la observación de fagocitosis por células mononucleares y gigantes y la formación misma del granuloma-estructura histológica de carácter defensivo (4, 6) - tienden a indicar que a nivel celular, un cierto número de los pacientes tienen también elementos celulares protectores.

Si bien los mecanismos anteriores son normales, se han descrito fallas en varias otras funciones del sistema defensivo celular. Musatti et al. (89) en un grupo de pacientes sintomáticos y teniendo como parámetros la hipersensibilidad cutánea retardada a antígenos

homólogos (paracoccidioidina), heterólogos (candidina, P. P.D.) así como a mitógenos inespecíficos (fitohemaglutinina, PHA), hallaron respuestas inadecuadas en casi el 50% de los pacientes. Igual porcentaje de casos resultó incapaz de sensibilizarse al dinitroclorobenceno (DNCB); además, la capacidad de los linfocitos para reaccionar al estímulo mitogénico de la PHA y para producir linfoquinas (MIF), se hallaron deficientes y estuvieron influenciadas por un componente del suero autólogo. Se demostró que existía una reducción significativa en el porcentaje de las células T (pero no de las B), lo cual en unión de los datos anteriores, indica depresión de las respuestas inmunes timo-dependientes. Sin embargo, los pacientes no presentaron un patrón de deficiencia uniforme, hallándose unos en los cuales la falla era mínima y otros que exhibían depresión marcada. Mok y Greer (90) utilizando métodos similares estudiaron otro grupo de pacientes, algunos de ellos por periodos de 1 año, y de controles sanos, no hallando deficiencias en la respuesta a la inyección cutánea de varios antígenos, lo cual difiere de los resultados del estudio anterior; sin embargo la mitad de los pacientes de este segundo estudio estaban ya asintomáticos. Por otra parte, se comprobó incapacidad para sensibilizarse con DNCB, así como deficiencias en la transformación blastogénica de los linfocitos en presencia de paracoccidioidina. El análisis de los pacientes asintomáticos y de aquellos estudiados en forma longitudinal, permitió correlacionar la mejoría clínica con la restauración de la capacidad inmune, antes deprimida (90).

Ello sugiere que la invasión por *P. brasiliensis* trae consigo una disminución de la respuesta celular inmune del huésped. Este hecho fué comprobado en investigación posterior (87) cuando se estudiaron varios procesos inmunes en 16 pacientes, antes y después de su tratamiento. La hipersensibilidad cutánea retardada inicialmente disminuida en comparación con controles, alcanzó límites normales para PHA, PPD y candidina aunque no para el antígeno homólogo, paracoccidioidina. Después de 6 meses de tratamiento, sin embargo, persistieron significativamente disminuidos tanto los linfocitos T, como la transformación blástica frente a PHA y paracoccidioidina. En el mismo estudio se demostraron anticuerpos contra *P. brasiliensis* en todos los pacientes, generalmente a título mayor antes de la terapia.

Podría postularse que si la inmunidad humoral es normal y la celular deficiente, la falta en el balance de las dos ramas del sistema inmune, la mediada por los linfocitos timo-dependientes de un lado y por los médula-dependientes del otro, explicarían algunas facetas de la paracoccidioidomycosis. Alteraciones graduales de esta descompensación podrían, tal vez, explicar la transformación de la infección subclínica en enfermedad aparente, así como la tendencia a la diseminación en ciertos pacientes. Es obvio que aún queda mucho por aprender sobre este tipo de interacción.

En cuanto al ambiente externo, el efecto que éste pudiera ejercer sobre el huésped y el parásito, no está aún muy claro. Evidentemente el hecho de vivir dentro de la "resérvarea" y de ejercer ciertas ocupaciones que permitan el contacto con el agente, son condiciones esenciales para la adquisición de la infección, pero

fuera de ello, parece existir una relación entre la temperatura ambiental y la evolución de la enfermedad. Repetidos experimentos conducidos por Mackinnon, revelaron que la enfermedad se autolimita si los animales se mantienen a 37°.C. mientras que, si la temperatura es de 9° .C. ó menos se presentan formas graves, evolutivas (80, 82). A temperaturas intermedias (14°-30° C), se observan formas benignas con tendencia a la afección de las regiones más frías del cuerpo (hocico, región genital, globo ocular). Estas lesiones desaparecen en corto plazo si el animal infectado es guardado luego a temperatura de 37° C. Es posible que las condiciones climáticas tengan importancia y hagan que la afección se manifieste con caracteres diferentes; sin embargo no es fácil extrapolar los datos experimentales a la enfermedad en el humano.

Tratamiento:

Si bien existen formas autolimitadas que evolucionan satisfactoriamente sin tratamiento, tales casos son la excepción y no la regla (4, 55, 70). La enfermedad tiende a evolucionar con compromiso gradual de los tejidos del huésped; por consiguiente, el adecuado manejo por medio de fármacos específicos es absolutamente necesario. Además y en vista de que una buena parte de los pacientes son campesinos que padecen anemia y desnutrición, deben instaurarse medidas terapéuticas de orden general, tendientes a la restauración de la normalidad fisiológica, tales como dieta adecuada, reposo, corrección de la anemia, etc. (91).

Hasta 1940 cuando Ribeiro (92) introdujo las sulfas, no existía tratamiento adecuado para la enfermedad, la cual tenía un curso casi siempre fatal. El efecto que ejercen los derivados sulfamídicos sobre el *P. brasiliensis* es notable, siendo la paracoccidiodomicosis la única micosis sistémica que puede tratarse en esta forma. Sin embargo, con este tipo de drogas la terapia debe ser prolongada por años. Otra droga que puede usarse con éxito es la anfotericina B. Ambas drogas son fungistáticas y por ello la respuesta defensora del huésped es indispensable para lograr el control del foco infeccioso.

a. Sulfonamidas: Pueden usarse los compuestos de tipo sulfadiazina o los de acción retardada como la sulfametoxipiridazina y la sulfadimetoxina. Las sulfonas no son efectivas. La sulfadiazina debe ser administrada en dosis de 3.0 a 6.0 grs. por día para el adulto y de 60 a 100 mgrs. kilo/día para los niños; dichas dosis deben darse en forma fraccionada cada 4 a 6 horas y sin cambios en la posología, hasta cuando el exámen clínico y los controles de laboratorio indiquen cierta mejoría. De aquí en adelante la dosis puede reducirse a la mitad. Los derivados de acción lenta son más fácilmente administrables y se suministran a menor cantidad, 1.0 a 2.0 grs. por día para el adulto durante las primeras 2 a 3 semanas, con reducción a 0.5 ó 1.0 grs. después de este tiempo, siempre y cuando los controles arriba indicados hayan sido satisfactorios. Con ambas drogas, el tratamiento debe prolongarse por periodos de 2 a 5 años, dependiendo de los resultados del seguimiento clínico, radiológico y serológico. Deben hacerse todos los esfuerzos del caso para convencer al paciente de la necesidad de continuar con las sulfas, aún si se encuentra mejor, ya que la interrupción del tratamiento suele acompañarse de recaídas

(4, 5, 78, 91, 93). El tratamiento sostenido puede causar problemas de función renal y pulmonar (65, 66, 91).

Con excepción de los pacientes que presentan intolerancia, las sulfas tienen poca toxicidad a pesar del uso prolongado. La aparición de cepas resistentes no es demasiado frecuente, pero el caso constituye un problema terapéutico. El bajo costo de la droga facilita el tratamiento prolongado.

Las sulfas son el tratamiento de elección en los pacientes no tratados anteriormente, en aquellos en los cuales las lesiones están relativamente localizadas y cuyo estado general no está muy deteriorado. Igualmente las sulfas deben emplearse como droga de sostén al terminar el tratamiento con anfotericina B.

Algunos informes señalan como efectiva la terapia con comprimidos de sulfametoxazol (400 mg.) y Trimetoprim (80 mg). Ciertas sulfas de acción extra-lenta (sulformetoxina) que se mostraron promisorias, fueron retiradas del mercado (27, 91, 93).

b. Anfotericina B: A pesar de las dificultades que acompañan al tratamiento con esta droga -necesidad de hospitalización, alto costo, toxicidad especialmente renal- ella debe emplearse en las formas generalizadas, o en pacientes que no responden bien o que son intolerantes a las sulfonamidas (54, 91, 93, 94).

La droga debe administrarse por infusión intravenosa lenta (6 a 10 horas), suspendida en suero glucosado al 5% y no en salino pues en éste se precipita. La dosis habitual es de 0.5 a 1.2 mg. /Kg. aplicación, iniciándose con dosis de 0.15 a 0.25 mg. /Kg. peso y subiendo paulatinamente sin exceder nunca la dosis de 1. 2mg./Kg. Las aplicaciones se hacen , generalmente, en días alternos, lo que no va en deterioro de la concentración plasmática de la droga. Winn (95) ha recomendado administrar la anfotericina alternando con una solución de suero glucosado al 5% que contenga 100 mgs. de clorhidrato de piridoxina, 500 mgs. de ácido ascórbico y 500 microgramos de vitamina B 12. Esto hace necesario el uso de un tubo en "Y", además de vigilancia periódica por parte de la enfermera; sin embargo este método más tedioso evita las reacciones secundarias (vómito, mareo, escalofrío y flebitis), y es mejor aceptado por el paciente. Se aconseja también suministrar 50 mg. de hidrocortisona a la suspensión de anfotericina o bien, dar el corticoide por vía oral (20 mg) antes de la infusión intravenosa (93, 94); también puede suministrarse un anti-histamínico. La toxicidad renal suele ser menos notoria si se administra manitol (12. 5 gr.) antes y después de la infusión (96).

En cuanto a la dosis total, ella varía de acuerdo al paciente, su respuesta al tratamiento y a las complicaciones que puedan surgir por efecto de la droga misma (97). Se han dado dosis que varían entre 800 y 8.000 mg. ;sin embargo, la dosis correcta es la mínima que logre producir un resultado máximo (93, 94). Es necesario efectuar controles periódicos de la función renal, con determinación de urea, depuración de creatinina y citoquímico de orina con el objeto de evitar una insuficiencia renal (94, 97). Una vez terminado el curso del tratamiento, debe darse terapia de mantenimiento con sulfas. De

considerarse necesario, puede repetirse el curso con anfotericina B (94).

Tanto la anfotericina B como las sulfas producen cicatrización de las lesiones tegumentarias en 2 a 5 semanas; las lesiones ganglionares requieren más tiempo, al igual que los signos radiológicos. La regresión total de las lesiones - posible en un 20 a 25% de los pacientes- puede tomar 6 a 8 meses (4, 23, 54).

El curso normalmente crónico de la paracoccidiodomicosis, el prolongado período de latencia (3-5, 54), unidos a la acción solamente fungistática de las drogas empleadas, hacen indispensable el control periódico, de los pacientes por largo tiempo. Para algunos autores la enfermedad no es totalmente curable y sólo el esfuerzo combinado del médico, el paciente y la terapia, logran mantener restringido el desarrollo del agente etiológico (78, 91, 93).

c. Otros medicamentos: Entre las varias drogas ensayadas en los últimos 5 años, sólo los derivados del imidazol (miconazole) se han mostrado promisorios. Ensayos clínico terapéuticos conducidos por grupos diferentes en Argentina, Brasil y Colombia (98 - 100) indican que este medicamento, no antibiótico, es efectivo sobre el *P. brasiliensis*. Aplicado por vía intravenosa solamente o en forma oral, los varios derivados del imidazol han producido apreciable mejoría en un 80 a 90% de los pacientes; las complicaciones de esta terapia son pocas y en ningún momento comparables a las de anfotericina B. La administración intravenosa mantiene niveles sanguíneos muy altos de la droga mientras que la oral sólo es absorbida en 25% (100). En algunos pacientes seguidos por varios meses después de finalizar el período de tratamiento (4 a 6 semanas), han ocurrido exacerbaciones del proceso micótico, lo cual sugiere la necesidad de prolongar la terapia. Ensayos in vitro indican que el *P. brasiliensis* es muy sensible a la droga necesitándose cantidades de 0.002 mcg/ml para alcanzar la concentración mínima inhibitoria (100). Si estos estudios continúan con éxito y si se logra obtener un producto más activo para administración oral, los derivados del imidazole podrían convertirse en el tratamiento de elección.

Pronóstico, Secuelas y Diagnóstico Diferencial :

El pronóstico depende, en gran parte, del estado del paciente al momento del diagnóstico. Los casos muy avanzados, así como las formas diseminadas del tipo juvenil, no responden bien. La mortalidad es, en estos casos del 10 a 15%. A ésta se agregan las muertes producidas posteriormente en las formas crónicas ó por las recaídas, para una cifra total de 20 a 25% de defunciones debidas a la paracoccidiodomicosis. Cerca de un 70% de los casos mejoran sustancialmente mientras que 5 a 10% no se benefician de la terapia y evolucionan hacia formas más severas. Las recaídas son de esperar en un 10 a 15% de los casos (4, 5, 25, 54, 72, 93).

Entre las secuelas como se mencionó anteriormente, la fibrosis pulmonar en sus varias etapas, - hasta llegar al corpulmonale-, es frecuente y casi puede decirse que todos los pacientes hacen algún grado de disnea después del tratamiento (6, 65, 66). Son también frecuentes la disfonía o afonía resultantes de la destrucción parcial o

total de las cuerdas vocales. La microstomía que ocurre más raramente y que se debe a la cicatrización con retracción de las lesiones de labios y del reborde cutáneo-mucoso, es molesta y suele requerir cirugía plástica. También deben mencionarse la estenosis de la glotis y de la tráquea como otras secuelas temibles de la enfermedad, las cuales con el cor pulmonale, aumentan la mortalidad. (4, 6, 65, 66, 72).

El polimorfismo de la paracoccidioidomicosis hace necesario considerar varias entidades en el momento de establecer el diagnóstico clínico. La tuberculosis es, indiscutiblemente, la entidad más frecuentemente considerada ya que simula la micosis en casi todos sus aspectos. En países como Colombia donde la tuberculosis constituye un problema de importancia, este es el primer diagnóstico en muchos pacientes con paracoccidioidomicosis e inclusive, algunos de ellos son tratados como tal (55, 101). La distinción entre ambas entidades puede, sin embargo, establecerse por medio del laboratorio. Vale la pena anotar que la asociación paracoccidioidomicosis - tuberculosis no es infrecuente, presentándose en 10 a 30% de los casos (6, 10, 11, 101).

Con alguna regularidad se consideran las siguientes entidades en el diagnóstico diferencial: histoplasmosis, leishmaniasis, enfermedad de Hodgkin, síndrome de Addison, síndrome de Hamman-Rich, leucemia y procesos neoplásicos (4, 6, 52, 54, 55, 72).

Pruebas Diagnósticas:

La paracoccidioidomicosis sólo puede ser diagnosticada con certeza por medio de exámenes de laboratorio.

Existen métodos directos que permiten la observación y el aislamiento del agente y métodos indirectos, con los cuales se mide la respuesta en anticuerpos o la capacidad inmune celular del paciente. Ambos tipos de métodos tienen aplicación definida. Debe advertirse que los contactos entre el médico tratante y el laboratorista son indispensables para interpretar más correctamente los estudios de laboratorio.

I. Métodos directos

1. Estudio histológico : Si el paciente tiene lesiones accesibles que permitan la biopsia, el estudio histológico revela el agente etiológico en 95% de los casos. Aunque en manos experimentadas la coloración de hematoxilina-eosina puede ser suficiente, se recomienda el uso de técnicas especiales para hongos, tal como la coloración de Gomori (plata metenamina); ésta no sólo permite la observación de la gemación múltiple sino que facilita el hallazgo de las estructuras micóticas por su mejor contraste. La diferencia en el tamaño de las células, las varias formas (células únicas; en pequeñas cadenas; células con solo 1 ó 2 gemas; blastosporos sueltos pequeños; y células colapsadas), sugieren *P. brasiliensis*, pero la gemación múltiple debe buscarse con cuidado para establecer el diagnóstico definitivo. En veces, el polimorfismo hace pensar en otros agentes etiológicos como *H. capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* y *Blastomyces dermatitidis*. El estudio histológico permite, además, determinar la reacción tisular (granulomas, lesiones difusas, número de microorganismos, fagocitosis), lo cual tiene también importancia (6, 10, 11, 58).

2. Examen directo: Pueden examinarse en fresco, entre lámina y laminilla y adicionando KOH (10 a 20%), muestras tales como raspado

de lesiones cutáneas, exudados, materiales purulentos, esputos, lavados bronquiales, material obtenido por broncoscopia, biopsias, líquidos orgánicos, etc. En el caso de las muestras mucosas, se aconseja seleccionar las partículas purulentas o sanguinolentas (102) o bien, licuar el material por medio de pancreatina (103); las muestras líquidas deben centrifugarse, empleando el sedimento; las biopsias deben triturarse en mortero, con un poco de suero salino estéril. Generalmente, el *P. brasiliensis* es fácilmente distinguible al microscopio (10 y 40X) ya que: su doble pared y su refringencia atraen la atención del observador. Aquí -como en el caso de los estudios histológicos- es indispensable la observación de la gemación múltiple, anotándose también la misma diversidad de formas y tamaños. Una observación cuidadosa y el estudio de varias muestras (especialmente si se trata de esputos), permite establecer un diagnóstico en el 85% de los casos. Debe advertirse que el *P. brasiliensis* no se tiñe con el Gram, ni con el Wright, por lo cual estas coloraciones no tienen valor. Puede, eso sí, teñirse un extendido por el método de Gomori (4, 5, 54, 102).

3. Cultivos: Son importantes puesto que el aislamiento del hongo comprueba la actividad del proceso. Desafortunadamente no es posible obtener cultivos positivos en todos los casos, ni aún con las mejores técnicas. Utilizando muestras seriadas y empleando una batería de medios de cultivo, el aislamiento se logra sólo en el 80 a 85% de los casos. Las razones para esta falla son varias, pudiendo mencionarse el lento crecimiento del hongo, 20 a 30 días en su fase miceliar, presencia de flora normal o contaminante en las muestras procesadas, flora que crece más rápido que el *P. brasiliensis* y que al utilizar los elementos del sustrato, lo vuelven inadecuado para el desarrollo del hongo. Dentro de esta flora es notable la inhibición que ejercen las levaduras del género *Candida* (104). Es por ello que las muestras para cultivo deben ser procesadas rápidamente para evitar la proliferación de los contaminantes. En el caso de la afección respiratoria, las muestras de esputo deben ser siquiera 3 (preferible 5), recogidas en la mañana al levantarse y previo aseo oral cuidadoso; no es aconsejable obtener muestra de 24 horas; además, se debe instruir al paciente sobre la forma de obtener esputos ya que muchas veces la falla diagnóstica está en que se recojen saliva o secreciones nasales (102).

En el laboratorio y como en el caso de los exámenes directos, las muestras mucosas deben licuarse y luego centrifugarse para sembrar todo el sedimento; de nuevo se recomienda la pancreatina (103) ya que otros agentes mucolíticos tienen acción inhibitoria sobre el hongo (105). Si esto no puede hacerse, deben seleccionarse partículas purulentas o sanguinolentas. Se deben centrifugar las muestras líquidas y homogenizar las biopsias. El proceso debe ser lo más aséptico posible para evitar la contaminación de la muestra y de los medios de cultivo.

Es recomendable sembrar varios medios simultáneamente, lo cual aumenta el porcentaje de aislamiento; los mejores medios son el agar Sabouraud dextrosa modificado, con antibióticos (gentamicina o cloranfenicol) 0.05 mg/ml y antimicótico (cicloheximida 0.5 mg/ml)* y el agar extracto de

* Mycocele agar, BBL - Cockeysville, Maryland, U.S.A.

levadura adicionado de estas mismas sustancias (104); ambos cultivos para la incubación a temperatura del laboratorio. Para la incubación a 35 - 37°C., suelen emplearse medios ricos como el agar infusión de corazón (BHI), el agar tripticasa soya -con o sin sangre - pero sin antibiótico ni cicloheximida (102). Para incubación a temperatura ambiente es preferible utilizar cajas de Petri (debidamente selladas para evitar la evaporación), ya que las colonias sospechosas pueden separarse de los contaminantes más fácilmente que si se usan tubos de ensayo. Bajo estas condiciones, los cultivos deben guardarse por 4 a 5 semanas, con observaciones periódicas y cualquier colonia sospechosa debe transferirse a un nuevo medio para incubación a 35°-37°C., puesto que sólo la fase-levaduriforme del hongo es diagnóstica. En el evento, poco frecuente, de un estado fungémico se pueden hacer hemocultivos en caldo tripticasa soya, incubando a 35 - 37° C. (4, 5, 102, 104).

4. Inoculaciones: No son pruebas de rutina, sin embargo, ellas permiten el aislamiento del hongo a partir de muestras contaminadas. Pueden inocularse curies, ratones o crisetos por la ruta intratesticular o intraperitoneal. Después de 2 a 4 semanas de observación, los animales son sacrificados y sus viseras (hígado, bazo, pulmones, testículos) triturados asépticamente y cultivados en los medios regulares (4, 102). Este método requiere entre 6 a 8 semanas.

II. Métodos indirectos:

Actualmente los métodos indirectos tales como las pruebas serológicas, son de gran importancia no solo para el establecimiento del diagnóstico sino también para el seguimiento del paciente. En ocasiones, las pruebas serológicas concentran la sospecha diagnóstica en la micosis y señalan la necesidad de buscar el agente en muestras clínicas. Puesto que es muy raro encontrar anticuerpos circulantes en personas sanas, inclusive en las que viven en el área endémica, el valor de las pruebas serológicas aumenta (106, 107).

1. Pruebas serológicas: a.- La fijación del complemento (FC), fué la primera practicada y por consiguiente, la que ha sido evaluada más extensamente. A pesar de la complejidad técnica, que limita su uso, la prueba es de gran valor y su carácter cuantitativo la hace muy útil. Al momento del diagnóstico un 85 a 95% de los pacientes tienen anticuerpos detectables a títulos relativamente altos, 1:32 a 1:512 (42). Mientras más alto el título es más significativo. Igualmente, los títulos elevados se correlacionan con un proceso severo, salvo en las formas-diseminadas del tipo juvenil, en las cuales las reacciones son bajas o aún negativas (42, 106).

Durante el curso del tratamiento y especialmente en los primeros seis meses, los títulos deben disminuir significativamente si hay mejoría; es frecuente observar títulos persistentes medianos o bajos (1:16 a 1:64) por períodos de 5 a 8 años, lo que se conoce como "cicatriz serológica" (42). Desde el punto de vista pronóstico, alzas apreciables (3 a 4 diluciones como mínimo) en los anticuerpos así como títulos fluctuantes, indican falta de respuesta a la terapia. Es factible relacionar los períodos de remisión con alzas en los anticuerpos. Se considera de mal pronóstico el caso con serologías positivas e intradermoreacción negativa (107). Sin embargo, cada

paciente debe ser considerado individualmente. Una de las pocas desventajas de esta prueba radica en las reacciones cruzadas que se presentan con otras micosis, especialmente con histoplasmosis; también los pacientes con paracoccidioidomicosis reaccionan con antígenos derivados del *H. capsulatum*. Por ello, una prueba positiva no necesariamente indica paracoccidioidomicosis, siendo necesarios los métodos directos u otros procesos serológicos para establecer la etiología del proceso. Debe anotarse que no hay reacciones falsas positivas con infecciones bacterianas, como la tuberculosis.

La prueba de fijación del complemento puede realizarse con una diversidad de antígenos, siendo más comunes los extractos polisacáridos o los filtrados de cultivo de cualquiera de las fases del hongo (42, 106, 107). Los anticuerpos que reaccionan en la prueba son IgG ó IgA (86, 107), las técnicas para la realización de la prueba también pueden variar, recomendándose la sugerida por la Organización Panamericana de la Salud, que hace uso del 50% de hemolisis (108). Es absolutamente indispensable que la prueba sea realizada por un laboratorista debidamente entrenado y que la efectúe con regularidad.

b. Reacción de precipitación en tubo. Más empleada en el Brasil que en otros países del área endémica (42), ésta prueba tiene la ventaja de ser positiva en las formas incipientes de la enfermedad, cuando aún los anticuerpos fijadores del complemento no son demostrables. En igual forma, la prueba se negativiza más rápidamente que los restantes por lo cual el porcentaje de positividad es un poco más bajo en pacientes con menos de un año de evolución (70 a 80%); las cifras decrecen a medida que aumenta dicha evolución.

La prueba es más sensible que la FC en la detección de las recaídas. Se utiliza un antígeno polisacárido derivado de la fase levadura; es probable que el anticuerpo reactivo sea del tipo IgM.

c. Inmunodifusión en gel de agar (ID): A pesar de su sencillez técnica, esta prueba rinde excelentes resultados ya que detecta 90 a 95% de los casos (106, 109, 110). Varias líneas de precipitado han sido descritas y 3 de ellas caracterizadas, a saber: la banda 1 (localizada más céntrica del depósito del antígeno) se presenta en 95 a 98% de los pacientes; la banda 2 (colocada detrás de la 1) se detecta en 60 a 65.5% y la banda 3 (formada más cerca del depósito del suero) se encuentra sólo en 30 a 35% de los casos. Las dos primeras bandas son específicas para la paracoccidioidomicosis. La banda 3, por el contrario, no es específica siendo similar a una de las bandas (M) detectadas en la histoplasmosis (109). La presencia de varias bandas es característica de las formas severas y coincide con títulos altos de anticuerpos en la FC. Se ha demostrado que la ID es altamente específica (110). A medida que se avanza con el tratamiento desaparecen las bandas, si bien lentamente; al cabo de 1 año, 85% de los casos conservan aún la banda 1 y de haber existido al comienzo las restantes bandas, ellas habrían desaparecido en mayor proporción. Dado que la banda más frecuente, la 1, persiste por períodos prolongados (algunas veces por 5 años o más) no posee el

valor pronóstico de la FC. Sin embargo, si se toma el cuidado de hacer la ID cuantitativa, diluyendo el suero, el título inicial disminuye con el transcurso del tratamiento. Durante las recaídas, las bandas pueden aumentar en número o reaparecer. La prueba emplea un antígeno filtrado de la fase levadura; los anticuerpos reactivos son del tipo IgG (54, 86, 107). No existe correlación entre las precipitinas detectadas con la prueba en tubo y las de la ID (42). Con respecto a la técnica empleada, el lector interesado puede consultar las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (111).

El uso simultáneo de las pruebas de FC e ID, permite detección de anticuerpos en un 98% de los pacientes. Se aconseja emplear ambas en el seguimiento, no solo para apreciar la respuesta al tratamiento sino también para prever las recaídas antes de que se observen nuevamente las manifestaciones clínicas (110, 112). Cuando estas pruebas realizadas con 3 a 6 meses de intervalo y en 3 oportunidades consecutivas, sean negativas o revelan títulos y bandas estacionarias y cuando, paralelamente, los exámenes clínicos y radiológicos demuestren mejoría, puede interrumpirse el tratamiento. Se aconseja observar al paciente por lo menos durante un año después de suspender la terapia (42, 106, 107, 109).

d. Inmunolectroforesis (IEP) y contrainmunolectroforesis - inmunodifusión (CIEP): utilizando el antígeno recomendado por Yárbabal (113), la IEP demuestra varios arcos de precipitado, cerca de 20, uno de los cuales localizado en el cátodo y designado E, es específico para la paracoccidioidomicosis. Dicho arco específico puede también detectarse con la CIEP, técnica que permite el establecimiento del diagnóstico en pocas horas (114). Ambas pruebas son confiables para el diagnóstico inicial; su valor en el seguimiento de los pacientes está aún en estudio. Debe mencionarse que debido a la sensibilidad de la IEP y al tipo de antígeno empleado, las reacciones cruzadas con otras enfermedades micóticas son más frecuentes que en las otras pruebas.

e. Otras pruebas: Se ha empleado también la inmunofluorescencia directa e indirecta, la primera tiene por objeto el demostrar la presencia de *P. brasiliensis* en tejidos o exudados (115, 116); aunque tiene valor, la técnica requiere un conjugado específico difícil de obtener, quedando restringido su uso. La fluorescencia indirecta aunque muy sensible, es también menos específica que las demás pruebas y da un cierto número de reacciones falsas positivas (117). Sin embargo, la prueba es bastante útil bajo ciertas condiciones (118).

f. Conservación de las muestras para estudios serológicos: Es posible remitir por correo muestras de suero para estudio. Ello permite que se beneficien pacientes alejados de los centros de diagnóstico. Para obtener los mejores resultados deben seguirse estas indicaciones: el paciente se debe sangrar en ayunas, tomando una cantidad de 10 a 15cc; la recolección de la sangre y la separación del suero deben hacerse en forma aséptica; se debe adicionar al suero mertiolate al 1: 10.000 para evitar la contaminación bacteriana. De ser posible, es preferible preparar una solución tamponada a base de

borato de Sodio (1.4 gr.) y mertiolate blanco, en polvo (1.0 gr.). Una décima de esta solución es suficiente para preservar 8 a 10cc. de suero. No es necesario refrigerar la muestra si está preservada y su entrega puede hacerse en un plazo hasta de 5 días. El frasco (o tubo) que contiene el suero debe tener tapa ajustada para evitar que la muestra se derrame, y debe sellarse con parafina o esparadrapo. Todo suero debe ir claramente marcado (nombre paciente, fecha recolección, médico tratante o Institución). Es conveniente remitir por separado los datos esenciales sobre el paciente así como la sospecha clínica y los resultados (biopsias, cultivos) que den alguna orientación sobre el caso. La cooperación del médico en este sentido hace más racional la interpretación de los datos serológicos.

2. Pruebas intradérmicas: El valor diagnóstico de la prueba cutánea con paracoccidiodina es bastante limitado por las siguientes razones: 1) un porcentaje bastante alto de los pacientes (30 a 50%) dan pruebas negativas, especialmente aquellos con formas severas y en mal estado general; 2) aún si la prueba es positiva ella indica solamente contacto anterior, no precisamente actual, con el agente; 3) existen reacciones cruzadas de importancia (20 a 30%) con histoplasmina y probablemente también con otros antígenos micóticos, debido a la presencia de antígenos comunes entre los agentes etiológicos de las varias micosis sistémicas (43, 51, 90, 119, -122). Por el contrario y como lo demuestran varios estudios (87, 119, 120), la prueba tiende a volverse positiva durante el curso del tratamiento, indicando un mejor pronóstico. Por esto la prueba cutánea tiene su aplicación en el estudio del paciente con paracoccidiodomicosis comprobada. Sin embargo, la mayor utilidad de la prueba reside en la detección de casos subclínicos (paracoccidiodomicosis-infección) y en la determinación de las zonas de endemia, pues si se emplean simultáneamente otras pruebas (histoplasmina, coccidiodina) que permitan descartar las reacciones cruzadas y se elaboran curvas (histogramas) apropiadas, es posible definir el porcentaje de pruebas específicas y por ende, el número de individuos que tuvieron contacto anterior con *P. brasiliensis* (43, 44, 51). Para las pruebas cutáneas se utilizan varios tipos de antígenos (extractos polisacáridos, fracciones precipitadas con etanol, material citoplásmico), obtenidos de cualquiera de las dos fases del hongo. De acuerdo con estudios comparativos realizados recientemente (122), el antígeno polisacárido de Fava Netto (42) tiene mayor actividad que la fracción precipitada con etanol de Restrepo y Schneidau (123). Actualmente el antígeno citoplásmico de Negroni (124) parece ser superior a los anteriores.

La lectura de las pruebas debe hacerse, de preferencia, a las 24 horas, aceptando como positiva una reacción de 5m.m. ó más de induración. Las reacciones mayores de 10 mm. son, por lo general, más específicas y significantes (43, 120; 122).

Como se desprende de los comentarios anteriores, no existe un antígeno estandar de ninguna de las dos fases del hongo. Ello crea dificultades en la interpretación de los datos tanto en las pruebas serológicas como en las cutáneas. Sería altamente deseable obtener una

preparación igual, de actividad conocida, que permitiera la normalización de todas las pruebas diagnósticas.

Es probable que la variedad de antígenos que se utilizan actualmente obedezca al hecho de que el *P. brasiliensis* es un microorganismo bastante complejo. Cuando se comparan varias cepas en la fase miceliar por medio de filtrados de cultivo se encuentran compuestos antigénicos similares en la mayoría; en la fase levadura, la heterogeneidad es la regla aunque siguen existiendo fracciones comunes entre las varias cepas. Igualmente, el micelio y la levadura se entrecruzan (125). Utilizando antígenos derivados de las células mismas y mezclas de células filtradas de cultivo de la fase miceliar, Yáñez y colaboradores encontraron una multiplicidad de antígenos, muchos de ellos comunes para *H. capsulatum*, *H. duboisii* y *B. dermatitidis* (126). El problema de las reacciones cruzadas que impiden un diagnóstico serológico específico (127), es de especial importancia si se considera que en nuestro país la paracoccidioidomycosis y la histoplasmosis se presentan simultáneamente en ciertas áreas. Los refinamientos en la producción y separación de los antígenos, han fallado en revelar productos libres de antígenos comunes; así, estudios recientes con derivados de las paredes celulares (galactomananos) de los hongos mencionados anteriormente, son llamativamente similares (128).

Hasta el momento, uno de los antígenos comunes a la fase miceliar separado por electroforesis, el antígeno E de Yáñez et al. (129, 131), se ha mostrado específico para *P. brasiliensis*. Estudios, aún en proceso, por medio de procedimientos inmunológicos refinados han permitido purificar tal antígeno en sus componentes y demostrar la presencia de una actividad enzimática (fosfatasa alcalina). La purificación de éste antígeno (129-131) abre grandes posibilidades para futuros estudios inmunológicos.

Exámenes Generales de Laboratorio

Algunos exámenes generales son de utilidad en los pacientes con paracoccidioidomycosis. Se recomienda hacer hemograma completo durante los varios períodos del estudio; son de anotar la presencia de anemia, aumento de la velocidad de la sedimentación y leucocitosis, con predominio de polimorfonucleares. Si van a usarse las sulfas, es necesario un control periódico de orina para detectar cristaluria, hematuria y presencia de albúmina. En el caso del tratamiento con anfotericina, deben practicarse pruebas de función renal y hepática. Dependiendo del tipo de compromiso exhibido por el paciente, deberá recurrirse a otras pruebas (4, 5, 54).

Angela Restrepo

Bibliografía

- 1.- Restrepo, A., Greer, D. L. and Vasconcellos, M. : Paracoccidiodomycosis. A review. *Rev.Med. Vet. Mycol.* 8:97-123, 1973.
- 2.- Mendez-Lemaitre, A. : Blastomicosis Suramericana y otras micosis en Colombia . *Rev. Hosp. Samaritana (Bogotá)*: 1:3-20, 1.950.
- 3.- Greer, L. D. y Restrepo, A. : La epidemiología de la paracoccidiodomycosis. *Bol. Of. San. Panam.* 82:428-445, 1.977.
- 4.- Negroni, P.: Blastomicosis Sudamericana, en *Micosis Profundas*. Vol. 3, Las Blastomicosis y Coccidiodomycosis. Comisión de Investigación Científica, Provincia de Buenos Aires, La Plata, 1.966.
- 5.- Lacaz, C. S. : Paracoccidiodomycosis, en *Micología Médica*. 5a. Edición, Sarvier Editora, Sao Paulo, 1.973.
- 6.- Angulo-Ortega, A. and Pollak, L. Paracoccidiodomycosis, in *the Pathologic Anatomy of the Mycoses. Human Infections With Fungi Actinomycetes and Algae*. R. D. Baker, Ed., Springer Verlag, Berlin, pp.507-576, 1.970.
- 7.- Vieira, C. R., de Mattos, M. C. F. and Fujimore, C: Scanning electron microscopy of *P. brasiliensis*. *Mycopathol.* 54:235-251, 1974.
- 8.- Restrepo. A. A reappraisal of the microscopical appearance of the mycelial phase of *P. brasiliensis*. *Sabouraudia* 8:141-144, 1970
- 9.- Pollak, L. . Aleuriospores of *P. brasiliensis*. *Mycopathol.* 45:217-219, 1.971.
- 10.- Brass, K. : Observaciones sobre la anatomía patológica, patogénesis y evolución de la paracoccidiodomycosis. *Mycopathol.* 37:119-128, 1.969.
- 11.- Salfelder, K., Doehnert, G and Doehnert, H. R. Paracoccidiodomycosis. Anatomic study with complete autopsies. *Virchows Arch. Patholog. Anat.* 348:51-76, 1.969.
- 12.- Kanetsuna, F. and Carbonell, L. M. : Cell wall glucans of the yeast and mycelial forms of *P. brasiliensis*. *J. Bacteriol.* 101:675-680, 1970.
- 13.- Kanetsuna, F., Carbonell, L. M., Azuma, I. et al. : Biochemical studies on the thermal dimorphism of *P. brasiliensis*. *J. Bacteriol.* 110:208-218, 1972.
- 14.- San Blas, G., San Blas, F. and Serrano, L. E. : Host parasite relationships in the yeast-like form of *P. brasiliensis* Strain IVICPb9. *Inf. Imm.* 15: 343-346, 1.977.
- 15.- San Blas, G. and San Blas, F. : *P. brasiliensis*: Cell wall structure and virulence. A Review. *Micopathol.* 62: 77-86. 1.977.
- 16.- Linares, L. and Fiedman, L. : Experimental paracoccidiodomycosis in mice. *Inf. Imm.* 5: 681-687, 1972.
- 17.- Restrepo, A. y Guzmán, G.: Paracoccidiodomycosis experimental del ratón producida por vía aerógena. *Sabouradia*. 14: 299-311, 1-976
- 18.- Carbonell, L. M.: Ultraestructure *P. brasiliensis* in culture. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidiodomycosis PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 21-28, 1972.
- 19.- Furtado, J. S., de Brito, T. and Freymuller, E.: The structure and reproduction of *P. brasiliensis* in human tissue. *Sabouradia* 5: 226-229, 1967.
- 20.- Mackinnon, J. E.: Geographical distribution and prevalence of paracoccidiodomycosis. *Proc. Panam. Symp. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 42-45, 1972.
- 21.- Londero, A. T.: Epidemiología da paracoccidiodomycose. *Ars Curandi. (Rev. Terap. Med. Brasil)* 7: 14-24, 1975.
- 22.- Londero, A. T. and Ramos, C. D. : Paracoccidiodomycosis. A clinical and mycological study of 41 cases observed in Sta. Maria, RS Brazil. *Am. J. Med.* 52: 771-775, 1972.
- 23.- Machado Filho, J. e Miranda, J. L.: Considerações relativas a blastomicose Sul Americana. Da participação pulmonar entre 338 casos consecutivos. *Hospital (Rio)* 58: 431-449, 1960.
- 24.- Restrepo, A. y Espinal, L. S. : Algunas consideraciones ecológicas sobre la paracoccidiodomycosis. *Antioquia Mes.* 18: 433-446, 1568.

- 25.- Saravia, J., Rocha, H. y Argüello, M.: Aspectos clínicos y de laboratorio de la blastomicosis suramericana Rev. Fac. Med. Univ. Nal. Colombia 33: 189-204, 1965.
- 26.- Restrepo, A., Robledo, M., Gutiérrez, F. et al.: Paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis). A study of 39 cases observed in Medellín, Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 19: 68-76, 1970.
- 27.- Bouza, E., Wiston, D. J., Rhodes, J. et al.: Paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis) in the United States. Chest 72: 100-102, 1977.
- 28.- Murray, H. W., Littman, M. L. and Roberts, R. B. Disseminated paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis) in the United States. Am. J. Med. 56: 209-220, 1974.
- 29.- Balabanov, K., Balabanoff, V. A. et Angelov, N. : Blastomycose Sudamericaine chez un laboureur bulgare revenue depuis 30 ans du Brésil. Mycopathol. 21: 265-270, 1974.
- 30.- Lythcott, C.I. and Edgcomb, J.H.: The occurrence of South American blastomycosis in Accra, Ghana. Lancet 1: 916-918, 1964.
- 31.- Borelli, D.: Concepto de reservárea. La reducida reservárea de la paracoccidioidomycosis. Dermatol. Venez. 4: 71-77, 1964.
- 32.- Borelli, D.: Algunos aspectos ecológicos de la paracoccidioidomycosis. Rev. Dermatol. Venez. 13: 1190-1200, 1971.
- 33.- Restrepo, A., Greer, D. L. and Moneada, L. H. : Relationship between the environment and paracoccidioidomycosis. Proc. Panam. Symp. PAHO Scient. Public. No. 254, pp. 84-91, 1972.
- 34.- Londero, A. T., Ramos, C. D. López, J. O. et al.: "Reservárea" da paracoccidioidomycose no Rio Grande do Sul, Brasil. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 14: 377-380, 1972.
- 35.- Restrepo, A., Moncada, L. H. and Quintero, M. Effect of hydrogen ion concentration and temperature on the in vitro growth of *P. brasiliensis* in soil extracts. Sabouraudia 7: 207-215, 1969.
- 36.- Conti-Dias, I.A., Mackinnon, J. E. and Furcolow, M. L.: Effect of drying on *P. brasiliensis*. Sabouraudia 9: 69-78, 1971.
- 37.- Porto, J. A. e Silva, J. R.: Micose de Lutz (blastomicose Sulamericana); considerares a proposito de manifestacao inicial e do comprometimiento visceral. J. Brasil. Med. 6: 192-203, 1962.
- 38.- Negroni, P.: Estudios sobre la ecología del *P. brasiliensis* en la Argentina. Tórax (Uruguay) 17: 60-62, 1968.
- 39.- Albornoz, M. B.: Isolation of *P. brasiliensis* from rural soil in Venezuela. Sabouraudia 9: 248-253, 1971.
- 40.- Gross, E. and Tamasitt, J. R.: *P. brasiliensis* recovered from the intestinal tract of 3 bats (*A. lituratus*) in Colombia, S. A. Sabouraudia 3: 124-125, 1965.
- 41.- Greer, D. L. and Bolaños, B. : Role of bats in the ecology of *P. brasiliensis*: the survival of *P. brasiliensis* in the intestinal tract of frugivorous bats (*A. Lituratus*). Sabouraudia 15: 273-282, 1977.
- 42.- Fava Netto, C.: Imunologia da paracoccidioidomycose. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 18: 42-53, 1976.
- 43.- Restrepo, A., Robledo, M., Ospina, S. et al.: Distribution of paracoccidioidin sensitivity in Colombia, Am. J. Trop. Med. Hyg. 17: 25-37, 1968.
- 44.- Albornoz, M. B.: Resultado de las encuestas epidemiológicas realizadas con paracoccidioidina en Venezuela. Castellania 3: 37-40, 1975.
- 45.- Lacaz, C. J., Passos Filho, M. C. R Fava Netto, C. et al.: Contribução para o estudo da blastomicose infeccão: estudo serológico e clínico-radiológico dos paracoccidioidin positivos. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 1: 245-259, 1959.
- 46.- Mackinnon, J.E.: On the importance of South American Blastomycosis. Mycopathol. 41: 187-193, 1970.

- 47.- Costa, E. O., Fava- Netto, C: Contribution to the epidemiology of paracoccidioidomycosis and histoplasmosis in the State of Sao Paulo, Brasil. Paracoccidioidin and histoplasmin intradermic tests in domestic animals. *Sabouraudia* 16: 93-102, 1978.
- 48.- Moss, E. N., Fava Netto, C., Saliba, A. M. et al.: Contribucao ao estudo de paracoccidioidomicose. I. Possivel papel epidemiológico dos caes. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 16: 154-159, 1974.
- 49.- Gutiérrez, A., Ceballos, G., Ferrer, H. I. et al.: Encuesta sobre tuberculosis, histoplasmosis y paracoccidioidomicosis en ganado vacuno del Valle de Aburra. *Antioquia Med.* 24: 339-358, 1974.
- 50.- Fava-Netto, C., Martins Castro, R., Padilla Goncalves, A. et al.: Ocorrencia familiar de blastomicose sulamericana. A propósito de 14 casos. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 7: 332-536, 1965.
- 51.- Greer, D. L., D' Acosta, D. and Agredo, L.: Dermal sensitivity to paracoccidioidin and histoplasmin in family members of patients with paracoccidioidomycosis. *J. Trop. Med. Hyg.* 23: 87-98, 1974.
- 52.- Martins Castro, R. e del Negro, G. : Particularidades clínicas de paracoccidioidomicose na criança. *Rev. Hosp. Clinic. (Brasil)* 31: 194-198, 1976.
- 53.- Giraldo, R., Restrepo, A., Gutiérrez, F. et al.: Pathogenesis of paracoccidioidomycosis. A model based in the study of 46 patients. *Mycopathol.* 58: 63-70, 1976.
- 54.- Negroni, R.: Observaciones personales sobre la Micosis de Lutz (Blastomicosis Sudamericana) en la Argentina. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires, 1968.
- 55.- Restrepo, A., Robledo, M., Giraldo, R. et al.: The gamut of Paracoccidioidomycosis. *Am. J. Med.* 61: 33-42, 1976.
- 56.- Sampaio, S. A.: Clinical manifestations of paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254.* pp. 101-108, 1972.
- 57.- Padilha-Gonvalves, A.: Adenopathy in paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254,* 1972.
58. Robledo, M.: Paracoccidioidomycosis. Some clinical pathological and therapeutic considerations. *Proc. Internal. Symp. Mycoses. PAHO Scient. Publ. No. 205,* pp. 235-141, 1970.
- 59.- Saravia, J., Restrepo, M., Toro, G. et al.: Paracoccidioidomicosis del sistema nervioso central. *Rev. Fac. Med. Univ. Nal. Colombia* 39: 27-37, 1973.
- 60.- Londero, A. T., Ramos, C. D. and Lopes, J. O. S.: Progressive Pulmonary paracoccidioidomycosis. A Study of 34 cases observed in Rio Grande do Sul, Brazil. *Mycopath.* 63: 53-56, 1978.
- 61.- Gutiérrez, F.: Aspectos radiológicos de la paracoccidioidomicosis. *Antioquia Med.* 19: 681-693, 1969.
- 62.- Gutiérrez, F.: Radiological follow-up in 5 cases of paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254,* pp. 182-188, 1372.
- 63.- Hernández, H.: Clinical and radiological aspects of paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. 254,* pp. 176-181, 1972.
- 64.- Chamorro, C, Argüello, A. y Sánchez, T. J.: Blastomicosis suramericana en pulmones. *Acta. Med. Valle* 3: 50-54, 1972.
- 65.- Machado-Filho, J., Miranda, J. L. e Teixeira, G.: Sequelas de blastomicose sudamericana. *Hospital (Rio)* 68: 1347-1355, 1965.
66. McClure, E., Paes, L. e Lemos, C.: Alteracoes pulmonares na micose de Lutz apos tratamento pela sulfa. *Hospital (Rio)* 56: 741-746, 1959.

- 67.- Lemle, A., Viera, L. O., Milward, G. et al.: Lung function studies in pulmonary South American Blastomycosis. Correlation with clinical and roentgenologic findings. *Am. J. Med.* 48: 434-442, 1970.
- 68.- Velez L. A., Restrepo, J. y Londoño, F.: Función pulmonar en Paracoccidioomicosis: estudio en 20 casos. *Antioquia Med.* 20: 339-349, 1970.
- 69.- Rego, A. P., Bethlem, N., Rocha, A. G. et al.: Cintigrafía pulmonar na blastomycose Suramericana. *J. Pneumology (Brasil)* 2: 38-40, 1976.
- 70.- Angulo-Ortega, A.: Calcifications in paracoccidioomicosis. Are they the morphological manifestations of subclinical infections? *Proc. Pan. Symp. Paracoccidioomicosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 129-133, 1972.
- 71.- Díaz, O.: Paracoccidioomicosis con manifestación genital y perineal. Informe de 1 caso. *Antioquia Med.* 25: 65-69, 1975.
- 72.- Negro, G.: Aspectos clínicos da paracoccidomicose. *Ars Curandi (Rev. Terap. Med.)* 7: 30-37, 1975.
- 73.- Marsiglia, F. and Pinto, J.: Adrenal cortical insufficiency associated with Paracoccidioomicosis (South American Blastomycosis). *Clin. Endocrinol. Metab.* 26: 1109-1115, 1966.
- 74.- Robledo, M.: Disseminated paracoccidioomicosis with arteritis. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioomicosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 139-141, 1972.
- 75.- Furtado, T.: Mechanism of infection in South American Blastomycosis. *Dermatol. Trop.* 2: 27-32; 1963.
- 76.- Martins Castro, R., Cuce, L., Fava Netto, C. Paracoccidioomicose inoculação accidental in "anima nobili". Relato del caso. *Med. Cut. Ibero-Latinoam.* 4: 289-292, 1975.
- 77.- González Ochoa, A.: Clasificación clínica de las micosis. *Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. (Mexico)* 16: 1-8. 1956.
- 78.- Negroni, P. y Negroni, R. : Nuestra experiencia de la blastomycosis sudamericana en la Argentina. *Mycopathol.* 26: 264-272, 1965.
- 79.- Mackinnon, J. E.: Blastomycosis sudamericana experimental evolutiva por vía pulmonar. *An. Fac. Med. Montevideo* 44: 355-358, 1959.
- 80.- Mackinnon, J. E. Actualización sobre la patogenia de la blastomycosis Sudamericana. *Tórax (Uruguay)* 17: 40-45, 1968.
- 81.- Londero, A. T., Ramos, C. D. e Lopez, J. O.: Paracoccidioomicose: classificação das formas clínicas. *Rev. Uruguay Patol. Clin. Microbiol.* 14: 3-9, 1976.
- 82.- Mackinnon, J. E.: The effect of temperature on the deep mycoses. In *Systemic mycosis. C. E. W. Wolstenholme and R. Porter, Editores, J. A. Churchill, London*, pp. 164-166, 1968.
- 83.- Muchmore, H., Mc Kwon, G. and Mohr, J. A.: Effect of steroid Hormones on the growth of *P. brasiliensis*. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioomicosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 300-304, 1972.
- 84.- Giraldo, R. R.: Experimental paracoccidioomicosis in mice. Influence of sex on the infection. Dissertation for the Master's Degree in Clinical Medicine. London School Hygiene & Tropical Medicine. 1975.
- 85.- Montoya, F.: Paracoccidioomicosis experimental: relación entre sexo, hipersensibilidad retardada e inhibición de la migración, Tesis de grado, título Máster en Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, 1978.
- 86.- Correa, A. y Giraldo, R.: Cuantificación e identificación de las inmunoglobulinas en la paracoccidioomicosis. *Antioquia Med.* 24: 13-25, 1974.
- 87.- Restrepo, A., Restrepo, M., Restrepo, F. et al.: Immune responses in paracoccidioomicosis. A controlled study of 16 patients before and after treatment. *Sabouraudia* 16: 151-163, 1978.
- 88.- Restrepo, A. y Vélez, H.: Efectos de la fagocitosis in vitro sobre el *P. brasiliensis*. *Sabouraudia* 13: 10-21, 1975.

- 89.- Musatti, C. C., Rezkallah, M. T., Mendes, E. et al.: In vivo and in vitro evaluation of cell-mediated immunity in patients with paracoccidioidomycosis. *Cellular Immunol.* 24: 365-378, 1976.
- 90.- Mok, P. W. Y. and Greer, D. L.: Cell-mediated immune responses in patients with paracoccidioidomycosis. *Clin. Exp. Immunol.* 28: 89-98, 1977.
- 91.- Negroni, P.: Prolonged therapy for paracoccidioidomycosis. Approaches, complications and risks. *Proc. Panam Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 147-155, 1972.
- 92.- Ribeiro, D. O.: Nova terapéutica para o blastomicose. *Publicaciones Médicas* 12: 36-54, 1940.
- 93.- Negro, G.: Tratamento de paracoccidioidomicose. *Ars Curandi (Rev. Terap. Med. Brasil)* 7: 38-44, 1975.
- 94.- Dillon, N. L.: Tratamento da paracoccidioidomicose pela anfotericina B. Avaliação de 119 doentes num período de 14 años. Teses doutoramento, Fac. Med. Univ. São Paulo, Brasil, 1972.
- 95.- Winn, W. A.: The use of amphotericin B in the treatment of coccidioidal disease. *Am. J. Med.* 27: 617-635, 1959.
- 96.- Olivero, J. J. Lozano, J. Mendes, E., Chafary, M. et al.: Mitigation of amphotericin B nephrotoxicity by mannitol. *Brit. Med. J.* 936:550-551, 1975.
- 97.- Bindschadler, D. D. and Bennett, J. E.: A pharmacological guide to the clinical use of amphotericin B. *J. Inf. Dis.* 120: 427-436, 1969.
- 98.- Negroni, R., Rubinstein, P., Herrmann, A. et al.: Results of miconazole therapy in 28 patients with paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis). *Proc. Roy. Soc. Med.* 70 (suppl. 1): 24-28, 1977.
- 99.- Lima, N. S., Teixeira, G. Miranda, J. et al.: Treatment of South American Blastomycosis (Paracoccidioidomycosis) with miconazole by the oral route. An ongoing study. *Proc. Roy. Soc. Med.* 70 (Suppl. 1): 35-39, 1977.
- 100.- Stevens, D. A., Restrepo, A., Cortés, A. et al.: Paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis). Treatment with miconazole. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, en prensa, 1978.
- 101.- Gómez, I.: Asociación paracoccidioidomycosis - tuberculosis. Estudio de 13 casos. *Antioquia Med.*, en prensa, 1978.
- 102.- Pollak, L.: Mycological diagnosis of paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. Para coccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 193-196, 1972.
- 103.- Haley, L.: *Diagnostic medical mycology.* Appleton Century Crofts, New York, 1964.
- 104.- Restrepo, A. and Correa, I. : Comparison of 2 culture media for primary isolation of *P. brasiliensis* from sputum samples. *Sabouraudia* 10: 260-265, 1972.
- 105.- Reep, B. and Kaplan, W.: The use of N-acetyl- cysteine and dithiothreitol to process sputa for mycological and F. A. examinations. *Health Lab. Sc.* 9: 118-124, 1972.
- 106.- Restrepo, A. and Moncada, L. H. : Serologic procedures in the diagnosis of paracoccidioidomycosis. *Proc. Intern. Symp. Mycoses. PAHO Scient. Publ. No. 205*, pp. 101-110, 1970.
- 107.- Negroni, R.: Serologic reactions in paracoccidioidomycosis. *Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254*, pp. 203-208, 1972.
- 108.- Kaufman, L., Huppert, M., Fava Netto, C. et al.: Manual of standarized serodiagnostic procedures for systemic mycoses. Part II, complement fixation tests. PAHO. Washington, D. C. 1974.
- 109.- Restrepo, A. and Moncada, L. H. : Characterization of the precipitin bands detected in the immunodiffusion test for Paracoccidioidomycosis. *Appl. Microbiol.* 28: 138-144, 1974.
- 110.- Albornoz, M.: Paracoccidioidomycosis. Estudio clínico e inmunológico en 40 pacientes. *Arch. Hosp. Vargas (Caracas)* 18: 5-22, 1976.

- 111.- Kaufman, L., Huppert, M. Fava-Netto, C. et al.: Manual of standardized serodiagnostic procedures for systemic mycoses. Part I. Agar gel immunodiffusion tests. PAHO, Washington, D. C. 1972.
- 112.- Ferreira López, C. e Fava - Netto, C.: Controle serológico no tratamento de blastomicose Sul-americana por sulfamida administrada una vez por semana. Hospital (Rio) 70: 299-308, 1966.
- 113.- Yáñez, L.: Anticuerpos precipitantes específicos de la blastomicosis sudamericana revelados por inmunoelectroforesis. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 13: 320-327, 1971.
- 114.- Conti - Díaz, I. A., Somma Moreiya, R. E., Gezuele, E., et al.: Immunoelectrophoresis-immunodiffusion in paracoccidioidomycosis. Sabouraudia 11: 39-41, 1973.
- 115.- Silva, M. E. and Kaplan, W.: Specific fluorescein-labeled antiglobulins for the yeast phase form of *P. brasiliensis*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 14: 290-294, 1965.
- 116.- Kaplan, W.: Application of immunofluorescence to the diagnosis of paracoccidioidomycosis. Proc. Panam Symp. Paracoccidioidomycosis PAHO Scient. Publ. No. 254, pp. 224-226, 1972.
- 117.- Restrepo, A. and Moncada, L. H.: Indirect fluorescent antibody and quantitative agar gel immunodiffusion tests for the serological diagnosis of paracoccidioidomycosis. Appl. Microbiol. 24: 132-137, 1972.
- 118.- Franco, M. F., Fava Netto, C. e Chamma, L.G.: Reação de imuno-fluorescencia indirecta para o diagnostico serológico da blastomicose Sulamericana S. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 15: 393-398, 1973.
- 119.- Negroni, R. y Robles, A. M.: El valor pronóstico de la prueba cutánea en paracoccidioidomycosis. Med. Cut. Ibero-latinoam. 6: 453-458, 1974.
- 120.- Conti - Díaz, I.: Skin tests with paracoccidioidomycosis and their importance. Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO. Scient. Publ. No. 254, pp. 197-202, 1972.
- 121.- Schneidau, J. D.: A cooperative study of cross-reactivity among fungal skin-test antigens in tropical Latin America. Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis. PAHO Scient. Publ. No. 254, pp. 233-238. 1972.
- 122.- Fava Netto, C, Guerra, M. A. G. e da Costa, E.O.: Contribuição ao estudo immunologico da paracoccidioidomycose. Reações intradérmicas em pacientes con 2 antigenos homólogos e 2 heterólogos. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 18: 186-190, 1976.
- 123.- Restrepo, A. and Schneidau, J. D.: Nature of the Skin Test reactive principle in culture filtrates prepared from *P. brasiliensis*. J. Bact. 93: 1741-1748, 1967.
- 124.- Negroni, R., de Elias Costa, M. R. I., Bianchi, O. et al.: Preparación y estudio de un antígeno celular de *P. brasiliensis* útil para pruebas cutáneas. Sabouraudia 14: 265-273. 1970.
- 125.- Restrepo, A.: Serological comparison of the morphological phases of *P. brasiliensis*. Inf. Imm. 2: 268-273, 1970.
- 126.- Yáñez, L. A., Torres J. A., Josef, M. et al.: Antigenic mosaic of *P. brasiliensis*. Proc. Panam. Symp. Paracoccidioidomycosis PAHO Scient. Publ. No. 254, pp. 239-244, 1972.
- 127.- Negroni, R., de Florez, C. A. y Robles, A. M.: Estudio de las reacciones serológicas cruzadas entre antígenos de *P. brasiliensis* y *H. capsulatum*. Rev. Asoc. Argentina Micol. 8: 68-73, 1976.
- 128.- Azuma, L., Kanetsuma, F. Tanaka, Y. et al.: Clinical and immunological properties of galacto-mannans obtained from *H. duboisii*, *H. capsulatum*, *P. brasiliensis* and *B. dermatitidis*. Mycopathol. 54: 111-125, 1974.

- 129.- Yáñezabal, L. A., Andrieu, S., Bart, B. et al.: Isolation of a specific antigen with alkaline phosphatase activity from soluble extracts of *P. brasiliensis*. *Sabouraudia* 14: 275-280, 1976.
- 130.- Yáñezabal, L. A., Bout, D., Naquira, F. et al.: Identification and purification of the specific antigen of *P. brasiliensis*, responsible for immunoelectrophoretic band E. *Sabouraudia* 15:79-80,1977.
- 131.- Yáñezabal, L. A., Albornoz, M., Cabral, M. and Santiago, A. R.: Specific double diffusion microtechnique for the diagnosis of aspergillosis and paracoccidioidomycosis using monospecific antisera. *Sabouraudia* 16: 55-62, 1978.