

Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist

III. Estudio micológico comparativo de las cepas argentinas y norteamericanas.

Por P. NEGRONI

En trabajos anteriores (1 y 2) nos hemos ocupado del micelio vegetativo y de fructificación del *Coccidioides immitis*, describiendo algunos caracteres nuevos, del estudio micológico de tres cepas autóctonas y efectuamos una revisión de los casos clínicos observados hasta el presente en nuestro país.

En esta oportunidad abordamos el estudio comparativo de las cepas argentinas y norteamericanas con el objeto de investigar si existen o no diferencias en los caracteres morfológicos y fisiológicos.

Cepas estudiadas (sus números son los correspondientes a los de la micoteca del Instituto Bacteriológico "Malbrán").

- Nº 691 : Procedente del "Department of Agriculture" de Washington (año 1929) con la nota: Chicago, laboratorio de Miss Church.
- Nº 692 : Procedente del "Department of Agriculture" de Washington (Bureau of Animal Industry) aislada por Gillman del vacuno.
- Nº 694 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro (año 1921) con la nota: Blastomycosis?, Chicago. Dr. Ota.
- Nº 695 : Aislada del líquido céfalo-raquídeo de un caso argentino de coccidioidomicosis metastásica. Instituto Bacteriológico "Malbrán". Buenos Aires.
- Nº 696 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro con la nota: Cepa Conant 819, "Duke University, U. S. A."
- Nº 696,1 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro con la nota: Cepa Conant 794, "Duke University, U. S. A."
- Nº 696,2 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro con la nota: Cepa Conant 800, "Duke University, U. S. A."
- Nº 696,3 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro con la nota: Cepa Conant 798, "Duke University, U. S. A."
- Nº 696,4 : Procedente del "Instituto Osvaldo Cruz" de Río de Janeiro con la nota: Cepa Conant 799, "Duke University, U. S. A."
- Nº 696,5 : Aislada del material extraído de lesiones óseas de un caso argentino de coccidioidomicosis metastásica (Inst. Baet. "Malbrán", Buenos Aires).
- Nº 1751 : Aislada del pus de abscesos metastásicos de un caso argentino de coccidioidomicosis (Instituto Bacteriológico "Malbrán", Buenos Aires).

Presentado en la reunión de comunicaciones del 13 de julio de 1948.

TÉCNICA UTILIZADA

Describimos los *caracteres macro-morfológicos* de las colonias gigantes en agar-sangre de conejo al 5 % incubando los cultivos a la temperatura óptima para su crecimiento que está en la vecindad de los 30°C. y la pigmentación del micelio en el medio de Baker y Smith ⁽³⁾ adicionado de 1 % de diferentes sustancias grasas. Anotamos, también, los caracteres de los cultivos en otros medios sólidos y líquidos.

Caracteres micromorfológicos: Fueron estudiados en preparaciones obtenidas por disociación del material extraído de los cultivos en medios sólidos y líquidos, en los cultivos por adhesión y en gota pendiente y también examinando cada 24 horas un bloque del medio sólido de Stanford (Smith, Ch. E., 1943) sembrado con papilla, entre porta y cubre objeto montando con líquido de Guéguen.

Esta técnica ya fué utilizada por Orskov, J. ⁽⁵⁾ en el estudio de los *Actinomyces* y se procede en la forma siguiente: el material de un cultivo se reduce a papilla mediante una detenida molienda en un mortero esterilizado y con el asa cargada se siembran 8 a 10 sectores de una caja de Petri trazando una serie de estrías radialmente dispuesta.

Caracteres fisiológicos: El material de las diferentes cepas mencionadas fué obtenido de la capa miceliana desarrollada en el medio sintético utilizado en el "Bureau of Animal Industry, U. S. A." para la preparación de la tuberculina, ligeramente modificado, distribuido en frascos de Povitzky para cultivo en superficie. Al cabo de 20 días a 1 mes se extrajo la película, se la redujo a papilla por molienda y se lavó ese material por centrifugación con solución fisiológica, varias veces para eliminar los elementos del medio de cultivo. La temperatura óptima se determinó sembrando una partícula de este material en el centro de cajas de Petri conteniendo agar sangre e incubándolas a temperatura ambiente (25°C. aproximadamente) a 30° y 37°C. Para el estudio de la acción sobre las diferentes fuentes de C y de N utilizamos el medio de cultivo y las técnicas descriptas por Baker y Smith ⁽³⁾ anotando con cruces la extensión del desarrollo, índice del aprovechamiento en mayor o menor grado de la fuente en estudio. También empleamos el método auxanográfico de Beijerinck, sembrando con la papilla de cada cepa el medio fundido y a 45°C., marcando con lápiz el fondo de la caja de Petri una vez que el medio se ha solidificado y depositando en la base de cada sector la fuente de carbono o de nitrógeno en sustancia. Las cajas fueron incubadas a 30°C. con las tapas hacia arriba, efectuando la lectura del desarrollo cada 48 horas.

El estudio de los demás caracteres que aquí se mencionan no necesita comentario particular. En los Cuadros 1, 2 y 3 exponemos los resultados obtenidos.

Cepa 691: La colonia en agar sangre al cabo de cinco días a 30°C. mide 3 cm. de diámetro, la zona central es blanca y lanosa; la zona periférica plana casi lampiña. A temperatura ambiente (de 20 a 25°C.) la colonia tiene aproximadamente el mismo aspecto, salvo que presenta una orla de mechas entre ambas zonas. A 37°C. la colonia se presenta cubierta de un lanugo blanco y es hemizonada. En el medio de Baker y Smith adicionado de 1 % de diferentes grasas desarrolla un micelio aéreo abundante y blanco. El reverso de las colonias es incoloro salvo en el medio con aceite vegetal que tienen un tinte gamuza.

Cepa 692: La colonia en agar sangre al cabo de cinco días a 37°C. es circular, de bordes regulares y mide 3 cm. de diámetro. Presenta un pompón lanoso y blanco en el centro. El resto de la superficie es plano y cubierto de un lanugo grisáceo, presentando surcos poco profundos radialmente dispuestos. Este aspecto de la colonia se reproduce en los cultivos incubados a 37°C. A temperatura ambiente la superficie de la colonia presenta mechas.

En los medios con grasa: el mismo aspecto que el de la cepa 691.

Cepa 695: Colonia circular de 4,5 cm. de diámetro al cabo de cinco días de incubación a 30°C., es lanosa en toda la superficie y de un color blanco con un tinte verdoso. Por el reverso el micelio es hemizonado. La colonia presenta a 37°C. de incubación el mismo aspecto, salvo que es hemizonada por el anverso.

La colonia desarrollada a temperatura ambiente tiene un tinte verdoso y presenta un pompón lanoso en la parte central y un borde lampiño.

En los medios con grasa el micelio aéreo es abundante pero poco denso, como lanugo blanco tanto por el anverso como por el reverso.

Cepa 696: La colonia desarrollada en agar sangre a 30°C. tiene un aspecto muy semejante al descrito en la cepa 691, salvo el hecho de presentar algunas mechas en la superficie. A 37°C.: el mismo aspecto que el de la cepa 691.

A temperatura ambiente la colonia es hemizonada y presenta un pompón central blanco-amarillento y el resto de la superficie está cubierto de un lanugo blanco sucio.

En el medio sintético con 1 % de manteca y aceite vegetal la colonia tiene un pigmento pardo, es plana y con escaso micelio aéreo.

Cepa 696,1: La colonia desarrollada a 30°C. tiene el mismo aspecto que la de la cepa 695 con la diferencia que se esbozan en su superficie algunos surcos radialmente dispuestos. En el cultivo incubado

a 37°C. la colonia es hemizonada y presenta un sector de un tinte apenas diferente al del resto.

La colonia desarrollada a temperatura ambiente es lanosa con un pompón central blanco de micelio aéreo más abundante. Reverso: zonado.

En los medios con 1 % de grasa las colonias presentan el micelio aéreo bien desarrollado de un color blanco en el medio con manteca y ácido oleico, ceniza en el medio con aceite de olivas y pardo con grasa de cerdo. El reverso es también pardusco en los tres primeros.

Cepa 696,2: La colonia mide al cabo de cinco días de incubación a 30°C. unos 2 cm. de diámetro, es lanosa con algunas mechas en su superficie y de un color blanco sucio. Reverso: hemizonado. A 37°C. la colonia ofrece aproximadamente el mismo aspecto, es hemizonada y con algunos surcos radiados y un tinte amarillo verdoso en la zona central. A temperatura ambiente: colonia blanca y lanosa.

En los medios con 1 % de grasa esta cepa se comportó como la 696.

Cepa 696,3: La colonia desarrollada a 30°C. tiene al cabo de cinco días el mismo aspecto y dimensiones (unos 3 cm. de diámetro) que la de la cepa 692. A 37°C. la superficie de la colonia se presenta cubierta de un lanugo con mechas, pero al cabo de nueve días la colonia tiene 4 cm. de diámetro con una zona central lampiña y otra periférica lanosa con numerosos surcos radialmente dispuestos que le dan el aspecto de una escarapela. A temperatura ambiente la colonia tiene el mismo aspecto que el de la cepa 692.

En los medios con grasa el micelio aéreo es blanco, bien desarrollado en el medio con grasa de cerdo y escaso en los restantes. El reverso es ligeramente pardo o incoloro.

Cepa 696,4: La colonia en agar sangre tiene al cabo de cinco días de incubación a 30°C. un aspecto muy semejante al de la cepa anterior, es menos lanosa y de un tinte verdoso. A 37°C. y a temperatura ambiente reproduce los caracteres descritos en la cepa anterior; lo mismo acontece con las colonias desarrolladas en los medios con grasa.

Cepa 696,5: La colonia en agar sangre mide, al cabo de ocho días de incubación a 30°C., 4 cm. de diámetro. Es blanca, lanosa y hemizonada en los bordes. A la temperatura ambiente y a 37°C. las colonias presentan los caracteres descritos en la cepa 695, que se repiten en los medios con grasa.

Cepa 1751: El cultivo incubado a 30°C. presentó el desarrollo de dos colonias en contacto entre sí, midiendo 3,6 cm. de diámetro y cuyos caracteres eran muy semejantes a los de la cepa 696,4, salvo que era menos lanosa y no ofrecía el micelio hemizonado por el reverso. Como puede apreciarse en la Fig. 1 del trabajo anterior llama la atención la enorme reducción del micelio aéreo en la zona

de contacto de las colonias. A 37°C. la colonia es lanosa en toda la superficie y hemizonada. A la temperatura ambiente, la colonia presenta una zona central ligeramente verdosa con mechas y un borde periférico plano, casi lampiño. En los medios con grasa se desarrolla un micelio aéreo blanco e incoloro por el reverso.

Otros medios sólidos de cultivo: En agar glucosado casi todas las cepas se desarrollaron formando colonias que al cabo de nueve días de incubación a 25°C. tenían de 3,5 a 3,8 cm. de diámetro con micelio aéreo abundante, lanoso y blanco. La cepa 1751 formó en cambio una colonia lampiña, húmeda y brillante con mechas en el centro.

En agar miel de Sabouraud el desarrollo ofrecía los mismos caracteres, salvo que con menor intensidad y extensión, pues las colonias llegaron a medir de 2 a 2,8 cm. al cabo de nueve días de incubación a 25°C.

En el medio de Stanford las colonias llegan a medir 3,5 cm. de diámetro, aproximadamente, al cabo de nueve días a 25°C. y se cubren de un micelio aéreo blanco poco denso como un lanugo. La cepa 1751 se caracterizó, también, por su escasa formación de micelio aéreo.

En los medios líquidos: En el medio utilizado en el "Bureau of Animal Industry" para la producción de tuberculina y en caldo glucosado forman una película gruesa, húmeda y brillante con micelio aéreo escaso o nulo.

En el medio de Stanford la película es blanca y provista de micelio aéreo.

Caracteres micro-morfológicos: Todas las cepas mencionadas más arriba presentaron en los cultivos los mismos caracteres microscópicos cuyo estudio fué publicado en un trabajo anterior.⁽¹⁾

En los cultivos en agar miel de Sabouraud no observamos la formación de entosporos al cabo de nueve días de incubación a 25°C. En agar glucosado la formación de entosporos fué escasa e irregular, siendo en cambio, óptima en los medios minerales como el de Czapek y el de Stanford. La cepa 1751 formó en estos dos últimos medios de cultivo poco micelio aéreo y entosporos. En el Cuadro 3 exponemos la capacidad de formar entosporos en los medios con grasa por las cepas en estudio. En el medio con 1 % de ácido oleico, las cepas 696 y 696,1 produjeron hifas espiraladas cuyo mecanismo de formación nos proponemos estudiar. Es probable que este fenómeno esté en relación con la formación de órganos nodulares que conducen a la de esclerotes rudimentarios en los medios con grasa y que el ácido oleico se comporte aquí como el "curling factor" de Brian, Curtis y Homming⁽⁶⁾. Los filamentos de los órganos nodulares, pueden sufrir una transformación en clamidosporos como puede notarse en la Fig. 2.

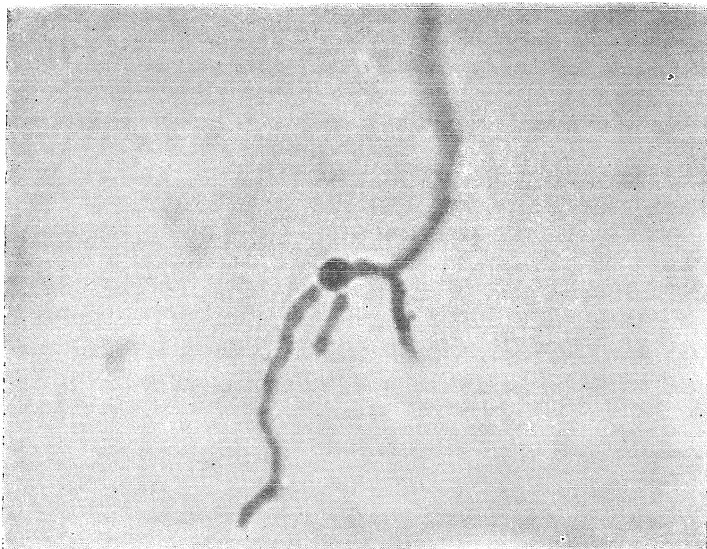


FIG. 1. — Germinación de un entosporo del *Coccidioides immitis* al cabo de 4 días de incubación a 25°

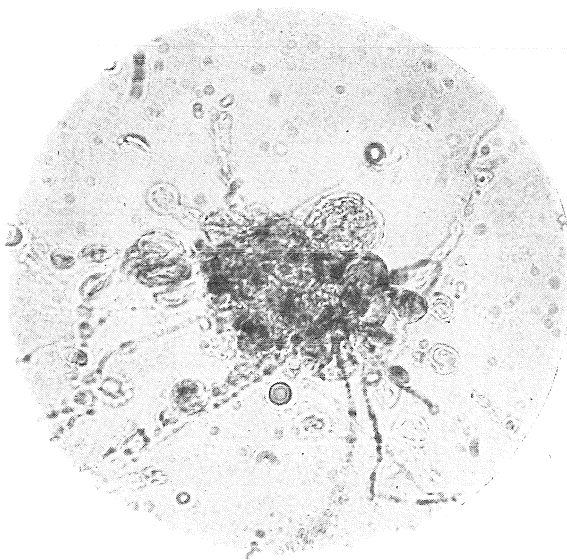


FIG. 2. — Desarrollo de abundantes clamidosporos en los órganos nodulares (esclerotes rudimentarios) del *C. immitis* desarrollado en los medios con grasa.



FIG. 3. — Entosporos y filamentos espiralados del *C. immitis* en los medios con grasa.

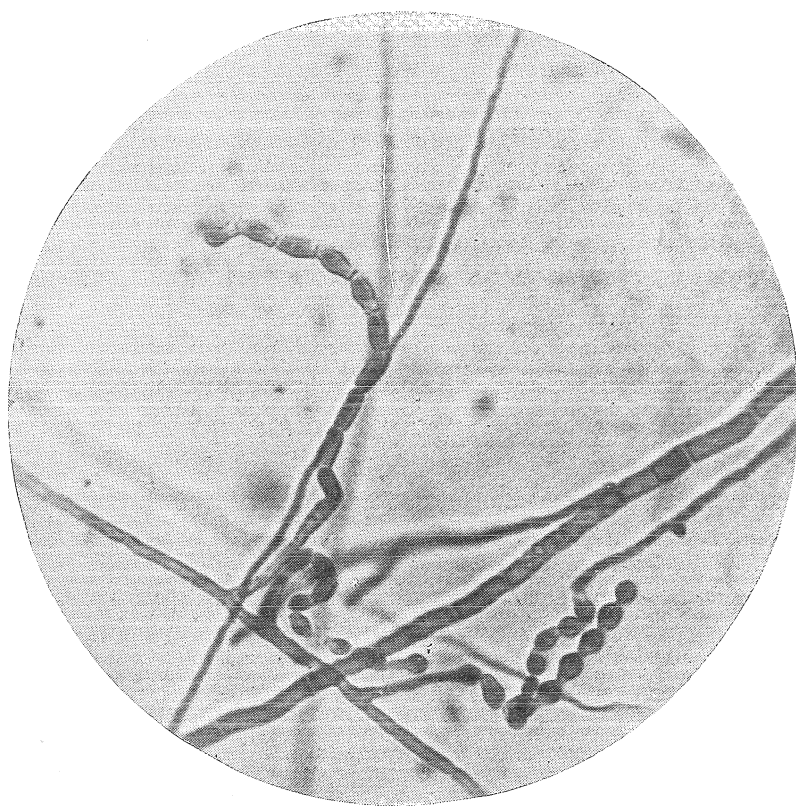


FIG. 4. --- Aspecto microscópico de la cepa 694 (*Scopulariopsis*).

Caracteres fisiológicos: Como puede apreciarse en los Cuadros 1, 2 y 3 todas las cepas de *Coccidioides immitis*, presentaron con pocas variantes las mismas propiedades fisiológicas.

ESTUDIO ESPECIAL DE LA CEPA 694

Caracteres macro-morfológicos: La colonia en agar sangre al cabo de nueve días de incubación a la temperatura de 30°C. mide 1,8 cm. de diámetro, es lanosa y blanca. A 37°C. el desarrollo es casi nulo.

En agar miel la colonia mide al cabo de 17 días de incubación a 25°C. 3,5 cm. de diámetro y presenta una zona central de un color blanco sucio, vellosa y elevada. La zona periférica es casi lampiña, vermicular con pliegues ramificados orientados radialmente. El borde de la colonia es plano y liso. Reverso: incoloro y plegado.

Agar-glucosado: colonia de 8 cm. de diámetro al cabo de 17 días a 25°C. de incubación de superficie vellosa, blanca y zonada. Reverso: incoloro y plegado en el centro.

Czapek-Dox: colonia de 7 cm. (17 días a 25°C.) con una zona central plana y pulverulenta y otra periférica aracnoidea. El color de la colonia es blanco y presenta un sector lampiño.

Caracteres micro-morfológicos: El micelio vegetativo es hialino, ramificado y tabicado de un diámetro muy variable desde 0,80 hasta 4,68 μ . Forma clamidosporos y micelio en raqueta y en los medios con grasa órganos nodulares que evolucionan hacia esclerotes rudimentarios cargados a veces de clamidosporos.

El micelio de fructificación consiste en la producción de esporoforos simples o dispuestos en verticilos, más estrechos en el extremo por donde originan una cadeneta de esporos generalmente piriformes con una base truncada y cuyas dimensiones medias oscilan, según los medios de cultivo, de 6,43 a 7,60 x 4,09 a 4,68 μ .

Como puede apreciarse en la Fig. 4 la fructificación conidial es del tipo *Scopulariopsis*. Las conidias son lisas, hialinas y de membrana gruesa y germinan por la emisión de 1 ó 2 tubos, con frecuencia a nivel de la faceta plana.

Caracteres fisiológicos: Están expuestos en los Cuadros 1, 2 y 3 en donde podemos notar que difieren marcadamente de los de las auténticas cepas de *C. immitis*.

Entre sus caracteres más salientes mencionaremos la temperatura óptima de crecimiento a 20°C. la utilización marcada de la ramnosa, de los disacaridos, particularmente de la lactosa, del glicerol, citrato y tartrato de sodio y la del nitrato de potasio entre las fuentes nitrogenadas. Coagula la leche sin digerirla y carece casi de acción proteolítica sobre el suero de caballo coagulado.

CUAD
UTILIZACIÓN DE LAS

CEPAS NÚMERO	Ram- nosa	Glucosa	Levu- losa	Manosa	Mal- tosa	Lactosa	Saca- rosa	Treha- losa	Rafi- nosa	Inulina
691	+	++++	++++	++++	+	±	±	++	+	+
692	+	++	++++	++++	0	0	0	++	+	0
694	+++	+	+	+	++	+++	±	++	+	+
695	+	++++	++++	++++	+	±	±	++++	+	+
696	+	++++	++++	++++	+	±	±	++	+	±
696,1	+	++++	++	++++	+	+	+	++	+	+
696,2	+	++	++	++	+	+	+	++	+	+
696,3	+	++++	++	++++	0	0	0	++	++	+
696,4	+	++++	++++	++++	±	±	±	++	+	+
696,5	+	++++	+	++++	+	0	+	++	+	+
1751	+	++++	++	++	0	0	0	++	+	±

CUAD
UTILIZACIÓN DE

CEPAS NÚMERO	Peptona	Asparagina	Histidina	Urea	CNH ₄	SO ₄ (NH ₄) ₂
691	++++	+++++	+	+++	++	++
692	++	+++	+	+	+	+
694	++++	++++	++	+++	+	+
695	++++	+++	+	+++	+++	++++
696	+	+++	+	+++	+++	++++
696,1	++++	+++	+++	+++	+++	+++
696,2	+	++	+	+	+	+
696,3	++++	+++	+++	+++	+++	+++
696,4	+++	+++	+++	+++	+++	+++
696,5	++++	+++	++	+++	++	+++
1751	++++	+++	+	++	++	++

Explicación de los signos: C: coagulación. D: digestión.

CUAD
ACCIÓN SOBRE

CEPAS Número	GRASA DE CERDO				MANTECA			
	Anverso	Reverso	Mic. aéreo	Entosporos	Anverso	Reverso	Mic. aéreo	Entosporos
691	Blanco	Incoloro	++	+++	Blanco	Incoloro	++	++++
692	Blanco	Incoloro	++	+	Blanco	Incoloro	++	+
694	Blanco	Incoloro	+	+++	Blanco	Incoloro	+	+++
695	Blanco	Incoloro	++	+	Blanco	Incoloro	++	++
696	No se desarrolló				Pardo	Pardo	±	0
696,1	Pardo	Pardo	++	+	Blanco	Lig. pardo	+	±
696,2	Pardo	Pardo	±	+	Pardo	Pardo	+	+
696,3	Blanco	Lig. pardo	++	+++	Blanco	Incoloro	+	++
696,4	Blanco	Lig. pardo	++	+++	Blanco	Incoloro	+	+
696,5	Blanco	Incoloro	++	+++	Blanco	Incoloro	+++	+++
1751	Blanco	Incoloro	+	0	Blanco	Incoloro	++	+

RO 1

FUENTES DE CARBONO

Dex- trina	Almidón	Celulosa	Arabitol	Etanol	Glicerol	Manitol	Sorbitol	Acetato de Na.	Citrato de Na.	Oxalato de Na.	Tartrato de Na.
++	+	++	+	++	+	+	++	+++	±	0	±
+	+	±	+	0	0	+	+	++	±	0	0
++	++	±	++	+	+++	+++	++	+++	+++	+	+++
++	+	±	+	+	+	+	+	+++	0	±	±
++	+	0	+	+	+	+	+	+++	0	0	0
++	++	+	+	+	++	+	+	++	0	0	±
++	++	0	+	+	+	+	+	++	+	0	0
++	++	±	+	+	+	+	++	+++	0	0	0
±	±	0	±	++	+	+	+	+++	0	0	±
++	++	±	+	+	+	+	+	+++	+	±	±
+	+	±	±	+	±	+	++	+++	0	±	±

RO 2

LAS FUENTES DE N.

NO ₃ K	Leche	Suero coagulado	SH ₂	Reduc. de nitrato	Indol	Acet. met. carbinol	Hemolisina	Temp. óptima
+	D+++	++	0	0	0	0	±	30°
+	D++	0	0	0	0	0	++	30°
+++	C	±	0	0	0	0	++	20°
+	D+	++	0	0	0	0	±	30°
++	0	++	0	0	0	0	+	30°
+	±	++	0	0	0	0	+	30°
+	0	++	0	0	0	0	++	30°-37°
+	D+++	+	0	0	0	0	++	30°
+	0	++	0	0	0	0	+	30°-37°
++	CD++	++	0	0	0	0	0	30°
++	0	+	0	0	0	0	+	30°

RO 3

LAS GRASAS

ÁCIDO OLÉICO				ACEITE DE OLIVA			
Anverso	Reverso	Mic. aéreo	Entosporos	Anverso	Reverso	Mic. aéreo	Entosporos
Blanco	Incoloro	++	+	Blanco	Lig. gamuza	+++	+++
Blanco	Incoloro	±	0	Blanco	Lig. pardo	+	++
Blanco	Incoloro	±	0	Blanco	Incoloro	+	+++
Blanco	Incoloro	+	++	Blanco	Incoloro	++	++
Blanco	Incoloro	+	0	Pardo	Pardooscuro	±	0
Blanco	Incoloro	+	0	Ceniza	Pardo	+	0
	No se desarrolló			Pardo	Pardo	±	0
Blanco	Incoloro	±	0	Blanco	Lig. pardo	+	0
Blanco	Incoloro	±	0	Blanco	Incoloro	+	+
Blanco	Incoloro	++	0	Blanco	Incoloro	+++	++
Blanco	Incoloro	+	0	Blanco	Incoloro	±	0

CUADRO 4

COBAYO NÚMERO	Cepa inoculada	Tiempo de evolución	COCCIDIOIDINA "SMITH"			COCCIDIOIDINA "NEGRONI"		
			1/10	1/100	1/1000	1/10	1/100	1/1000
10	692	5½ meses	+	0	0	+	0	0
2	692	4½ meses	0	0	0	0	0	0
17	696	4½ meses	0	0	0	0	0	0
30	696,1	4½ meses	++	+	+	+++N	++PN	+
20	696,2	4½ meses	++	+	0	++	+	0
22	696,5	2 meses	++	+	±	+++	+	±

CUADRO 5

COBAYO NÚMERO	Cepa inocu- lada	Tiempo de evolución	COCCIDIOIDINA MONOVALENTES DILUIDAS AL 1/10, PREPARADAS CON LAS CEPAS SIGUIENTES								
			691	692	694	695	696	696,1	696,2	696,3	696,4
69	691	2 meses	+++ N	+++ N	0	+++ N	++	++	++	++	++
10	692	1½ mes	++	+++ N	0	++	++	++	++	++	+++ N
95	694	1½ mes	++	++	+++ N	±	++	++	++	±	+++ N
57	694	4½ meses	+		0	+				+	+
17	696	1 mes	++	++	0	++	++	++	++	++	++
20	696,1	1½ mes	+++ N	+++ N	0	±	+++ N	±	++	+	+++ N
67	696,3	4½ meses	++		0	++				++	++

CUADRO 6

COBAYO NÚMERO	Inoculados con la cepa 694	Tiempo de evolución	Intradermo	REACCIONES CON COCCIDIOIDINA	
			1/100	1/10	Pura
798		4 meses	+	—	+++N
95		3½ meses	±	±	++N
85		4 meses	+	+	+++N
88		3½ meses	+	+	+++PN
87		3½ meses	±	±	+
36		4 meses	+	++	+++N
62		2 meses	+	++	+++

Explicación de los signos: N, significa necrosis; PN significa poca necrosis.

Acción patógena experimental: En repetidas inoculaciones al cobayo por diferentes vías no hemos logrado la producción de lesiones evolutivas o éstas fueron pequeñas. En ningún caso hemos logrado observar parásitos con endosporos.

PODER ALERGISANTE EXPERIMENTAL DE LAS DIFERENTES CEPAS

Para efectuar estas experiencias hemos preparado coccidioidina polivalente según la técnica de Stanford ⁽⁴⁾ con las siguientes cepas: 691, 694, 695, 696,3 y 696,5 "standardizándola" con la coccidioidina tipo enviada gentilmente por el Dr. Ch. E. Smith, con los resultados siguientes: la coccidioidina preparada en nuestro laboratorio designada como coccidioidina "Negroni" es ligeramente más activa que la coccidioidina tipo "Smith". Las reacciones a las 24 horas acusaron invariablemente mayor intensidad que a las 48 horas. La reacción es necrótica cuando se la emplea diluída al 1/10 o pura. El detalle de los resultados se expone en el Cuadro 4.

Con la misma técnica procedimos a la preparación de coccidioidina monovalente con el objeto de investigar si la alergia cutánea puede acusar especificidad de cepa y si existían cepas con diferente poder alergisante en las inoculaciones experimentales. Los resultados obtenidos están consignados en el Cuadro 5, en el cual puede apreciarse que el *Coccidioides immitis* no provoca, al parecer, sensibilización cutánea específica de cepa, sino de especie existiendo sin embargo ciertas cepas que son mejores antígenos "in vivo" que otras, como acontece con las cepas 691, 692 y 696,4.

Finalmente hemos probado la alergia cutánea a la coccidioidina polivalente de los cobayos inoculados con la cepa 694 comprobando los resultados expuestos en el Cuadro 6 en el cual puede apreciarse que reaccionan positivamente pero en grado variable según la concentración de coccidioidina empleada. Queremos hacer notar también el hecho particular que la cepa 694 parece ser mal antígeno "in vitro", salvo la excepción del cobayo 95 del Cuadro 5.

RESUMEN

Hemos estudiado los caracteres micológicos de tres cepas argentinas y ocho norteamericanas de *Coccidioides immitis*, encontrando que todas tienen los mismos caracteres morfológicos y fisiológicos con pequeñas variantes que no permiten la separación de variedades.

Las colonias son blanquecinas con micelio aéreo veloso o lanoso, zonadas o hemizonadas. En los medios minerales con grasa animal o vegetal el micelio de algunas cepas adquiere un tinte pardo. La

producción de entosporos es mayor en los medios minerales (Czapek o de Stanford).

Utilizan mejor los monosacáridos y el acetato de sodio que otras fuentes de carbono y atacan las grasas de origen animal o vegetal. Utilizan bien las fuentes nitrogenadas simples como el cloruro de amonio, poseen acción proteolítica marcada y ciertas cepas hemolisan la sangre de conejo. No producen SH_2 de fuente orgánica, no reducen los nitratos en nitritos, no forman indol ni acetil-metil-carbinol. La temperatura óptima de crecimiento está en la vecindad de los 30°C .

La alergia cutánea de los cobayos inoculados con las diferentes cepas acusa especificidad de especie pero no de cepa.

La cepa 694 tiene la fructificación conidial imperfecta del tipo *Scopulariopsis* y sus caracteres fisiológicos son marcadamente diferentes de los del *C. immitis*.

SUMMARY

We have studied the mycological characteristics of 3 argentine and 8 north-american strains of *C. immitis* and we have found that all of them have, with some minor variations, the same morphological and physiological properties.

The colonies are velvety or cottony, whitish, zonate or hemizionate. On solid mineral media with 1 % of fat some strains develop a brown mycelium. Entospore formation is favored by mineral culture media (Czapek or Stanford). *C. immitis* utilizes monosaccharides and sodium acetate better than other carbon sources. The different strains utilize animal or vegetable fats and a simple nitrogen source such as CNH_4 . They are proteolytic and some strains hemolyse rabbit red-blood corpuscles. SH_2 , indol and acethyl-methyl-carbinol not formed. Nitrates not reduced to nitrites. Optimum temperature for the development about 30°C .

Cutaneous allergy of the guinea-pigs inoculated with the different strains is specific for the species and not only for the strain.

The strain nº 694 is quite different morphologically and physiologically from *C. immitis*. It has the *Scopulariopsis* type of conidial fructification.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) NEGRONI, P.: Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist. I. Micelo vegetativo y de fructificación. Rev. Arg. Dermat. 1948, en prensa.
- (2) NEGRONI, P.: Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist. II. Revisión del granuloma coccidioidal en la Argentina y estudio micológico de 3 cepas autóctonas. Rev. Arg. Dermat. 1948, en prensa.

- (3) BAKER, F. E. and SMITH, CH. E.: *J. Inf. Dis.*, 1942, 70, 51.
- (4) SMITH, CH. E.: *The Med. Clinics of N. America*, 1943, 27, 790.
- (5) ORSKOV, J.: Investigations into the morphology of the ray fungi. Levin & Munksgaard Publ., Copenhagen, 1923.
- (6) BRIAN, P. W., CURTIS, P. J. and HEMMING, H. G.: *Trans. Brit. Myc. Soc.*, 1946, 29, 173.
- (7) STEWART, R. A. and MEYER, K. F.: *J. Inf. Dis.*, 1938 (2), 63, 196.