

## Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist

Por P. NEGRONI, D. VÍVOLI y H. BONFIGLIOLI

### VII. Reacciones inmunoalérgicas en la infección experimental del cobayo

Prosiguiendo nuestras investigaciones sobre el *Coccidioides immitis* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) presentamos en esta oportunidad el estudio de las manifestaciones de la alergia e inmunidad en la infección experimental del cobayo, Tomamos este animal por ser sensible a la inoculación de este hongo y ser de fácil manejo y asequibilidad.

Este trabajo fué planeado y realizado por los doctores Negroni y Bonfiglioli, habiendo estado el estudio histopatológico a cargo del doctor Vivoli.

*Plan de trabajo.* Nos propusimos investigar los siguientes hechos: 1) en qué momento de la infección aparece la sensibilización cutánea a la coccidioidina; 2) cuál es la reacción de los cobayos infectados y alérgicos (sensibles a la coccidioidina) frente a una segunda inoculación de: a) material de un cultivo vivo, y b) el mismo material cuya vitalidad haya sido destruída por calentamiento; 3) aparición y curso de los anticuerpos circulantes.

*Métodos y técnicas.* Como aparece en los cuadros adjuntos se tomaron 5 lotes de cobayos blancos de 350-400 gramos de peso que designamos con las 5 primeras letras mayúsculas del alfabeto.

Los lotes A, B y C constituídos por 15 cobayos cada uno recibieron una inoculación infectante por las vías especificadas, consistente en 10 mg. (peso húmedo) del producto obtenido por la trituración prolongada en un mortero estéril de cultivos de *C. immitis*, cepa autóctona N° 695 en agar caldo de 20 días de incubación a 28°C.

Cinco cobayos de cada lote fueron sometidos a la vacunación por la vía subcutánea con una suspensión de esporos de concentración progresivamente creciente, en solución fisiológica fenicada al 0,3 % y calentada en baño de maría durante 30 minutos a 65°C. Los controles de esterilidad nos permitieron comprobar que esta temperatura destruye la vitalidad de los "entosporos" de los cultivos. Se prepararon 4 series de esta vacuna, correspondiendo la opacidad de la más concentrada a la del tubo N° 3 de la escala de McFarland y,

Presentado en la reunión de comunicaciones del 14 de diciembre de 1948.

cada una de las restantes, fueron preparadas por dilución al 1/10. Cada cobayo recibió 3 inyecciones semanales de 0,5 ml. durante un mes comenzando nueve días después de la inoculación infectante.

Los cobayos del lote D fueron sometidos a la vacunación sin inoculación infectante previa.

La investigación de la alergia cutánea se efectuó mediante la inyección intradérmica de coccidioidina polivalente preparada con cepas autóctonas y estadounidenses de *C. immitis* según la técnica recomendada por C. E. Smith y "standardizada" con la coccidioidina tipo (lote 29-31) remitida gentilmente por este investigador.

Para apreciar las reacciones frente a una segunda inoculación se eligió la vía testicular porque este órgano reacciona intensamente en la infección tuberculosa según lo ha demostrado E. R. Long <sup>(9)</sup> con la cual la infección coccidioidomicótica tiene mucha semejanza y con el objeto, además, de obtener uniformidad en las lecturas. El material empleado en las reinoculaciones consistió en una suspensión de "entosporos" en solución fisiológica cuya opacidad correspondía a la del N° 3 de la escala de McFarland. Esta suspensión fué dividida en dos fracciones: a) calentada en un baño de maría a 65°C. durante 30 minutos para destruir su vitalidad, y b) no calentada. Los cobayos fueron inoculados con 0,2 ml. y sacrificados a las 18-20 horas y a los 5 días, a fin de observar las reacciones tisulares que pudieran proporcionarnos un índice de la alergia e inmunidad.

Finalmente, el lote E recibió únicamente la inoculación por la vía testicular de material vivo y muerto. Los lotes D y E se tomaron, pues, como testigos, el primero de la variante introducida en nuestras experiencias y el último para apreciar la reacción de la inoculación testicular de "entosporos" en un organismo virgen.

Para las reacciones de fijación del complemento empleamos dos antígenos distintos. El primero consistió en una emulsión de los lípidos extraídos del micelio y, el segundo, en la coccidioidina, ambos convenientemente diluídos. En vista de los resultados negativos obtenidos con el primero proseguimos nuestros estudios utilizando para estas reacciones únicamente la coccidioidina. Este producto fué también utilizado en las reacciones de precipitinas y, para las de aglutinación, empleamos una suspensión de "entosporos" cuya vitalidad fué destruída por calentamiento.

*Resultados.* La intradermorreacción con coccidioidina pura dió resultados positivos ++ al cabo de una semana de la infección y +0  $\pm$  con la coccidioidina diluída al 1/10. Estos resultados se acentuaron en intensidad en las pruebas efectuadas una semana más tarde.

Las pruebas serológicas efectuadas en cuatro cobayos infectados y en otros cuatro infectados y vacunados del lote A, al cabo de un mes dieron resultados negativos. Los mismos resultados fueron obte-

nidos en dos cobayos del lote B al cabo de 20 días de la infección y en dos del lote C a los 17 días.

Las reacciones serológicas repetidas al cabo de tres meses de la infección en tres cobayos del lote A y en uno del lote B dieron la fijación del complemento intensamente positiva, y negativas, en cambio, las reacciones de precipitinas y de aglutinación.

En cobayos de otras experiencias inoculados con material de cultivos hace nueve meses a un año y que sobreviven, obtuvimos tres resultados intensamente positivos de la reacción de fijación del complemento sobre 10 animales. Las reacciones de aglutinación y de precipitinas fueron siempre negativas.

Los resultados de las reacciones tisulares están sintetizados en los cuadros adjuntos, en donde se dan noticias también, de las modificaciones que el parásito sufre en su aspecto microscópico, número y volumen.

*Comentario.* El estudio experimental que acabamos de exponer nos ha permitido comprobar los hechos sabiamente descubiertos por Posadas en 1892 e interpretados a la luz de nuestros conocimientos actuales de alergia e inmunidad por la escuela italiana: Cavallero<sup>(10 11)</sup>, Redaelli<sup>(12)</sup> y Redaelli y Ciferri<sup>(13)</sup>.

Cavallero, C. (1941) en sus estudios sobre la alergia e inmunidad en las micosis hizo notar que en la enfermedad de Gilchrist (blastomicosis norteamericana), la lesión cutánea primaria es del tipo granulomatoso, en cambio las localizaciones secundarias por la vía hematogena conducen a una supuración rápida con necrosis y tendencia luego a la curación espontánea que el autor asimila a un fenómeno de Koch. Farina (citado por Cavallero) reprodujo experimentalmente estos hechos y observó que el hongo reinoculado desaparecía a partir del 6º día. El material reinoculado origina una reacción celular que atraviesa las dos fases siguientes: 1) reactiva de carácter granulocítico, y 2) resolutive de aspecto granulomatoso con células gigantes.

Cavallero, C. (1943) como ya lo habían hecho notar Posadas y más tarde Smith, C. E. Jacobson, Chipman y Templeton, en los EE.UU. encuentra identidad de la coccidioidomicosis con la infección tuberculosa. En la primera, además de la forma crónica en la cual se observa una reacción granulomatosa similar a la tuberculosis, existen las formas agudas descubiertas por Gifford y Dickson (1936-1937) en las cuales predominan los fenómenos exudativo-vasculares.

Redaelli y Ciferri (1942) describieron la reacción del huésped frente al material inoculado en la coccidioidomicosis experimental en los términos siguientes: se produce primero una reacción de carácter no específico que tiende a eliminar el material extraño por digestión en la cual aparecen polinucleares, elementos monocitarios

LOTE

## COBAYOS INFECTADOS POR LA VÍA SUBCUTÁNEA

COBAYO	REINOCULACIÓN	SACRIFICADO	OBSERVACIONES
A765 .....	Material muerto	18-20 horas	No vacunados y reinoculados a los 23 días.
A795 .....	" "	5 días	
A789 .....	" vivo	18-20 horas	
1732 .....	" "	5 días	
F28 .....	" muerto	18-20 horas	
M8 .....	" "	5 días	
F26 .....	" vivo	18-20 horas	
M7 .....	" "	5 días	
F27 .....	" muerto	18-20 horas	
M6 .....	" "	5 días	
F25 .....	" vivo	18-20 horas	
M5 .....	" "	5 días	

## A

## Y REINOCULADOS POR LA VÍA TESTICULAR

LESIONES MACROSCÓPICAS	LESIONES HISTOLÓGICAS
<p>Testículo: ligera congestión.            Testículo: ligera hemorragia, granulaciones en pulmón, bazo, hipertrofia de ganglio.            Testículo: ligera congestión.</p>	<p>Congestión y reacción monocitaria.            Testículo sin lesiones. Granuloma seudotuberculoso con parásitos en el bazo.            Foco hemorrágico y reacción nodular monocitaria sin parásitos.</p>
<p>Testículo: de mayor volumen, ganglio hipertrofiado y granulaciones en pulmones.</p>	<p>Testículo: lesiones nodulares productivas y productivo-exudativas. Granuloma tuberculoide con células epiteloides. Parásitos escasos, sin endosporos y con form. radiadas.</p>
<p>Testículo: de mayor volumen y congestionado.</p>	<p>Orquiepididimitis intersticial discreta no especificada.</p>
<p>Testículo: de mayor volumen y congestionado, granulaciones en el bazo.</p>	<p>Lesiones nodulares productivas y lesiones exudativas. Degeneración hidrópica de las células de la capa basal de canales seminíferos.</p>
<p>Testículo aumentado de volumen y congestionado.</p>	<p>Orquiepididimitis con orquitis intersticial no específica sin parásitos.</p>
<p>Testículo aumentado de volumen y congestionado.</p>	<p>Lesión nodular con predominio productivo. Parásitos muy escasos, pequeños, sin endosporos y con formaciones radiadas.</p>
<p>Testículo aumentado de volumen.</p>	<p>Lesiones exudativas. En el bazo: lesiones exudativo-productivas con escasos parásitos (formas quísticas)</p>
<p>Testículo sin alteraciones.</p>	<p>Lesiones exudativas con abundantes eosinófilos, degeneración hidrópica de células de los can seminíferos. Infiltración intersticial discreta.</p>
<p>Testículo aumentado de volumen y congestionado; lesiones nodulares en hígado y bazo.</p>	<p>Orquiepididimitis intersticial no específica sin parásitos.</p>
<p>Testículo aumentado de volumen y congestionado; hipertrofia de ganglio.</p>	<p>Testículo: lesiones con predominio productivo. Parásitos escasos, medianos y sin endosporos.</p>

LOTE

## COBAYOS INFECTADOS POR LA VÍA INTRAMUSCULAR

COBAYO	REINOCULACIÓN	SACRIFICADO	OBSERVACIONES
A728 .....	Material muerto	18-20 horas	No vacunados y reinoculados a los 23 días.
A712 .....	„ „	5 días	
A718 .....	„ vivo	18-20 horas	No vacunados y reinoculados al cabo de 43 días.
A736 .....	„ „	5 días	
F30 .....	„ muerto	18-20 horas	
M12 .....	„ „	5 días	
F24 .....	„ vivo	18-20 horas	Vacunados y reinoculados al cabo de 43 días.
M11 .....	„ „	5 días	
F29 .....	„ muerto	18-20 horas	
M10 .....	„ „	5 días	
F23 .....	„ vivo	18-20 horas	
M9 .....	„ „	5 días	

B

## Y REINOCULADOS EN EL TESTÍCULO

LESIONES MACROSCÓPICAS	LESIONES HISTOLÓGICAS
Testículo congestionado. Testículo congestionado. Ganglio hipertrofiado.	Vasodilatación infiltración monocitaria. Vasodilatación, infiltración monocitaria y lesiones productivas difusas. Ganglio: parásitos pequeños sin endosporos.
Testículo congestionado.	Infiltración monocelular discreta. No se observan parásitos.
Testículo hemorrágico. Caseosis en el punto de la inoc. Nódulo en pulmón.	Testículo: granuloma necrótico y productivo con muy escasos parásitos medianos sin endosporos.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Orquitis discreta.
Testículo ligeramente hipertrofiado.	Lesiones nodulares exudativas.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Orquiepididimitis exudativa con abundantes eosinófilos. No se observan parásitos.
Testículo aumentado de volumen y congestionado, granulaciones en pulmones.	Orquitis productiva y epididimitis exudativa y nodular intersticial. Parásitos muy escasos, pequeños y con formaciones radiadas.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Orquitis y epididimitis intersticial no específica. Bazo: lesiones nodulares productivas y exudativas con pocos parásitos.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Sin alteraciones.
Testículo aumentado de volumen y congestionado. Ganglio hipertrofiado.	Testículo: lesiones intersticiales exudativas y productivas sin parásitos. Ganglio: lesiones foliculares productivas, parásitos con endosporos quísticos.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Epididimitis nodular exudativa y productiva <i>sin parásitos</i> .

LOTE

## COBAYOS INFECTADOS POR LA VÍA INTRAPERITONEAL

COBAYO	REINOCULACIÓN	SACRIFICADO	OBSERVACIONES
A737 .....	Material muerto	18-20 horas	No vacunados y reinoculados al cabo de 20 días.
A773 .....	" "	5 días	
A723 .....	" vivo	18-20 horas	
A786 .....	" "	5 días	
F96 .....	" muerto	18-20 horas	No vacunados y reinoculados al cabo de 43 días.
F97 .....	" "	5 días	
F94 .....	" vivo	18-20 horas	
F95 .....	" "	5 días	
F92 .....	" muerto	18-20 horas	Vacunados y reinoculados al cabo de 43 días.
F93 .....	" "	5 días	
F90 .....	" vivo	18-20 horas	
F91 .....	" "	5 días	

C

## Y REINOCULADOS EN EL TESTÍCULO

LESIONES MACROSCÓPICAS	LESIONES HISTOLÓGICAS
Testículo congestionado.	Foco hemorrágico y nodular con reacción monocitaria, sin parásitos.
Testículo atrofiado, caseosis en el punto de inoculación infectante, ganglio hipertrofiado.	Testículo: lesiones exudativo-productivas con eosinófilos. Parásitos escasos y pequeños. Ganglio: granuloma con eosinófilos y abundantes parásitos.
Testículo congestionado.	Edema y hemorragia con lesiones exudativas necróticas sin parásitos.
Testículo hemorrágico. Caseosis en el punto de infección. Ganglio hipertrofiado, nódulos en pulmones.	Testículo: granuloma enquistado con reacción productiva y exudativa, predomina la 1. <sup>a</sup> . No se observan parásitos.
Testículo atrofiado y con pus. Ganglio hipertrofiado y caseificado. Granulaciones en peritoneo y vísceras.	Testículo: granuloma exudativo-productivo folicular con parásitos en diferentes estados evolutivos. Hígado: granuloma sin parásitos.
Testículo aumentado de volumen, con adherencias y caseum, abscesos en hígado, bazo y peritoneo.	Orquitis intersticial específica con predominio de reacción fibrosa. Epidídimo: lesiones productivas y exudativas con parásitos medianos con formaciones radiadas, otro con endosporos poliédricos.
Testículo atrofiado, con adherencias y caseum, granulaciones en peritoneo y vísceras.	Orquitis intersticial, lesiones exudativas en epidídimo con escasos parásitos.
Testículo atrofiado y caseificado.	Orquitis intersticial específica con predominio de reacción fibrosa. Epidídimo: lesiones productivas y exudativas con parásitos medianos con formaciones radiadas, otro con endosporos poliédricos.
Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Orquiepididimitis discreta.
Testículo congestionado.	Lesiones exudativas. Bazo: granuloma sin parásitos.
Testículo sin alteraciones.	Lesiones necróticas exudativas y orquitis intersticial sin parásitos. Ganglio: escasos parásitos, medianos sin endosporos.
Testículo atrofiado y caseificado.	Lesión exudativa con escasos parásitos, uno con endosporos poliédricos.

## LOTE

COBAYOS *NO INFECTADOS*, VACUNADOS POR DIFERENTES

COBAYO	INOCULACIÓN	SACRIFICADO	OBSERVACIONES
R22.....	Material muerto	18-20 horas	Vacunados por la vía subcutánea.
R28.....	" "	5 días	
R21.....	" vivo	18-20 horas	
R27.....	" "	5 días	
R24.....	" muerto	18-20 horas	Vacunados por la vía intramuscular.
R30.....	" "	5 días	
R23.....	" vivo	18-20 horas	
R29.....	" "	5 días	
R26.....	" muerto	18-20 horas	Vacunados por la vía intraperitoneal.
R25.....	" vivo	18-20 horas	
R31.....	" "	5 días	

## LOTE

COBAYOS *NO INFECTADOS*

COBAYO	INOCULACIÓN	SACRIFICADO	OBSERVACIONES
L42.....	Material muerto	18-20 horas	
L43.....	" "	5 días	
L40.....	" vivo	18-20 horas	
L41.....	" "	5 días	

## D

## VÍAS E INOCULADOS EN EL TESTÍCULO

LESIONES MACROSCÓPICAS	LESIONES HISTOLÓGICAS
Testículo congestionado. Sin alteraciones. Testículo aumentado de volumen y congestionado. Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Congestión, edema y discreta infiltración monocitaria. Sin alteraciones. Edema con infiltración monocitaria sin parásitos. Infiltración nodular intersticial de monocitos y gran cantidad de polinucleares, focos hemorrágicos con gran cantidad de parásitos en la fase infectante.
Testículo congestionado. Sin alteraciones. Testículo aumentado de volumen y congestionado. Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Congestión, edema y discreta infiltración monocitaria. Sin alteraciones. Edema con infiltración monocitaria sin parásitos. Infiltración nodular intersticial de monocitos y gran cantidad de polinucleares, focos hemorrágicos con gran cantidad de parásitos en la fase infectante. Parásitos jóvenes y adultos casi todos esporangios infectantes, uno solo con endosporos quísticos.
Testículo congestionado. Testículo sin alteraciones. Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Infiltración zonal de polinucleares. Testículo sin alteraciones ni parásitos. Infiltración nodular intersticial de monocitos y gran cantidad de polinucleares, focos hemorrágicos con gran cantidad de parásitos en la fase infectante.

## E

## INOCULADOS POR LA VÍA TESTICULAR

LESIONES MACROSCÓPICAS	LESIONES HISTOLÓGICAS
Congestión discreta. Sin alteraciones. Ligera congestión. Testículo aumentado de volumen y congestionado.	Escasa reacción intersticial nodular sin parásitos. Sin alteraciones. Congestión e infiltración monocitaria discreta. Un parásito de 10 $\mu$ . Lesiones nodulares productivas que alternan con otras exudativas, gran cantidad de eosinófilos y de parásitos en la fase infectante.

y células histiocitarias no específicas. Hay elementos del hongo que resisten, se "animalizan", se multiplican y difunden la infección. Se inicia entonces una reacción del tejido conjuntivo vascular y particularmente del sistema retículoendotelial local que caracterizan al granuloma micótico cuya especificidad está representada únicamente por la existencia de un parásito determinado, del *C. immitis* en este caso.

La hiperreceptividad y la alergia imprimen un sello particular a las reacciones histógenas del animal infectado. En los hiperreceptivos, en estado de alergia negativa, se observa una reacción exudativo vascular con un cortejo de procesos regresivos que llegan hasta los necróticos y hemorrágicos; en tanto que en los animales hiperresistentes hiperérgicos se ve prevalecer la actividad reactiva hiperplásica con formación de granulomas con células epitelioides y gigantes y con gran cantidad de elementos plasmacelulares y linfoides dispuestos en la periferia acompañados de un cortejo más o menos grande de la serie fibroblástica.

Según nuestros estudios la inoculación intratesticular del material de cultivos del *C. immitis* a un cobayo virgen de infección coccidiodomicética, origina a las 18-20 horas una reacción granulocítica y monocitaria no específica que tiende a eliminar el material inoculado como un cuerpo extraño, lo cual se cumple totalmente al cabo de cinco días cuando se ha inoculado material muerto por calentamiento. Cuando se ha inoculado, en cambio, material vivo, los esporos del hongo que han resistido esta primera reacción defensiva no específica evolucionan hacia la fase infectante formando esporangios con membrana peridial muy fina que llegan a medir hasta 83,5  $\mu$  de diámetro y contienen numerosos endosporos poliédricos muy pequeños (formas granulosas de Posadas). La reacción histógena es exudativo-productiva con abundantes eosinófilos como se observa en la infección espontánea del hombre (Wickoff y Usighi, citados por Smith, C. E., 1943).

La reinoculación por la vía testicular efectuada 26 a 43 horas después de la primera inoculación infectante, origina al cabo de 18-20 horas una reacción que se caracteriza por fenómenos congestivo-hemorrágicos y una reacción exudativo-productiva necrótica en ocasiones, que desaparece al cabo de cinco días cuando se ha reinoculado material muerto, pero que conduce a un predominio de la reacción productiva con la formación de un granuloma cuando se ha inyectado material vivo. Esta reacción histógena, índice de cierto grado de inmunidad, se traduce por desaparición casi absoluta de los parásitos y cuando éstos persisten se presentan morfológica y biológicamente modificados. En efecto, los parásitos son medianos o pequeños de unas 30  $\mu$  de diámetro sin endosporos y con la membrana

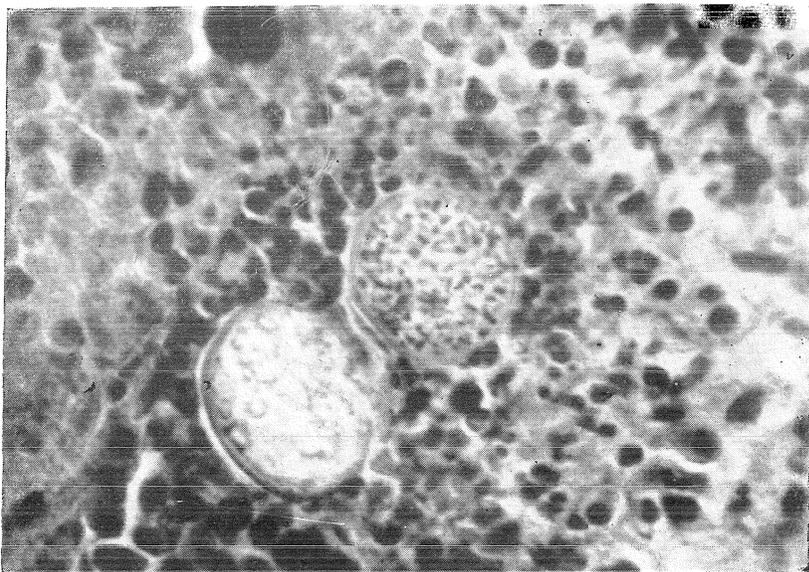


FIG. 1. -- Esporangios con endosporos granulosos.

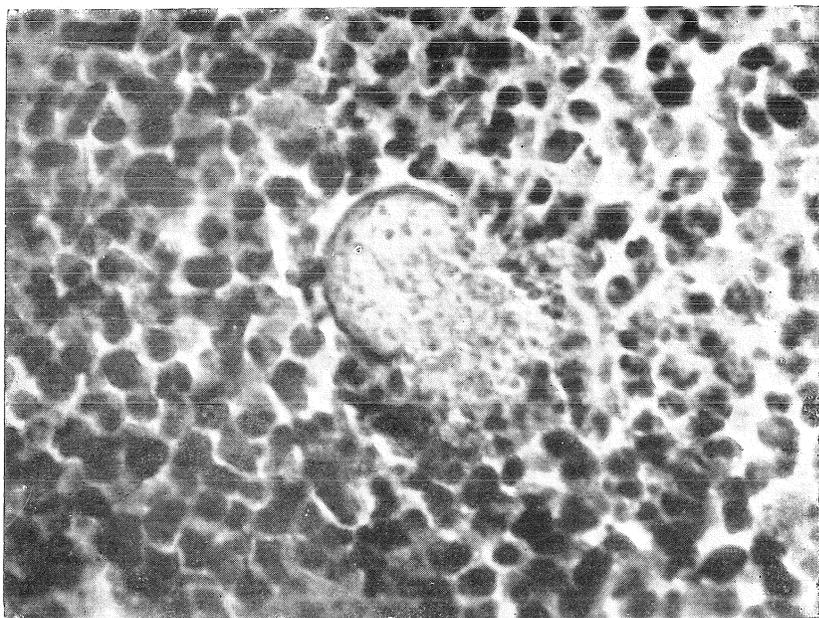


FIG. 2. -- Esporangio con endosporos granulosos en dehiscencia.

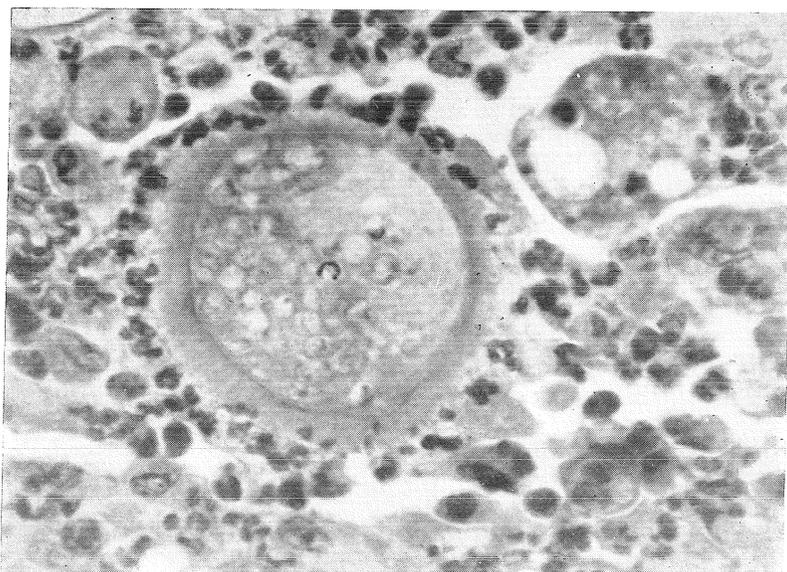


FIG. 3. — Esporangio con endosporos quísticos.

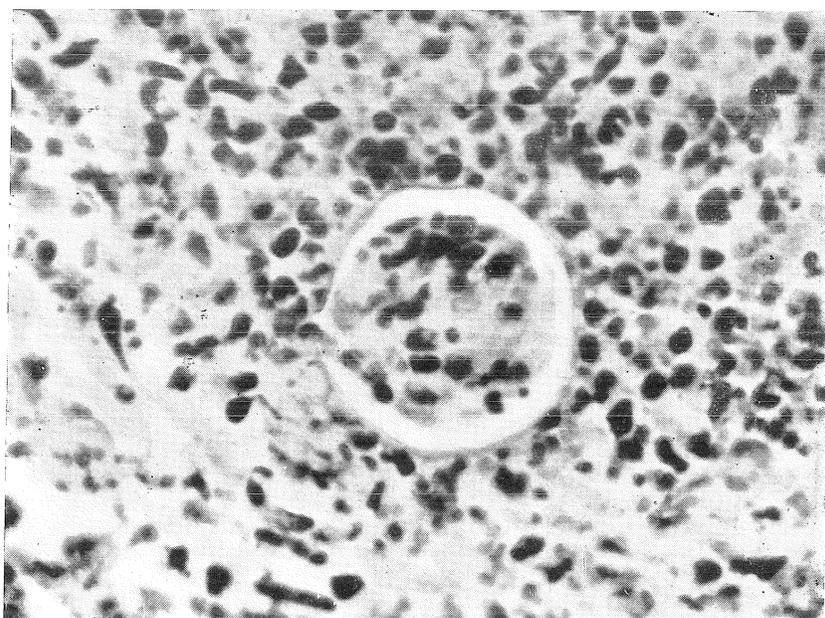


FIG. 4. — Esporangio vacío invadido por leucocitos.

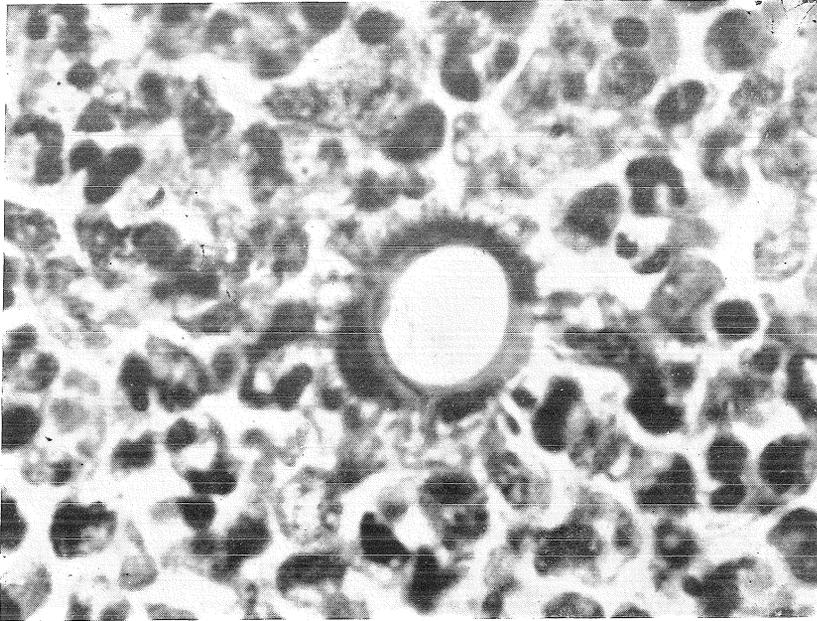


FIG. 5. — Parásito quístico con formaciones radiadas.

gruesa rodeada frecuentemente de una areola acidófila o de formaciones radiadas o claviformes con las mismas propiedades tintoriales.

*Resumen.* La inoculación del material de cultivos del *Coccidioides immitis* al cobayo por diferentes vías conduce a un estado de hipersensibilidad y de inmunidad parcial. La hipersensibilidad cutánea es ya bien evidente al 7º día y se acentúa en los días subsiguientes.

La reinoculación del material de cultivos muerto por el calor, ocasiona a las 18-20 horas una intensa reacción congestivo-hemorrágica e histológicamente fenómenos exudativo-necróticos que desaparecen hacia el 5º día. Cuando se ha reinoculado material vivo prevalecen, en cambio, los fenómenos productivos que conducen a la desaparición total o parcial del material inyectado, según el grado de inmunidad existente. Esta reacción similar al fenómeno de Koch, reproduce también la ley biológica establecida por Levandowsky y Jadassohn en la lepra.

En un cobayo virgen de infección anterior, se observa hacia las 18-20 horas de la inoculación una reacción granulocítica y monocitaria no específica que conduce a la eliminación total del material muerto hacia el 5º día. En cambio cuando se ha inoculado material vivo, los endosporos que han resistido esta primera reacción tisular evolucionan hacia la formación de esporangios de primoinfección que se caracterizan por su enorme volumen (hasta 83,5  $\mu$  de diámetro) su membrana fina y contenido en endosporos granulosos sin membrana propia aparente.

La vacunación con material muerto por el calor no crea el estado de hipersensibilidad cutánea o tisular ni modifica, aparentemente, el curso y la reactividad del organismo frente a una nueva inoculación de material vivo o muerto. Tampoco hemos observado variaciones aparentes según la vía de la inoculación infectante.

El parásito que se desarrolla en un organismo en estado de alergia e inmunidad parcial ofrece los siguientes caracteres: su volumen es generalmente más pequeño, la producción de endosporos está notablemente restringida y, cuando tiene lugar, conduce a la producción de endosporos quísticos (fase vegetativa o quística de Posadas). La membrana peridial es siempre gruesa y frecuentemente rodeada de una areola acidófila o de formaciones radiadas o claviformes con las mismas propiedades tintoriales.

#### SUMMARY

Guinea-pigs inoculated by different routes with cultures of *C. immitis* develop some days later manifestations of hypersensitivity and immunity. Cutaneous hypersensitivity is evident towards the

7th. day. Testicular reinoculation with dead material performed 20 to 43 days later provoke after 18-20 hours congestive-hemorrhagic reactions which show microscopically, exudative-necrotic phenomena disappearing toward the 5th. day.

Reinoculation of living "entospores" induce at this time the formation of a productive reaction with elimination nearly completely of the parasite. Testicular inoculation into not previously infected guinea-pigs lead to the production after 18-20 hours of a granulocytic and monocytic reaction. Living "entospores" which have escaped this first non specific defensive reaction, develop primo-infection sporangia with granular endospores. Parasites developed in an allergic-immune organism show quite different aspect: they are smaller with less tendency to endospores formation, the endospores are frequently cystic and the peridial membrane is often provided with radiate, club-like or capsulate acidophylic formations.

Vaccination alone with dead material, does not originate cutaneous hypersensibility nor seems to modify the tissue-reactions after reinoculations.

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) NEGRONI, P. y RADICE, J. C.: *Rev. Arg. Dermatosisif.*, 1946, 30, 219.
- (2) NEGRONI, P. y RADICE, J. C.: *Rev. Arg. Dermatosisif.*, 1947, 31, 573.
- (3) NEGRONI, P.: *Rev. Arg. Dermatosisif.*, 1948, 32, 50.
- (4) NEGRONI, P.: *Rev. Arg. Dermatosisif.*, 1948, 32, 58.
- (5) NEGRONI, P.: Comunicación Asoc. Arg. Dermatol. y Sif., 13 mayo, 1948.
- (6) NEGRONI, P. y VIVOLI, D.: Comunicación Asoc. Arg. Dermatol. y Sif., 13 mayo, 1948.
- (7) NEGRONI, P., DAGLIO, C. A. N. y BRIZ DE NEGRONI, C.: Comunicación Asoc. Arg. Dermat. y Sif., 7 de julio, 1948.
- (8) NEGRONI, P. y BRIZ DE NEGRONI, C.: Comunicación Asoc. Arg. Dermat. y Sif., 3 de septiembre, 1948.
- (9) LONG, E. R.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 1924, 9, 215.
- (10) CAVALLERO, C.: *Mycopathologia*, 1941, 3, 1.
- (11) CAVALLERO, C.: *Mycopathologia*, 1943, 3, 310.
- (12) REDAELLI, P.: *Mycopathologia*, 1943, 3, 280.
- (13) REDAELLI, P. et CIFERRI, R.: *Le granulomatosi fungine, etc.*, S. E. S., Firenze, 1942.
- (14) SMITH, C. E.: *Med. Clin., North Amer.*, 1943, 27, 790.
- (15) POSADAS, A.: *Obras completas de*. Buenos Aires, Imprenta de la Universidad, 1928.