

Estudio micológico del primer caso argentino de micetona maduromicósico de granos negros

Por PABLO NEGRONI y JUAN A. TEY

Según los datos bibliográficos, parece que Kämpfer, en 1712, fué el primero en describir con el nombre de « perical » una enfermedad tumoral de las extremidades inferiores, endémica en las Indias, pero cuya naturaleza fué confundida con la tuberculosis y la elefantiasis. Fueron los médicos coloniales ingleses de Madrás (Madura) los que individualizaron una afección tumoral del pie dándole el nombre de *pie de Madura*, de una de las gobernaciones de la India meridional que era el foco principal de esa enfermedad. Ballingal en 1855 dió de la misma una buena descripción clínica y emitió la hipótesis de su naturaleza parasitaria. Carter en 1861, basándose en esta hipótesis, buscó y encontró en los tejidos enfermos granos de un microorganismo filamentosos que interpretó como esclerotes de un hongo, al cual Berkeley bautizó, en su honor, con el nombre de *Chionophya Carteri*.

Fué éste el origen de una controversia entre los médicos coloniales que veían en los granos sólo restos de un tejido degenerado negando toda naturaleza parasitaria y aquellos que, aún reconociendo su estructura microbiana, sostenían que eran simples saprofitos instalados secundariamente sobre un tejido alterado y muerto por otra causa y que a lo sumo modificaban o agravaban el mal.

En medio de este desconcierto Carter publicó en 1874 una monografía del pie de Madura dándole el nombre de micetoma y diferenciando dos variedades según los caracteres de los granos formados en el interior de los tejidos enfermos: 1) granos blancos (pálidos u ocráceos), blandos y lisos. 2) granos negros o violáceos, compactos, los esclerotes.

Recibido en Octubre de 1939.

Posteriormente se observaron casos de esta enfermedad en Europa; Bassini en Italia (Padua) en 1888, Reynier en París en 1906, en Argelia (Túnez), en Estados Unidos de N. América, Australia, Brasil, Argentina, etc.

Chalmers y Archibald extendieron la designación de micetoma a todo tumor micótico inflamatorio con trayectos fistulosos por los que salen pus con granos parasitarios, localizado en cualquier región del organismo y no solamente en los pies. Precisaron sus caracteres clínicos, los diferenciaron de afecciones vecinas y distinguieron los micetomas actinomicóticos de los maduromicóticos producidos por *Eumycetes*.

Esta enfermedad es evidentemente más común en los países tropicales; así Catanei, Anderson y sus colaboradores consiguieron reunir 27 observaciones de pie de Madura en Argelia.

En nuestro país la primera observación de pie de Madura fué la publicada por Greco en 1904, habiendo Cramwell (1903), Marotta, Bachmann y Marcó del Pont, realizado los primeros estudios sobre micetomas actinomicóticos. Recientemente Garzón (1938), de Córdoba, en su publicación sobre « Micosis », refiere varios casos de micetomas observados en el centro del país.

Respecto a los casos publicados en el extranjero o en el país sobre micetomas con granos negros, su número es muy limitado y se dividen como ya lo hemos dicho en actinomicóticos y maduromicóticos. De los primeros se citan las siguientes observaciones: Babés, 1888, y Mironescu, 1910, en Rumania; F. de Almeida, 1930, en Brasil; Beron, 1931, en Bulgaria, y Mazzini, 1934, en Argentina. El número de casos de micetomas maduromicóticos por granos negros es mucho más numeroso y sus agentes pertenecen a *Eumycetes* de posición sistemática alejada unos de otros, siendo sin embargo la mayoría *Hyphomycetes* pertenecientes al género *Madurella*. El único caso de micetoma con granos negros producido por *Aspergillus* conocido en la bibliografía médica, es el observado por Bouffard en 1902 en Djibouti y designado por Brumpt en 1906 con el nombre de *Asp. bouffardi*; pero cuya descripción incompleta no ha permitido su identificación ulterior. También se citan las siguientes observaciones de micetomas por *Aspergillus* pero cuyos granos eran blancos o blanco-amarillentos: *Aspergillus nidulans* (caso de Nicolle y Pinoy, 1906), amarillo-verdosos por *Aspergillus repens* (caso de O. Fonseca, 1929), y finalmente con granos rojos por un *Aspergillus* no determinado (caso de Balfour y Archibald en Africa, citado por Brumpt). Garzón, en su trabajo sobre « Micosis », cita una observación de Tello y Arata

(1926) de micetoma por granos negros, pero cuyo agente no fué determinado.

Del examen de la bibliografía que antecede, se deduce que nuestra observación tiene particular interés porque después de 37 años vuelve a encontrarse un micetoma maduromicósico con granos negros producido por un *Aspergillus*, no ya en Africa como fué la primera observación, sino en Argéntina, en un enfermo procedente de Tucumán con varios años de evolución, y habiendo sido sometido a repetidas intervenciones quirúrgicas por sus lesiones del dorso de un pie.

Es, pues, de este caso que pasamos a ocuparnos.

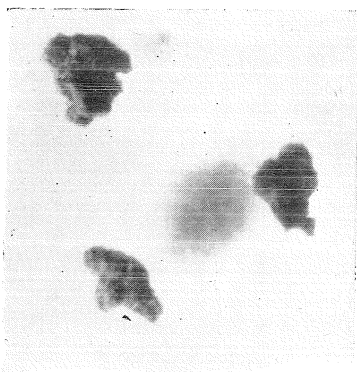


FIG. 1. — Aspecto de los granos negros.

Aspecto y caracteres de los granos (fig. 1). — Negros, irregulares, cerebriformes, como de unos tres milímetros de diámetro, se aplastan a la presión entre porta y cubreobjeto, dando la sensación de la consistencia de un queso duro.

Caracteres micro-morfológicos: los granos tratados por una solución de potasa al 30 % en caliente, lavados y montados en glicerina, presentan una substancia intercelular pardusca y abundantes filamentos flexuosos, ramificados y tabicados de unas 3 μ de diámetro, con numerosos clamidosporos hasta de 20 μ de diámetro. En algunas zonas del grano, los filamentos y clamidosporos se encuentran infiltrados por el pigmento pardo. Oppenheimer y Askanazy demostraron que la coloración parda o negra de los granos se debe a la presencia de hierro.

Resultado de los cultivos. — La siembra de los granos sin tratamiento previo alguno dieron lugar al desarrollo de colonias de un *Aspergillus* contaminadas con bacterias (cocos), por lo cual se resol-

vió tratar previamente los granos durante 20 minutos con una solución de hidrato de sodio al 4 %. Este material fué sembrado, después de lavarlo con agua estéril, en tubos conteniendo medio glucosado de Sabouraud inclinado e incubados a temperatura ambiente. Se obtuvieron así cultivos puros de un *Aspergillus* con los mismos caracteres que en las siembras anteriormente mencionadas y de otras procedentes de diversos granos y en distintas oportunidades.

Caracteres macromorfológicos. — *Colonia gigante* en el medio de Czapek en caja de Petri al cabo de 22 días de incubación a 30° C: Tiene unos 3 cm de diámetro, es ligeramente elevada en el centro, de



FIG. 2. — Colonia gigante en el medio de Czapek.

aspecto aterciopelado, algo granuloso en la zona central. Color amarillo verdoso como el de un limón incompletamente maduro. Un borde de 1 mm de diámetro, más o menos, verde por dentro y hialino por fuera, forma una orla a la colonia. Algunos surcos poco pronunciados se extienden radialmente desde la zona central, elevada, hasta la periférica (fig. 2).

Reverso: amarillo pardusco en la parte central, y amarillo claro en la periférica con pliegues y anillos concéntricos poco marcados.

En agar-miel de Sabouraud: las colonias al cabo de 14 días de incubación a 30° tienen unos 3 cm de diámetro, son aterciopeladas, planas, con una zona periférica como de 2 mm de extensión de color verde y una central cubierta de granulaciones amarillentas. Reverso: liso, incoloro (fig. 3).

Comparando el color de las colonias con el « Ridgway's Color standard », obtuvimos los siguientes datos: para la parte central de la colonia en el medio de Czapek « bright chalcedony yellow 25' YG-Y, Pl. XVII », bordes: « meadow green k 31 YG, Pl. VI », y para el reverso: parte central « wood brown 17''' OY, Pl. XL ».

Colonia en agar-miel: centro y bordes « javel green i 25 YG-Y, Pl. V », zona periférica « cedar green mG 31 YG, Pl. VI ».



FIG. 3. — Aspecto del desarrollo en el agar-miel de Sabouraud.

En el medio de conservación de Sabouraud: las colonias tienen al cabo de 14 días de incubación a 30° como 1 cm de diámetro, aspecto aterciopelado, color verde oscuro y bordes difuminados. Por el reverso el color es pardusco.

En mosto de cerveza agarizado al 2 ‰: el desarrollo cubre, a los 20 días de incubación a 30°, casi toda la extensión del medio en un tubo de 18 mm de diámetro; su aspecto es el mismo que en los medios descritos más arriba. El color es amarillo limón en la zona central y en el borde, con una franja verde entre ambas. El desarrollo es ligeramente elevado y en algunos pliegues poco marcados en el centro y plano en la periferia. Reverso: liso, color isabelino, pardusco.

En *agar-papa*: a los 16 días de incubación a 30° se observan numerosas colonias blanquecinas, estrelladas, de unos 2 mm de diámetro, aterciopeladas, que rodean al punto de inoculación a cuyo nivel se ha formado una colonia de 1 cm de diámetro, blanquecina, ligeramente verdosa, plana y con muy escaso micelio aéreo. El micelio profundo es en cambio abundante e incoloro. En la parte del medio de cultivo inclinado, donde termina el pico de clarinete, existen pequeñas colonias de color verde.

En *mosto de cerveza líquido*: forma una película gruesa que trepa algo por las paredes del tubo y con los mismos caracteres que en el medio sólido.

Caracteres micromorfológicos. — *En el medio de Czapek*: El examen microscópico con pequeño aumento de un sector de la colonia revela que el micelio aéreo es poco abundante y que en la periferia los espo-

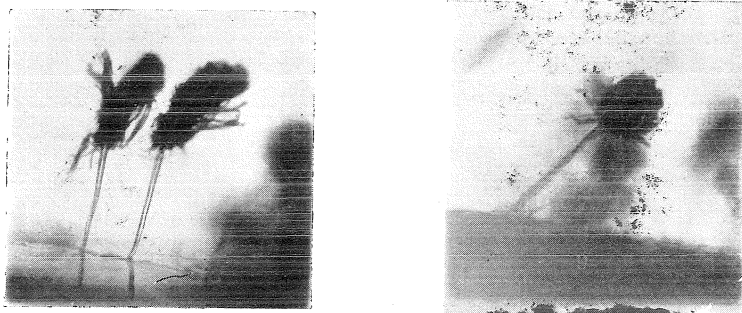


FIG. 4. — Cabezas aspergílicas (1 y 2) vistas en un sector de la colonia examinado de canto.

lóforos emergen perpendicularmente de la superficie del medio de cultivo (fig. 4). El esporóforo o conidióforo mide unas 234 μ de longitud. La cabeza aspergílica con cadenas flojas de conidias: 72 μ , y ros peritecios 54 μ de diámetro.

De las preparaciones microscópicas montadas en el siguiente líquido: acetato de K 1 gr, agua destilada 50 cm³, glicerina pura 20 cm³, alcohol etílico 30 cm³, acetato de Cu cantidad suficiente para darle color.

Micelio vegetativo hialino, tabicado y ramificado de 3,06 μ a 7,65 μ de diámetro. Numerosas células de Hüle de membrana gruesa, globulosas o alargadas, aisladas o en series de dos o aun en mosaico, de 9,18 μ a 15,3 μ de diámetro.

Este *Aspergillus* presenta dos tipos de fructificaciones: una asexual y otra sexual consistente en la formación de peritecios.

Fructificación asexual: Conidióforos de paredes lisas y delgadas, a veces tabicados, de $9,18 \mu$ de diámetro en la parte más ancha, pigmentada y próxima a la vesícula y $4,19 \mu$ en la vecina al pie.

Vesículas globulosas pigmentadas y de $12,24 \mu$ a $22,95 \mu$ de diámetro llevando una sola serie de esterigmas de $6,12$ a $10,71 \mu \times 3,50 - 3,82 \mu$.

Conidias globulosas o elípticas, verrugosas, con el conectivo bien marcado cuando jóvenes, de $4,59 \mu$ a 5μ las globulosas y de $4,59 \mu$

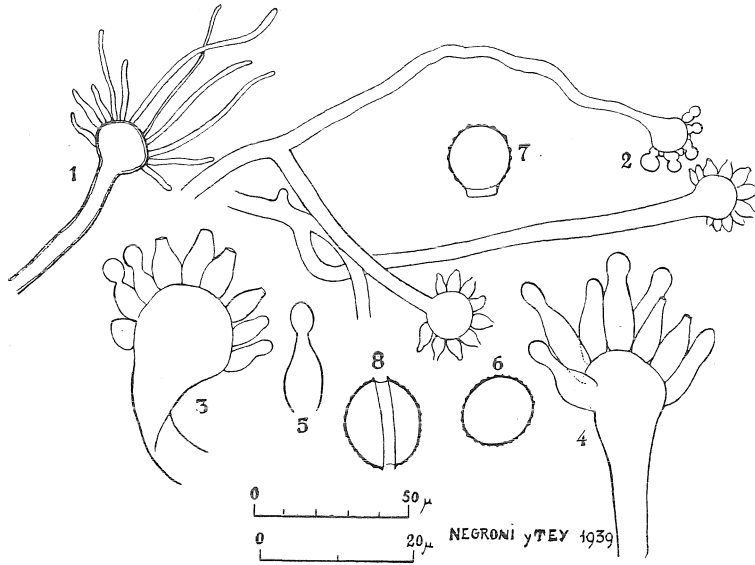


FIG. 5. — En los números 1, 2 y 3 están representados diversos aspectos de la fructificación imperfecta en el medio de conservación de Sabouraud. 4, vesícula y esterigmas (en agar-papa). 5, esterigma originando una conidia. 6, conidia verrugosa madura. 7, conidia joven con conectivo. 8, ascosporo con crestas y surco ecuatoriales.

$\times 3,06 \mu$ las elípticas. Las conidias maduras son pigmentadas (fig. 5 y 6).

Fructificación sexual: El ascogonio es una hifa delgada y arrollada en espiral. El anteridio simple o ramificado y algo flexuoso, nace de la misma hifa y se aplica contra el ascogonio.

El peritecio maduro es de color amarillento, llega a medir hasta 105μ de diámetro y contiene numerosos ascos octosporados de 11μ de diámetro.

Ascosporos elípticos de paredes ligeramente rugosas con dos crestas salientes que delimitan un surco ecuatorial, de $4,59 \mu \times 3,82 \mu$ (fig. 5 y 6).

En el medio con miel de Sabouraud: Cabeza aspergilar hasta 108 μ de diámetro. Vesículas globulosas, a veces piriformes, fértiles en casi toda su extensión, de 18,36 μ a 30,6 μ de diámetro. Conidióforos de paredes lisas de 4,59 μ a 15,3 μ en la proximidad de la vesícula con la cual se continúa gradualmente.

Conidias: 4,59 μ a 6,12 μ de diámetro. Los demás caracteres microscópicos coinciden con los descriptos en el medio de Czapek.

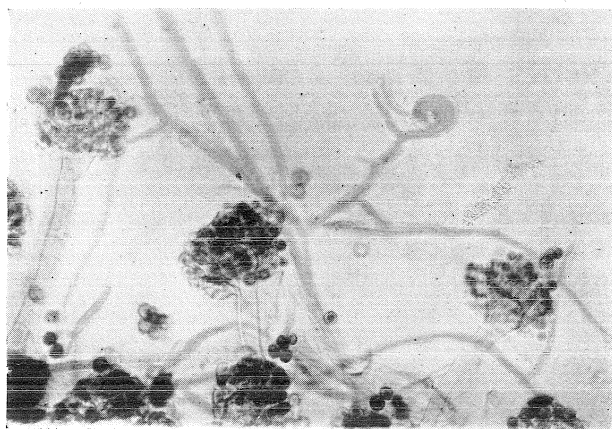


FIG. 6. — Cabezas aspergilares y órganos sexuales (ascogonio arrollado en espiral y anteridio flexuoso), vistos al microscopio.

En el medio de conservación de Sabouraud llama la atención la existencia de conidióforos tabicados y sin célula pie y la de algunas vesículas cuyos esterigmas están reemplazados por filamentos más o menos largos y flexuosos.

Por lo demás no hay otras características dignas de mención, así como tampoco en los caracteres microscópicos del desarrollo en agar mosto y agar-papa, a no ser la existencia en el primero de los medios nombrados, de peritecios que miden hasta 224 μ de diámetro.

Propiedades fisiológicas. — Temperatura óptima de desarrollo: 30° C. Para esta determinación se sembraron tres tubos anchos conteniendo medio con miel de Sabouraud, depositando en el centro de la superficie una partícula de cultivo, aproximadamente del mismo tamaño en todos. La colonia medía, al tercer día, 15 mm en el tubo incubado a 30°; en cambio el desarrollo era apenas incipiente en los incubados a temperatura ambiente (15 a 20°) y a 37° C.

Acción sobre los hidratos de carbono: No acidifica ni hace fermentar los siguientes azúcares: glucosa, levulosa, manosa, galactosa, maltosa,

lactosa, sacarosa y rafinosa, agregados en la proporción del 2 % a tubos de Durham conteniendo agua de levaduras. Los hidratos de carbono fueron disueltos en agua destilada y esterilizados a 115° durante 10 minutos.

Elección de azúcares: para la determinación de esta propiedad preparamos un medio sintético, el de Stelling-Dekker, sin hidrato de carbono, agarizado al 2 % y repartido en tubos gruesos en cantidad de 18 cm³ en cada uno. Después de agregarles las diferentes fuentes carbonadas (disueltas en agua y esterilizadas aparte) en la proporción del 2 %, se mezcló bien su contenido y se los inclinó en pico de clarinete. Los tubos fueron sembrados depositando en la parte media de su superficie una partícula de material de un cultivo fresco, aproximadamente del mismo tamaño en todos ellos, efectuándose dos lecturas, a los 10 y a los 17 días de incubación a 30°. El resultado fué el siguiente: glucosa + + +, levulosa + + +, manosa + + +, galactosa + + + +, lactosa + + en superficie y + + + + en profundidad, sacarosa + + + +, maltosa + + + +, dextrina + + + +, inulina + + en superficie y + + + + en profundidad, manitol + + + +, sorbitol + + + +. Las cruces indican el diámetro relativo de las colonias.

Asimilación de fuente nitrogenada. — Esta experiencia conducida en la misma forma que la anterior, pero utilizando las siguientes fuentes nitrogenadas en la proporción del 0,5 %: peptona + + + +, asparagina + + +, urea + + (±), nitrato de potasio + +, sulfato de amonio +. Las cruces indican igualmente el diámetro relativo de las colonias en los diferentes tubos al cabo de 10 y 17 días de incubación a 30°. La peptona y luego la asparagina, son, pues, las fuentes nitrogenadas mejor utilizadas.

Facultad de utilizar el alcohol etílico: Desarrolla en un medio sintético con 3 % de alcohol etílico como única fuente carbonada.

Reducción de nitratos en nitritos: negativa.

Producción de indol: negativa.

Producción de SH₂: Negativa, tanto en el agar caldo glucosado adicionado de 0,05 % de acetato básico de plomo, como en medios glucosados y con extracto de hígado sobre los cuales se suspendieron tiras de papel de filtro impregnadas de la misma sal de plomo.

Acetil-metil-carbinol (reacción de Voges-Proskauer): No produce.

Acción sobre las grasas: No ataca la grasa de ternera ni el aceite de olivas adicionados en la proporción del 1 % al medio de Czapek y al agar-caldo, perfectamente emulsionados estando aún calientes y fundidos estos medios y rápidamente enfriados. La observación

al cabo de 1 mes de desarrollo, no reveló aclaramiento del medio ni la presencia de ácidos grasos.

Leche tornasolada: No modifica.

Mosto gelatinado: licuación parcial a los 15 días a 30°:

RESUMEN

Hemos estudiado un *Aspergillus* aislado en varias oportunidades en cultivos puros del primer caso argentino de micetoma maduro-micósico con granos negros.

Estos granos eran enroscados y medían unos 3 mm de diámetro. Al examen microscópico presentaban filamentos tabicados de 3 μ de diámetro más o menos y numerosos clamidosporos de 20 μ de diámetro, incluidos estos elementos en una substancia intercelular amorfa de color pardo.

El *Aspergillus* estudiado forma en los medios sólidos de cultivo colonias aterciopeladas de color verde con zonas amarillentas. Su examen microscópico revela un micelio vegetativo de 3,06 μ a 7,65 μ de diámetro y dos tipos de fructificaciones:

a) *Fructificación imperfecta*: Conidióforos erectos de 234 \times 4,59-15,3 μ . Cabezas aspergiliares globulosas o alargadas de 72 μ a 108 μ con cadenas flojas de conidias. Vesículas globulosas, raramente piri-formes, de 12,24 a 30,6 μ de diámetro, llevando una sola serie de esterigmas de 6,12 a 10,71 μ \times 3,50-3,82 μ . Conidias rugosas, pigmentadas, globulosas o elípticas de 4,59 a 6,12 μ de diámetro.

b) *Fructificación sexuada o perfecta*: Peritecios amarillentos de 55 a 224 μ de diámetro, globulosos. Ascospores globulosos, octosporados, de 11 μ . Ascospores rugosos elípticos con dos crestas ecuatoriales que limitan un surco, de 4,59 \times 3,28 μ .

Propiedades fisiológicas. — Temperatura óptima de crecimiento: 30° C.

No hace fermentar los azúcares. Elección de hidratos de carbono: las colonias adquieren un diámetro mayor en medios sintéticos con galactosa, maltosa, sacarosa, dextrina, manitol y sorbitol que en los que contienen glucosa, levulosa, manosa y lactosa. Utiliza el alcohol etílico, no hidroliza el almidón ni ataca la celulosa.

Asimila mejor la peptona y la asparagina que la urea, nitrato de potasio y sulfato de amonio.

Leche tornasolada: no la modifica.

No produce indol, acetyl-methyl-carbinol ni desprende hidrógeno sulfurado.

Reducción de nitratos en nitritos: negativa. Poder proteolítico débil y bacteriolítico: no tiene. No ataca la grasa de ternera ni el aceite de olivas.

Clasificamos este hongo como *Aspergillus (Eurotium) chevalieri* Mangin, 1909.

RÉSUMÉ

Nous présentons l'étude d'un *Aspergillus* isolé en cultures pures et à plusieurs reprises d'un cas de mycétome à grains noirs observé en Argentine.

Les grains sont enroulés, de 3 mm de diamètre et montrent à l'examen microscopique un mycélium ramifié et cloisonné de 3 μ de diamètre et de nombreux chlamydozoospores jusqu'à 20 μ de diamètre, inclus dans une substance intercellulaire amorphe et de couleur brune.

Dans les milieux solides de culture cet *Aspergillus* forme des colonies veloutées vertes avec des zones jaunes, A l'examen microscopique on observe un mycélium végétatif de 3,06 μ a 7,65 μ de diamètre et deux types de fructifications:

a) *Fructification imparfaite*: Conidiosphères dressés de 234 \times 4,59-15,3 μ . Têtes aspergillaires de 72 a 108 μ globuleuses ou allongées avec des chaînes lâches de conidies. Vésicules globuleuses ou piriformes de 12,24 a 30,6 μ de diamètre. Stérigmes en une seule série de 6,12-10,71 \times 3,50-3,82 μ . Conidies rugueuses, pigmentées, globuleuses ou élliptiques de 4,59 a 6,12 μ de diamètre.

b) *Fructification parfaite*: Perithèces jaunâtres et globuleux de 55 a 224 μ de diamètre. Asques globuleux octosporés de 11 μ . Ascospores élliptiques de 4,59 \times 3,83 μ légèrement rugueux avec deux arêtes équatoriales limitant un sillon.

Propriétés physiologiques. — Température optima pour le développement 30° C.

Il ne fait pas fermenter les sucres et le pouvoir électif de ces substances apprécié par les diamètres relatifs des colonies, est le suivant: galactose + + +, succhrose + + +, maltose + + +, dextrine + + +, manitol + + +, sorbitol + + +, glycose + +, mannose + +, levulose + +, lactose +, inuline +. Il utilise l'alcool éthylique comme la seule source de charbon. Il n'hydrolise pas l'amidon et n'attaque

pas la cellulose et les graises. Il assimile mieux la peptone et l'asparagine que l'uré, nitrate de potassium et sulphate d'ammonium. Il ne produit pas d'indol, acétal-méthyl-carbinol, ni SH_2 . Il ne réduit pas les nitrates en nitrites ni possède pouvoir bactériolytique (staphylocoque, *B. prodigiosus* et *B. pyocyanique*).

Lait tournesolé: n'est pas modifié. Moût de bière gélatiné: est légèrement liquéfié.

Nous classons ce champignon comme *Aspergillus (Eurotium) chevalieri* Mangin, 1909.

SUMMARY

We have studied a strain of *Aspergillus* isolated in pure culture and in different opportunities from the first argentine case of black grain madura foot.

The grains were twisted and had 3 mm of diameter, more or less. Its microscopical examination revealed a septated mycelium of 3 μ of diameter numerous chlamydospores up to 20 μ of diameter, inclosed in an amorphous and brown-colored intercellular substance.

This *Aspergillus* formed on solid media green velvety colonies with yellow zones. Under the microscope it showed a vegetative mycelium of 3,06-7,65 μ of diameter and two types of fructifications.

a) *Imperfect fructification*: Erect conidiospores of $234 \times 4,59$ -15,3 μ with smooth walls. Globose or elongated conidial heads of 72-108 μ of diameter, with loose chains of conidia. Globose or pyriforme vesicles of 12,24-30,6 μ of diameter. Sterigmata in one series of 6,12-10,71 \times 3,50-3,28 μ . Globose or elliptical and rough conidies of 4,59-6,12 μ .

b) *Perfect fructification*: Globose and yellowish perithecia of 55 μ to 224 μ of diameter. Globose eight spored asci of 11 μ of diameter. Elliptical and rough ascospore with two equatorial crests limiting one furrow, of 4,59 \times 3,83 μ .

Physiological characteristics. — Optimum temperature for development: 30° C. Sugars: not fermented. Elective power for different carbo-hydrates: galactose, succhrose, maltose, dextrine, manitol and sorbitol + + +, dextrose, mannose and levulose + +, lactose and inuline +. The sign + signifies the comparative diameter of the colonies on synthetic media with different carbo-hydrates.

It grows in media containing 3 % of ethylic alcohol as the only source of carbon. Starch: not hydrolised and cellulose no attacked

Assimilation of peptone and asparagine better than urea, NO_3K and $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$.

Gelatine: Slightly liquefied. It does not form indol, acetil-methyl-carbinol and SH_2 . Reduction of nitrates to nitrites: negative. Litmus. milk: not modified. Bacteriolytic power (staphylococcus, B.- pyo cyaneus and prodigiosus): negative.

We have classified this fungus as *Aspergillus (Eurotium) chevalieri* Mangin, 1909.

BIBLIOGRAFIA

1. CRAMWELL, D. « Sobre dos nuevos casos de actinomicosis humana ». B. Aires, 1903.
2. LIGNIERES, J., et SPITZ. « Contribution à l'étude des affections connues sous le nom d'actinomycose ». *Arch. parasit.*, t. VII, 1903, p. 428.
3. GRECO, N. V. « Primer caso de pie de madura o micetoma en la República Argentina ». Tesis. Buenos Aires, 1904.
4. MAROTTA, R. A. « Contribución al estudio de la actinomicosis y pseudo actinomicosis del hombre en la República Argentina ». Tesis. Buenos Aires, 1904.
5. BACHMANN, A.; CRAMWELL, D., y MARC DEL PONT, A. « Sobre un caso de estreptotricosis del pie ». Libro de oro ofrecido al prof. Dr. R. Wernicke. Buenos Aires, 1909, p. 207.
6. YAZBEK, A. K. « Dos mycetomas ». S. Paulo, 1920.
7. THOM, CH., and CHURCH, M. B. « The Aspegilli ». Baltimore, 1926.
8. ALMEIDA, F. P. DE.
9. SEATON, S. P. « Chronic sinuses of leg. Probably resultign from a mycetoma Infection ». *Chiniese Med. J.*, t. XLVII, 1933, pp. 923-924.
10. BORTOLOZZI, M. « Osservazione di un caso di « piedi di madura » nel Veneto. *La C ir. degli org. di movimento*, vol. XIX, 1934, p. 611.
11. CATANEI, A. « Etude parasitologique de trois mycétome du pied observés en Algérie en 1933 ». *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, t. XII, 1934, n° 2, pp. 169-180.
12. CATANEI, A., et GOINARD, P. « Un nouveau cas algérien de mycétome du pied ». *Bull. Soc. Path. exotique*, t. XXVII, 1934, pp. 170-178.
13. ELMES, B. G. T. « A case of black grain mycetoma ». *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. & Hyg.*, vol. XXVII, 1934, n° 4, pp. 417-419.
14. MAZZINI, O. F. « Micetoma de la mano (Actinomyces melánico) ». Soc. de Cir. de B. Aires, *Bol. y trabajos*, t. XVIII, 1934, pp. 943-946.
15. MONTPELLIER, J., et CATANEI, A. « Resultats de l'étude d'un nouveau mycétome du pied observé à Alger ». *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXVII, 1934, pp. 209-214.
16. BEITZKE, H. « Zur Kenntnis des Madurafusses ». *Scwei. Med. Woch.*, 1935, XVI Jah., n° 9, pp. 206-207.
17. DODGE, C. W. « Medical mycology ». St. Louis, 1935.
18. ILDRIM, D. J. « Madurapilz in Nordkaukasus (U. S. S. R.) ». *Arch. f. Schiffs u. Tropenhygiene*, Bd. 39, 1935, H. 8, pp. 348-349.
19. BRUMPT, E. « Précis de parasitologie ». Paris, 1936.

20. JAUBERT DE BEAUJEN, A.; DUPLENNE, AL., et BAFFOUN, M. (Tunis). « Un cas de pied de Madura ». *J. de Radiologie et d'Electr.*, t. 20, 1936, pp. 32-33.
21. ANDERSON, CH.; BRUN, G., et COURSIERES, H. « Note sur le XXe. cas de pied de Madura observé à Tunis. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*. T. XXVI, 1937, n° 1, pp. 156-159.
22. BOERS, KOUWENAAR & WOLFF. « Mycetoma pedis (Maduravoet) ». *Geneesk. Tijdschr. Ned. Ind.*, t. LXXVIII, 1938, n° 27, pp. 1606-1613. Ref.: *Rev. of Appl. Mycology*, v. XVIII, 1939. P. 7, pp. 455.
23. GARZON, R. « Micosis », Córdoba, 1938.
24. VEREBELY, T. « Morphologie de l'hyphomycosis pedis ». *La Presse Medicale*, 1938, n° 51, pp. 989-992.