

11661
1
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"DETECCION DE LAS VARIACIONES DE LA
RESPUESTA CELULAR EN ORGANISMOS
INMUNOSUPRIMIDOS BAJO LA ACCION DE
ALGUNOS HONGOS Y ACTINOMICETOS
PATOGENOS"**

T E S I S

**PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(AREA: MICROBIOLOGIA)**

MA. TERESA BERTHA ARGUERO LICEA

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E.

	PAGS
DIAGRAMAS Y TABLAS	i
RESUMEN	ii
1. INTRODUCCION	1
1.1. Levaduras.....	1
1.1.1. Diferentes especies de <u>Candida</u>	1
1.1.2. <u>Cryptococcus neoformans</u>	4
1.2. Hongos filamentosos.....	7
1.2.1. Diferentes especies de Dermatófitos	7
1.2.2. Diferentes especies del género <u>Aspergillus</u>	11
1.2.3. <u>Coccidioides immitis</u>	15
1.2.4. <u>Histoplasma capsulatum</u>	17
1.2.5. <u>Blastomyces dermatitidis</u>	19
1.2.6. <u>Paracoccidioides brasiliensis</u>	22
1.3. Actinomicetos.....	25
2. JUSTIFICACION	32
3. OBJETIVOS	33
4. MATERIAL Y METODOS	34
5. RESULTADOS	44
6. DISCUSION	84
7. CONCLUSIONES	93
8. REFERENCIAS	94

LISTA DE DIAGRAMAS Y TABLAS.

	PAGS.
DIAGRAMA 1.- Modelo con <u>Histoplasma capsulatum</u>	40
DIAGRAMA 2.- Modelo con <u>Blastomyces dermatitidis</u>	41
DIAGRAMA 3.- Modelo con <u>Paracoccidioides brasiliensis</u>	42
DIAGRAMA 4.- Modelo con diferentes especies de Actinomicetos patógenos.....	43
TABLAS 1 - 5 Implantación de <u>Histoplasma capsulatum</u>	49
TABLAS 6 - 11 Implantación de <u>Blastomyces dermatitidis</u>	54
TABLAS 12 - 17 Implantación de <u>Paracoccidioides brasiliensis</u> .	60
TABLAS 18 - 35 Implanatación de diferentes especies de Actino- micetos patógenos.....	66

RESUMEN.

INTRODUCCION: Actualmente existen un gran número de fármacos que se utilizan en el tratamiento de enfermedades agudas y crónicas. los cuales actúan sobre la respuesta inmune tanto humoral como celular y poco se ha investigado sobre la acción de estos medicamentos en la proliferación de algunos hongos y actinomicetos patógenos en el huésped, por lo tanto en la realización de este - - trabajo se planteó el siguiente OBJETIVO: Implantar algunos hongos y actinomicetos patógenos en ratón bajo la acción de algunos fármacos de uso común.

MATERIAL Y METODOS: Se trabajaron con lotes de 10 ratones cada uno, se inyectaron con 0.1 ml. cada 24 horas (8 días) por vía intraperitoneal con antibióticos (cloranfenicol, kanamicina, ampicilina, gentamicina), inmunosupresores (cortisona, dexametasona, butazolidona y parametasona) y un antiinflamatorio (neomelubrina) en concentraciones equivalentes a las utilizadas en el humano; al noveno día se inocularon con 0.1 ml. de una suspensión conteniendo 140 mg/ml (peso húmedo) de: Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis (fase micelial), Nocardia brasiliensis, Nocardia asteroides, Nocardia otitis caviarium (fase vegetativa) y con Histoplasma capsulatum (fase micelial) en una concentración equivalente al tubo No. 5 de la escala de Marckfarland. Se sacrificaron de 1 a 2 ratones a los 9 días después de la inoculación con los microorganismos, por examen directo o tinción se buscaron las formas características de la fase parasitaria de los hongos y actinomicetos así como la colonia típica de cada uno de ellos en agar Sabouraud dextrosa.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES: Los fármacos que favorecieron la implantación de los hongos y actinomicetos fueron: el cloranfenicol y parametasona para Histoplasma capsulatum en 14 días; ampicilina para Blastomyces dermatitidis en 7 días; neomelubrina en Paracoccidioides brasiliensis y Nocardia asteroides a los 7 y 12 días respectivamente; la cortisona para Nocardia brasiliensis a los 13 días, y para Actinomadura madurae 12 días.

De acuerdo a los resultados obtenidos se logró la observación de las formas parasitarias en tiempo más corto que los reportados en estudios previos.

1. - INTRODUCCION

Muchos de los conocimientos de medicina en el hombre han sido aprendidos por analogía desarrollando la investigación en animales de laboratorio, su empleo como parte de los reactivos biológicos dentro de la investigación médica y veterinaria así como en otras actividades científicas tiene una gran importancia y trascendencia. Actualmente su utilización tiene una prioridad en la experimentación dentro de los campos de la inmunología, histoquímica, contaminación ambiental, la producción y estandarización de los reactivos biológicos y farmacológicos.

Un animal de experimentación es un instrumento de trabajo útil y con frecuencia indispensable que se cría y mantiene bajo sistemas de reproducción con control en el equilibrio biológico, fisiológico y manejo sanitario con el fin de evitar variaciones que interfieran en el resultado de la investigación.

En micología médica, los animales de laboratorio se han empleado como modelos para estudiar los mecanismos de relación huésped-parásito, inmunológicos, terapéuticos, en el xenodiagnóstico, etc.; los animales más utilizados han sido: ratón, cobayo, hámster, conejo y otros; los cuales se han inoculado con algunas levaduras y hongos filamentosos patógenos en las condiciones adecuadas para estudiar los mecanismos antes mencionados.

1.1.-LEVADURAS

1.1.1.- Diferentes especies de *Candida* y *Cryptococcus neoformans*.

Entre las levaduras patógenas está *C. albicans*, la cual se

encuentra como parte de la flora normal en los animales pero se han reportado diferentes formas clínicas como forma oral, balanitis, oniquia y paroniquia en monos (133); la cutánea en perros (57); de lesiones de tracto digestivo en gallinas y pavos (8, 127, 133); de úlceras esofágicas en cerdos (133), en primates (105, 158) y ovinos (54, 133, 160); la diseminada se ha visto en mono araña (130), en cabras (123) y ratones (78, 133) y mastitis en ganado bovino (133).

Experimentalmente los animales más utilizados han sido el ratón, cobayo y conejo; el ratón y conejo son igualmente susceptibles a *C. albicans* cuando son inoculados por vía intravenosa (133), *C. parapsilosis*, *C. guilliermondi* y *C. tropicalis* son relativamente no virulentas (143), sin embargo, en otros reportes *C. albicans* y *C. tropicalis* inoculadas intraperitonealmente en ratón produjeron pielonefritis severa (7, 78). Pearsall y col. en 1974 (137) reportan en ratón C57 BL/Ks la evidencia de la participación de la respuesta inmune celular por estudios histopatológicos.

Estudios sobre la inmunoregulación en ratones CBA/J o BALB/C B y J realizados por Carrow en 1985 (35) reportan una supresión inmune celular importante por la glucoproteína de la pared celular de *C. albicans*. También se han postulado péptidos provenientes de macrófagos y granulocitos alveolares de conejo que tienen propiedades antifúngicas contra *C. albicans* (165). La actividad de este péptido como candidicida dependió de su capacidad de unión con *C. albicans* y de otros factores como la temperatura e iones calcio (116). En 1977 Cutler (55) demostró la presencia de una sustancia en filtrados del cultivo del hongo con efectos

quimiotácticos en los neutrófilos y polimorfonucleares de cobayo y en ratones inoculados intraperitonealmente con *C. albicans* inactivada. Con el objeto de probar algunos factores predisponentes en las infecciones por *C. albicans* tales como los iatrogénicos dentro de los cuales se encuentra la administración de glucocorticosteroides como la hidrocortisona inyectada previamente en cobayo con candidosis diseminada, se demostró que aumenta la morbilidad y abatimiento de la respuesta inmune durante la infección (98).

Louria y col. en 1960 (120) probaron que este esteroide inyectado 6 días antes y después de la inoculación de *C. albicans* aumenta la mortalidad, la cual estaba relacionada con la multiplicación de la levadura en riñón.

La generación de células supresoras en neoplasias ha sido bien establecida y se ha demostrado que el uso de agentes quimioterapéuticos no únicamente actúa sobre las células tumorales sino también elimina células supresoras tal como hace la ciclofosfamida administrada en tiempo y dosis adecuada, de tal manera que elimina las células precursoras de los linfocitos T supresores; en ratones BALB/C pretratados con este fármaco favorece la implantación de *C. albicans*, además de otras drogas como la mitomicina C, sílica gel y azul de tripano, los cuales son inhibidores de la actividad de los macrófagos y también favorecen la proliferación de esta levadura (177). Sin embargo, existen otros compuestos como BCG que disminuyen la mortalidad producida por este agente en ratones inmunosuprimidos (166).

Con el objeto de buscar un efecto terapéutico de algunos antifúngicos, Cutsem en 1987 (56) probó en cobayos infectados por

vía intravenosa con *C. albicans* la eficacia del itraconazole y encontró que en dosis adecuadas era efectivo contra la candidosis sin efectos secundarios, en ratones se probó también en la forma sistémica y fué igualmente efectivo. El conejo con neutropenia prolongada y con candidosis producida por *C. albicans* y *C. tropicalis* en forma diseminada, Thaler y col. en 1988 (172) probaron el efecto de la anfotericina B, 5-fluorocitosina, ketoconazole y rifampicina solos y combinados, los resultados indicaron que la combinación de anfotericina B y 5-fluorocitosina fué el único tratamiento para eliminar la candidosis renal.

1.1.2.-*Cryptococcus neoformans*.

Otra levadura patógena es *Cryptococcus neoformans*, agente etiológico de la criptococosis; fué reportada por primera vez en buey y desde entonces se ha reportado en caballos, perros, zorros, delfines, monos, cobayos y pájaros (40, 133, 161). Los sitios más frecuentemente afectados en los animales son: sistema nervioso central, ojo y pulmón, en éste último se inicia la infección y se disemina a la región facial, nariz paladar y piel. La mastitis por *Cryptococcus* en vacas es una enfermedad cosmopolita causándoles distensión mamaria con producción de secreciones características (133). Experimentalmente la criptococosis es producida en animales de laboratorio como el ratón y el conejo, éste último es menos susceptible quizá porque tiene como temperatura normal 39.6°C, lo cual hace difícil la proliferación de la levadura (133); la mayoría de estos trabajos han sido sobre mecanismos de patogenicidad y resistencia con el polisacárido capsular del hongo y desde 1967 uno de los primeros trabajos fué el de Goren y col.

(82), quienes probaron como antígeno el polisacárido purificado extraído de un cultivo de *C. neoformans* tipo "A" muy capsulado, lo emplearon solo y unido a fracciones derivadas del mismo, los inyectaron a ratones CDI y demostraron que el polisacárido soluble inerte fué un potente antígeno cuando se acopló a la proteína heteróloga.

En 1970 Kosel y col. (110) probaron el polisacárido soluble de dos cepas de *C. neoformans*, una poco capsulada y con baja virulencia y la otra capsulada altamente virulenta y con elevado contenido de ácido urónico, éstos se inyectaron a ratones por vía intracerebral, intraperitoneal e intravenosa, la cepa más virulenta produjo la muerte en el 90% de los ratones inoculados por vía intracerebral en comparación del 10% en los animales inoculados con la cepa menos virulenta. Los resultados confirman que las diferencias estructurales y antigénicas determinan la virulencia de las dos cepas; ésta tiene relación con la producción de fenoloxidasa en diferentes cepas de *C. neoformans*, lo cual fué demostrado por Rhodes y col. en 1982 (147) quienes inocularon ratones por vía intravenosa con dos cepas de levaduras con diferente actividad de fenoloxidasa y demostraron que las cepas con producción de pigmento MEL (MEL⁺) produjeron un mayor índice de mortalidad que las MEL⁻; por lo tanto los investigadores concluyeron que la actividad fenoloxidasa es un factor de virulencia del hongo.

La fagocitosis en relación al tamaño de la cápsula de la levadura fué estudiada por Mitchell y col. en 1972 (125) quienes utilizaron células de exudado peritoneal de rata Lewis para probar la fagocitosis en cinco cepas de *C. neoformans* con alto contenido

capsular y encontraron que el número de levaduras ingerido era inversamente proporcional a la medida de la cápsula de las diferentes cepas estudiadas; el efecto antifagocitario del polisacárido se debe a que no permite la adhesión de las levaduras a las células fagocíticas (11).

Varios investigadores estudiaron la respuesta a la hipersensibilidad tardía con 4 fracciones celulares de *C. neoformans* inoculadas en el cojinete plantar de ratones y cobayos, la fracción mitocondrial produjo una alta reacción de hipersensibilidad en cobayos sin reacción cruzada en animales sensibilizados con otros hongos heterólogos (83).

Esta reacción también fue evaluada en ratones inmunizados con la levadura, la respuesta cutánea se estudió por histopatología, los antígenos fueron preparados a partir de extractos de membrana y sustancias solubles del citoplasma, los resultados demostraron una protección altamente positiva (151). Murphy en 1982 (131) en un modelo con ratones CBA/J inmunizados con antígenos de *Cryptococcus* por vía intravenosa induce supresión de células en los nódulos linfáticos, deprime la reacción de hipersensibilidad tardía y de células T responsables de la inhibición del crecimiento de *C. neoformans* in vitro.

Con el objeto de estudiar la transferencia inmune adoptiva de células provenientes de bazo de ratones que han sobrevivido a la infección por *C. neoformans*, Graybill en 1979 (85) monta un modelo con ratones y conejos en los cuales transfiere la inmunidad mediada por células y la respuesta fue detectada por medio de las técnicas de hipersensibilidad tardía y MIF, los resultados indican que la protección inmune celular sí puede ser transferida. En otro

estudio semejante estas células se tomaron de ratones BALB/C y C57 BL/6J y fueron fusionadas con células de mieloma con el objeto de obtener anticuerpos monoclonales hacia antígenos fúngicos para aplicación terapéutica, los resultados demostraron que de 40 mielomas solo 9 produjeron anticuerpos contra *C. neoformans* (90). Graybill y col. en 1981 (84) demostraron que los anticuerpos de conejo infectado con *C. neoformans* indujeron inmunidad pasiva contra la criptococosis inducida en ratones normales y atímicos; sin embargo, dicha protección fué demostrada únicamente con los anticuerpos que se encuentran durante el tiempo del reto y en los sitios de inmunización en el ratón.

En cobayos se han estudiado algunos mecanismos inmunológicos en la criptococosis tal como lo describen Murphy y col. en 1979 (132), quienes estudiaron la reacción de hipersensibilidad tardía en cobayos inoculados con filtrados de *C. neoformans* y sus fracciones, los resultados indicaron que la fracción glucoproteica produjo una induración significativamente marcada en la prueba intradérmica.

1.2. -HONGOS FILAMENTOSOS.

Diferentes especies de dermatofitos y del género *Aspergillus*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* y *Paracoccidioides brasiliensis*.

1.2.1. -Diferentes especies de dermatofitos.

Los animales de laboratorio también han sido útiles para explicar los mecanismos de patogenecidad de los hongos filamentosos, para estudiar las interacciones inmunológicas, xenodiagnóstico y los medicamentos útiles en el tratamiento de las enfermedades que

éstos producen; dentro de éstas se encuentran las dermatofitosis, las cuales se han reportado en animales salvajes y domésticos desde hace algunas décadas, en perros, en gatos (34, 36, 71, 103, 135, 115), en equinos, (36, 171), en cerdos, (43, 44), en bovinos (36, 70) y otros.

Experimentalmente los más empleados han sido el cobayo y el conejo en los estudios de patogenicidad, inmunidad, tratamiento y profilaxis; en cobayo se ha probado la implantación de dermatofitos detección de la resistencia a esta micosis y desde 1908 se demostró la infección cutánea en cobayos producida por los dermatofitos zoofílicos *Achorion quinckeanum* y *T. gypseum*, las lesiones producidas curaban espontáneamente de tres a cuatro semanas y les produjo cierta resistencia a una segunda infección, por lo tanto se concluyó que apareció cierta inmunidad que persiste hasta 18 meses después de la primera infección; posteriormente se demostró la hipersensibilidad y resistencia parcial en cobayos frotados en piel con una suspensión de micelio inactivado por calor de varias cepas de dermatofitos y con los sobrenadantes de los mismos (84). En el mismo año se describió un factor "anticuerpo" que fué encontrado en células epiteliales de cobayo infectado con *A. quinckeanum*; este factor termoestable mezclado con esporas vivas "in vitro" a 37°C formaban una sustancia tóxica que inoculada en cobayos producía una reacción inflamatoria, pero no una dermatofitosis; Greenbaum en 1924 comprueba el fenómeno y además afirma que la inmunidad en esos animales era local y después desaparecía rápidamente (83, 87). En cobayos infectados por vía intradérmica con una suspensión de esporas de *Trichophyton equinum*, *T. granulorum*, *A. gypseum* y con

tricotitina preparada con el filtrado de los cultivos de las mismas cepas observaron que éste no era un buen antígeno de prueba, sin embargo una suspensión de esporas utilizada como antígeno aumentaba la cantidad de anticuerpos en el suero en el 85% de los cobayos inoculados. En los mismos animales pero reinfectados con una suspensión de esporas muertas por esterilización de *T. granulosum* por vía subcutánea, tres semanas después de la primera inoculación se produjo una reacción menos aparente que la producida con esporas viables (83).

En 1938 DeLamater y col. (64) estudiaron la reacción dermatofítica para caracterizar la inmunidad adquirida en cobayos inoculados con varias cepas de dermatofitos y observaron que la segunda infección curaba espontáneamente y más rápidamente que la primera, la resistencia alcanzaba su máximo de 2 a 3 semanas después de la desaparición de la primoinfección y coincidía con la aparición de la hipersensibilidad tardía. Estos hallazgos fueron confirmados en cobayos inoculados con cepas virulentas de *T. mentagrophytes* obtenidas del hombre y de animales; en cobayos hembras preñadas e inoculadas con dermatofitos encontraron varios investigadores que la resistencia a la infección por estos hongos no pasaba al producto (83).

Reiss y col. en 1956 (144) demostraron que la inyección con tricotitina con y sin adyuvante de Freund produce hipersensibilidad en cobayos sin resistencia a la infección, pero aplicaciones tópicas con micelio de *T. mentagrophytes* con una base de ungüento producían hipersensibilidad y resistencia parcial con inmunidad de corta duración en estos animales (83, 106).

Estudios sobre la detección de anticuerpos en suero de conejos

infectados con dermatofitos han tenido poco éxito, sin embargo en cobayos inmunizados con micelio muerto de dermatofitos Kolmer y col. en 1915 (109) demostraron la producción de aglutininas, precipitinas y anticuerpos fijadores de complemento.

Cox y col. en 1945 (51) infectaron conejos con *T. verrucosum* y detectaron precipitinas a los 24 días después de la inoculación que persistieron durante 13 semanas; después de varias reinfecciones detectaron anticuerpos fijadores de complemento pero no encontraron una correlación entre el título de anticuerpos y la susceptibilidad a la reinfección.

En 1950 Wharton y col. (180) infectaron conejos por vía subcutánea con una suspensión de *T. rubrum* con adyuvante de Freund y encontraron que los animales fueron resistentes por más de 17 meses con detección de anticuerpos precipitantes.

Evidencia de enlace de los anticuerpos al sitio de la infección fué demostrada en cobayos infectados con *T. mentagrophytes* var. *granulosum* por medio de la técnica de fluorescencia indirecta utilizando anticuerpos fluorescentes de conejo contra queratinasa aislada de este hongo, la reacción apareció en la capa externa del folículo piloso y se concluyó que la reacción pudo deberse a los anticuerpos circulantes con alta afinidad al tejido.

En conejo y gato se ha demostrado que una segunda infección con *T. rubrum* es semejante a la primera, no hay inmunidad adquirida o sensibilización cutánea; sin embargo, en conejo sí apareció sensibilidad después de varias inoculaciones; después de la reinfección con este hongo en perros, gatos y conejos las lesiones aparecen más pequeñas y permanecen corto tiempo (83).

En modelos experimentales con ratón y rata Kligman en 1956 (108)

no encuentra evidencia de inmunidad adquirida contra los dermatofitos.

Otros animales han sido utilizados para estudiar los mecanismos inmunológicos tal como ganado vacuno, se han detectado anticuerpos en suero de vacas infectadas con *T. verrucosum* por hemaglutinación con títulos arriba de 1:32 pero no hubo correlación entre la aparición de anticuerpos con la severidad de la enfermedad (83).

Lopper en 1972 (117) estudia el desarrollo en la resistencia por más de un año a la infección por *T. verrucosum* en ganado vacuno y encontró que la infección primaria curaba espontáneamente, el animal adquiría la resistencia a la reinfección en los sitios locales infectados, la respuesta inflamatoria disminuía más rápidamente en animales viejos y la desaparición de la infección iba asociada a una marcada reacción de hipersensibilidad.

1.2.2.-Diferentes especies de *Aspergillus*.

Otra micosis producida por hongos filamentosos es la aspergilosis, la cual es causada por varias especies del género *Aspergillus*. Esta enfermedad en forma natural se conoce en aves desde hace algún tiempo; Rejo y col. en 1978 (145) describen la forma pulmonar en patos; en México el primer caso en perro con aspergilosis lo reportaron Cervantes y col. en 1985 (38), otros investigadores la encuentran en senos paranasales asociada a un carcinoma (59) sinusitis y rinitis producida por *A. fumigatus* (32) la forma pulmonar (134) keratoconjuntivitis (159) y la forma diseminada producida por *A. fumigatus* y *A. terreus* (185); en gatos se ha reportado la forma pulmonar (138), orbital (183), colitis (26) y sistémica (76); en vacas con la forma cutánea (58) y

pulmonar (6), en ganado bovino (94) y menos frecuente en cabras, ovejas y cerdos (39). Experimentalmente se han estudiado las diferentes especies de *Aspergillus* con el objeto de analizar la virulencia (71), los factores que favorecen la implantación del hongo así como el diagnóstico y tratamiento de esta micosis. Infecciones experimentales en pollos con *A. fumigatus* por vía intratraqueal y dentro del saco aéreo fueron estudiadas por histopatología, las lesiones aparecieron al segundo día después de la inoculación del hongo y se presentó necrosis a los diez días (168).

En conejos expuestos con aerosol de *A. fumigatus* e inoculados con una suspensión de la misma cepa por vía digestiva se estudió la sobrevivencia del hongo por exámenes histológicos y cultivo; en pulmón fueron detectadas esporas viables después de dos a tres semanas de la inoculación del hongo y en tracto intestinal a los 16 días (175).

En ovejas inoculadas con *A. fumigatus* por vía intravenosa y por arteria uterina, Thurston y col. en 1972 (176) detectaron precipitinas en el suero de estos animales y en ovejas preñadas se detectaron anticuerpos IgM e IgG (45), los títulos de estos anticuerpos aumentaron cuando se producía la infección del producto por el hongo, las concentraciones de las proteínas, albúmina y globulinas α , β y γ no mostraron cambios importantes que pudieran estar relacionados con el aborto o infección de la placenta (47).

En diagnósticos serológicos por medio de contraelectroforesis para determinar precipitinas en suero de perros infectados con *A. fumigatus* se detectaron éstas a los 90

min y por inmunodifusión a las 96 horas (150).

Galactomananas de *A. fumigatus* se han encontrado en suero de conejos letalmente infectados por este hongo, éstas fueron utilizadas para la detección de antígenos en pacientes con aspergilosis invasiva por las técnicas de radioinmunoensayo y Elisa, las cuales resultaron confiables y sin reacciones cruzadas (89).

Vacunas preparadas a partir de cultivos de *A. fumigatus* fueron probadas en pavos de 1 a 2 semanas de edad por inyecciones repetidas por vía subcutánea, los animales fueron expuestos a esporas del hongo por aerosoles y la mejor vacuna fué la preparada con el micelio del hongo (148). En otro estudio con el mismo modelo encontraron que la vacuna preparada con esporas del hongo recién germinadas fué la más eficaz (149).

Cepas de ratón DBA/2J han sido utilizadas para estudiar la invasión a órganos internos y la virulencia por diferentes especies de *Aspergillus* y encontraron que *A. nidulans* inoculado por vía intravenosa afecta principalmente al cerebro, mientras que *A. flavus* se diseminó a hígado, bazo y riñón (75, 141, 142).

Corbell en 1976 (46) probó la susceptibilidad de dos cepas de ratones a infecciones por *A. fumigatus*; ratones negros Nueva Zelanda con una deficiencia selectiva a la inmunidad mediada por células y en la cepa CBA normal, en ambas se presentaron las mismas características clínicas e histopatológicas, por lo tanto los investigadores concluyeron que la inmunidad mediada por células no es importante en la aspergilosis.

Debido a que se sabe que la aspergilosis invasiva es común en pacientes inmunocomprometidos White en 1977 (182) utilizó ratones

pretratados con cortisona dos días antes de la inoculación por vía respiratoria con los hongos *A. flavus* y *A. fumigatus*, los ratones pretratados resultaron con infección invasiva con alto grado de germinación conidial en los pulmones (155). En otro estudio se encontró una alta mortalidad e invasión a los tejidos y se demostró que la especie más patógena fue *A. fumigatus*, además se observó que este medicamento disminuía la respuesta inflamatoria y el infiltrado leucocitario contenía un aumento en el número de macrófagos, todo esto favoreció la bronconeumonía letal en los animales (151).

Pretratamientos con antibióticos y cortisona en ratones antes de la inhalación por aerosol con esporas de *A. flavus* aumenta la mortalidad en 88% y 67% respectivamente. En conejos inoculados por aerosol con varias cepas de *Aspergillus* e inyectados previamente con ciclofosfamida se encontraron conidias viables en el tracto digestivo después de una hora y en pulmón el hongo viable después de tres semanas de inhalación (152, 160).

Con el objeto de estudiar algunos fármacos y el proceso quirúrgico como tratamiento de esta micosis se han probado modelos experimentales en perro con rinitis producida por *A. fumigatus* diagnosticado por radiografías y tratado por cirugía (112), empleo empírico en modelos animales de fármacos como la adrenalina, antibióticos, parametasona, cloruro férrico, thiabendazol, han sido utilizados en el tratamiento de esta micosis sin éxito; sin embargo, el ketoconazole antagoniza el efecto de la anfotericina B cuando fueron empleados para el tratamiento contra infecciones producidas por *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger* en ratón, de tal manera que el ketoconazole puede recomendarse como profiláctico y

la anfotericina B como fungicida (25, 157).

1.2.3.-*Coccidioides immitis*.

otra enfermedad producida por un hongo filamentoso es la coccidioidomicosis cuyo agente etiológico es *Coccidioides immitis*. Esta micosis es frecuente en forma natural en animales en zonas altamente endémicas. el primer hallazgo de infección natural en animales domésticos fué en 1918; en 1942 se reportaron por primera vez lesiones por *C. immitis* en pulmón y nódulos linfáticos en roedores del desierto de E.U.A. y desde entonces se ha reportado en caballos, vacas monos, llamas, burros y conejos (3, 48, 62, 113, 151, 153, 184). En México, en uno de los reportes epidemiológicos en bovinos se encontró que el 6.5% eran reactores positivos a la coccidioidina (37). Experimentalmente *C. immitis* puede implantarse en animales de laboratorio inoculados por vía intravenosa con 10. artrosporas, las cuales producen una infección crónica en ratones (178) y en murciélagos (151).

Varias cepas de ratones han sido utilizadas para probar la resistencia letal contra la infección de *C. immitis*, como lo muestra el trabajo de Kirkland y col. en 1983 (107) quienes utilizaron ratones DBA/2N, C57 Bl/6M y C57 L/J, siendo la primera cepa la menos susceptible a la infección por las artrosporas del hongo. Se ha investigado la resistencia a la coccidioidomicosis en ratones inmunizados con esférulas muertas de *C. immitis* timectomizados e irradiados y se ha encontrado que los dos últimos grupos fueron menos resistentes a la infección indicando que el funcionamiento de las células T es un componente esencial en la inmunidad efectiva contra *C. immitis* (14). El suero de ratones

vacunados fué incapaz de neutralizar el efecto de las artrosporas de *C. immitis*; en cambio, una población normal de células linfoides previnieron la infección letal en los animales (19).

se han realizado múltiples pruebas con los antígenos preparados con la fase micelial y esférulas del hongo, con las cuales varios investigadores sensibilizaron a cobayos mediante repetidas inoculaciones en piel para estudiar la hipersensibilidad tardía y la inhibición de la migración de macrófagos (MIF). Las pruebas de hipersensibilidad se mostraron con eritema, edema e induración, en cambio el MIF no tuvo significado estadístico (52, 167).

Ward y colaboradores probaron fracciones celulares de la pared del micelio de 3 cepas de *C. immitis*, una soluble en álcali y otra en agua; las inocularon intradérmicamente en cobayos sensibilizados con el hongo para detectar la hipersensibilidad tardía y encontraron que ambos antígenos producían la misma reacción positiva pero la induración producida por la fracción soluble en agua fué mucho menor que la inducida por la fracción soluble en álcali.

La hipersensibilidad tardía a la esferulina también fué estudiada por Kashkin y col. en 1977 (104) en cobayos sensibilizados por el hongo y concluyeron que la inmunidad mediada por células en la coccidioidomicosis involucra macrófagos y linfocitos. En experimentos sobre fagocitosis, Beaman y col. en 1978 (23) observaron que los macrófagos de ratones normales fagocitaban artrosporas y endosporas sin afectar la viabilidad de éstas, en contraste con los macrófagos provenientes de ratones inmunizados que sí disminuían la viabilidad de las esporas fagocitadas. La poca habilidad de los macrófagos normales se pudo explicar por la

reducción en la fusión fagosoma lisosoma durante la fagocitosis.

1.2.4.-*Histoplasma capsulatum*.

Otro hongo filamentosos que produce la histoplasmosis es *Histoplasma capsulatum*, el cual en animales domésticos y salvajes produce la enfermedad, particularmente en perros (31, 102) y la infección ha sido reportada en gatos, cabras y caballos (89, 151). Experimentalmente el perro es muy susceptible inoculado con aerosoles que contienen las conidias del hongo (151). El único animal que se considera como vector importante es el murciélago y quizás el armadillo (2, 63). Otro animal es el ratón en el cual Ajello y Runyon en 1953 (1) logran la infección con una sola macroconidia del hongo; este animal ha sido muy útil para el diagnóstico de esta micosis, debido a que macerado de biopsia o expectoración de pacientes con histoplasmosis inyectados intraperitonealmente en el animal han permitido el aislamiento del hongo de estas muestras clínicas y además del suelo (114, 151).

En el campo de la inmunobiología se han estudiado algunos aspectos relacionados con esta micosis; en los ratones se han hecho experimentos tales como los realizados por Howard y col. en 1971 (95), quienes trabajaron con macrófagos obtenidos de ratones inmunizados con la forma levaduriforme de *H. capsulatum* con el objeto de hacer evidentes las interacciones entre éstos y los linfocitos intraperitoneales, los experimentos establecen que de esta población mixta los linfocitos son las células más importantes como mediadoras del crecimiento restringido del hongo intracelularmente; dos años después repite el mismo estudio para emplear técnicas tintoriales y con radioisótopos para detectar el

crecimiento intracelular del hongo en los macrófagos y comprueba que dicho crecimiento es inhibido en los macrófagos provenientes de animales inmunizados (96). Diferentes cepas de ratones han sido utilizadas para aclarar mecanismos de inmunidad celular tales como los de Tewari y col. en 1977 (174), quienes utilizan células de bazo, peritoneales y suero de ratones C3H inmunizados con ribosomas de *H. capsulatum* o células viables del mismo, éstas fueron inoculadas por vía intravenosa, el experimento demuestra que la inmunidad inducida por la inmunización con ribosomas o células vivas es mediada por mecanismos de inmunidad celular. Con el objeto de estudiar los mecanismos inmunoreguladores en la histoplasmosis diseminada, Watson y col. en 1982 (181) hicieron un estudio con ratones C57Bl/6 y C3H/HeJ infectados por vía intravenosa con formas levaduriformes de *H. capsulatum* para estudiar la actividad de los esplenocitos y definir más claramente la superficie fenotípica de las células T involucradas en la histoplasmosis diseminada y encontraron que dichas células tienen determinantes antigénicos Ly2 e I-J en su superficie, los cuales regulan la respuesta inflamatoria y granulomatosa de la histoplasmosis diseminada. Otros investigadores en modelos con cepas de ratón C3H/ Anf inoculados por vía intravenosa con formas levaduriformes y de la fase micelial de *H. capsulatum*, detectaron anticuerpos fijadores de complemento en el suero de los animales inoculados con ambas fases y por otro lado detectaron cambios en las células del bazo y timo de los animales con infección activa; en otro experimento analizaron la respuesta inmune celular en ratones C3H/ Anf y B6D2F con histoplasmosis diseminada, la cual disminuía por la actividad inmunosupresora de las células de bazo

(4, 5). Howard y col. en 1977 (97) reportan que las linfocinas inyectadas en ratones Swiss Webster y C57 B1/6 pueden inhibir el crecimiento de *H. capsulatum* intracelularmente y los linfocitos son las células mediadoras de este fenómeno.

En ratones C3H inmunizados con formas levaduriformes de *H. capsulatum* se estudió la respuesta blastogénica de las células de bazo a histoplasmina, antígenos ribosomales, a los mitógenos concanavalina A, fitohemaglutinina y lipopolisacáridos; demostraron que las respuestas in vitro de los linfocitos más importantes expuestos a antígenos de *H. capsulatum* y la respuesta suprimida por mitógenos es durante los primeros estadios de la respuesta inmune (173). Otros animales también empleados para estudiar la antigenicidad del hongo han sido los cobayos, los cuales infectados con diferentes dosis de formas levaduriformes de *H. capsulatum* inmunizados con diferentes concentraciones de extractos celulares de la misma forma Damer en 1976 (87) probó in vitro la respuesta mediada por células, los resultados sugieren que las glucoproteínas en pared celular, las fracciones que contienen ribosomas y sustancias citoplásmicas solubles pueden ser antígenos útiles en ensayos de inmunidad celular y garantizar investigaciones futuras sobre especificidad y componentes activos (88).

1.2.5.-*Blastomyces dermatitidis*.

La blastomicosis, enfermedad producida por *Blastomyces dermatitidis* en perros es muy común en forma natural en zonas endémicas en los cuales se presenta la sintomatología muy semejante a la del humano, modelos experimentales en la

blastomicosis sistémica han sido poco reportados, algunos han sido seleccionados en ratón para producir infecciones pulmonares con relativa susceptibilidad, su implantación depende de la cepa del hongo, la edad y tipo de los animales empleados (27, 42, 92, 156); otros investigadores inocularon ratones, cobayos y hámster con una suspensión de suelo estéril y no estéril contaminados artificialmente con el hongo, los resultados indicaron que los animales más susceptibles fueron el cobayo y el hámster y la mejor vía fué la intratesticular; también ha sido aislado de suelo inoculando ratones con una suspensión del mismo por vía intraperitoneal e intravenosa (65, 66). Además se ha probado la virulencia de tres cepas de *B. dermatitidis* en ratones de 5 a 9 semanas con las formas levaduriformes del hongo e inoculados por vía intraperitoneal, los animales más jóvenes fueron más susceptibles a la infección que los más viejos y concluyeron que la maduración del sistema inmune era importante en la protección contra este hongo (29); en otro trabajo con el mismo objetivo se utilizaron paredes celulares con diferente concentración en los componentes químicos de *B. dermatitidis*, las inyectaron a cobayos y ratones; los resultados demostraron que la cepa con mayor contenido de fosfolípidos en el polisacárido era la más virulenta (49); en otro estudio se encontró que la extracción de pared celular insoluble en álcali de cualquier cepa inyectada a ratón produce necrosis en los tejidos, en cambio las lesiones granulomatosas solo se presentan en los animales inoculados con la fracción soluble en álcali (50); con la fracción soluble en álcali de la fase levaduriforme del hongo, Hall y col. en 1978 (91) probaron la habilidad para producir una respuesta por los

linfocitos aislados de la sangre periférica de cobayos infectados con el hongo por pruebas de hipersensibilidad tardía y transformación de linfocitos y encuentran especificidad en la respuesta sin reacción cruzada con *H. capsulatum*.

Diferentes cepas de ratón también han sido utilizadas en la implantación de *B. dermatitidis* tales como ThyXBM timectomizados y letalmente irradiados para estudiar las propiedades de la timosina los cuales presentaron un aumento del 82 % en la reacción de hipersensibilidad tardía en comparación con los testigos (119). En la cepa C57BL/6J se ha probado la hipersensibilidad tardía con las formas levaduriformes de *B. dermatitidis* en la cual se comprueba que hay un efecto paralelo entre la reacción positiva y la resistencia en los animales (53). Otros estudios definieron que la cepa C3H/HeJ es altamente susceptible a la infección pulmonar, en cambio la DBA/1J es resistente (120).

Brunner y col. en 1981 (30) contando con la evidencia de que las cepas de *B. dermatitidis* virulentas son las únicas que se replican in vivo causando lesiones letales en ratón, investigaron la interacción entre los macrófagos con cultivos de este hongo con diferente virulencia y comprobaron que existe una correlación entre la virulencia de la cepa y su habilidad de escapar de los macrófagos in vitro.

Un modelo reproducible de blastomicosis diseminada lo probaron Deepe y col. en 1985 (61) con ratones C57/6J inoculados por vía intravenosa con una suspensión de la fase levaduriforme de *B. dermatitidis* y observaron que la infección se diseminó en 5 semanas, la respuesta intradérmica al antígeno fué anérgica, la respuesta a concanavalina A y fitohemaglutinina por los

esplenocitos fué menor que en los animales control y concluyeron que el modelo puede ser de mucha utilidad para interpretar las perturbaciones en la inmunorregulación de la blastomicosis diseminada.

Con el objeto de estudiar el papel que desempeñan la respuesta celular y humoral Morozumi en 1982 (128) diseñó un modelo con ratones infectados por vía subcutánea con *B. dermatitidis*; se les sometió a un reto por inhalación con esporas del mismo hongo, apareció una resistencia parcial en la primera semana después de la infección pulmonar y resistentes a la segunda, la hipersensibilidad tardía apareció después de la primera semana de la infección con aumento en la respuesta en la tercera, los anticuerpos detectados por ELISA se encontraron en la primera semana y los macrófagos se activaron e inhibieron la replicación del hongo in vitro después de una semana de la primera inyección subcutánea, por lo tanto la resistencia estuvo mediada por la participación de la inmunidad celular y humoral.

1.2.6.-*Paracoccidioides brasiliensis*.

La paracoccidioidomicosis es una micosis cuyo agente etiológico es *Paracoccidioides brasiliensis*, no se produce en forma natural en animales. En 1965 Grose y col. (88) aislaron este hongo del contenido intestinal de murciélagos, considerandolo como un animal importante en la diseminación del mismo, Greer y col. en el mismo año (86) encuentran que la fase micelial y levaduriforme podían sobrevivir en el tracto intestinal de los murciélagos.

P. brasiliensis no es altamente virulento en animales de laboratorio, sin embargo exudado purulento obtenido de pacientes

con paracoccidiosis e inoculado en hamster por vía intraperitoneal o intratesticular produce lesiones características (140).

La primera vez que se obtuvo la infección diseminada fué en 1942 en ratón inoculado por vía intraperitoneal con varias cepas de *P. brasiliensis*, la diseminación ocurrió en abdomen, hígado y ganglios linfáticos y a los 41 días en ganglios cervicales (151).

Dos trabajos muy importantes para estudiar la patogenicidad de este agente fueron realizados en ratones Swiss singénicos inoculados con una suspensión de *P. brasiliensis* por 7 diferentes vías, la mejor de las cuales fué la broncopulmonar con diseminación a otros órganos. En otro estudio semejante con ratones Swiss machos inoculados con una suspensión de la fase levaduriforme del hongo por siete diferentes vías incluyendo mucosa oral, rectal y directamente a la luz del cólon, las lesiones se presentaron a los 60 días después de la infección; los animales inoculados en mucosa oral y rectal presentaron lesiones con tendencia a resolución y algunos tuvieron diseminación a pulmón e hígado y así probaron que otra vía de entrada del agente al organismo era la gastrointestinal (100).

En ratones inoculados por vía respiratoria con una suspensión del hongo en fase filamentosa y pretratados con hidrocortisona, las lesiones aparecieron en pulmón con diseminación a bazo e hígado a las 12 semanas después de la inoculación del hongo (146).

Con el objeto de probar las diferencias en virulencia de algunas cepas de *P. brasiliensis*, San Blas y col. en 1977 (154) analizaron la diferente composición química de la pared celular de este hongo y encontraron que las cepas virulentas en fase levaduriforme

tenían α 1-3 glucana y la mutante menos virulenta α 1-3 manana, ambas cepas inoculadas en ratones se diseminaron, pero la mutante (α 1-3 manana) no fué recuperada, por lo tanto los investigadores concluyeron que existe una relación muy estrecha entre la presencia del polisacárido α 1-3 glucana y la patogenicidad del hongo.

Moscardi y col. en 1980 (130) inocularon por vía intraperitoneal una suspensión de la fase levaduriforme de *P. brasiliensis* para estudiar algunas respuestas de inmunidad celular; observaron que la hipersensibilidad tardía apareció durante la primera semana de la infección y la reacción bajaba cuando la infección desaparecía. Se sabe que las células NK producen muerte celular como resistencia natural del organismo (77). Estudios inmunológicos con estas células fueron realizados por Jiménez y col. en 1984 (101), las pusieron en contacto con un cultivo de *P. brasiliensis* en fase levaduriforme, los resultados indicaron que las células NK limitan el crecimiento del hongo in vitro.

Los cobayos y hamsters en otros modelos han sido útiles en el estudio de esta micosis, en cobayos inoculados con la fase vegetativa del hongo por vía intratesticular, las lesiones aparecieron a los 60 días de la inoculación del hongo y la cicatrización total a los 258 días (72). En hamster inoculado por vía intratesticular, intraperitoneal e intracutánea con la fase filamentososa del hongo demostró que la mejor vía fué la intratesticular (156).

Hamsters inoculados por vía intratesticular con una suspensión del material obtenido de un paciente con paracoccidioidomicosis las lesiones aparecieron en forma progresiva en testículos, hígado

nódulos linfáticos, bazo, pulmones e intestino (41).

En animales con lesiones en testículo y con diseminación por vía hematogena y linfática a bazo e hígado se encontraron anticuerpos después de 28 días de la infección, éstos fueron detectados por fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta e inmunodifusión; esta respuesta inmune humoral se mantuvo en títulos elevados hasta el final de la infección (99). Estos anticuerpos también fueron detectados en hamster inoculados por vía intratesticular con la fase levaduriforme del hongo, utilizando las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y por otro lado se determinó la inhibición de migración de macrófagos en presencia de fitohemaglutinina y un antígeno soluble de *P. brevistans* las respuestas tanto humoral como celular se obtuvieron en los niveles más altos a las 10 semanas después de la inoculación del hongo (100).

1.3.-Actinomicetos.

En el micetoma, enfermedad producida por bacterias filamentosas superiores, también ha sido útil el empleo de modelos experimentales para el estudio de mecanismos de relación huésped parásito, inmunorregulación, etc., el actinomicetoma en forma natural se produce en gatos pero su etiología ha sido muy discutida y poco clara y en otros animales es rara (151). Experimentalmente el animal más susceptible para adquirir la infección por actinomicetos patógenos del género *Nocardia* ha sido el ratón, en este se producen las lesiones muy semejantes a las del humano y ha sido excelente para estudiar los mecanismos de patogenicidad, vías de inoculación y la respuesta inmune (136). Se

ha intentado en cobayo, el cual es relativamente sensible (33).

Uno de los primeros intentos para implantar *N. brasiliensis* en ratón fué realizado por McKinnon y col. en 1956 (122) quienes obtuvieron nódulos peritoneales con abscesos en el páncreas después de tres semanas de la inoculación por vía intraperitoneal; posteriormente varios investigadores demuestran que la evolución de las lesiones producidas por este actinomiceto dependía de las vías de inoculación y especie de animal utilizada (121, 126).

El iniciador de la infección experimental del micetoma en México fué el Dr. González Ochoa quien logró la infección por *N. brasiliensis* en ratones inoculados intraperitonealmente (79); en otro estudio con una cepa aislada de suelo produjo lesiones localizadas en peritoneo de ratón a los 30 días después de la inoculación (80) y además indujo un micetoma típico en ratones con micelio concentrado de *N. brasiliensis* en cojinete plantar con diseminación a hígado y pulmón (81); posteriormente Beaman en 1980 utilizó ratones Swiss Webster inoculados con *N. asteroides* y *N. caviae* 112 para probar diferentes rutas de inoculación y encontró que *N. caviae* fué más virulenta inoculada por vía nasal y *N. asteroides* por vía intravenosa (22). Suchil y col. en 1984 inocularon ratones blancos en cojinete plantar con *N. brasiliensis* en los cuales apareció el micetoma a los 14 días y las fistulas a las 6 semanas con granos característicos.

La virulencia de las diferentes cepas de *Nocardia* ha sido estudiada en los modelos con ratón realizados por González Ochoa ya mencionados, en estos encontró que *N. brasiliensis* era más virulenta que *N. asteroides* y *N. caviae* (80, 81).

En 1973 Beaman (10) utilizó ratones inoculados con cepas

virulentas y no virulentas de *Nocardia* con el objeto de hacer un estudio estructural e histopatológico de las lesiones inducidas por dichas bacterias y demostró por medio de la microscopía electrónica que existen cambios dramáticos en la envoltura celular producidos por las cepas virulentas; en otras investigaciones con ratones blancos Swiss inoculados con *N. asteroides* y *N. brasiliensis* se han hecho estudios con el objeto de encontrar las diferencias entre las lesiones que producen ambos actinomicetos mediante histopatología seriada y encuentra que *N. asteroides* produjo abscesos supurativos agudos, en cambio *N. brasiliensis* ocasionó granulomas que contenían un gran número de macrófagos los cuales al microscopio electrónico mostraban gran cantidad de microorganismos en su citoplasma en diferentes estadios de degeneración, el investigador concluyó que es posible que *N. brasiliensis* produzca una disminución importante en la respuesta inmune celular (73).

Otra enfermedad producida en humanos por estos actinomicetos es la nocardiosis, la cual es un estado crónico y progresivo. Se ha sugerido que *Nocardia* es un parásito intracelular facultativo de tal manera que Burgeois en 1974 (28) investigó mediante microscopía de fluorescencia y electrónica la capacidad de reproducirse intracelularmente en cultivo de macrófagos peritoneales de ratón y encontró que este microorganismo existe intracelularmente en un estadio alterado con propiedades de formas L bacterianas; posteriormente se observó que las formas L de *N. caviae* obtenidas en pulmones de ratones inoculados por vía nasal con este actinomiceto se encontraban en grandes cantidades y que correlacionó con la inflamación, consolidación alveolar y muerte

del animal, por lo tanto se pensó que estas formas L juegan un papel muy importante en los efectos patológicos en los pulmones del ratón (20).

Diferentes cepas de ratón han sido seleccionadas para encontrar la más susceptible a la infección por estos microorganismos, las cepas Balb/c atímica congénita, B6CBA hereditariamente sin bazo y Swiss Webster como controles fueron inoculadas por vía intraperitoneal con *N. caviae* por Beaman en 1981 (24), los resultados mostraron que la bacteria era más virulenta cuando fué inoculada por vía nasal en los ratones sin bazo y timo, la forma crónica progresiva del micetoma se presentó en los ratones inoculados por vía intravenosa, los animales con deficiencia en células T desarrollaron la forma típica del micetoma y presentaron formas L durante la infección aguda y crónica de la infección.

Folb en 1977 (74) encuentra que en infecciones producidas por *N. brasiliensis* y *N. asteroides* en ratones congénitamente atímicos C3H/eB, Balb/c CBA/LAc y blancos Swiss, las lesiones eran diferentes por estudios histopatológicos y al microscopio electrónico en donde se observó que los macrófagos contenían en su citoplasma estos actinomicetos en diferentes estadios de degeneración y las cepas sin timo y bazo presentaron lesión tisular más severa que los controles, por lo tanto la función de las células T y macrófagos fueron esenciales para resistencia a la infección, otras investigaciones con ratones congénitamente atímicos (nu/nu), hereditariamente sin bazo Dh/+ y controles inoculados con *N. asteroides* GHU-2 por vía intravenosa comprobaron que los ratones sin timo desarrollaron la infección sistémica y muerte en cuatro semanas; en otros estudios con estas cepas de

ratón inoculadas con la misma bacteria por vía nasal encontraron que los macrófagos solos no fueron suficientes contra este microorganismo y concluyeron que las células T fueron importantes para prevenir la diseminación de *N. asteroides* GHU-2 en pulmón (15, 16); esta bacteria inoculada en ratones libres de gérmenes se demostró que la presencia de la flora residente es importante en la resistencia a la infección sistémica (21).

Deem y col. en 1982 (60) indujeron transferencia adoptiva en ratones Balb/c con células de bazo provenientes de ratones infectados con *Nocardia*, los infectaron con *N. asteroides* GHU-2, los resultados indicaron que estas células sí confieren protección a la infección y comprobaron una vez más que la inmunidad mediada por células T es de gran importancia en la resistencia del huésped hacia esta enfermedad.

Otros factores que influyen en la implantación de estos microorganismos son la edad del cultivo y pre-tratamiento en los animales con algunos fármacos, de tal manera que varios investigadores utilizaron ratones normales inoculados por vía intravenosa con una suspensión de dos cepas de *N. asteroides* en cultivo con fase estacionaria temprana y encontraron que la cepa GHU-2 era más virulenta que la 14759; además probaron que la ciclofosfamida inyectada en los ratones 72 horas antes de la inoculación con la cepa menos virulenta (14759) favorecía la susceptibilidad a la infección (13); en otros experimentos con *N. asteroides*, la cual presentaba cambios estructurales y químicos en pared celular y cultivada en caldo BHI, se probó su virulencia en ratón, los resultados indicaron que estos cambios juegan un papel muy importante en la relación huésped parásito en esta enfermedad

y la cepa fué más virulenta cuando fué inoculada en fase log (17). El conejo también ha sido empleado para el estudio de procesos inmunológicos en esta enfermedad; en macrófagos alveolares en cultivo obtenidos de este animal se observó la fagocitosis con dos cepas de *N. asteroides*, una menos virulenta (10915) la cual fué fagocitada más rápidamente, sin embargo permanecía dentro del macrófago en forma alterada y la otra más virulenta (14759) no era destruída fácilmente y crecía rápidamente en forma filamentosa, los resultados indicaron que la acción de los macrófagos alveolares depende de la virulencia de la cepa y por otro lado observaron al microscopio electrónico que la cepa más virulenta producía una dramática respuesta en los macrófagos (12). También se ha estudiado la interacción de las cepas de *N. asteroides* GHU-2 en diferentes estadios de crecimiento dentro de macrófagos alveolares provenientes de conejos inmunizados y no inmunizados; la bacteria crecida en fase log una vez dentro de los macrófagos de conejos normales aumentó su crecimiento rápidamente y en los macrófagos de animales inmunizados inhibió su desarrollo comprobando una vez más que los macrófagos juegan un papel muy importante en la resistencia hacia la infección producida por *Nocardia* (18).

Otro estudio con macrófagos lo realizó Scibienski y col. en 1980 (164) quienes los infectaron con tres cepas de *N. asteroides*; la altamente virulenta GHU-2 fué la más resistente a la fagocitosis y con observaciones al microscopio electrónico de los eventos celulares encontraron que la fusión del fagosoma con el lisosoma era inhibida por esta cepa; en otra investigación con las mismas cepas cultivadas en diferentes periodos de crecimiento se observó

que pocos fagosomas se encontraban en los macrófagos inoculados con la cepa altamente virulenta en su fase log comparada con la fase estacionaria y el incremento de dichos fagosomas no estaba asociado con el daño celular (162, 163).

2. - JUSTIFICACION

Todos los modelos descritos han sido utilizados para estudiar la implantación de los agentes etiológicos en animales de laboratorio con el objetivo de aclarar algunos mecanismos de patogenicidad, conocer los factores que favorecen la implantación así como las pruebas útiles en el tratamiento de medicamentos; en la actualidad existen una serie de fármacos que abaten la respuesta inmune como son los corticosteroides y otros como los antibióticos, los cuales favorecen la implantación y proliferación de algunos hongos, pero no se han investigado otros medicamentos de uso común que pueden ayudar en la patogenia de algunos hongos filamentosos y actinomicetos patógenos; de tal manera que para aclarar si estos medicamentos pueden ayudar a la invasión de estos microorganismos en animales se propuso la realización de este trabajo con los siguientes objetivos:

3. - OBJETIVO GENERAL:

IMPLANTAR ALGUNOS HONGOS Y ACTINOMICETOS PATOGENOS EN RATON BAJO LA ACCION DE ALGUNOS FARMACOS DE USO COMUN.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

3.1- IMPLANTAR ALGUNOS HONGOS FILAMENTOSOS EN RATON BAJO LA ACCION DE ALGUNOS ANTIBIOTICOS, INMUNOSUPRESORES Y UN ANTIINFLAMATORIO.

3.2- IMPLANTAR ALGUNOS ACTINOMICETOS PATOGENOS EN RATON BAJO LA ACCION DE ALGUNOS INMUNOSUPRESORES Y UN ANTIINFLAMATORIO.

4. - MATERIAL Y METODOS

1.- ANIMALES: Se utilizaron 240 ratones CDI con peso de 20-30 g.

2.-FARMACOS: Se emplearon los antibióticos: cloranfenicol, kanamicina, ampicilina y gentamicina; los inmunosupresores: hidrocortisona, dexametasona, butazolidona, parametasona y un antiinflamatorio: la neomelubrina. Estos fueron aplicados en dosis equivalentes a las dosificadas en el humano tomando en cuenta el peso de los ratones, se inyectaron con 0.1 ml con las siguientes concentraciones: cloranfenicol 10 mg/ml., kanamicina 3.3 mg/ml., ampicilina 20 mg/ml., gentamicina 2 mg/ml., cortisona 10 mg/ml., dexametasona 4 mg/ml., butazolidona 20 mg/ml., parametasona 0.2 mg/ml. y neomelubrina 2 mg/ml.

3.- CEPAS: Las cepas de *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* y *Paracoccidioides brasiliensis* fueron obtenidas de pacientes que asistieron a la consulta externa del Instituto de Enfermedades Tropicales; las de actinomicetos se obtuvieron de pacientes que acudieron a la consulta externa de Dermatología del Hospital General de la S.S.A.; una cepa de *Nocardia brasiliensis* No. 727-86 aislada de micetoma en espalda con diseminación a pulmón y evolución de un año, *N. brasiliensis* No. 359-85 aislada de lesión fistulizada en espalda con evolución de dos años; *N. brasiliensis* 418-83 aislada de lesión en pierna con invasión a hueso calcáneo y astrálogo con evolución de dos años; *N. asteroides* de lesión glútea sin invasión ósea; *N. otitis cavicularum* No. 396-84 aislada de lesión fibrosa múltiple en hombro derecho

con evolución de tres años y *Actinomadura madurae* aislada de lesiones nodulares múltiples en pie con invasión ósea.

4.- PREPARACION DE INOCULO: Para *H. capsulatum* se preparó una suspensión con solución salina de un cultivo en fase filamentososa del hongo hasta una turbidez compatible al tubo No. 5 de la escala de MacFarland y para las cepas de *B. dermatitidis* y *P. brasiliensis* se tomó un crecimiento en agar Sabouraud dextrosa en fase filamentososa de tres semanas para la primera cepa y de cuatro para la segunda, se trituró en un mortero, se suspendió en solución salina hasta obtener una concentración de 140 mg/ml. y se inoculó cada ratón con 0.1 ml. (41, 92).

Para cada cepa de los actinomicetos se tomó 1.480 g (peso húmedo) del crecimiento de tres semanas en cultivo de agar Sabouraud dextrosa para triturarala en un mortero, se hizo una suspensión en 10 ml. de solución salina, de ésta se tomó 0.1 ml. (14 mg) para inocular cada ratón (79, 80).

5.- METODOS: Para la implantación de *H. capsulatum* se utilizaron 6 lotes de 10 ratones CD1 de los cuales 2 fueron tratados con los antibióticos: cloranfenicol y kanamicina, 2 con los inmunosupresores: cortisona y parametasona, el quinto con un antiinflamatorio la neomelubrina y un sexto lote quedó como testigo. La aplicación de estos fármacos se hizo durante 8 días cada 24 h, al noveno día todos fueron inoculados con 0.1 ml de la suspensión del hongo en fase micelial equivalente al tubo No. 5 de la escala de MacFarland por vía intraperitoneal. Los animales se sacrificaron a diferentes intervalos de tiempo (8, 11, 14 y 22

días) para buscar en hígado y bazo los nódulos de aproximadamente 1 mm de diámetro, con éstos se hicieron improntas en portaobjetos, fueron teñidas por tinción de Wright para buscar las formas levaduriformes intracelulares de 2-4 μ de diámetro con un halo claro sin teñir características de la fase parasitaria del hongo; se sembraron en agar Sabouraud dextrosa y se incubaron a 28°C durante cuatro semanas para obtener la colonia de color blanca a café cerebriforme pulverulenta característica de la fase filamentososa del hongo (151). Los resultados se expresaron: +, ++ cuando se encontraron escasa cantidad de nódulos o de levaduras intracelulares o de crecimiento en cultivo, +++ y ++++ cuando se presentaron en moderada y abundante cantidad respectivamente.

Diag. 1

Para *B. dermatitidis* se programaron 4 lotes de 10 ratones CDI, tres de éstos se trataron por 5 días cada 24 h con cortisona, ampicilina y neomelubrina, un cuarto lote quedó como testigo; al sexto día se inocularon por vía intraperitoneal con 0.1 ml de una suspensión en fase micelial del hongo (140 mg/ml). Los animales se sacrificaron a diferentes intervalos de tiempo (7, 9, 11, 13, 15 y 17 días) para buscar los nódulos en cavidad peritoneal de tamaño aproximadamente de 4-5 mm de diámetro de color blanco, los cuales fueron montados en una preparación en fresco con KOH al 20% con el objeto de buscar las formas esféricas unigemas de pared gruesa con 8 a 10 μ de diámetro y un tabique grueso entre la gema hija y la célula madre características de la fase parasitaria del hongo. Los nódulos se sembraron en agar Sabouraud dextrosa, se incubaron a 28°C durante 15 días para obtener una colonia vellosa de color blanco a café con aparición de anillos concéntricos que

identifica al hongo (151). Los resultados se expresaron: + ó - presencia o ausencia de levaduras unigemantes, respectivamente.

Diag. 2.

Para la implantación de *P. brasiliensis* se seleccionaron 7 lotes de 10 ratones CDI a los cuales se les aplicó intraperitonealmente por 5 días cada 24 h los siguientes fármacos: a los tres primeros lotes los antibióticos: ampicilina, cloranfenicol y gentamicina; a dos los inmunosupresores butazolidona y dexametasona, al sexto un antiinflamatorio la neomelubrina y el séptimo lote se quedó como testigo; a; sexto día se inocularon con 0.1 ml de una suspensión con la fase micelial del hongo (140 mg/ml) por vía intraperitoneal; los animales se sacrificaron a diferentes intervalos de tiempo (7, 9, 13 y 17 días) con el objeto de buscar los nódulos en cavidad peritoneal con un tamaño de 1-2 mm de diámetro blancos y blandos los cuales mediante una preparación en fresco con KOH se observaron al microscopio las levaduras multigemantes con un tamaño entre 10 a 30 μ de diámetro características de la fase parasitaria del hongo y además se sembraron en agar Sabouraud dextrosa incubado a 28°C durante 5 semanas con el objeto de obtener las colonias plegadas cerebriformes con poco micelio aéreo de color blanco en los primeros días de incubación y después de tiempo aparece beige y con un pigmento de color amarillo café al reverso de la colonia (151). Los resultados se expresaron: + ó - presencia o ausencia de levaduras uni o multigemantes respectivamente. Diag. 3.

Para cada cepa de los actinomicetos se utilizaron cuatro lotes de 10 ratones de los cuales tres fueron tratados con hidrocortisona,

dexametasona y neomelubrina durante 8 días cada 24 h y el cuarto lote quedó como testigo. Con la suspensión ya mencionada fueron inoculados al noveno día por vía intraperitoneal con 0.1 ml y 0.02 ml por vía intraplantar. Los animales se sacrificaron a diferentes intervalos de tiempo dependiendo de la cepa inoculada con el objeto de buscar nódulos característicos en la cavidad peritoneal los cuales se midieron aproximadamente 2 mm de diámetro, de color blanco brillantes y blandos, se montaron en preparaciones en fresco con solución salina para observación microscópica y buscar los granos característicos de la fase parasitaria de estos microorganismos los cuales están compuestos de filamentos de 0.5 a 1 μ de diámetro. Los granos de *Nocardia asteroides* y *N. otitis caviartum* son blancos blandos y amorfos, los de *N. brasiliensis* son blanco amarillentos mas alargados o arrifonados y con clavav, los de *Actinomyadura madurae* presentan color blanco rosado blandos o firmes alargados y con clavav (151). Con las muestras de las lesiones típicas del cojinete plantar también se hicieron preparaciones en fresco con solución salina para buscar al microscopio los granos característicos. Todas las muestras se sembraron en medio de agar Sabouraud dextrosa y se incubaron a 37°C por tres semanas para obtener el crecimiento de *N. brasiliensis* como una colonia plegada de color amarillo naranja con un polvo blanco en la superficie, *N. asteroides* y *N. otitis caviartum* como colonias cerebriformes de color naranja a café con polvo blanquecino en la superficie y *A. madurae* como colonias blanco grisáceas brillosas y membranosas (151). Los resultados se expresaron: +, ++, +++ cuando se encontraron filamentos desorganizados sin formar granos y ++++ cuando aparecieron granos

maduros característicos. Diag. 4.

DIAGRAMA I

IMPLANTACION DE *Histoplasma capsulatum* EN RATON

DISEÑO EXPERIMENTAL

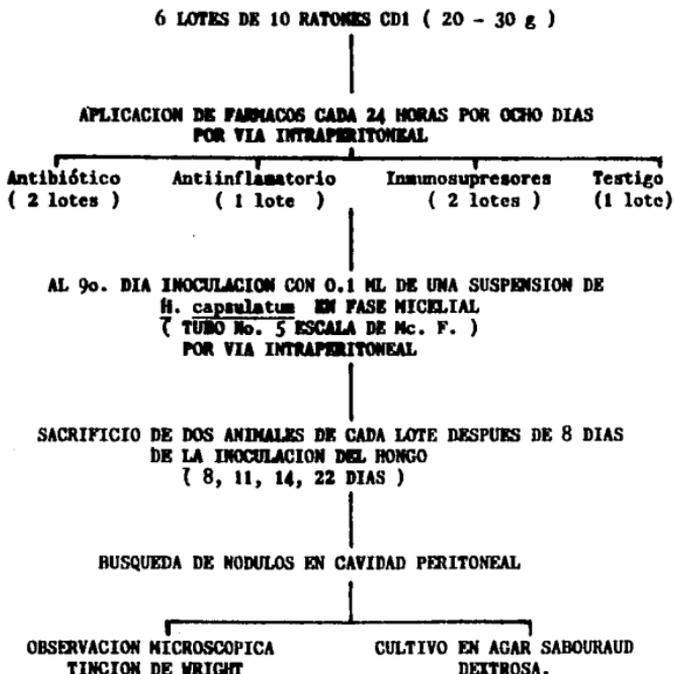


DIAGRAMA 2

IMPLANTACION DE Blastomyces dermatitidis EN RATON

DISEÑO EXPERIMENTAL

4 LOTES DE 10 RATONES CD₁ (20 - 30 g)

APLICACION DE INMUNOSUPRESORES Y ANTIBIOTICOS POR
VIA INTRAPERITONEAL CADA 24 HORAS POR 5 DIAS

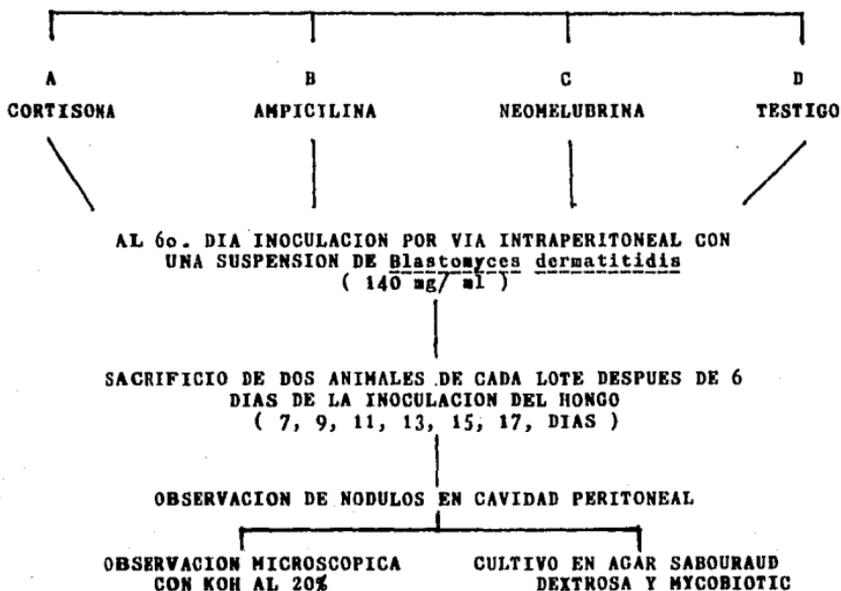


DIAGRAMA 3

IMPLANTACION DE Paracoccidioides brasiliensis EN RATON

DISEÑO EXPERIMENTAL

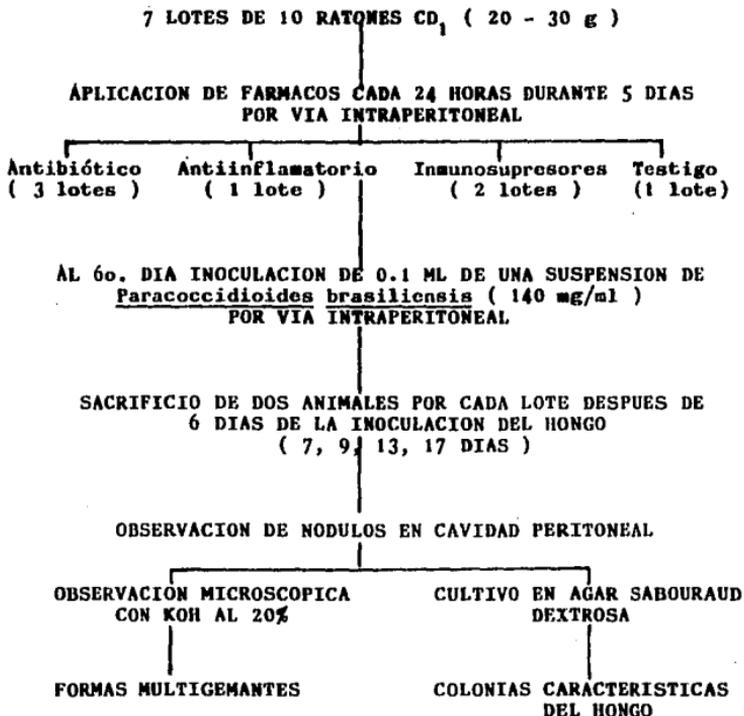


DIAGRAMA 4

IMPLANTACION DE ACTINOMICETOS EN RATON

DISEÑO EXPERIMENTAL

4 LOTES PARA CADA CEPA DE 10 RATONES CD₁ (20 - 30 g)

APLICACION POR VIA INTRAPERITONEAL DE FARMACOS CADA
24 HORAS POR OCHO DIAS

Hidrocortisona Dexametasona Neomelubrina Testigo
(1 lote) (1 lote) (1 lote) (1 lote)

ÁL 9o. DIA INOCULACION DE 0.1 ML DE LA SUSPENSION DEL
ACTINOMICETO (140 mg/ml)
POR VIAS INTRAPERITONEAL E INTRAPLANTAR

SACRIFICIO DE DOS ANIMALES POR CADA LOTE A PARTIR
DEL 9o. DIA

OBSERVACION DE NODULOS EN CAVIDAD PERITONEAL
Y EN COJINETE PLANTAR

OBSERVACION MICROSCOPICA
EN SOL. SALINA

GRANOS

CULTIVO EN AGAR SABOURAUD
DEXTROSA

COLONIAS CARACTERISTICAS
DE CADA GENERO

5. -RESULTADOS

Los resultados obtenidos con la implantación de *Histoplasma capsulatum* en los ratones tratados con cloranfenicol se logró a los 14 días con la aparición de los nódulos característicos en hígado y bazo, las improntas obtenidas de estos órganos y teñidas con Wright se observaron las levaduras intracelulares en escasa cantidad solo en hígado (tabla 1); con kanamicina aparecieron abundantes nódulos a los 22 días en bazo con moderada cantidad de células levaduriformes intracelulares (tabla 2); con neomelubrina a los 18 y 22 días aparecieron escasa cantidad de nódulos y levaduras intracelulares (tabla 3); con hidrocortisona aparecieron escasa cantidad de nódulos y levaduras intracelulares en hígado a los 15 días (tabla 4) y con parametasona los nódulos aparecieron en escasa cantidad a los 14 días en hígado sin la observación de levaduras intracelulares pero a los 22 días en hígado se encontraron moderada cantidad de nódulos con escaso número de levaduras intracelulares (tabla 5). Los cultivos fueron positivos a partir de los nódulos obtenidos en los ratones tratados con cloranfenicol a los 14 y 22 días, con kanamicina a los 22 días, con neomelubrina a los 18 días, con hidrocortisona a los 15 y 22 días y con parametasona a los 15, 18 y 22 días.

En los ratones inoculados con *Blastomyces dermatitidis* y tratados con ampicilina aparecieron nódulos que contenían levaduras monogemas características de la fase parasitaria del hongo en hígado a los 7 días (tabla 6); a los 9 días en los tratados con

ampicilina se encontraron en hígado peritoneo y con neomelubrina en bazo y riñón (tabla 7); a los 11 días aparecieron en los tratados con ampicilina en hígado, y con neomelubrina en hígado y bazo (tabla 8); a los 13 días con ampicilina y neomelubrina en hígado, bazo y peritoneo (tabla 9); a los 15 días fueron los mismos resultados en los ratones tratados con ampicilina, con neomelubrina aparecieron en riñón y negativo en bazo (tabla 10); a los 17 días en los tratamientos con ampicilina y neomelubrina se encontraron nódulos peritoneales con formas unigemantes en peritoneo con diseminación a hígado y bazo (tabla 11). La cepa de *B. dermatitidis* fue recuperada de los nódulos obtenidos en todos los ratones tratados con ampicilina y neomelubrina a partir de los 7 días de la inoculación del hongo y de los testigos a los 17 días.

En la implantación de *Paracoccidioides brasiliensis* se tomó el criterio de considerar como positivos cuando se encontraron las formas multigemantes características de la fase parasitaria del hongo aunque también se tomaron en cuenta las unigemantes por lo tanto en los ratones tratados con ampicilina y neomelubrina aparecieron nódulos en peritoneo con formas uni y multigemantes después de 7 días de inoculado el hongo y solo multigemantes en el lote tratado con cloranfenicol (tabla 12); a los 9 días aparecieron nódulos peritoneales en todos los lotes problema excepto en los testigos con diseminación a hígado en los animales pretratados con butazolidona, las formas uni y multigemantes se encontraron en los nódulos provenientes de los animales tratados con ampicilina, gentamicina dexametasona y neomelubrina, solo

multigemantes con cloranfenicol, unigemantes con butazolidona y los testigos fueron negativos (tabla 13); a los 13 días aparecieron nódulos peritoneales en todos los lotes problema y testigo excepto en el tratado con cloranfenicol, la diseminación ocurrió a hígado en los tratados con neomelubrina y testigos y a bazo con ampicilina y gentamicina y las formas uni y multigemantes se encontraron en los nódulos peritoneales de los animales tratados con ampicilina, neomelubrina y testigos y solo unigemantes en los tratados con gentamicina y butazolidona (tabla 14); a los 17 días se encontraron nódulos peritoneales en todos los lotes problema y testigo excepto en cloranfenicol, la diseminación a hígado se presentó con butazolidona, neomelubrina y testigos y a bazo en los ratones tratados con neomelubrina únicamente (tabla 15). En las tablas 16 y 17 se muestran los resultados obtenidos en los ratones tratados con neomelubrina y en los cuales permanecen los nódulos con formas uni y multigemantes entre los 7 y 17 días del experimento.

Los cultivos fueron positivos a partir de los nódulos provenientes de los ratones pretratados con dexametasona y neomelubrina a los 13 y 17 días de inoculado el hongo y de los testigos a los 17 días.

Los resultados obtenidos con el grupo de actinomicetos, la implantación de *N. brasiliensis* 727-86 en los ratones tratados con hidrocortisona y dexametasona los nódulos peritoneales con granos maduros aparecieron desde los 9 y 13 días respectivamente, en cambio con neomelubrina fueron negativos y en los testigos aparecieron a partir de los 16 días (tablas 18, 19, 20).

Con la cepa de *N. brasiliensis* No. 418-83 inoculada en los ratones pretratados con hidrocortisona los granos maduros en nódulos peritoneales y en lesión plantar aparecieron desde los 14 días, con dexametasona a los 17 días, con neomelubrina y testigos fueron negativos (tablas 21, 22, 23).

En los ratones tratados con hidrocortisona y neomelubrina e inoculados con *N. brasiliensis* No. 359-85 aparecieron los granos maduros a partir de los 22 días tanto en los nódulos peritoneales como en la lesión plantar y solo en peritoneo los tratados con dexametasona, en los testigos solo aparecieron granos inmaduros a partir de los 22 días (tablas 24, 25, 26).

Con la cepa de *Nocardia asteroides* inoculada en los ratones tratados con neomelubrina se encontraron los granos maduros a los 12 días tanto en los nódulos peritoneales como en la lesión plantar, en cambio en los tratados con hidrocortisona y dexametasona y en los testigos no aparecieron en el transcurso del experimento (tablas 27, 28, 29).

Con *Nocardia otitis cavitarum* solo se obtuvieron granos inmaduros en lesión plantar poco característicos en los ratones pretratados con hidrocortisona a los 12 días después de la inoculación del microorganismo, con dexametasona y testigos a los 17 días y con neomelubrina a los 12 y 17 días (tablas 30, 31, 32).

En los ratones tratados con hidrocortisona e inoculados con *Actinomadura madurae* se obtuvieron granos maduros en los nódulos peritoneales desde los 18 días, los tratados con dexametasona, neomelubrina y testigos fueron negativos (tablas 33, 34, 35).

Los cultivos de *N. brasiliensis* No. 727-86 y 418-83 fueron positivos en los medios de agar Sabouraud dextrosa sembrados con

los nódulos peritoneales obtenidos de los ratones pretratados con hidrocortisona, la 359-85 de los tratados con hidrocortisona a los 15 días de incubación y de los testigos a los 12 días. La cepa de *N. asteroides* se recuperó de los ratones tratados con neomelubrina, hidrocortisona y dexametasona a los 17 días y de los testigos a los 13 días de incubación.

De los ratones tratados con los tres fármacos e inoculados con *N. otitis cavitarium* no se recuperó la cepa, únicamente de los testigos a los 18 días de incubación.

La cepa de *A. madurae* se recuperó de los ratones tratados con neomelubrina y dexametasona a los 13 días de incubación y de los testigos a los 12 días.

TABLA 1

RATONES PRETRATADOS CON CLORAMFENICOL Y INOCULADOS CON Histoplasma capsulatum
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES	PRESENCIA DE NODULOS EN CAVIDAD ABDOMINAL	LEVADURAS INTRACELULARES	CULTIVO EN SDA
8	2	-	-	-
11	2	-	-	-
14	2	Hígado ++	+	+
		Bazo ++	-	-
22	1	-	-	+
TOTAL:	7	2/7	1/7	2/7

+, ++ ESCASA CANTIDAD DE NODULOS, LEVADURAS INTRACELULARES O CRECIMIENTO EN CULTIVO

+++ MODERADA ++++ ABUNDANTE

10

TABLE 2

RATONES PRETRATADOS CON KANAMICINA E INOCULADOS CON Histoplasma capsulatum
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES	PRESENCIA DE NODULOS EN CAVIDAD ABDOMINAL	LEVADURAS INTRACELULARES	CULTIVO EN SDA
8	2	-	-	-
11	2	-	-	-
15	2	-	-	-
18	2	-	-	-
22	2	Bazo ++++	+++	+
TOTAL:	10	1/10	1/10	1/10

+, ++ ESCASA CANTIDAD DE NODULOS, LEVADURAS INTRACELULARES O CRECIMIENTO EN CULTIVO
+++ MODERADA ++++ ABUNDANTE

TABLA 3

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELUBRINA E INOCULADOS CON Histoplasma capsulatum

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES	PRESENCIA DE NODULOS EN CAVIDAD ABDOMINAL:	LEVADURAS INTRACELULARES	CULTIVO EN SDA
8	2	-	-	-
11	1	-	-	-
15	1	-	-	-
18	2	Hígado (1) +	++	+
22	2	Hígado (1) +	++	-
TOTAL:	8	2/8	2/8	1/8

+, ++ ESCASA CANTIDAD DE NODULOS, LEVADURAS INTRACELULARES O CRECIMIENTO EN CULTIVO

+++ MODERADA ++++ ABUNDANTE

TABLA 4

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON Histoplasma capsulatum
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES	PRESENCIA DE NODULOS EN CAVIDAD ABDOMINAL	LEVADURAS INTRACELULARES	CULTIVO EN SDA
8	2	-	-	-
11	1	-	-	-
15	1	Hígado ++	+	+
18	1	-	-	-
22	2	-	-	+
TOTAL:	7	1/7	1/7	2/7

+, ++ ESCASA CANTIDAD DE NODULOS, LEVADURAS INTRACELULARES O CRECIMIENTO EN CULTIVO

+++ MODERADA ++++ ABUNDANTE

TABLA 5

RATONES PRETRATADOS CON PARAMETASOMA E INOCULADOS CON Histoplasma capsulatum
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES	PRESENCIA DE NODULOS EN CAVIDAD ABDOMINAL	LEVADURAS INTRACELULARES	CULTIVO EN SDA
8	2	-	-	-
14	2	Hígado (1) +	-	-
15	1	-	-	+
18	2	-	-	+
22	2	Hígado (1) +++	+	+
TOTAL:	9	2/9	1/9	3/9
+, ++ ESCASA CANTIDAD DE NODULOS, LEVADURAS INTRACELULARES O CRECIMIENTO EN CULTIVO				
+++ MODERADA ++++ ABUNDANTE				

TABLA No. 6

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES DE 7 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

EXAMEN	G R U P O				
	A	B	C	D	
	CORTESINA	AMPICILINA	MICHELIERINA	TESTIGO	
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	-	-
	MICROS COPICO	-	+	-	-
	CULTIVO	-	+	-	-
B A Z O	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-
R I M O N	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-

MACROSCOPICO: + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO: + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLE No. 7

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES DE 9 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

EXAMEN	G R U P O				
	A	B	C	D	
	COROSOMA	APICILADA	NEBULIFERDA	TESORO	
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	-	-
	MICROS COPICO	-	+	-	-
	CULTIVO	-	+	-	-
B A Z O	MACROS COPICO	-	-	+	-
	MICROS COPICO	-	-	+	-
	CULTIVO	-	-	+	-
R I Ñ O N	MACROS COPICO	-	-	+	-
	MICROS COPICO	-	-	+	-
	CULTIVO	-	-	+	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	+	-	-
	MICROS COPICO	-	+	-	-
	CULTIVO	-	+	-	-

MACROSCOPICO : +, o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO : +, o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLA No. 8

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES DE 11 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

	EXAMEN	G R U P O			
		A	B	C	D
		CORTISONA	AMPICILINA	NEOMELIBRINA	TESTIGO
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
	MACROS COPICO	-	-	+	-
B A Z O	MICROS COPICO	-	-	+	-
	CULTIVO	-	-	+	-
R I Ñ O N	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-

MACROSCOPICO: + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO: + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLA No. 9

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES
DE 13 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

	EXAMEN	G R U P O			
		A	B	C	D
		COROSOMA	AMPICILINA	NEOMELEROMA	TESTICO
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
B A Z O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
R I Ñ O N	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-

MACROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLA No. 10

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES
DE 15 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

EXAMEN	G R U P O				
	A	B	C	D	
	CORTISONA	AMPICILINA	NEOMULBERINA	TESTIGO	
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
B A Z O	MACROS COPICO	-	+	-	-
	MICROS COPICO	-	+	-	-
	CULTIVO	-	+	-	-
R I Ñ O N	MACROS COPICO	-	-	+	-
	MICROS COPICO	-	-	+	-
	CULTIVO	-	-	+	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-

MACROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLA No. 11

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS RATONES PRETRATADOS Y DESPUES DE 17 DIAS DE LA INOCULACION CON Blastomyces dermatitidis

EXAMEN	G R U P O				
	A	B	C	D	
	ORFESINA	APPELLINA	NEBELERINA	TESICO	
H I G A D O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
B A Z O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-
R I N O N	MACROS COPICO	-	-	-	-
	MICROS COPICO	-	-	-	-
	CULTIVO	-	-	-	-
P E R I T O N E O	MACROS COPICO	-	+	+	-
	MICROS COPICO	-	+	+	-
	CULTIVO	-	+	+	-

MACROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE NODULOS

MICROSCOPICO : + o - PRESENCIA O AUSENCIA DE LEVADURAS UNIGEMANTES

TABLA 12

PRODUCCION DE NODULOS CON FORMAS LEVADURIFORMES DE
P. brasiliensis A LOS 7 DIAS DE LA INOCULACION DEL HONGO

	<u>NODULOS</u>			<u>FORMAS LEVADURIFORMES</u>		<u>CULTIVO</u>
	P E R I T O N E O	H I G A D O	B A Z O	MULTIGE MANTES	UNIGE MANTES	
AMPICILINA	+	-	-	+	+	-
CLORAMFENICOL	+	-	-	+	-	-
GENTAMICINA	-	-	-	-	-	-
BUTAZOLIDONA	-	-	-	-	-	-
DEXAMETASONA	+	-	-	-	-	-
NEOMELUBRINA	+	-	-	+	+	-
TESTIGO	-	-	-	-	-	-

+ PRESENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

- AUSENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

TABLA 13

PRODUCCION DE NODULOS CON FORMAS LEVADURIFORMES DE
P. brasiliensis A LOS 9 DIAS DE LA INOCULACION DEL HONGO

	NODULOS		FORMAS LEVADURIFORMES		CULTIVO	
	P E R I T O N E O	H I G A D O	B A Z O	MULTIGE MANTES	UNICE MANTES	
AMPICILINA	+	-	-	+	+	-
CLORANFENICOL	+	-	-	+	-	-
GENTAMICINA	+	-	-	+	+	-
BUTAZOLIDONA	+	+	-	-	+	-
DEKAMETOSONA	+	-	-	+	+	-
NEOMELUBRINA	+	-	-	+	+	-
TESTIGO	-	-	-	-	-	-

+ PRESENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

- AUSENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

TABLA 14

PRODUCCION DE NODULOS CON FORMAS LEVADURIFORMES DE
P. brasiliensis A LOS 13 DIAS DE LA INOCULACION DEL HONGO

	NODULOS			FORMAS LEVADURIFORMES		CULTIVO
P E R I T O N E O	R I G A D O	B I A Z O		MULTIGE MANTES	UNICE MANTES	
AMPICILINA	+	-	+	+	+	-
CLORAMFENICOL	-	-	-	-	-	-
GENTAMICINA	+	-	+	-	+	-
BUTAZOLIDONA	+	-	-	-	+	-
DEXAMETASONA	+	-	-	-	-	-
NEOMELUBRINA	+	+	-	+	+	+
TESTIGO	+	+	-	+	+	-

+ PRESENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

- AUSENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

TABLA 15

PRODUCCION DE MODULOS CON FORMAS LEVADURIFORMES DE
P. brasiliensis A LOS 17 DIAS DE LA INOCULACION DEL HONGO

	MODULOS			FORMAS LEVADURIFORMES		CULTIVO	
	F E R I T O N E O	H I G A D Z O	D A A Z O	MULTI FORMAS	UNI FORMAS		
AMPICILINA	+	-	-	-		+	-
CLORAMFENICOL	-	-	-	-		-	-
GENTAMICINA	+	-	-	+		-	-
BUTAZOLIDONA	+	+	-	+		-	-
DEKAMETASONA	+	-	-	-		+	-
NEOMELUBRINA	+	+	+	+		+	+
TESTIGO	+	+	-	+		+	+

+ PRESENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

- AUSENCIA DE FORMAS LEVADURIFORMES

TABLA 16

OBSERVACION DE FORMAS LEVADURIFORMES UNIGEMANTES EN RATONES
PRETRATADOS CON ANTIBIOTICOS E INMUNOSUPRESORES Y
SACRIFICADOS EN DIFERENTES PERIODOS DE TIEMPO.

DIAS	A M P I C I L I N A	C L O R A M F E N I C O L	G E N T A M I C I N A	B U T A Z O L I D O N A	D E I A M E T A S O N A	N E O M E L U B R I N A	T E S T I G O
7	+	+	-	-	-	+	-
9	+	-	+	+	+	+	-
13	+	-	+	+	-	+	+
17	+	-	-	-	+	+	+

+ PRESENCIA DE FORMAS UNIGEMANTES

- AUSENCIA DE FORMAS UNIGEMANTES

TABLA 17

OBSERVACION DE FORMAS LEVADURIFORMES MULTIGEMANTES EN RATONES
PRETRATADOS CON ANTIBIOTICOS E INMUNOSUPRESORES Y SACRIFICADOS
EN DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO

DIAS	A M P I C I L I N A	C L O R A N F E N I C O L	G E M T A M I C I N A	B U T A Z O L I D O N A	D E X A M E T A S O N A	N E O M E L U B R I N A	T E S T I G O
7	+	+	-	-	-	+	-
9	+	+	+	-	+	+	-
13	+	-	-	-	-	+	+
17	-	-	+	+	-	+	+

+ PRESENCIA DE FORMAS MULTIGEMANTES

- AUSENCIA DE FORMAS MULTIGEMANTES

TABLA 18

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON N.brasiliensis 727-86
Y SACRIFICADOS A DIFERENTE INTERVALO DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
6	0	1	0	-	0	-
9	1	1	+	+	+	+
13	1	1	+	+	++++	++++
16	2	2	+	++++	+	++
21	2	0	+	-	+	-
TOTAL:	6/10	5/10	0/4	1/4	1/4	1/5
+. ++. +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS						
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

TABLE 19

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON M. brasiliensis 727-86

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
6	1	1	+	-	+	-
9	1	1	+	+	++++	+
13	0	1	0	+	0	++++
16	2	2	+	++++	+	++
21	2	0	+	-	+	-
TOTAL:	6/10	5/10	0/4	1/5	1/4	1/5

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS

++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TAHIA 20

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELUBRINA E INOCULADOS CON N.brasiiliensis 727-86
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
6	0	1	0	-	0	-
9	1	1	+	+	+	+
13	0	1	0	+	0	++++
16	0	2	0	++++	0	++
21	3	0	+	0	+	0
TOTAL:	4/10	5/10	0/2	1/4	0/2	1/4

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TABLE 21

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON N.braillensis 418-83

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
7	1	1	-	-	-	-
10	0	1	0	+	0	+
14	1	0	++++	-	++++	0
17	1	0	+	-	++	0
22	1	0	+	-	++++	0
TOTAL:	4/10	2/10	1/4	0/1	2/4	0/1

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLA 22

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON M. brasiliensis 418-83
Y SACRIFICADOS A TIEMPO VARIABLE.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
7	3	1	+	-	+++	-
10	1	1	-	+	++	+
14	1	0	+	-	+	0
17	1	0	-	-	++++	0
22	2	0	+	-	+	0
TOTAL:	8/10	2/10	0/3	0/1	1/5	0/2
+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS				++++ POSITIVOS		
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

TABLA 23

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELUBRINA E INOCULADOS CON M. brasiliensis 418-83

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
7	2	1	+	-	+	-
10	1	1	-	+	+++	+
14	1	0	-	-	+++	0
17	1	0	+	-	+	0
TOTAL:	5/10	2/10	0/2	0/1	0/4	0/2
+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS			++++ POSITIVOS			
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

TABLA 24

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON N.braasilensis 359-85
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
7	2	1	+	-	+	-
10	1	0	+	0	+	0
17	2	2	+	-	+	+
22	5	2	++++	+++	++++	+
TOTAL:	10/10	5/10	1/4	0/3	1/4	0/3
+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS			++++ POSITIVOS			
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

TABLA 25

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON M.brassiliensis 359-85
Y SACRIFICADOS A TIEMPO VARIABLE.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITO- NEALES :	
	P	T	P	T	P	T
7	2	1	+	-	+	-
10	2	0	+	0	+++	0
17	0	2	-	+	-	+
22	2	2	++	+++	++++	-
TOTAL:	6/10	5/10	0/4	0/3	1/4	0/3

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLA 26

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELUBRINA E INOCULADOS CON M. brasiliensis 359-85

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO

DÍA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
7	1	1	+	-	+	-
10	1	0	+	-	+	0
17	0	2	0	+	-	+
22	3	2	++++	+++	++++	-
TOTAL:	5/10	5/10	1/3	0/4	1/4	0/3

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TABLA 27

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON *N. asteroides*
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
10	3	1	+++	-	+	-
12	1	1	+	-	-	-
17	5	3	-	++	-	++
TOTAL:	8/10	5/10	0/3	0/3	0/3	0/3

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TABLA 28

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON N.asteroides
Y SACRIFICADOS A TIEMPO VARIABLE.

DÍA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERI- TONALES:	
	P	T	P	T	P	T
10	2	1	-	+	-	-
12	1	1	+	+	-	-
17	5	3	-	++	-	++
TOTAL:	8/10	5/10	0/3	0/3	0/3	0/3

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLA 29

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELURINA E INOCULADOS CON H. asteroides
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITO- NEALES:	
	P	T	P	T	P	T
10	0	1	0	-	0	-
12	1	1	+	-	++++	-
17	7	3	++++(3)	++	++++	++
TOTAL:	8/10	5/10	3/4	0/3	2/2	0/3

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLA 30

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON N. otitis caviarium

Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DÍA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN MODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	1	1	+	-	-	-
17	8	8	-	+++	-	-
TOTAL:	9/10	9/10	0/2	0/2	0/2	0/2

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TABLA 31

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON N. otitis caviarium
Y SACRIFICADOS A TIEMPO VARIABLE.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	1	1	-	-	-	-
17	8	8	++	+++	+	-
TOTAL:	9/10	9/10	0/2	0/2	0/2	0/2
+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS			++++ POSITIVOS			
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

TABLE 32

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELUBRINA E INOCULADOS CON N. otitis caviarium
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	1	1	++	-	++	-
17	7	8	++	+++	+++	-
TOTAL:	8/10	9/10	0/2	0/2	0/2	0/2

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS

T: TESTIGOS

TABLA 33

RATONES PRETRATADOS CON HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON A. mebrae
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITO- NEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	0	1	0	+++	0	-
18	7	8	-	+	++++(3)	+++
TOTAL:	7/10	9/10	0/1	0/2	1/4	0/2

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLE 34

RATONES PRETRATADOS CON DEXAMETASONA E INOCULADOS CON A. madurae
Y SACRIFICADOS A TIEMPO VARIABLE.

DIA DE SA- CRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERI- TONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	1	1	++	+++	++	-
18	7	8	-	+	+	+++
TOTAL:	8/10	9/10	0/2	0/2	0/2	0/2

+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS INMADUROS ++++ POSITIVOS

P: ANIMALES PRETRATADOS T: TESTIGOS

TABLA 35

RATONES PRETRATADOS CON NEOMELURINA E INOCULADOS CON A. madureae
Y SACRIFICADOS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

DÍA DE SACRIFICIO:	No. DE RATONES		GRANOS EN LESION PLANTAR:		GRANOS EN NODULOS PERITONEALES:	
	P	T	P	T	P	T
12	1	1	++	+++	-	-
18	8	8	-	+	+	+++
TOTAL:	9/10	9/10	0/2	0/2	0/2	0/2
+, ++, +++ PRESENCIA DE GRANOS TRABAJADOS ++++ POSITIVOS						
P: ANIMALES PRETRATADOS			T: TESTIGOS			

6. -DISCUSION

Medicamentos de uso común tales como los antiinflamatorios, corticosteroides, citostáticos y antibióticos han sido muy útiles en el tratamiento de enfermedades agudas y crónicas; la acción inmunosupresora de los tres primeros y la acción bacteriostática y bactericida de los últimos han permitido la implantación y proliferación de algunos hongos filamentosos y actinomicetos, pero esto ha sido poco estudiado tanto en el organismo humano como en modelos animales.

En el presente estudio los fármacos tales como el cloranfenicol y la parametasona fueron en primer lugar los más efectivos en la implantación de *Histoplasma capsulatum* con el hallazgo de las formas intracelulares en hígado y bazo a los 14 días y con la recuperación en medio de agar Sabouraud dextrosa a los 22 días de la inoculación del hongo (tablas 1, 2), en segundo lugar con neomelubrina se obtuvieron las formas intracelulares en hígado a los 18 y 22 días con recuperación del hongo a los 22 días (tabla 3) y con kanamicina se encontraron en bazo con recuperación del hongo en cultivo a los 22 días (tabla 2). Se sabe que el ratón es el animal más susceptible a la histoplasmosis tal como lo demuestran Ajello y col. (1) quienes logran la infección en estos animales con una sola macroconidia del hongo, recuperan el hongo en cultivo pero no reportan lesiones histopatológicas y su implantación es difícil en otros animales de laboratorio tales como cobayo y hamster (151). Se ha reportado que el cloranfenicol produce leucopenia, trombopenia y aplasia medular casi en forma

exclusiva cuando es administrado en tiempo prolongado y la kanamicina produce efectos de hipersensibilidad y toxicidad cuando es inyectada en altas dosis, por lo tanto estos efectos pudieron haber facilitado la implantación de este hongo en los animales.

En el caso de la parametasona, corticosteroide que tiene los mismos efectos que la cortisona en el organismo humano, tales como: 1) actuar en la migración de linfocitos T a los sitios de disposición de los anticuerpos, 2) disminuir la liberación de los linfocitos, 3) interferir en la lisis de las células blanco, 4) reducir el número de monocitos disponibles para modificar la respuesta inmune, 5) bloquea la interacción entre linfocitos y monocitos, en síntesis, actúa específicamente en la inmunidad mediada por células, la cual es el principal mecanismo de defensa contra las infecciones micóticas, esto probablemente facilitó la implantación de *Histoplasma capsulatum* en el peritoneo con diseminación a hígado a los 14 días después de la inoculación del hongo con recuperación del mismo en cultivo a los 15, 18 y 22 días (tabla 5), por lo tanto el tiempo fué menor al reportado por Baum y col. quienes obtuvieron cultivos positivos en placas de Sabouraud a partir de hígado a los 29 días en ratones pretratados con cortisona 5 días antes y después de la inoculación del hongo (9); en otras investigaciones realizadas por Louria y col. (120) recuperan el hongo a partir de suspensiones de hígado y bazo triturados en solución salina y sembrados en medios de agar Sabouraud dextrosa pero no encuentran diferencias significativas entre los pretratados con cortisona y los testigos durante los 28 días del experimento.

Por lo que se refiere a la implantación de *Blastomyces*

dermatitidis en ratón, fué favorecida por la administración previa de ampicilina, la aparición de nódulos en peritoneo con formas unigemantes con diseminación a hígado y recuperación del hongo en cultivo en medio de agar Sabouraud dextrosa fué desde los 7 días (tabla 6), al peritoneo e hígado y con recuperación del hongo a los 9 días (tabla 7), a peritoneo, hígado y bazo a los 13 y 17 días (tablas 9, 11), desafortunadamente no se encontraron reportes semejantes sobre la proliferación de este hongo en animales de laboratorio ni tampoco sobre la acción del antibiótico administrado que pudiese explicar el mecanismo que favoreció la implantación del hongo en corto tiempo, sin embargo la ampicilina produce los mismos efectos que la penicilina como son: la hipersensibilización que puede suceder en una sola dosis o sus efectos tóxicos en tratamientos prolongados. Los resultados con la neomelubrina fueron semejantes a los obtenidos en el experimento anterior con la diferencia que en este, los nódulos aparecieron a partir de los 9 días en bazo y riñón con recuperación del hongo ASD (tabla 7). El efecto antiinflamatorio de este fármaco pudo ser determinante, puesto que la inflamación es uno de los mecanismos inespecíficos más importantes contra los agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas agudas, por lo tanto el hongo pudo diseminarse a riñón a los 15 días del experimento.

En el modelo con *Paracoccidioides brasiliensis* la ampicilina fué el antibiótico que mejor actuó en la implantación de este hongo, apareciendo formas uni y multigemantes a los 7 días (tablas 12, 13) con diseminación a bazo a los 13 días (tabla 14); con neomelubrina a los 7, 9 y 13 días (tablas 12, 13, 14) con nódulos

en hígado y bazo y recuperación del hongo en cultivo de ASD a los 17 días (tabla 11 8), estos datos confirman la acción antiinflamatoria de la neomelubrina y por otro lado los resultados fueron satisfactorios debido a que se sabe que este hongo no es altamente virulento en animales de laboratorio (1 60).

En los animales tratados con dexametasona se obtuvieron nódulos peritoneales con formas uni y multigemas en los 0 días (tabla 13) y a pesar de que no se diseminó a hígado y bazo ni se recuperó el hongo en cultivo de ASD, las lesiones se encontraron en más corto tiempo que el reportado por Restrepo y col. quienes pretrataron ratones con hidrocortisona e inocularon el hongo por vía respiratoria descubriendo las lesiones en pulmón con diseminación a bazo e hígado después de 12 semanas de la inoculación del hongo (1 66).

En los experimentos con los modelos en los ratones pretratados con hidrocortisona y dexametasona e inoculados con las tres cepas de *Nocardia brasiliensis*, apareció mayor cantidad de nódulos característicos con granos maduros en peritoneo y en cojinete plantar en la cepa 7527-85 a partir de los 0 y 13 días (tablas 18, 19), con la cepa 418-1-83 a los 14 y 17 días (tablas 21-22) y con la 359-85 a los 22 días (tablas 24, 25), los resultados indican que estos medicamentos favorecieron la implantación de estos microorganismos en menos tiempo que los reportados por Mishra y col. quienes en ratones pretratados con cortisona e inoculados con *N. brasiliensis* por vía intravenosa encontraron las lesiones por histopatología después de los 15 días de la inoculación del microorganismo (124) y en otros trabajos sin el pretratamiento como los del Dr. A. González O. obtiene lesiones en peritoneo en

animales inoculados por vía intraperitoneal a los 30 días de la inoculación (79); en otro trabajo aumenta la concentración del inóculo del actinomiceto y encuentra nódulos peritoneales con diseminación a hígado y pulmón en 6 semanas (81). En otro trabajo realizado por Mackinnon y col. en ratones inoculados con *N. brasiliensis* por vía intraperitoneal obtiene nódulos en páncreas en 3 semanas (122) y en otro Suchil y col. obtienen el micetoma en ratones inoculados por vía intraplantar a los 14 días con aparición de fístulas a las 6 semanas (170).

La diferencia temporal en la aparición de las lesiones entre las tres cepas pudo deberse a que la primera cepa 727-86 fue la más patógena debido a que se aisló de un micetoma en espalda con evolución de un año; en cambio, las otras dos se aislaron de lesiones localizadas y con evolución de dos años, además se ha reportado que la especie más virulenta es *N. brasiliensis* como lo reporta González O. quien inoculó ratones con *N. brasiliensis*, *N. asteroides* y *N. caviae* por vía intraplantar y encontró que la inflamación en el cojinete plantar fue mayor en el 50% de los animales inoculados con *N. brasiliensis* en comparación con el 10% encontrado en las otras dos especies (81).

Con la neomelubrina los granos maduros se obtuvieron con la cepa No. 727-86 y 359-85 a los 16 y 22 días respectivamente, este lapso aún supera el tiempo de implantación en comparación a los trabajos ya mencionados y además se confirma el efecto antiinflamatorio que este compuesto ejerce en los ratones. Este fármaco sí favoreció la implantación de *Nocardia asteroides* con la observación de granos maduros a los 12 días (tabla 29) tanto en el cojinete plantar como en peritoneo quizás por el mismo efecto

antes citado, en cambio con hidrocortisona solo se encontraron filamentos desorganizados sin conformar granos maduros (tabla 27), datos que concuerdan con los de Mishra y col. quienes observaron que la invasión en tejido por *N. asteroides* y *N. otitis caviarium* en exámenes histopatológicos fué dispersa sin tendencia a formar granos característicos en los ratones pretratados con hidrocortisona y a los 15 días de la inoculación del actinomiceto (124). Los testigos fueron negativos debido quizás a que el experimento se interrumpió a los 17 días o porque la concentración del inóculo no fué suficiente por errores técnicos en el momento de la inoculación.

En todos los ratones pretratados e inoculados con *N. otitis caviarium* solo se obtuvieron filamentos laxos sin formación de granos maduros (tablas 30, 31, 32), datos que concuerdan con Mishra y col. en ratones pretratados con cortisona (124).

Uno de los hallazgos más importantes del trabajo fué el obtener nódulos en peritoneo con granos característicos en los ratones pretratados con hidrocortisona e inoculados con *Actinomadura madurae* a los 22 días (tabla 33) debido quizás a la acción inmunosupresora de este medicamento, además intentos por Mahopatra y col. para obtener lesiones en ratones inoculados con este actinomiceto en una suspensión de mucina por vía intraperitoneal, no lograron las lesiones en hígado ni bazo, durante tres semanas y concluyeron que este actinomiceto no era patógeno para animales de laboratorio (126).

Es importante hacer notar que se logró el objetivo del trabajo tomando en cuenta que las lesiones que se obtuvieron con todos los agentes empleados en los ratones fueron en tiempo más corto que los reportados en estudios semejantes realizados por otros investigadores en animales con y sin pretratamiento; sin embargo existen otros aspectos como es la utilización de diferentes cepas de animales tal como se reporta en la histoplasmosis experimental en donde la mayoría de los trabajos se han utilizado ratones blancos Swiss Webster (1, 95, 97, 114, 151), en la blastomicosis (29, 42, 49, 61), en la paracoccidioidomicosis también utilizan los ratones Swiss Webster (100, 118, 130, 146, 151), pero también otros animales como cobayo (72), hamster (41, 99, 140, 156) y en el actinomicetoma la misma cepa de ratones blancos (10, 16, 20, 22, 24, 33, 73, 79, 80, 81, 121, 122, 126, 136, 170) y en el presente trabajo se utilizaron únicamente ratones blancos CD1 que no difieren mucho de los utilizados en los estudios mencionados, pero los resultados fueron más adecuados.

La concentración del inóculo reportado en los trabajos publicados ha sido muy variable, desde una sola macroconidia ó con escasos fragmentos con 1-3 macroconidias en un campo microscópico en el caso de la histoplasmosis (1) hasta utilizar 9400 fragmentos miceliales (49) o formas levaduriformes de un cultivo en BHI incubado a 37°C (50) en la blastomicosis; o en la paracoccidioidomicosis donde se emplearon suspensiones de la fase micelial con diferentes diluciones (99, 100, 118, 146, 151, 156), o a partir de una suspensión en solución salina con un cultivo en fase levaduriforme incubado 7 días a 37°C (99); en los trabajos

con actinomicetoma en donde se utilizaron suspensiones en solución salina de un triturado a partir de un cultivo del actinomiceto con 15 días de crecimiento a 37°C y resuspendido a razón de 10 mg/0.1 ml (79, 80, 81); en consecuencia, sí hubo diferencias en la preparación del inóculo debido a que en el modelo para histoplasmosis se empleó la concentración equivalente al tubo No. 5 de la escala de MackFarland y para blastomicosis, paracoccidiomicosis la concentración fué de 140 mg/ml, para el actinomicetoma la concentración fué 14 mg/0.1 ml muy semejante a la reportada por otros autores; sin embargo, esta variable no influyó en los resultados obtenidos en este trabajo. Otra variable importante fué la vía de inoculación, en histoplasmosis la vía intraperitoneal e intratesticular fueron las más empleadas (29, 114, 151) y la respiratoria (1, 27, 95, 158), en la paracoccidiomicosis la intratesticular e intraperitoneal (118, 140, 151) y en el actinomicetoma intraperitoneal e intraplantar fundamentalmente (22, 79, 80, 81, 122, 160) y en otros trabajos se empleó la intravenosa (22, 124). En este trabajo se utilizó la vía intraperitoneal para *H. capsulatum*, *B. dermatitidis* y *P. brasiliensis* y en el actinomicetoma las vías intraperitoneal e intraplantar, variables que tampoco influyeron en los resultados obtenidos y nos permitieron cumplir con el objetivo planteado. Otras variables como la concentración del fármaco y fase del hongo utilizada no influyeron en los resultados obtenidos; por lo tanto, se sugiere el empleo de estos modelos para posteriores trabajos, sobre todo en la detección de las variaciones en la respuesta inmune celular experimentalmente, que poco se ha estudiado en las

condiciones planteadas en esta investigación.

7. - CONCLUSIONES

LA PARAMETASONA Y EL CLORANFENICOL FUERON LOS MEDICAMENTOS QUE FACILITARON LA IMPLANTACION DE *Histoplasma capsulatum* EN 14 DIAS.

LA AMPICILINA FUE EL MEJOR MEDICAMENTO QUE FAVORECIO LA IMPLANTACION DE *Blastomyces dermatitidis* A LOS 7 DIAS.

LA NEOMELUBRINA FUE EL MEJOR FARMACO QUE FACILITO LA IMPLANTACION DE *Paracoccidioides brasiliensis* A LOS 7 DIAS.

LA HIDROCORTISONA FUE EL MEJOR MEDICAMENTO QUE FAVORECIO LA IMPLANTACION DE *Nocardia brasiliensis* A LOS 0, 13, 14 Y 22 DIAS Y *Actinomyces madurae* A LOS 18 DIAS Y PARA *Nocardia asteroides* LA NEOMELUBRINA A LOS 12 DIAS.

B. - REFERENCIAS

- 1.- Ajello, L., and L.C. Runyon. 1953. Infection of Mice with Single Spores of *Histoplasma capsulatum*. J. Bacteriol. 66:34-40.
- 2.- Arias, J., R.D. Naiff, M.F. Naiff and W.Y. Mok. 1982. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from an Armadillo (*Dasypus novemcinctus*) in the Eastern Amazon of Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 76:705-706.
- 3.- Armstrong, P.J. and S.P.D. Bartola. 1983. Canine Coccidioidomycosis: a Literature Review and Report of Eight Cases. J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 19:937-946.
- 4.- Artz, R.P., and W.E. Bullock. 1979. Immunoregulatory Responses in Experimental Disseminated Histoplasmosis: Depression of T-Cell-Dependent and T-Effector Responses by Activation of Splenic Suppressor Cells. Infect. and Immunol. 33:893-902.
- 5.- Artz, R.P., and W.E. Bullock. 1979. Immunoregulatory Responses in Experimental Disseminated Histoplasmosis: Lymphoid Organ Histopathology and Serological Studies. Infect. and Immunol. Vol. 23. No. 3:884-892.
- 6.- Austwick, P.K.C. 1962. The Presence of *Aspergillus fumigatus* in the Lungs on Dairy Cows. Lab. Invest. 11:1065-1072.
- 7.- Austwick, P.K.C., and A. Sebesteny. 1974. Apparently Spontaneous *Candida tropicalis* Infection of a Mouse. Lab. Anim. 8:133-136.
- 8.- Bacle, J.R. and C.H. Bigland. 1962. Avian Mycologic Survey in Alberta. J. Am. Vet. Med. Assoc. 141:476-480.
- 9.- Baum, G.L., S.M. Adriano, and J. Schwartz. 1954. Effect of Cortisone on Experimental Histoplasmosis in Mice. Amer. J. Clin. Pathol. 24:903-909.
- 10.- Beaman, B.L. 1973. An Ultrastructural Analysis of *Nocardia* During Experimental Infections in Mice. Infect. and Immun. Vol.8 No.5:838-840.
- 11.- Beaman, B.L. and M. Smathers. 1976. Interaction of *Nocardia asteroides* with Cultured Rabbit Alveolar Macrophages. Infect. and Immun. Vol. 13 No. 4:1126-1131.
- 12.- Beaman, B.L. 1977. In vitro Responses of Rabbit Alveolar Macrophages to Infection with *Nocardia asteroides*. Infect. and Immun. Vol. 15. No. 3:925-937.

13.- Beaman, B.L. and S. Maslan. 1977. Effect of Cyclophosphamide in Experimental *Nocardia asteroides* Infection in Mice. *Infect. and Immun.* Vol. 16:995-1004.

14.- Beaman, B.L., D. Pappagianis and E. Benjamini. 1977. Significance of T Cells in Resistance to experimental Murine Coccidioidomycosis. *Infect. and Immun.* Vol.17 No.3:580-585.

15.- Beaman, B.L., M.E. Gershwin and S. Maslan. 1978. Infectious Agents in Immunodeficient Murine Models: Pathogenicity of *Nocardia asteroides* in Congenitally Athymic (Nude) and Hereditarily (Dh/+) Mice. *Infect. and Immun.* Vol. 20:381-385.

16.- Beaman, B.L., M.E. Goldstein, M.E. Gershwin, S. Maslan and W. Lippert. 1978. Lung Response of Congenitally Athymic (Nude), Heterozygous and Swiss Webster Mice to Aerogenic and Intranasal Infection by *Nocardia asteroides*. *Infect. and Immun.* Vol. 22 No.3:867-877.

17.- Beaman, B.L. and S. Maslan. 1978. Virulence of *Nocardia asteroides* During Its Growth Cycle. *Infect. and Immun.* Vol. 20 No.1:200-205.

18.- Beaman, B.L. 1979. Interaction of *Nocardia asteroides* at Different Phases of Growth with In vitro-Maintained Macrophages Obtained from the Lungs of Normal and Immunized Rabbits. *Infect. and Immun.* Vol. 26:355-361.

19.- Beaman, B.L., D. Pappagianis and E. Benjamini. 1979. Mechanisms of Resistance to Infection with *Coccidioides immitis* in Mice. *Infect. and Immun.* Vol.23 No. 3:681-685.

20.- Beaman, B.L. 1980. Induction of L-Phase Variants of *Nocardia caviae* Within Intact Murine Lungs. *Infect. and Immun.* Vol.29:244-251.

21.- Beaman, B.L., M.E. Gershwin, S.S. Skates and Ohsugi. 1980. Immunobiology of Germfree Mice infected with *Nocardia asteroides*. *Infect. and Immun.* Vol. 29:733-743.

22.- Beaman, B.L., S. Maslan, S. Scates and J. Rosen. 1980. Effect of Route of Inoculation on Host Resistance to *Nocardia*. *Infect. and Immun.* Vol. 28:185-189.

23.- Beaman, B.L., E. Benjamini and D. Pappagianis. 1981. Role of Lymphocytes in Macrophage-Induced Killing of *Coccidioides immitis* In Vitro. *Infect. and Immun.* Vol. 34. No. 2:347-353.

24.- Beaman, B.L. and S.M. Scates. 1981. Role of L-Forms of *Nocardia caviae* in the Development of Chronic Mycetomas in Normal and Immunodeficient Murine Models. *Infect. and Immun.* Vol. 33:893-906.

25. - Black, L. and J.P. Nightingale. 1973. *Aspergillus fumigatus* Infection in the Nasal Cavity of a Dog: Its treatment with Amphotericin B. The Vet. Rec. 92:447-450.
26. - Bolton, G.R. and T.B. Talmage. 1972. Mycotic Colitis in a Cat. Vet. Med. Small Animal Clin. Vol. 67:978-981.
27. - Bone, D.L. 1984. Osteomyelitis due to Canine Blastomycosis. J. Vet. Orthoped. 3:15-20.
28. -Bourgeois, L. and B.L. Beaman. 1974. Probable L-Forms of *Nocardia asteroides* Induced in Cultured Mouse Peritoneal Macrophages. Infect. and Immun. Vol. 9 No.3:576-590.
29. - Brass, C. and D.A. Stevens. 1982. Maturity as a Critical Determinant of Resistance to Fungal Infections: Studies in Murine Blastomycosis. Infect. and Immun. Vol. 36 No.1:387-395.
30. - Brummer, E. P.A. Morozumi, D.E. Philpott and D.A. Stevens. 1981. Virulence of Fungi: Correlation of Virulence of *Blastomyces dermatitidis* In Vivo With Scape From Macrophage Inhibition of Replication In Vitro. Infect. and Immun. Vol. 32 No.3:864-871.
31. - Burk, R.L. and B.D. Jones. 1978. Disseminated Histoplasmosis with osseous Involvement in a Dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172:1416-1417.
32. - Cadwallader, J.A., B.E. Goulden, M. Baxter, R.S. Wyburn and M.R. Alley. 1973. Rhinitis and Sinusitis Involving *Aspergillus fumigatus* in a Dog. New Zea. Vet. J. Vol. 21 No. 11:228-233.
33. - Calegaty, L., F. Asconeguye and I.A. Conti-Diaz. 1982. Patogenicidad Experimental de Cepas de *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia caviae* de diferentes procedencias. Sabouraudia 20:295-302.
34. - Carr, S.H. 1980. Dermatological Fungal Infections in the Dog. Can. Prac. Dermatol. Vol. 7 No.6:45-48.
35. - Carrow, E.W. and J.E. Domer. 1985. Immunoregulation in Experimental Murine Candidiasis: Specific Suppression Induced by *Candida albicans* Cell Wall Glycoprotein. Infect. and Immun. Vol. 49 No.1:172-181.
36. - Cervantes, R.A. y C.B. Pijoan. 1976. Aislamiento e Identificación de Dermatofitos a Partir de Muestras de Animales en México. Rev. Lat-Amer. Microbiol. 18:25-27.
37. - Cervantes, R.A., A.J. Solozano y C.B. Pijoan. 1978. Presencia de Coccidioidomicosis en Bovinos del Estado de Sonora. Rev. Lat-Amer. Microbiol. 20:247-249.

- 38.- Cervantes, R.A. F.J. Trigo, N. de Buen, C.A. García. 1985. Aspergilosis Nasal Canina: Informe de un Caso. Vet. Mex. 16:101-106.
- 39.- Chihaya, Y., K. Matsukawa, K. Takahashi, Y. Matsui, Y. Koosaka, K. Niiooka and S. Mizushima. 1984. An Ovine Case of Generalized Aspergilosis with Alimentary Lesions. The Jpn. J. Vet. Sci. Vol 42. No. 6:703-707.
- 40.- Cho, D.Y., L.W. Pace and R.E. Beadle. 1986. Cerebral Cryptococcosis in a Horse. Vet. Pathol. 23:207-209.
- 41.- Conti-Díaz, I.A. and M.L. Furcolow. 1972. Susceptibility of Hamster and Mice to *Paracoccidioides brasiliensis* Using Different Routes of Inoculation. Mycopathologia Vol. 47:73-79.
- 42.- Conti-Díaz, I.A., C.D. Smith., M.L. Furcolow. 1970. Comparison of Infection of Laboratory Animals with *Blastomyces dermatitidis* Using Different Routes of Inoculation. Sabouraudia 7:279-283.
- 43.- Connole, B.Sc. 1963. A Review of Dermatococcoses of Animals in Australia. Aust. vet. J. Vol. 39:130-133.
- 44.- Connole, B.Sc. and I.D. Baynes. 1966. Ringworm Caused by *Microsporium nanum* in Pigs in Queensland. Aust. Vet. J. Vol. 42:19-24.
- 45.- Corbel, M.J., C.A. Day and D.J.W. Cole. 1980. Examination of the Relationship Between Pathological Changes, Immunological Response and Serum Protein Concentrations in Pregnant Sheep Inoculated with *Aspergillus fumigatus*. Mycopathologia 71:53-64.
- 46.- Corbel, M.J. and M. Eades. 1976. The Relative Susceptibility of New Zealand Black and CBA Mice to Infection with Opportunistic Fungal Pathogens. Sabouraudia 14:17-32.
- 47.- Corbel, M.J. and C.A. Day. 1978. Examination of the Immunoglobulin Classes Involved in the serological Response of Pregnant Sheep to *Aspergillus fumigatus*. Sabouraudia 16:23-33.
- 48.- Cornell, L.H. K.G. Osborn. 1979. Coccidioidomycosis in a California Sea Otter (*Enhydra lutris*). J. J. Wild Dis. 15:373-378.
- 49.- Cox, R.A. and G.K. Best. 1972. Cell Wall Composition of Two Strains of *Blastomyces dermatitidis* Exhibiting Differences in Virulence for Mice. Infect. and Immun. Vol.5 No. 4:449-453.
- 50.- Cox, R.A., L.R. Mills, G.K. Best and J.F. Denton. 1974. Histologic Reactions to Cell of an Avirulent and a Virulent Strain of *Blastomyces dermatitidis*. Infect. Dis. Vol. 129 No. 2:179-186.

51. - Cox, R.A. and J.A. Moore. 1968. Experimental *Tricophyton verrucosum* Infections in Laboratory Animals. *J. Comp. Pathol.* 78:35-41.
52. - Cox, R.A., C.G. Mead and E.F. Pavey. 1981. Comparisons of Mycelia and Spherule-Derived Antigens in Cellular Immune Assays of *Coccidioides immitis* Infected Guinea Pigs. *Infect. and Immun.* Vol. 31 No. 2:687-692.
53. - Cozad, G.C. and Ch. T. Chang. 1980. Cell-mediated Immunoprotection in Blastomycosis. *Infect. and Immun.* Vol. 28 No. 2:398-403.
54. - Cross, R.F., P.D. Moorheah, and J.E. Jones. 1970. *Candida albicans* Infection of the Forestomachs of a Calf. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 157:1325-1330.
55. - Cutler, J.E. 1977. Chemotactic Factor Produced by *Candida albicans*. *Infect. and Immun.* Vol. 18 No. 3:568-573.
56. - Cutsem, J.V., J. Fransen and P.A.J. Jansse. 1987. Therapeutic Efficacy of Itraconazole in Systemic Candidosis in Guinea Pigs. *Chemotherapy* 33:52-60.
57. - Dale, J.E. 1972. Canine Dermatitis Caused by *Candida parapsilosis*. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 67:548-549.
58. - Davis, Ch.L. and B.W. Schaefer. 1982. Cutaneous Aspergillosis in a Cow. *JAVMA* Vol. 141 No. 11:1339-1343.
59. - Dawson, C.O., G.J. Baker and L.J. Mackey. 1973. Aspergillosis of the Nasal Passage in a Dog with Tonsillar Carcinoma. *The Vet. Rec.* 222-224.
60. - Deem, L.R., B.L. Beaman and M.E. Gershwin. 1982. Adoptive Transfer of Immunity to *Nocardia asteroides* in Nude Mice. *Am. Soc. Microbiol.* Vol. 38:914-919.
61. - Deepe, G.S., C.L. Taylor and W.E. Bullock. 1985. Evolution of Inflammatory Response and Cellular Immune Responses in a Murine Model of Disseminated Blastomycosis. *Infect. and Immun.* Vol. 50 No. 1:183-189.
62. - Dillehay, D.L., T.R. Boosinger and S. Mackenzie. 1985. Coccidioidomycosis in a Tapir. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187:1233-1234.
63. - DiSalvo, A.F. and L. Ajello. 1989. Isolation of *Histoplasma capsulatum* From Arizona Bats. *Am. J. Epidemiol.* 89:606-614.
64. - DeLamater, E.D. and R.W. Benham. 1938. Immunity and Hypersensitivity Produced in Laboratory Animals. *J. Invest. Dermatol.* 1:489-488.

- 65.- Denton, J.F., E.S. McDonough, L. Ajello and R.J. Aisherman. 1961. Isolation of *Blastomyces dermatitidis* from Soil. Science 133:1126-1127.
- 66.- Denton, J.F. and A.F. DiSalvo. 1979. additional Isolations of *Blastomyces dermatitidis* from Natural Sites. Am. J. Trop. Med. Hyg. 28:697-700.
- 67.- Doser, J.E. 1976. In Vivo and In Vitro Cellular Responses to Cytoplasmic and Cell Wall Antigens of *Histoplasma capsulatum* in Artificially Immunized or Infected Guinea Pigs. Infect. and Immun. Vol. 13 No. 3:790-799.
- 68.- Doser, J.E. and H. Ichinose. 1977. Cellular Immune Responses in Guinea Pigs Immunized with Cells Walls of *Histoplasma capsulatum* Prepared by several Different Procedures. Infect. and Immun. Vol. 16 No.1:293-301.
- 69.- Dupont, B., M. Hubert, S.J. Kim and J.E. Bennet. 1987. Galactomanan Antigenemia and Antigenuria in Aspergillosis: Studies in Patients and Experimentally Infected Rabbits. The J. Infect. Dis. Vol. 155 No. 11:1-11.
- 70.- Edwardson, J. A.H. Andrews. 1979. An Outbreak of Ringworm in a Group of Young Cattle. Vet. Rec. Vol. 104:474-477.
- 71.- Epstein, S.M., E. Verney, T.D. Miale, H. Sidransky. 1967. Studies on the Pathogenesis of Experimental Pulmonary Aspergillosis. Infect. and Immun. Vol. 51 No. 5:769-784.
- 72.- Fava Netto, C. T. Brito, C. da S. Lacaz. 1961. Experimental South American Blastomycosis of the Guinea Pig. An Immunologic and Pathologic Study. Path. and Microbiol. Vol. 24:192-206.
- 73.- Folb, P.I., R. Jaffe and G. Altmann. 1976. *Nocardia asteroides* and *Nocardia brasiliensis* Infections in Mice. Infect. and Immun. Vol. 13 No. 5:1490-1496.
- 74.- Folb, P.I., A. Timms and A. Horowitz. 1977. *Nocardia* Infections in Congenitally Athymic (Nude) Mice and Other Inbred Mouse Strains. Infect. and Immun. Vol. 18 No. 2:459-466.
- 75.- Ford, S. and L. Friedman. 1967. Experimental Study of the Pathogenicity aspergilli for Mice. J. of Bacteriol. 94 No. 4:928-933.
- 76.- Fox, J.G., J.C. Murphy and M. Shalev. 1978. Systemic Fungal Infections in Cats. JAVMA vol. 173. No. 9:1191-1195.
- 77.- Glimcher, L. F.W. Shen and H. Cantor. 1977. Identification of a Cell-Surface Antigen Selectively Expressed on the Natural Killer Cell. The J. of Exp. Med. Vol. 145:1-9.

- 78.- Goetz, M.E. and D.O.N. Taylor. 1966. A Naturally Occurring Outbreak of *Candida tropicalis* Infection in a Laboratory Mouse Colony. *Infect. and Immun.* Vol. 50 No. 2:361-368.
- 79.- González-Ochoa, A. 1969. Producción Experimental del Micetoma con *N. brasiliensis* en el Ratón. *Gac. Méd. Méx.* 99 No. 8:773-781.
- 80.- González-Ochoa, A. 1973. Virulence of *Nocardiae*. *Canadian J. of Microbiol.* 19:901-904.
- 81.- González-Ochoa, A. and A.C. Sandoval. 1976. Different Degrees of Morbidity in the White Mouse Induced by *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* and *Nocardia caviae*. *Sabouraudia* 14:255-259.
- 82.- Goren, M.B. and G.M. Middlebrook. 1967. Protein Conjugates of Polysaccharide from *Cryptococcus neoformans*. *J. of Immunol.* Vol. 98 No. 5:901-913.
- 83.- Grappel, S.F., C.T. Bishop and F. Blanck. 1974. Immunology of Dermatophytes and Dermatophytosis. *Bacteriological Review* Vol. 38: No.2:222-230.
- 84.- Graybill, J.R., M. Hague and D.J. Drutz. 1981. Passive Immunization in Murine Cryptococcosis. *Sabouraudia* 19:237-244.
- 85.- Grabill, J.R. and L. Mitchell. 1979. Host Defense in Cryptococcosis. III. In Vivo Alteration of Immunity. *Mycopathologia* Vol. 69 No. 3:171-176.
- 86.- Greer, D.L. and B. Bolaños. 1977. Role of Bats in the Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*: the Survival of *Paracoccidioides brasiliensis* in the Intestinal Tract of Frugivorous Bat (*Artibeus littratus*). *Sabouraudia* 15:273-282.
- 87.- Greenbaum, S.S. 1924. Immunity in Ringworm Infections. I. Active Acquired Immunity; with a Note on Complement Fixation Tests in Superficial Ringworm Infections. *Arch. dermatol.* 10:279-282.
- 88.- Grose, E. and J.R. Tamsitt. 1965. *Paracoccidioides brasiliensis* Recovered from Intestinal Tract of Three Bats (*Artibeus littratus*) in Colombia, S.A. *Sabouraudia* 4:121-125.
- 89.- Hall, A.D. 1979. An Equine Abortion due to Histoplasmosis. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 74:200-201.
- 90.- Hall, N.K. and R. Blackstock. 1981. Production of Specific Antibody to *Cryptococcus neoformans* by Hybridomas in Vitro. *Sabouraudia* 19:157-160.
- 91.- Hall, N.K., F. Deighton and H.W. Larsh. 1978. Use of an Alkali-Soluble Water-Soluble Extract of *Blastomyces dermatitidis* Yeast-Phase Cell walls and Isoelectrically Focused Components in Peripheral Lymphocyte Transformations. *Infect. and Immun.* Vol. 19 No. 2:411-415.

- 92.- Harvey, R.P. and E.S. Schimid. 1978. Mouse Model of Pulmonary Blastomycosis: Utility, Simplicity and Quantitative Parameters. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117:695-703.
- 93.- Hay, R.J. and E. Reiss. 1978. Delayed-Type Hypersensitivity Responses in Infected Mice Elicited by Cytoplasmic Fractions of *Cryptococcus neoformans*. *Infect. and Immun.* Vol. 22 No. 3:72-79.
- 94.- Hitos, F., A.H. Pérez and M.J. Pérez. 1981. Aborto Bovino Asociado con *Aspergillus fumigatus* (Informe de 7 Casos). *Veterinaria. México* Vol. 12:13-18.
- 95.- Howard, D.H., V. Otto and R.K. Gupta. 1971. Lymphocyte-Mediated Cellular Immunity in Histoplasmosis. *Infect. and Immun.* Vol. 4 No. 5:605-610.
- 96.- Howard, D.H. 1973. Further Studies in the Inhibition of *Histoplasma capsulatum* Within Macrophages from Immunized Animals. *Infect. and Immun.* Vol. 8 No. 4:577-581.
- 97.- Howard, D.H. and V. Otto. 1977. Experiments on Lymphocyte-Mediated Cellular Immunity in Murine histoplasmosis. *Infect. and Immun.* Vol. 16. No. 3:226-231.
- 98.- Hurley, D.L. and J.E. Balow. 1975. Experimental Disseminated Candidiasis. II. Administration of Glucocorticosteroids, Susceptibility to Infection and Immunity. *J. Infect. Dis.* Vol. 132 No. 4:393-397.
- 99.- Iabuki, K. and M.R. Montenegro. 1979. Experimental Paracoccidioidomycosis in the Syrian Hamster: Morphology, Ultrastructure and Correlations of Lesions with Presence of Specific Antigens and Serum Levels Antibodies. *Mycopathologia* Vol. 67 No. 3:131-141.
- 100.- Iabuki, K.R.C., J. DeFaveri, M.T.R. Iwaso, M.T. Peracoli and N.G.S. Mota. 1982. Paracoccidioidomycose Experimental. G.C.S. Lacaz, A.M. Fiorillo., Paracoccidioidomycose Blastomycose Sud Americana. Sao Paulo, Brasil.
- 101.- Jimenez, B.E. and J.W. Murphy. 1984. In Vitro effects of Natural Killer Cells Against *Paracoccidioides brasiliensis* Yeast Phase. *Infect. and Immun.* Vol. 46 No. 2:552-558.
- 102.- Kabli, S. and J.R. Koshmann. 1986. Endemic Canine and Feline Histoplasmosis in El Paso, Texas. *J. Med. Vet. Mycol.* 24:864-866.
- 103.- Kaplan, W., K. Lucille, C.L. Georg and L. Bromley. 1957. Ringworm in Cats Caused by *Microcosporum gypseum*. *Vet. Med.* Vol. 52:347-350.

- 104.- Kashkin, K.P., S.M. Likholetov and A.V. Lipnitsky. 1977. Studies on Mediators of Cellular Immunity in Experimental Coccidioidomycosis. *Sabouraudia* 15:59-68.
- 105.- Kaufmann, A.F. and K.D. Quist. 1969. Trush in a Rhesus Monkey; Report of a Case. *Lab. Anim. Care.* 19:526-527.
- 106.- Keeney, E.L. and M. Huppert. 1959. Immunization Against Superficial Fungous Infection. *J. Invest. Dermatol.* 32:7-13
- 107.- Kirkland, T.N. and J. Fiere. 1983. Inbred Mouse Strains Differ in Resistance to Lethal *Coccidioides immitis* Infection. *Infect. and Immun.* Vol 40 No. 3:912-916.
- 108.- Kligman, A.M. 1956. Pathophysiology of Ringworm Infections in Animals with Skin Cycles. *J. Invest. Dermatol.* 27:171-185.
- 109.- Kolmer, J.A. and A. Strickler. 1915. Complement Fixation in Parasitic Skin Diseases. *J. Amer. Med. Assoc.* 64:800-804.
- 110.- Kozel, T.R. and J. Cazin. 1970. Nonencapsulated Variant of *Cryptococcus neoformans*. I. Virulence Studies and Characterization of Soluble Polysaccharide. *Infect. and Immun.* Vol. 3 No. 2:287-294.
- 111.- Kozel, T.R. and R.P. Mastroianni. 1976. Inhibition of Phagocytosis by Cryptococcal Polysaccharide: Dissociation of the attachment and Ingestion Phases of Phagocytosis. *Infect. and Immun.* Vol 14 No. 1:62-87.
- 112.- Lane, J.G., D.G. Clayton-Jones, K.L. Thoday and L.R. Thomsett. 1974. The Diagnosis and Successful Treatment of *Aspergillus fumigatus*. Infection of the Frontal Sinuses and Nasal Chambers of the Dog. *J. Small anim Pract.* 15:79-87.
- 113.- Langham, R.F. and E.S. Beneke. 1977. Abortion in a Mare due to *Coccidioides immitis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170:178-180.
- 114.- Larsh, H.W. and A. Hinton. 1953. Efficacy of the Flotation Method in Isolation of *Histoplasma capsulatum* from Soil. *J. Lab. Clin. Med.* 41:478-485.
- 115.- Lauder, I.M. and J.G. O'Sullivan. 1958. Ringworm in Cattle. *The Vet. Rec.* Vol. 70 No. 47:949-951.
- 116.- Lehrer, R.I., D. Szklarek, T. Ganz and M.E. Selsted. 1985. Correlation of Binding of Rabbit Granulocyte Peptides to *Candida albicans* with Candidacidal Activity. *Infect. and Immun.* Vol. 49 No.1:207-211.
- 117.- Lepper, A.W.D. 1972. Experimental Bovine *Trichophyton verrucosum* Infection. Preliminary Clinical, Immunological and Histological Observations in Primarily Infected and Reinoculated Cattle. *Rev. Vet. Sci.* 13:105-115.

- 118.- Linares, L.I. and L. Friedman. 1972. Experimental Paracoccidioidomycosis in Mice. *Infect. and Immun.* 5:681-687.
- 119.- Longley, R.E. and G.C. Cozad. 1979. Thymosin Restoration of Cellular Immunity to *Blastomyces dermatitidis* in T-Cell Depleted Mice. *Infect. and Immun.* Vol. 28. No. 1:187-192.
- 120.- Louria, D.B., N. Fallow and H.G. Browne. 1960. The Influence of Cortisone on Experimental Fungus Infections in Mice. *J. Clin. Invest.* 39:1435-1449.
- 121.- Macotela-Ruiz, E. et F. Mariat. 1963. Sur la Production de Mycétomes Experimentaux par *N. brasiliensis* et *N. asteroides*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 56 (1):46-54.
- 122.- Makinon, J.E. and R.C. Artagaveitia-Allende. 1956. The Main Species of Pathogenic Aerobic Actinomycetes Causing Mycetomas. *Trans. Roy. Trop. Med. Hyg.* 50:31-40.
- 123.- Mills, J.H. and R.S. Hirt. 1967. Systemic Candidiasis in Calves on Prolonged Antibiotic Therapy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 150:862-870.
- 124.- Mishra, S.K., R.S. Sandhu, H.S. Randhawa, V.N. Damodaran and S. Abraham. 1973. Effect of Cortisone Administration on Experimental Nocardiosis. *Infect. and Immun.* Vol. 7 No. 2:123-129.
- 125.- Mitchell, T.G. and L. Friedman. 1972. In Vitro Phagocytosis and Intracellular Fate of Various Encapsulated Strains of *Cryptococcus neoformans*. *Infect. and Immun.* Vol. 5 No. 4:491-499.
- 126.- Mohapatra, L.M. and L. Pine. 1963. Studies on the Pathogenicity of Aerobic Actinomycetes Inoculated into Mice Intravenously. *Sabouraudia* 2:176-184.
- 127.- Moorhead, P.D. and R.F. Cross. 1972. Prophylaxis of Experimental Noniliasis in Quail. A Comparison of Ethylenediamine Dihydroiodide, Benelate, Sodium propionate, Gentian Violet and Nystatin. *Avian Dis.* 16:645-655.
- 128.- Morozumi, P.A., E. Brummer and D.A. Stevens. 1982. Protection Against Pulmonary Blastomycosis: Correlation with Cellular and Humoral Immunity in Mice After Subcutaneous Nonlethal Infection. *Infect. and Immun.* Vol. 37 No. 3:670-678.
- 129.- Morozumi, P.A., J.W. Halpern and D.A. Stevens. 1981. Susceptibility Differences of Inbred Strains of Mice to Blastomycosis. *Infect. and Immun.* Vol. 32. No. 1:160-168.
- 130.- Moscardi, M. and M.F. Franco. 1980. Paracoccidioidomycose Experimental Do Camundongo. aspectos Immunopatológicos de Infecção Intra-peritoneal. *Rev. Inst. Trop. Sao Paulo* 22:288-293.

- 131.- Murphy, J.W. and J.W. Moorhead. 1982. Regulation of Cell-Mediated Immunity in Cryptococcosis. I. Induction of Specific Afferent T Suppressor Cells by Cryptococcal Antigen. The J. of Immunol. Vol. 129 No.1:276-283.
- 132.- Murphy, J.W. and N. Pahlavan. 1979. Cryptococcal Culture Filtrate Antigen for Detection of Delayed-Type Hypersensitivity in Cryptococcosis. Infect. and Immun. Vol. 25 No. 2:284-292.
- 133.- Odds, F.C. 1979. *Candida* and Candidosis. University Park Press. Baltimore.
- 134.- Oshima, K.I., Y. Naito and Y. Seimiya. 1979. Mycotic Bronchitis in a Dog Affected with Distemper. Jpn. J. Vet. Sci. 41:83-87.
- 135.- Okoshi, S. and A. Hasegawa. 1967. *Microsporeum gypsum* Isolated from Feline Ringworm. The Jap. J. Vet. Sci. Vol. 29 No. 4:195-201.
- 136.- Ortiz, O.L., L.F. Bojalil and Y. Veronica. 1984. Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes. Academic Press Inc.
- 137.- Pearsall, N.N. and D. Lagunoff. 1974. Immunological Responses to *Candida albicans*. I. Mouse-Thigh Lesion as a Model for Experimental Candidiasis. Infect. and Immun. Vol. 9 No.6:999-1002.
- 138.- Pakes, S.P., A.E. New and S.C. Brenbrook. 1970. Pulmonary Aspergillosis in a Cat. JAVMA. Vol. 151 No. 7:950-953.
- 139.- Patterson, D.R., J.E. Wagner, D.R. Owens, N.C. Ronald, and C.S. Frisk. 1974. *Candida albicans* Infections Associated with Antibiotic and Corticosteroid Therapy in Spider Monkeys. J. Am. Vet. Med. Assoc. 104:721-722.
- 140.- Peracoli, M.T.S., N.G.S. Mota and M.R. Montenegro. 1982. Experimental Paracoccidioidomycosis in the Syrian Hamster. Mycopathologia 70:7-17.
- 141.- Pore, R.S. and H.W. Larsh. 1986. Experimental Pathogenicity of *Aspergillus terreus flaviceps* Group Species. Sabouraudia 6:89-93.
- 142.- Purnell, D.M. 1975. Quantitative Tissue Invasion of the Murine Brain as a Phenotypic Marker of Strain Virulence in *Aspergillus nidulans*. Sabouraudia 13:209-216.
- 143.- Rehora, A. and R.P. Marples. 1973. Experimental Infection with *Candida albicans*. Arch. Dermatol. 108:69-73.

144.- Reiss, F. and L. Leonard. 1956. Failure of Active Immunization Against *Trichophyton gypseum* Infection in Guinea Pigs. *J. Invest. dermatol.* 26:440-452.

145.- Rejo, T. A. González y B. Pupo. 1978. La Aspergillosis Pulmonar en Patos Producida por *Aspergillus flavus* y su Contaminación a partir de Plantas de Incubación y Canadas. *Rev. Avic. pp.* 22:151.

146.- Restrepo, A. and G.G. Espinosa. 1976. De Paracoccidioidomicosis Experimental del Ratón Inducida por Vía Aerogena. *Sabouraudia* 14:229-311.

147.- Rhodes, J.C., I. Polachek and K.J. Kwon-Chung. 1982. Phenoloxidase activity and Virulence in Isogenic Strains of *Cryptococcus neoformans*. *Infect. and Immun.* Vol. 36 No. 3:1178-1184.

148.- Richard, J.L., J.R. Thurston, R.C. Cutlip and A.C. Pier. 1981. Vaccination Studies of Aspergillosis in Turkeys: Subcutaneous Inoculation with Several Vaccine Preparations Followed by Aerosol Challenge Exposure. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 43. No. 3:488-492.

149.- Richard, J.L., J.R. Thurston, W.M. Peden and C. Pinello. 1984. Recent Studies on Aspergillosis in Turkey Poults. *Mycopathologia* 87:3-11.

150.- Richardson, M.D. D.W. Warnock and S.E. Bovey 1982. Rapid Serological Diagnosis of *Aspergillus fumigatus* Infection of the Frontal Sinuses and Nasal Chamber of the Dog. *Res. Vet. Sci.* 33:167-169.

151.- Rippon, J.W. 1988. Medical Mycology: The Pathogenic Fungi and The Pathogenic Actinomycetes. W.B. Saunders Company Philadelphia, London, Toronto.

152.- Rippon, J.W. and D.M. Anderson. 1978. Experimental Mycosis in Immunosuppressed Rabbit. 11 Acute Chronic Aspergillosis. *Mycopathol.* 64:97-100.

153.- Rosenberg, D.P. C.A. Gleiser and K.D. Kasey. 1984. Spinal Coccidioidomycosis in a Baboon. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185:1379-1381.

154.- San-Blas, G., F. San-Blas and L.E. Serrano. 1977. Host-parasite Relationships in the Yeast-like Form of *Paracoccidioides brasiliensis* Strain IVIC Pb9. *Infect. and Immun.* Vol 15 No. 2:343-346.

155.- Sandhu, D.K., R.S. Sandhu, V.N. Damodaran and H.S. Randhawa. 1970. Effect of Cortisone on Bronchopulmonary Aspergillosis in Mice Exposed to Spores of Various *Aspergillus* Species. *Sabouraudia* 8:32-38.

- 169.- Smith, J.M. 1967. Candidiasis in Animals in New Zeland. *Sabouraudia* 5:220-225.
- 170.- Suchil, P., H. fromentin, F. Mariat, and P. Ravisse. 1984. *Mycetoma Experimental a Nocardia brasiliensis*. Chez La Souris Bulletin de la Societe de Mycologie Medicale. Tome XIII No. 2:385-390.
- 171.- Takatori, K. and A. Hasegawa. 1985. Mating Experiment of *Microscoprum canis* and *M. equinum* Isolated from Animals with *Nannizzia otae*. *Mycopathologia* 90:59-63.
- 172.- Thaler, M., J. Bacher, T. O'Leary and P.A. Pizzo. 1988. Evaluation of Single-Drug and Combination Antifungal Therapy in an Experimental Model of Candidiasis in Rabbits with Prolonged Neutropenia. *The J. of Infect. Dis.* Vol. 158 No.1:80-88.
- 173.- Tewari, R.P., N. Khardori, P. McConnachie, L.A. VonBehren and T. Yamada. 1982. Blastogenic Responses of Lymphocytes from Mice Immunized by Sublethal Infection with Yeast Cells of *Histoplasma capsulatum*. *Infect. and Immun.* Vol. 36 No.3 1013-1018.
- 174.- Tewari, R.P., D. Sharma, M. Solotorovsky, R. Lafemina and J. Balint. 1977. Adoptive Transfer of Immunity from Mice Immunized with Ribosomes or Live Yeast Cells of *Histoplasma capsulatum*. *Infect. and Immun.* Vol. 15 No. 3:789-795.
- 175.- Thurston, J.R., S.J. Cysewski and J.L. Richard. 1979. Exposure of Rabbits to Spores of *Aspergillus fumigatus* or *Penicillium sp.*: Survival of Fungi and Microscopic Changes in the Respiratory and Gastrointestinal Tracts. *Am. J. of Vet. Res.* Vol.40 No. 10:1443-1449.
- 176.- Thurston, J.R., S.J. Cysewski, A.C. Pier and J.L. Richard. 1972. Precipitins in Serums from Sheep Infected with *Aspergillus fumigatus*. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 33 No. 5:921-933.
- 177.- Valdez, J.C., D.E. Mesón, A. Sirena and N.G. de Alderete. 1987. Characteristics of DTH Suppressor Cells in Mice Infected with *Candida albicans*. *Mycopathol.* 98:121-126.
- 178.- Wright, E.T. and L.H. Winer. 1971. The Natural History of Experimental *Coccidioides immitis* Infection. *J. Dermatol.* 10:10-17.
- 179.- Ward, E.R., R.A. Cox, J.A. Schmitt, M. Huppert and S.H. Sun. 1975. Delayed-Type Hypersensitivity Responses to Cell Wall Fraction on the Mycelial Phase of *Coccidioides immitis*. *Infect. and Immun.* Vol. 12 No. 5:1093-1097.
- 180.- Warthon, M.L., F. Reiss and D.R.A. Wharton. 1950. Active Immunization Against *Trichophyton purpureum*. *J. Invest. Dermatol.* 14:291-303.

- 156.- Salfelder, K.S.J. and C.E. Johnson. 1968. Experimental Cutaneous South American Blastomycosis in Hamster. Arch. Dermatol. Vol. 97:69-77.
- 157.- Schaffner, A. and P.G. Frick. 1985. The Effect of Ketokonazole on Amphotericin B in a Model of Disseminated Aspergillosis. The J. of Infect. Dis. Vol. 151 No. 5:902-910.
- 158.- Schmidt, R.E. and T.M. Buttler. 1970. Esophageal Candidiasis in a Chimpanzee. J. Am. Vet. Med. Assoc. 157:722-723.
- 159.- Schmidt, G.M. 1974. Mycotic Keratoconjunctivitis in Domestic Animals. Vet. Med. Small Anim. Clinic Vol. 69:1177-1179.
- 160.- Sidransky, H. and L. Friedman. 1959. The effect of Cortisone and Antibiotic Agents on Experimental Pulmonary Aspergillosis. Amer. J. Pathol. Vol. 35 No. 1:169-183.
- 161.- Schulman, J. 1985. Ketoconazole for Successful Treatment of Cryptococcosis in a Cat. J. Am. Med. Assoc. 187:508-509.
- 162.- Scibienski, D.C. and B.L. Beaman. 1980. Interaction of *Nocardia asteroides* With Rabbit Alveolar Macrophages: Association of Virulence, Viability, Ultrastructural Damage and Phagosome-Lysosome Fusion. Infect. and Immun. Vol. 28 No. 2:610-619.
- 163.- Scibienski, D.C. and B.L. Beaman. 1980. Interaction of *Nocardia asteroides* With Rabbit Alveolar Macrophages: Effect of Growth Phase and Viability on Phagosome-Lysosome Fusion. Infect. and Immun. Vol. 29:24-29.
- 164.- Scibienski, D.C. and B.L. Beaman. 1980. Interaction of Alveolar Macrophages With *Nocardia asteroides*: Immunological Enhancement of Phagocytosis, Phagosome-Lysosome Fusion and Microbicidal Activity. Infect. and Immun. Vol. 30 No. 2:578-587.
- 165.- Selsted, M.E., D. Sklarek, T. Ganz and R.I. Lehrer. 1985. Activity of Rabbit Leukocyte Peptides Against *Candida albicans*. Infect. and Immun. Vol. 49 No. 1:202-206.
- 166.- Sher, N.A., S.D. Chaparas, L.E. Greenberg and S. Bernard. 1975. Effects of BCG, *Corynebacterium parvum*, and Methanol Extraction Residue in the Reduction of Mortality from *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* Infections in Immunosuppressed Mice. Infect. and Immun. Vol. 12 No. 6:1325-1330.
- 167.- Sinski, J.T., G.L. Reed, L.M. Kelley and R. LeFebvre. 1973. Macrophage Migration Technique Using Cocciiodin. Infect. and Immun. Vol. 7 No. 2:226-230.
- 168.- Singh, J. and F.C. Malhotra. 1979. Sequential Gross and Histopathological Studies on Aspergillosis in Chicks. Indian J. Anim. Sci. 49:562-568.

181.- Watson, S.R. and W.E. Bullock. 1982. Immunoregulation in Disseminated Histoplasmosis: Characterization of the Surface Phenotype of Splenic Suppressor T Lymphocytes. *Infect. and Immun.* Vol. 37 No. 3:940-945.

182.- White, L.O. 1977. Germination of *Aspergillus fumigatus* in the Lungs of Normal and Cortisone-Treated Mice. *Sabouraudia* 15:37-41.

183.- Wilkinson, G.T., R.H. Sutton and L.R. Grono. 1982. *Aspergillus* spp. Infection Associated with Orbital Cellulitis and Sinusitis in a Cat. *J. Small Anim. Pract.* 23:127-131.

184.- Wolf, A.M. 1979. Primary Cutaneous Coccidioidomycosis in a Dog and a Cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174:504-506.