

ESTUDO DE CULTURAS ISOLADAS DE BLASTOMICOSE QUELOIDIFORME (DOENÇA DE JORGE LÔBO). DENOMINAÇÃO AO SEU AGENTE ETIOLÓGICO

Ozorio José de Menezes FONSECA ⁽¹⁾ e Carlos da Silva LACAZ ⁽²⁾

RESUMO

Os Autores estudaram cinco amostras de fungos tidas como isoladas de casos de blastomicose queloidiforme (doença de Jorge Lôbo). Fazem uma revisão da literatura sobre esta micose, desde o trabalho de LÔBO (1931), estabelecendo critérios de ordem clínica, epidemiológica, micológica, anátomo-patológica e imunológica para diferenciar a blastomicose queloidiforme da blastomicose sul-americana. As amostras estudadas, incluindo a cepa J.B., considerada como isolada do caso "princeps" de Jorge Lôbo foram semeadas em diversos meios, inoculadas em cobaios, camundongos e hamsters, bem como em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de galinha, tendo sido analisadas também quanto à sua atividade bioquímica. Antígenos obtidos a partir de lisados dessas culturas e outros de natureza polissacarídica foram examinados face a soros de blastomicose queiloideana e sul-americana, concluindo os Autores que as culturas 481 e 987 são de *Aspergillus penicillioides*; a de número 525 é uma cepa de *Paracoccidioides brasiliensis*; a de número 294 corresponde a uma levedura identificada como *Sterigmatomyces halophilus* e a de número 979 um fungo leveduriforme ainda em estudo. Do trabalho realizado, afirmam que, até o presente momento o fungo agente da blastomicose queloidiforme não foi isolado.

Quanto à denominação ao agente causal da blastomicose queloidiforme, os Autores são de parecer que o binômio *Paracoccidioides lobo* (FONSECA FILHO & ARÊA LEÃO, 1940) ALMEIDA & LACAZ, 1949 deve prevalecer, fazendo da referida espécie uma nova descrição na base de seus caracteres micromorfológicos.

INTRODUÇÃO

Problema dos mais discutidos na literatura micológica diz respeito ao cultivo e à denominação do agente etiológico da blastomicose queloidiforme ou doença de Jorge Lôbo.

A nosso ver, a literatura acumulada a partir de 1931 — ano em que a referida doença foi descrita pelo Prof. JORGE LÔBO ⁶⁴ — englobando o estudo das lesões cutâneas, os

dados epidemiológicos, infectividade para animais de laboratório e algumas provas imunológicas, justifica plenamente considerar-se a entidade em aprêço como micose autônoma, diferente da blastomicose sul-americana, com a qual alguns pesquisadores procuraram identificá-la. Some-se a esses dados o fato de, até o presente momento, não se ter conseguido com segurança, o cultivo

(1) Micologista do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Centro de Patologia Tropical). Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas, junto ao Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Brasil)

(2) Diretor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Chefe do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo (Brasil)

do seu agente etiológico, que tem recebido denominações genéricas e específicas as mais diversas, a saber:

Glenosporella lobo Fonseca Filho & Arêa Leão, 1940

Blastomyces brasiliensis Conant & Howell, 1942

Glenosporopsis amazonica Fonseca Filho, 1943

Paracoccidioides lobo Almeida & Lacaz, 1949

Blastomyces lobo Langeron & Vanbreuseghem, 1952

Loboa lobo Ciferri, Azevedo, Campos & Siqueira Carneiro, 1956

Lobomyces Borelli, 1968

Revedo a bibliografia sobre o assunto, verifica-se que, alguns investigadores (AZEVEDO⁸; ALMEIDA⁴ e CONANT & col.³⁴) consideraram a blastomicose queloidiforme como forma ou variedade clínica da blastomicose sul-americana e, portanto, provocada pelo *Paracoccidioides brasiliensis*, colocado pelos últimos Autores, na sinonímia de *Blastomyces brasiliensis*. Ocorrendo predominantemente no Brasil, em clima equatorial, casos isolados da "doença de Jorge Lôbo" foram também descritos na Venezuela (CAMPO-AASEN^{24, 25}, BATTISTINI & col.¹⁷, CONVIT & col.³⁵, REYES & col.⁹²), Colômbia (BETANCOURT & CORREA¹⁸, CORREA³⁶, MARTINEZ & HOFFMANN⁶⁸, ROBLEDO⁹³ e PEÑA⁸⁷), Panamá (HERRERA⁵¹), Costa Rica (TREJOS & ROMERO^{104, 105}), Guiana Francesa (FONTAN⁴⁷, SILVERIE & col.¹⁰¹, DESTOMBES & RAVICE³⁷, PRADINAUD & col.⁸⁹) e Surinam (WIERSEMA & NIEMEL¹⁰⁶).

Antes de relatarmos o estudo que fizemos sobre algumas culturas isoladas de casos clínicos de blastomicose queloidiforme, desejamos estabelecer, à guisa de introdução, alguns pontos que nos parecem fundamentais para um melhor esclarecimento da referida doença e da denominação proposta a seu agente etiológico.

A blastomicose queloidiforme (doença de Jorge Lôbo), com características clínicas bem diferentes da blastomicose sul-americana, com lesões exclusivamente cutâneas, de longa evolução e raramente ganglionar (comprometi-

mento secundário), com ausência de visceralização do processo, sem comprometer o estado geral do paciente, tem sido observada no Brasil, principalmente na bacia amazônica. Em 1970, DIAS & col.³⁸ fizeram referências a 69 casos assinalados na Amazônia brasileira, mostrando a maior incidência da doença nesta região, confirmando observações anteriores de MORAES⁷⁹, MORAES & OLIVEIRA⁸⁰, MORAES & FERREIRA⁸¹, SILVA⁹⁹, SILVA & AZEVEDO⁹⁷ e NERY-GUIMARÃES & MACEDO⁸².

BORELLI¹⁹ refere que a "Lobomicose" ocorre predominantemente em zonas com temperatura média anual superior a 24°C e pluviometria acima de 2000 mm. Esses dados epidemiológicos são de grande interesse na conceituação da doença de Jorge Lôbo, mostrando que fatores de ordem bioclimática devem interferir no aparecimento e disseminação desta dermatose, praticamente ausente fora da Amazônia.

A associação de um caso de blastomicose de Jorge Lôbo, de longa duração, com lesões orofaríngeas e pulmonares, de granulomatose paracoccidióidica, publicado por LACAZ & col.⁵⁴, justifica também a separação dessas duas doenças, uma não dando imunidade à outra. As observações de BARUZZI & col.¹⁶ apresentam igualmente grande interesse, ao registrarem 9 casos de blastomicose queloidiforme em índios Caiabí, hoje vivendo no Parque Nacional do Xingu, mas todos eles procedentes de outras regiões (entre os rios Teles Pires e Arinos, formadores do rio Tapajós). Ressaltam BARUZZI & col.¹⁶ que, entre os índios Caiabí que mudaram para a área do Parque Nacional do Xingu, não houve o aparecimento de novos casos, persistindo a doença nos já acometidos.

Do ponto de vista clínico, as observações já acumuladas mostram o não comprometimento do estado geral dos pacientes com blastomicose queloidiforme, mesmo face a lesões cutâneas disseminadas. A ausência de lesões orofaríngeas e viscerais constitui mais um elemento de diferenciação clínica entre a blastomicose queloidiforme e a blastomicose sul-americana.

Histopatologicamente, desde os trabalhos iniciais de LÔBO⁶⁴ e FIALHO⁴⁴ e posteriormente, com as valiosas contribuições de

MONTEIRO LEITE^{60, 61}, MADUREIRA PARÁ⁸⁶, TEIXEIRA^{102, 103}, PEREIRA FILHO⁸⁸, NERY-GUIMARÃES & MACEDO⁸², MICHALANY⁶⁹ e MICHALANY & LAGONECRO⁷⁰, verifica-se que a blastomicose queloidiforme apresenta um quadro que a individualiza, bem diferente da blastomicose sul-americana. Em sua tese de livre-docência, MONTEIRO LEITE⁶⁰ refere em uma de suas conclusões não existirem fatos ou argumentos que justifiquem o estudo da doença de Jorge Lôbo como simples forma clínica da blastomicose sul-americana.

Reações de fixação do complemento e de precipitação mostraram-se negativas em soros de blastomicose queloidiforme, usando-se como antígeno, polissacarídeo do *Paracoccidioides brasiliensis* (LACAZ & col.⁵³). A intradermo-reação praticada por AZULAY & col.¹⁰ com antígenos preparados a partir de material colhido de lesões queloidiformes não nos permite ainda utilizá-la como critério ou elemento de diferenciação entre as duas micoses.

As inoculações em animais de laboratório, com material colhido de lesões humanas foram praticamente negativas na observação da maioria dos investigadores. AZULAY & col.¹¹ assinalam, todavia, ter reproduzido lesões experimentais em vários animais de laboratório. WIERSEMA & NIEMEL¹⁰⁶ referem ter obtido lesões experimentais em bôlsa plantar de hamster, inoculando material de lesões humanas. NERY-GUIMARÃES⁸³, inoculando hamsters por via testicular com triturado de lesão cutânea de blastomicose queloidiforme, após 12 meses, verificou em um dos animais, dos 4 inoculados, a formação de um nódulo com quadro histopatológico idêntico ao da doença humana. DIAS & col.³⁸ e SAMPAIO & DIAS⁹⁵ provocaram também lesões específicas inoculando o tecido conjuntivo de bôlsa jugal de hamsters (*Mesocricetus auratus*). SAMPAIO & col.⁹⁶ (trabalho em publicação), inoculando jabotís e muçuãs (quelônios da Amazônia Brasileira) com material de lesões humanas, por via subcutânea, provocaram em alguns animais (jabotís — *Geochelone denticulata*) nódulos de lenta evolução, com o aparecimento do parasito sob formas bizarras.

Com a considerada amostra “princeps” (amostra 525 de nosso trabalho), vários pesquisadores (ARÊA LEÃO & col.⁵⁸, LEMOS

MONTEIRO⁷⁴, ALMEIDA & LACAZ³, ARTAGAVEYTIA-ALLENDE⁶, SIQUEIRA CARNEIRO²⁹ e BORELLI²⁰ relataram resultados positivos em suas inoculações, mas sabemos hoje (ver Discussão) que esta amostra corresponde a uma “cepa” de *Paracoccidioides brasiliensis*, sem relação alguma com a blastomicose queloidiforme.

Em ovos embrionados de galinha, LEMOS MONTEIRO^{74, 75} e LEMOS MONTEIRO & BRITO⁷⁸ referem ter obtido lesões em membrana cório-alantóide, diferentes das observadas na blastomicose sul-americana, trabalhando com material retirado de lesões e de cultura isolada de um caso de blastomicose de Jorge Lôbo (amostra 987 de nosso trabalho).

Finalmente, no que diz respeito à morfologia do agente etiológico da blastomicose de Jorge Lôbo, os dados da literatura mostram ausência de esporulação exógena múltipla e a parede celular mais refringente que a observada no *Paracoccidioides brasiliensis*. Os dois fungos foram estudados à microscopia eletrônica por FURTADO & col.^{48, 49}, CARBONELL & POLLAK²⁶ e CARBONELL & RODRIGUEZ²⁷.

Quanto ao isolamento do fungo, as tentativas realizadas pela maioria dos pesquisadores, semeando material rico em parasitas em meios os mais diversos, quase sempre resultaram negativas, sendo raras as culturas existentes consideradas como eventuais agentes do processo. De alguns casos, culturas de crescimento lento foram obtidas, levando alguns investigadores a associarem as mesmas, ao agente etiológico da doença de Jorge Lôbo (SIQUEIRA CARNEIRO²⁹, LEMOS MONTEIRO^{74, 75, 76}, LEMOS MONTEIRO & BRITO⁷⁸ e CAMPO-AASEN²⁵).

Em 1968, CARNEIRO & col.²⁸ fizeram referências ao isolamento de um fungo de um caso de blastomicose de Jorge Lôbo. Nossa opinião é a de que o mesmo é um cogumelo do gênero *Fusarium*, sem relação com a etiologia do processo.

Tudo faz crer que a cultura “princeps” tenha sido trocada no Instituto Oswaldo Cruz, pois não há mais dúvida de que a cultura 1488 da Micoteca dessa Instituição, representa uma “cepa” típica de *Paracoccidioides brasiliensis*, fungo êste que nunca mais foi isolado de lesões de blastomicose queloidiforme.

* * *

No presente trabalho estudamos cinco amostras de fungos tidas como isoladas de casos de blastomicose queloidiforme. Foram as mesmas levadas em consideração, pelo facto de uma certa uniformidade em seus caracteres macroscópicos — colônias cerebriformes, de crescimento lento em ágar-Sabouraud. Fizemos um exame micológico que nos pareceu completo, procurando também realizar uma investigação imunológica que nos permitisse detectar em soros humanos, de blastomicose queloidiforme, eventual anticorpo face às amostras em estudo, incluindo a “cepa” de *Paracoccidioides brasiliensis*, considerada como isolada do paciente J.B. primeira observação registrada por Lôbo, em 1931.

MATERIAL E MÉTODOS

I — *Amostras estudadas* — Pertencem à Micoteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, com as seguintes indicações:

- 294 — Isolada por Sílvio Campos, em Recife (Pernambuco), do paciente B.K.
- 481 — Isolada por Fonseca Filho, em 1937, do paciente A.A.B. e identificada como *Glenosporopsis amazonica* em 1943. Amostras 1848, do Instituto Oswaldo Cruz e 694 do Instituto de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.
- 525 — Amostra considerada como “princeps” e tida como isolada por Jorge Lôbo, em 1931, do paciente J.B. Identificada inicialmente por Fonseca Filho & Arêa Leão, em 1940, como *Glenospora loboii*. Amostra 1488 do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro).
- 979 — Isolada por Siqueira Carneiro (Recife, Pernambuco), em 1952, do paciente A.A.B. Identificada por êste pesquisador como *Paracoccidioides loboii*.
- 987 — Isolada por Siqueira Carneiro, em 1952, do paciente F.V.M. e con-

siderada por êste investigador como idêntica às culturas 481 e 979.

II — *Métodos de trabalho*

1) *Exame macroscópico* das colônias em ágar-Sabouraud, mantidos os tubos à temperatura ambiente e a 37°C e as placas, para o estudo das colônias gigantes, à temperatura ambiente.

2) *Estudo micromorfológico* (cultivo em lâmina com umidade e sem umidade e exame microscópico de um fragmento da colônia, em ágar-Sabouraud).

3) *Atividade bioquímica e necessidades auxológicas*, a saber: urease, H₂S, Zimograma (Dextrose, Lactose, Galactose, Sacarose e Maltose), Redução de nitratos a nitrito, Auxanograma de fontes hidrocarbonadas (Dextrose, Lactose, Sacarose, Galactose e Maltose), Auxanograma de fontes nitrogenadas (Sulfato de amônio, Cloreto de amônio, Nitrato de potássio, Nitrato de sódio e Peptonina), Hidrólise do amido, Hidrólise da gelatina, Hidrólise da caseína, Indol, Produção de amônia, Catalase e Plasmocoagulase. Para a execução dessas provas, usamos as técnicas seguidas por MINAMI⁷¹.

4) *Inoculação em animais* — com uma suspensão em solução fisiológica, utilizando cultivo das amostras em ágar-Sabouraud (temperatura ambiente), padronizada no tubo 3 da escala de Mac Farland, fizemos inoculações em três espécies animais: cobaios (via testicular), camundongos (via peritoneal) e hamsters (via peritoneal), inoculando 0,25 ml e utilizando para cada amostra, 4 animais.

5) *Inoculação em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de galinha* — ovos com 10 dias de incubação foram inoculados com 0,25 ml de uma suspensão idêntica à utilizada para as inoculações em animais. Temperatura de incubação: 36°C. Abertura dos ovos no 7.º dia após a inoculação. Lavagem das membranas em solução fisiológica e fixação em Bouin, para exame histopatológico. Coloração pelos métodos de Gomori, Gridley e Hematoxilina-eosina. Tanto para a inoculação em animais, como em

membrana cório-alantóide, as suspensões em solução fisiológica, preparadas a partir de cultivo em ágar-Sabouraud a 37°C (amostra 525) e à temperatura ambiente (amostras 294, 481, 979 e 987) tinham de 30 a 40 dias de cultivo.

6) *Pesquisas imunológicas*

a) Provas de imunodifusão, utilizando dois tipos de antígenos: um, obtido a partir de lisado concentrado de culturas em ágar-Sabouraud e outro, de caldo-Sabouraud, filtrado e concentrado em câmara fria com ventilação.

Os lisados foram obtidos em aparelho Virtis, a 23.000 r.p.m. durante 40 minutos, a partir de suspensão espessa, morta pelo Merthiolate a 1/5000. A dosagem de proteínas, pelo método do biureto, revelou os dados da tabela abaixo.

Usamos soros de 12 casos de blastomicose queloidiforme (índios Caiabi), recebidos do Dr. ROBERTO G. BARUZZI, com as indicações, constantes na tabela da página seguinte.

Além desses soros, trabalhamos com 6 soros de blastomicose sul-americana, com as indicações relacionadas à página seguinte.

Para a imunodifusão, em lâminas de microscopia, utilizamos a técnica de OUCHTERLONY⁸⁵.

b) Reações de precipitação, usando antígeno polissacarídico das cinco amostras em estudo, obtido pela técnica de FAVA NETTO^{40, 41}, oito soros de blastomicose queloidi-

forme e cinco soros dos seis de blastomicose sul-americana, os mesmos usados para as reações de imunodifusão.

c) Reações de fixação do complemento e de precipitação em 11 soros de blastomicose queloidiforme, com antígeno polissacarídico de *Paracoccidioides brasiliensis* (Técnica de FAVA NETTO^{40, 41}).

RESULTADOS

1) *Exame macroscópico das colônias em ágar-Sabouraud, Czapeck e caldo-Sabouraud*

AMOSTRA 294

A — *Cultivo em tubos*

Meio de Czapeck — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento insignificante, localizado no ponto de semeadura do inóculo. A 37°C, aos 40 dias, ausência de crescimento.

Meio de Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento moderado, formando colônia de tonalidade creme, saliente, cerebriforme, com numerosas dobras e circunvoluções. Reverso da mesma cor da parte superior da colônia. A 37°C, ausência de crescimento aos 40 dias de cultivo.

Caldo-Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, forma película

Proteína Total dos Lisados (Método do biureto)

N.º da cultura	Quantidade inicial	Transmitância	g%	Quantidade após concentração	Transmitância	g%
294	23 ml	98,0	0,2	4 ml	94,0	0,6
481	20 ml	99,0	0,1	7 ml	99,0	0,1
525	16 ml	99,0	0,1	1 ml	97,0	0,3
979	41 ml	98,5	0,1	8 ml	97,0	0,3
987	22 ml	99,0	0,1	6 ml	99,0	0,1

Ficha	Nome	Idade	Sexo	Duração da doença	Lesões
BL Coá	Coá	40	M	24 anos	Disseminadas
792	Tuan ou Tumassague	45	M		Face posterior da perna
1010	Pitai	60	M		Tronco e membros
1012	Copiape	30	M	20 anos	Disseminadas — tronco e membros
1032	Canizo (*)	28	M		Escapular, lombar, nádegas e pernas
1037	Gamó (*)		M		
1042	Matsiá	34	M	19 anos	Tórax, braços e lombar E
1059	Copiá	24	M	10 anos	Tórax, braços e coxa D
1051	(*)				
1078	Cavei (*) (Antonio)	50	M		Disseminadas — tórax e membros
1085	Coati	29	F	12 anos	Ombro D
1100	Uracatu	34	M		Nódulos — perna E e D

(*) Diagnóstico clínico, sem exame histológico

Ficha	Nome	Fixação do complemento	Precipitinas
164	J.B.	18,0	++++
161	N.N.A.	14,0	+++
278	L.M.	28,0	++
285	J.C.	68,0	++++
80	V.B.	20,0	++
124	A.G.	8,0	+++

AMOSTRA 481

A — *Cultivo em tubos*

Meios de Czapeck — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, a colônia apresenta crescimento moderado, limitado ao ponto de semeadura, sob a forma de colônia saliente, cerebriforme, com numerosas dobras e sulcos. Colônia branco-acizentada, com ligeiro crescimento na profundidade do meio. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, ausência de crescimento.

Meio de Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento mais abundante que no meio de Czapeck, sob a forma de colônia dura, pregueada, saliente, de coloração cinza-escuro (castanho), com reverso da mesma côr, porém de tonalidade mais acentuada. Nota-se a pigmentação castanha do meio de cultura, restrita à proximidade das bordas da colônia. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, ausência de crescimento.

Caldo-Sabouraud — à temperatura ambiente, crescimento moderado a luxuriante, formando película que vai ao fundo. Crescimento à superfície, com filamentação das

densa, que lentamente vai ao fundo, de coloração branca, crescendo pelas paredes do tubo, formando manguito. Não há turvação, notando-se, todavia, pequenos pontos pulverulentos, esbranquiçados. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, ausência de crescimento.

B — *Colônia gigante, em placa de Petri*

Aos 22 dias de cultivo, à temperatura ambiente, sobre o meio de Sabouraud, a colônia apresenta crescimento moderado, saliente, cerebriforme, pregueada, de coloração branca, com bordas irregulares. Reverso branco, enrugado, verrucoso (Fig. 1-E).

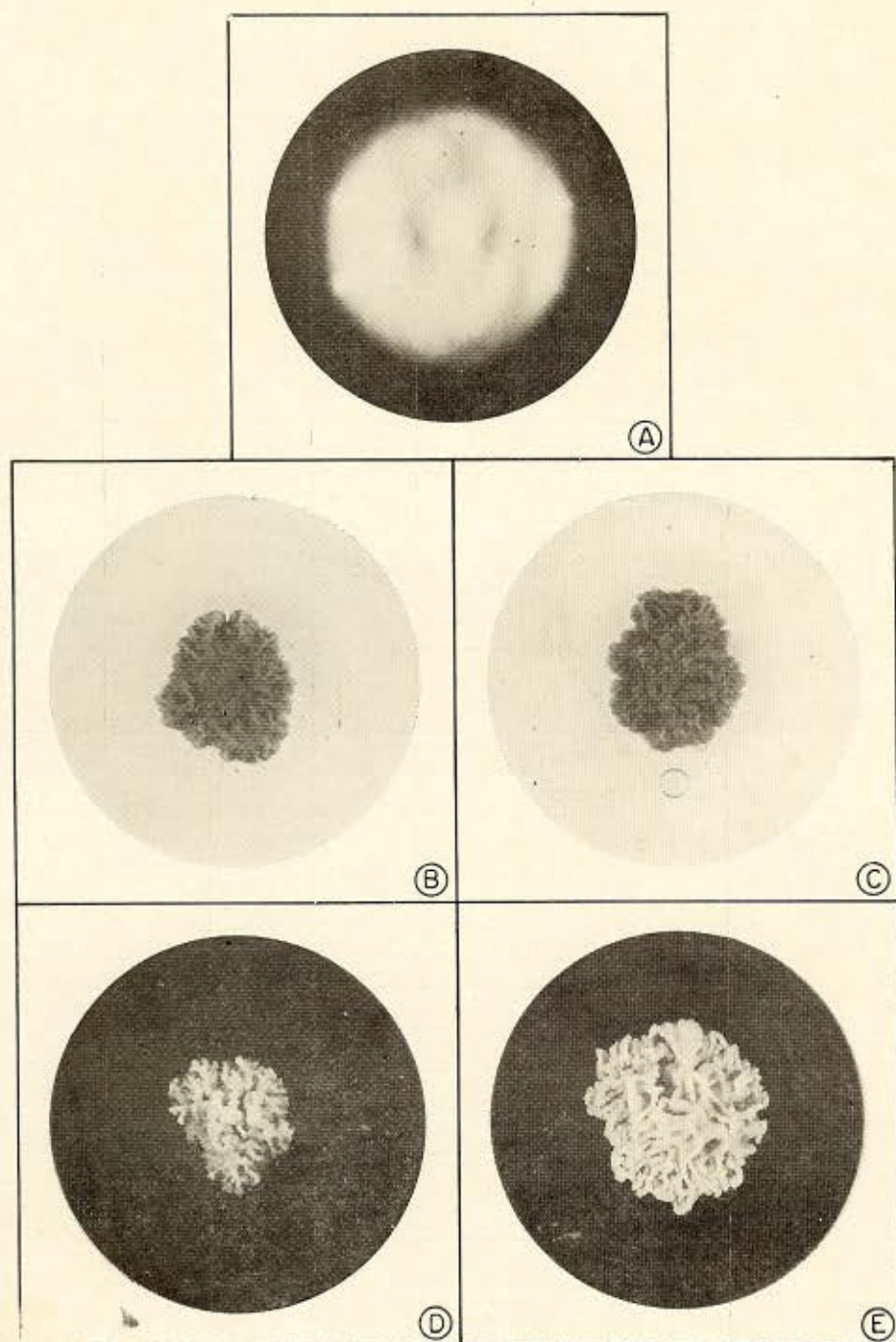


Fig. 1 — Aspectos macroscópicos, em agar-Sabouraud, das culturas 525 (A), 987 (B), 481 (C), 979 (D) e 294 (E), após 45 dias de incubação à temperatura ambiente, excetuando-se a amostra 294 (1E), cuja fotografia foi tomada aos 22 dias.

TABELA I

Atividade bioquímica e necessidades auxológicas

Amostra	Zimograma					Auxanograma de Fontes de C					Auxanograma de Fontes de N				
	Dextrose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+
Galactose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sulf. de Amônio	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato de K	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato de Na	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Clor. de Amônio	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Peptona	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	++++	+	++++	++++	+
H ₂ S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Redução de Nitratos a Nitritos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Indol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hidrólise da Gelatina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hidrólise da Caseína	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hidrólise do Amido	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Produção de Amônia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Catalase	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Plasmo-coagulase	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

colônias. A 37°C, aos 40 dias, crescimento reduzido, sob a forma de pequenas colônias isoladas, puntiformes.

B — Colônia gigante, em placa de Petri

Aos 45 dias de cultivo, à temperatura ambiente, sobre o meio de Sabouraud, a colônia apresenta crescimento lento, aspecto cerebriforme, saliente, de coloração castanha, mais acentuada no centro, com numerosas dobras e com bordas acinzentadas, inteiras, de contorno irregular. Reverso bastante irre-

gular, apresentando sulcos que marcam profundamente a colônia, de coloração castanha escura, brilhante (vitrificado), pigmentando levemente o meio (Fig. 1-C).

AMOSTRA 525

A — Cultivo em tubos

Meio de Czapeck — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, ausência de crescimento. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, ausência de crescimento.

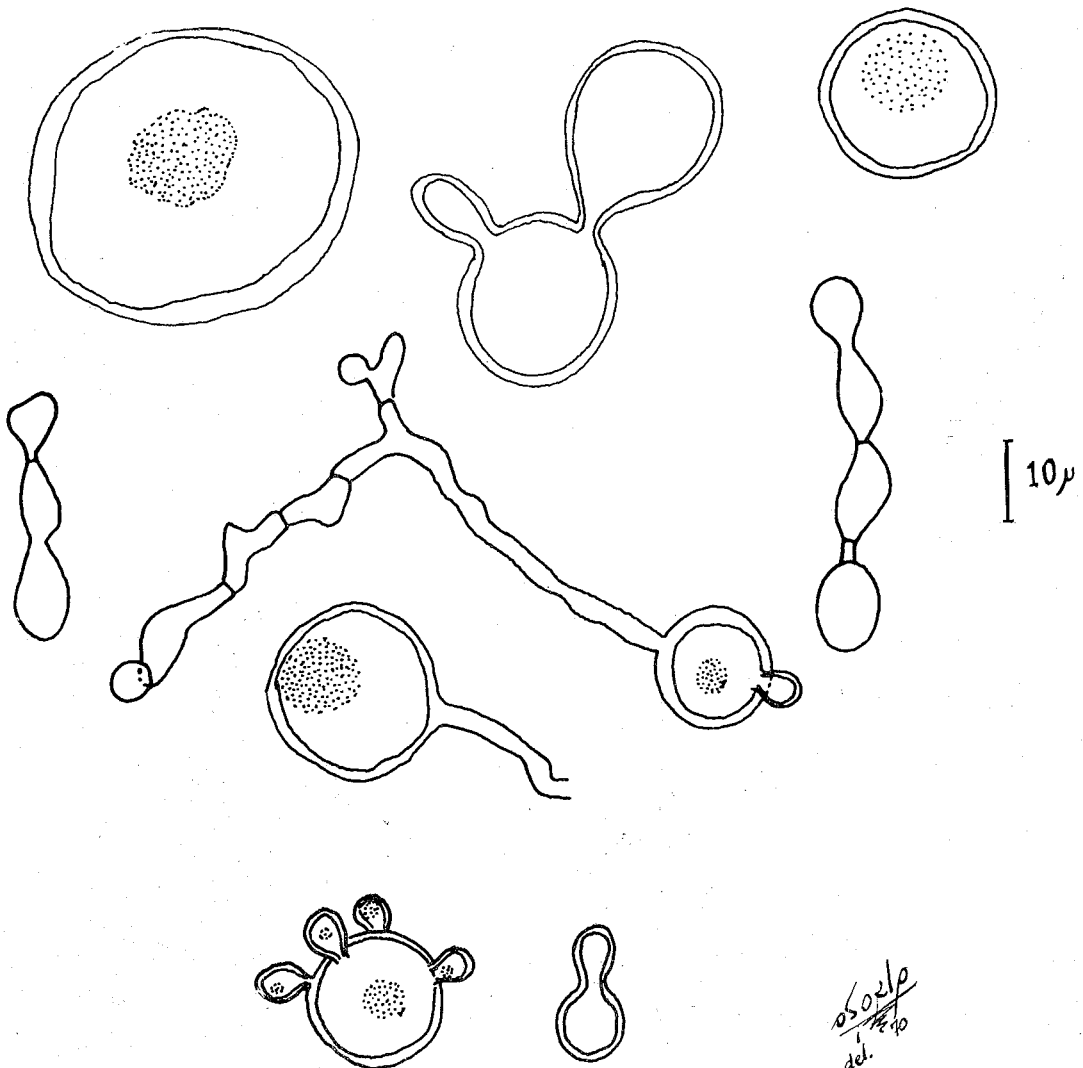


Fig. 2 — Cultura n.º 525. Aspectos micromorfológicos. Cultivo em ágar-Sabouraud. 45 dias. Temperatura de 37°C

Meio de Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, colônia cotonosa, branca, centro ligeiramente saliente, de bordas filamentosas, com reverso cinza (gêlo a pérola). A 37°C, aos 40 dias de cultivo, crescimento moderado, sob a forma de colônia pregueada, cerebriforme, cinza-amarelada, irregular. Reverso da mesma cor da colônia.

Caldo-Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento sob a forma de um grande floco em tórno do inóculo, com depósito. Ausência de turvação e de crescimento na periferia. A 37°C, aos 40 dias, colônia de crescimento moderado, puntiforme, formando pequenos flóculos que se depositam.

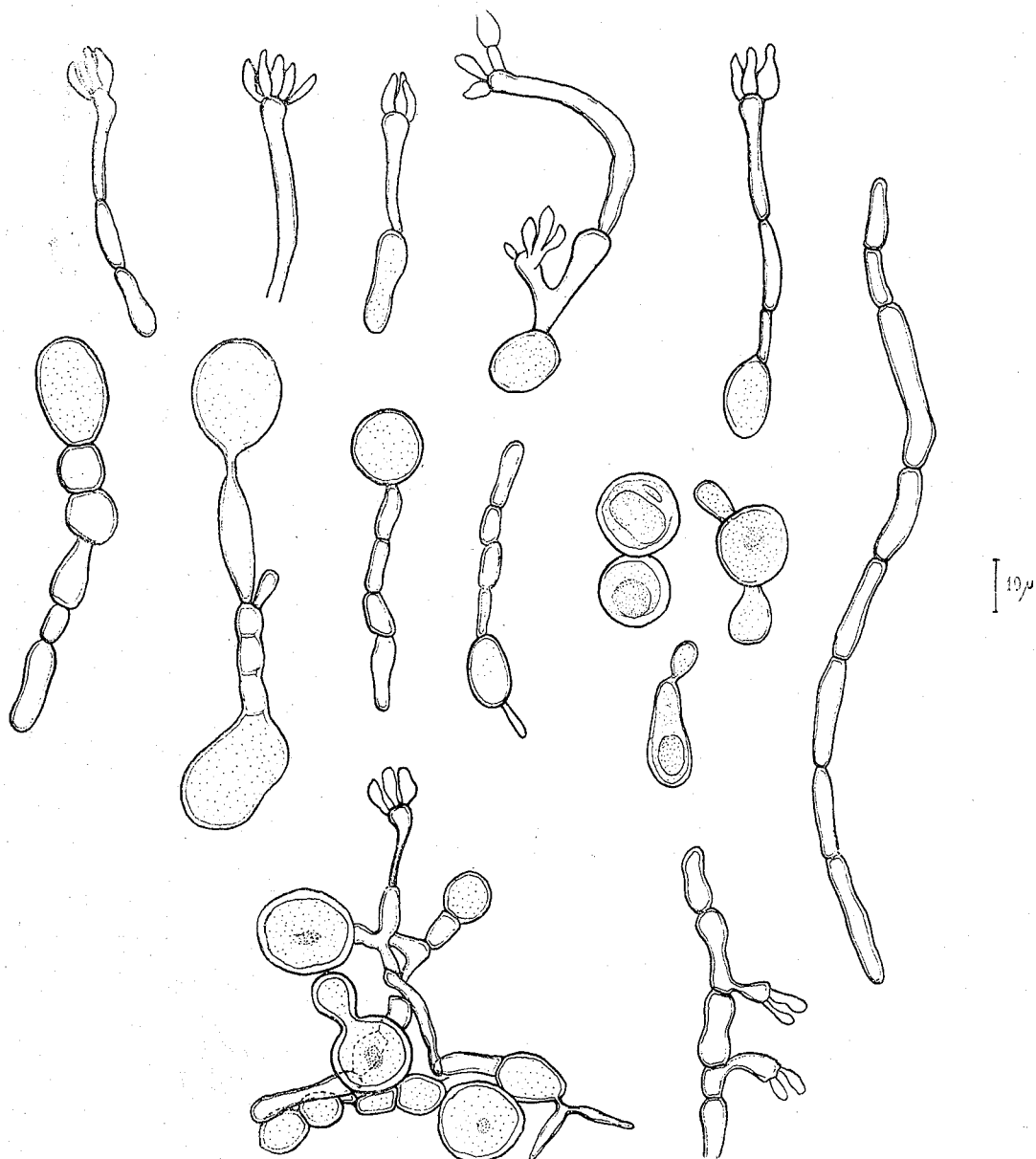


Fig. 3 — Cultura n.º 987. Aspectos micromorfológicos. Cultivo em ágar-Sabouraud. 45 dias. Temperatura ambiente.

B — *Colônia gigante, em placa de Petri*

Aos 45 dias de cultivo, à temperatura ambiente, sobre o meio de Sabouraud, a colônia é circular, branca, cotonosa, lisa, de centro acuminado, bordas filamentosas; reverso creme com sulcos radiais na zona central, sem atingir as bordas, como coloração mais acentuada (Fig. 1-A).

AMOSTRA 979

A — *Cultivo em tubos*

Meio de Czapeck — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, a colônia é branca, de crescimento moderado, saliente, de

superfície cerebriforme, com pregas e dobras irregulares. Não há pigmentação do meio. Ligeiro crescimento na profundidade do meio, ao ponto da sementeira. A 37°C, aos 40 dias, crescimento nulo.

Meio de Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento moderado a luxuriante, saliente, cerebriforme, pregueada e irregular. O reverso é amarelo. A 37°C, crescimento muito reduzido ao redor do inóculo (praticamente nulo).

Caldo-Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento reduzido, sob a forma de pequenas colônias esbranquiçadas, formando ligeiro depósito na

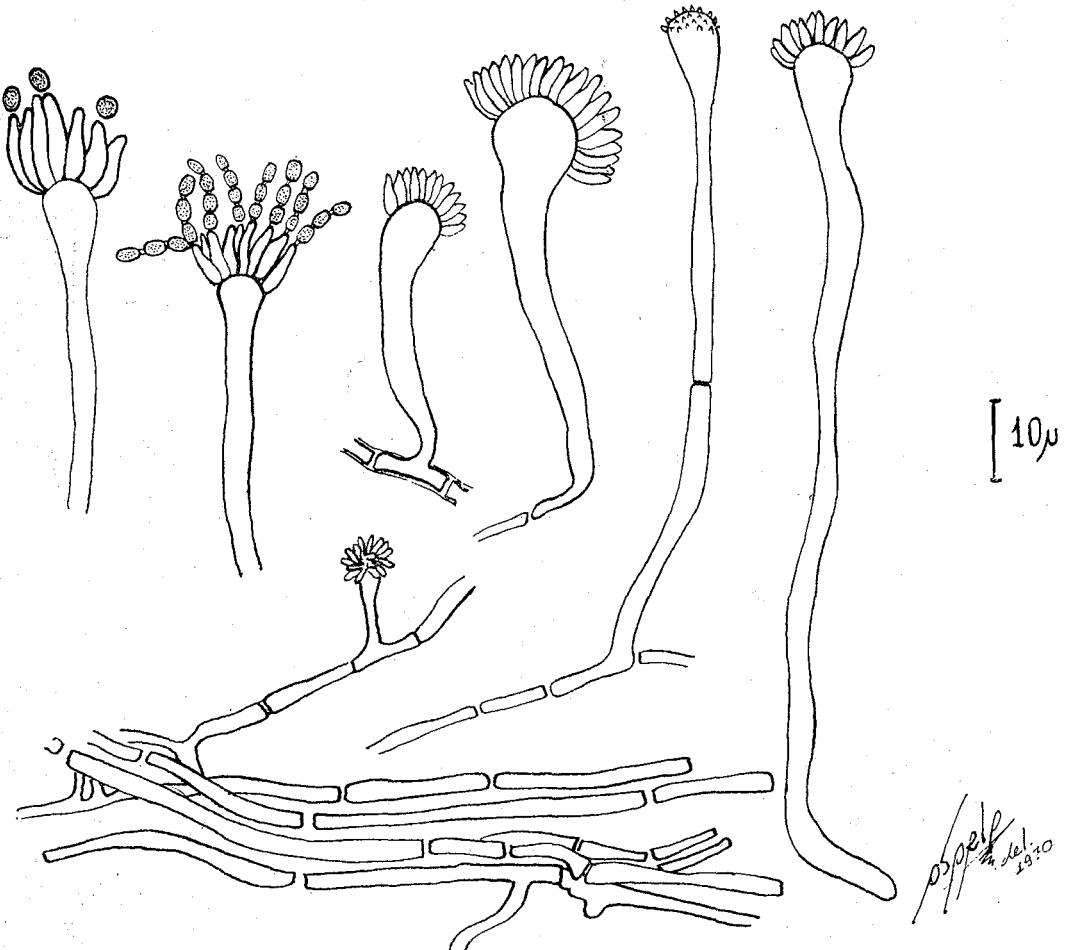


Fig. 4 — Cultura n.º 987 — Aspectos micromorfológicos. Cultivo em lâmina, em agar-Sabouraud, sem umidade, à temperatura ambiente (25 dias)

profundidade do meio. Não há turvação nem formação de película. A 37°C, crescimento reduzido, sob a forma de pequenas colônias fantiformes, isoladas.

B — Colônia gigante, em placa de Petri

Aos 45 dias de cultivo, sobre o meio de Sabouraud, em placas de Petri, à temperatura ambiente, a colônia é branca, de crescimento lento, irregular, saliente, de superfície cerebriforme, bordas irregulares; reverso branco, com aspecto irregular (Fig. 1-D).

AMOSTRA 987

A — Cultivo em tubos

Meio de Czapeck — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, colônia de crescimento moderado, branco-acinzentada, saliente, cerebriforme, com centro acuminado. Superfície com numerosas dobras e sulcos. Cresce também em profundidade no meio de cultura. A parte central é ligeiramente mais escura (castanha) que o restante. Não há

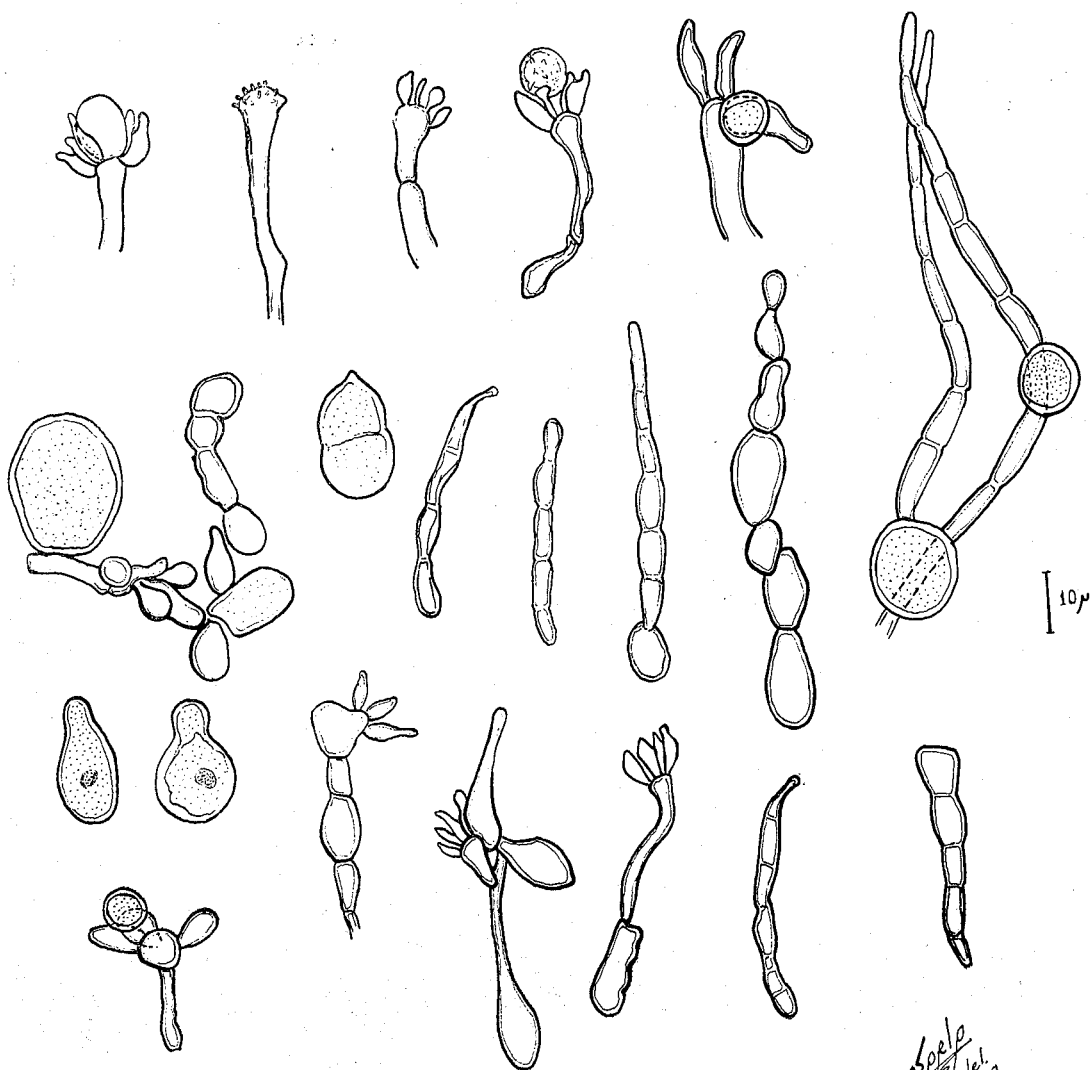


Fig. 5. — Cultura n.º 481. Aspectos micromorfológicos. Cultivo em ágar-Sabouraud. 45 dias. Temperatura ambiente.

pigmentação do meio. A 37°C, ausência de crescimento.

Meio de Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento de moderado a luxuriante, maior que em Czapeck. Colônia de coloração castanha, saliente, progeada, irregular, de superfície cerebriforme. Ligeira pigmentação do meio em castanho, principalmente ao redor da co-

lônia. Cresce também em profundidade. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, crescimento praticamente nulo ao redor do inóculo.

Caldo-Sabouraud — à temperatura ambiente, aos 40 dias de cultivo, crescimento no fundo, sob a forma de pequenas colônias branco-acizentadas que confluem, formando um depósito de bordas irregulares. Na parede do tubo observa-se crescimento com ten-

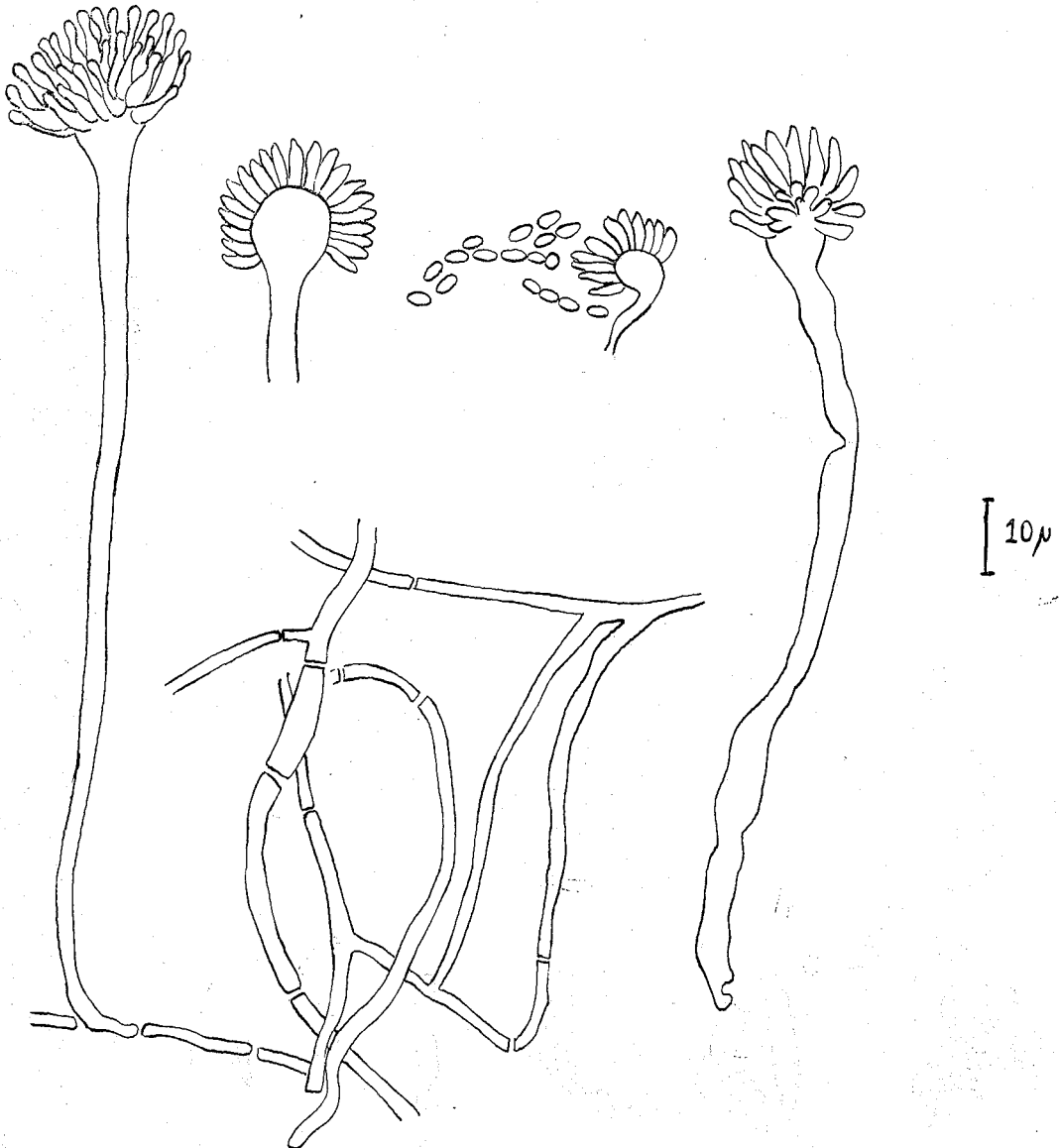


Fig. 6 — Cultura n.º 481 — Aspectos micromorfológicos. Cultivo em lâmina, em ágar-Sabouraud sem umidade, à temperatura ambiente (25 dias)

dência à filimentação. Não há turvação do meio. A 37°C, aos 40 dias de cultivo, crescimento reduzido, sob a forma de pequenas colônias isoladas, puntiformes.

B — Colônia gigante, em placa de Petri

Aos 45 dias de cultivo, à temperatura ambiente, sôbre o meio de Sabouraud, em placa de Petri, a colônia apresenta crescimento lento, saliente, cerebriforme, de coloração castanha, com sulcos e dobras, centro acuminado e bordas irregulares. Reverso bastante marcado, com depressão profunda no centro,

de coloração castanha (vitrificado) (Fig. 1-B).

2 — Estudo micromorfológico (cultivo em lâmina, com umidade e sem umidade e exame microscópico de um fragmento da colônia, em ágar-Sabouraud)

AMOSTRA 294 — poucos filamentos micelíanos, filiformes, hialinos, septados ou não, onde por vêzes são encontradas protuberâncias ampuliformes na porção média das hifas (aspecto enfisematoso). As estruturas características são células multiformes variando

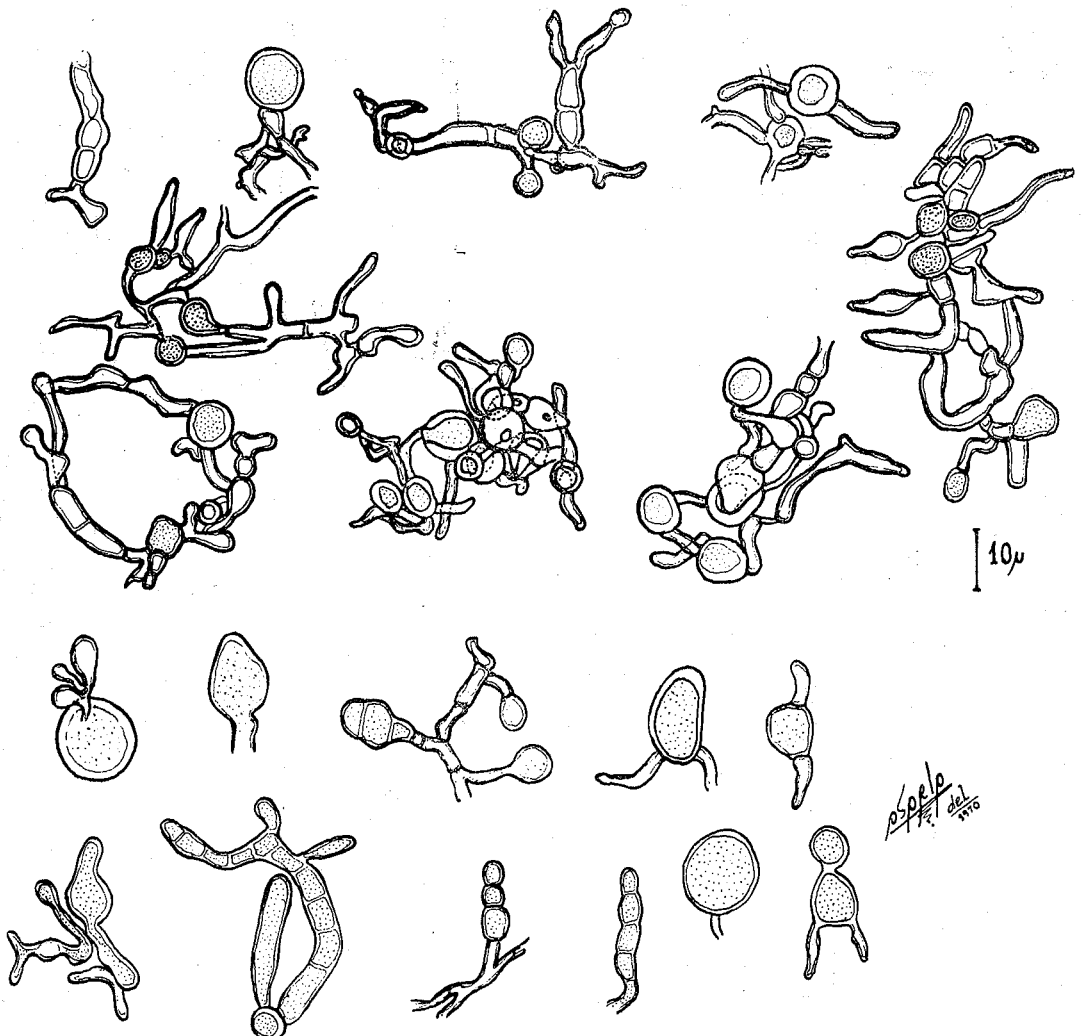


Fig. 7 — Cultura n.º 979 — Aspectos micromorfológicos. Cultivo em ágar-Sabouraud, 45 dias. Temperatura ambiente,

de globosas a piriformes, que se multiplicam por gemulação simples e múltipla. As gêmulas se unem à célula-mãe, por uma haste (stalk) que permanece ligada à parede da célula-mãe, após a separação, dando a estas, aspecto estrelar (espinhoso), permitindo a verificação do número de brotamentos produzidos. Também podem ser observadas cadeias de células unidas entre si pela haste, cujo tamanho varia de inconspícuo a 3μ de eixo longitudinal (Fig. 8).

No cultivo em lâmina, com e sem umidade, as estruturas são semelhantes às anteriormente descritas.

AMOSTRAS 481 E 987 — micélio hialino, septado, constituído de células uniformes, de tamanho variável, raramente ramificado, com clamidósporos globosos a piriformes, até 20μ de diâmetro, terminais ou intercalares. A partir de uma célula globosa (clamidósporo) ou lateralmente às hifas, desenvolvem-se pequenos conidióforos irregulares, sinuosos, formando no ápice, cabeças aspergulares com esterigmas ampuliformes. Nos preparados feitos a partir das paredes dos tubos com Caldo-Sabouraud, essas estruturas se tornam mais evidentes, com nítida filamentação da colônia. No cultivo em lâmina, sem umidade, à temperatura ambiente, nota-se forma-

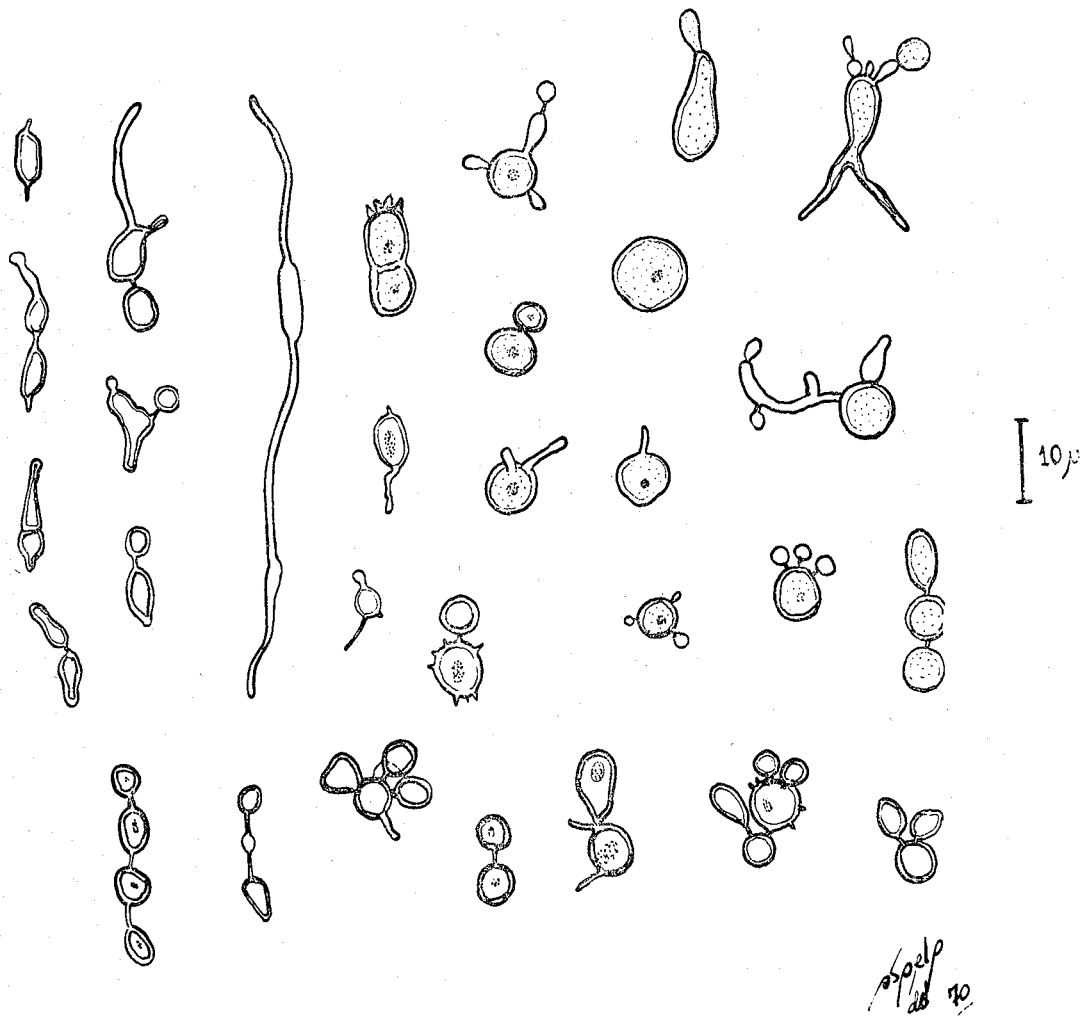


Fig. 8 — Cultura n.º 294 — Aspectos micromorfológicos. Cultivo em ágar-Sabouraud. 45 dias. Temperatura ambiente.

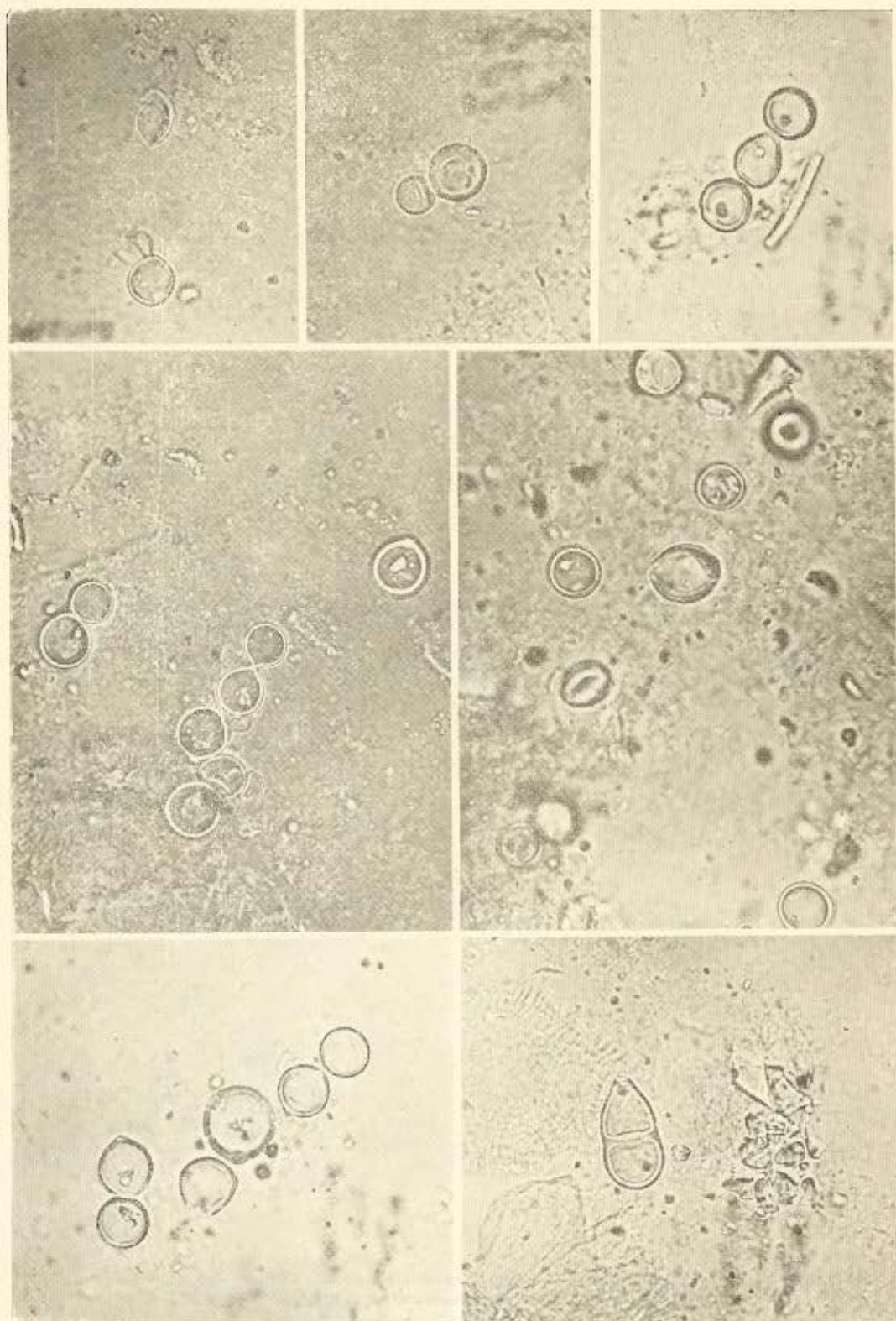


Fig. 9 — *Paracoccidioides loboi*. Aspectos morfológicos em vida parasitária. Exame a fresco, 1.000 x

ção de cabeças aspergulares típicas, sub-globosas, uniseriadas, colunares, situadas no ápice de conidióforos lisos, flexuosos, que crescem a partir do substrato ou do micélio aéreo. Os esterigmas são ampuliformes, hialinos, em uma única série; conídios globosos a truncados (forma de barril), rugosos, em cadeia, de coloração verde-amarelada. No cultivo em lâmina, com umidade, as estruturas são idênticas às observadas em fragmentos de cultura (Figs. 3, 4, 5 e 6).

AMOSTRA 525 — a 37°C, poucos filamentos micelianos curtos, septados ou não, hialinos. Predominam, nos preparados, células leveduriformes, globosas, de membrana dupla, refringente, com granulações citoplasmáticas, reproduzindo-se por esporulação múltipla e, mais raramente, por brotamento simples, podendo também ser observadas formas catenuladas. Comum o aparecimento de clamidósporos, aderidos, intercalar ou terminalmente, às hifas. À temperatura ambiente, filamentos micelianos hialinos, septados, ramificados, por vezes formando feixes que simulam sinêmios. Alguns clamidósporos globosos, terminais, podem ser observados. Nos cultivos em lâmina, com umidade ou com umidade reduzida, à temperatura ambiente, as estruturas são idênticas às verificadas nos fragmentos de cultura mantida à temperatura ambiente (Fig. 2).

AMOSTRA 979 — micélio irregular, septado, ramificado, hialino, anastomosante, constituído de células de forma e tamanho variáveis, de parede lisa, com numerosos clamidósporos intercalares e terminais até 15 μ de diâmetro, com parede dupla, espessa. Lateralmente às hifas, observa-se a formação de estruturas unicelulares e multiseptadas, simulando conídios, que vão de semi-globosos catenulados a fusiformes septados (Fig. 7).

3 — Atividade bioquímica e necessidades auxológicas

Os resultados obtidos estão condensados na Tabela I, verificando-se ausência de qualquer resultado útil para um diagnóstico de gênero e espécie.

4 — Inoculação em animais

A — *Cobaios* (via testicular) — os animais inoculados com a amostra 525 foram sacrificados 90 dias após a inoculação e todos eles apresentaram formas típicas de *Paracoccidioides brasiliensis* ao exame direto. Em um deles, fizemos exame anátomo-patológico, cujo resultado foi o seguinte:

“Epidídimo normal. Abaixo da albugínea, próximo do epidídimo, no interstício do parênquima, percebe-se processo granulomatoso, com muitos mononucleares de mistura. As células histiocitárias, grandes, citoplasma abundante, freqüentemente mostram fagoci-

TABELA II
Reações de precipitação

		A m o s t r a s					
		N.º de soro	294	481	525	979	987
Soros de blastomicose sul-americana	80				—		—
	124	—	—	++	—	—	—
	164	—			—		
	278	—	—	—	—	—	—
	283	—	+++	++++	—		++++
Soros de blastomicose queloidiforme	1059	—	—	—	—	—	—
	1032	—	—	—	—	—	—
	1078			—			—
	1051	—	—	—	—	—	—
	1037	—	++	—	—	—	—
	1012	—	—	—	—	—	—
	1042	—	—	—	—	—	—
	792	—	—	—	—	—	—

Nota — Os espaços vazios correspondem à ausência de soro

tados fungos arredondados ou ovulares, com dupla membrana, apresentando porção central ora acidófila, ora basófila. Os fungos medem cerca de 40 μ de diâmetro, em média. O restante do testículo apresenta túbulos seminíferos normais, inclusive no que diz respeito à espermatogênese.”

Os animais inoculados com as amostras 294, 481, 979 e 987 nada apresentaram à autopsia, que sugerisse reprodução experimental da blastomicose queloidiforme, após 90 dias de inoculação.

B — *Hamsters* (via peritoneal) — todos os animais em experiência, inclusive com a amostra 525, nada apresentaram de anormal, à autopsia, realizada 90 dias após a inoculação.

C — *Camundongos* (via peritoneal) — os animais em experiência, sacrificados 90 dias após a inoculação, nada apresentaram de anormal à autopsia.

TABELA III

Reações de fixação do complemento e de precipitação, com antígeno polissacarídico de *Paracoccidiodies brasiliensis*, face a soros de blastomicose queloidiforme (doença de Jorge Lôbo)

Soros	R.F.C.	Precipitinas (Diluição a 1/5 do antígeno)
1059	—	—
1032	2,17	—
1078	4,75	—
1100	2,2	—
Coá	—	—
1051	2,2	—
1037	6,3	—
1012	2,25	—
1042	3,65	—
1085	—	—
792	9,0	—

5 — Inoculação em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de galinha

O exame histopatológico, realizado pelo Dr. THALES DE BRITO, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, forneceu os seguintes resultados:

Cultivo 294 — Reatividade do ectoderma, com circunscrição de parasitas na superfície, pela reação tipo corpo estranho. Edema e processo inflamatório agudo na base. Em outro corte, granulomas mais fluorescentes, profundos, com muitos parasitas arredondados ou filiformes.

Cultivo 481 — Essencialmente o mesmo tipo de reação, porém com pouca reatividade superficial e a presença de granulomas mais duros, com maior número de parasitas.

Cultivo 525 — Reação aguda, mesenquimal. Eshôço de granuloma, com alguns “vacúolos” no citoplasma.

Cultivo 979 — Reatividade superficial, ectodérmica, considerável. Reatividade mesodérmica, tipo granuloma de corpo estranho. Fungos sob a forma de hifas em meio ao processo granulomatoso. Presentes também, formas redondas em menor número.

Cultivo 987 — Crosta sangüinolenta e reatividade do ectoderma. Edema e congestão do mesênquima. Granuloma tipo corpo estranho no mesênquima, com processo inflamatório agudo periférico. Fagocitose de remanescentes de hifas. Alguns granulomas do tipo “tuberculóide”, apresentando na porção central, hemácias desintegradas e raros parasitas alongados, acidófilos.

6 — Pesquisas imunológicas

a) *Provas de imunodifusão* — com o antígeno solúvel, concentrado, das cinco amostras, face aos soros ensaiados — 12 de blastomicose queloidiforme e 6 de blastomicose sul-americana — os resultados foram negativos até 72 horas de observação. Com o líquido obtido a partir de cultivo em ágar-Sabouraud e concentrado, apenas obtivemos uma prova positiva, com arco de precipita-

ção bastante nítido, com um soro de blastomicose sul-americana (164 — J.B.) face à amostra 525. Esta não reagiu com os 12 soros de blastomicose queloidiforme e com os soros restantes de blastomicose sul-americana. Por sua vez, os lisados das outras culturas não deram resultados positivos face aos soros em prova, de blastomicose sul-americana e de blastomicose queloidiforme.

b) *Reações de precipitação* — usamos 5 soros de blastomicose sul-americana e 8 soros de blastomicose queloidiforme. Os resultados estão condensados na Tabela II.

c) *Reações de fixação do complemento e de precipitação* em 11 soros de blastomicose queloidiforme. Os resultados estão condensados na Tabela III.

DISCUSSÃO

Os dados por nós obtidos mostram ser a cultura de número 525 (Figs. 1-A e 2), uma “cepa” típica de *Paracoccidioides brasiliensis*, bem diferente em seus aspectos microscópicos, do cultivo estudado por FONSECA FILHO & ARÊA LEÃO⁴⁶ em 1940, identificado por êsses Autores como *Glenosporella loboii*. Tudo faz crer que esta cultura (525) não tenha sido isolada do caso “princeps”, descrito por LÔBO⁶⁴ em 1931, tratando-se de amostra típica de *Paracoccidioides brasiliensis*, fungo êsse que nenhum outro pesquisador conseguiu isolar de casos clínicos de blastomicose queloidiforme. Todos aquêles que praticaram cultivo de material humano rico em parasitas não se referem a isolamento de cogumelo com as características do *Paracoccidioides brasiliensis*. Devemos concluir que a amostra 525 de nossa coleção e procedente do Instituto Oswaldo Cruz (n.º 1488) deve ser identificada como *Paracoccidioides brasiliensis* Almeida, 1930, sem relação alguma com o caso original descrito por LÔBO⁶⁴. Como o gênero *Loboa* foi criado por CIFERRI & col.³² a partir dessa amostra, devemos referir que êste último gênero não tem qualquer valor em sistemática, devendo passar para a sinonímia de *Paracoccidioides*. A amostra 525 parece ter perdido em parte sua virulência, pois mesmo em cobaios inoculados por via testicular, a reação escrotal

não foi intensa, mas a presença do *Paracoccidioides brasiliensis* foi sempre evidente. Os hamsters e camundongos inoculados não manifestaram qualquer lesão específica.

A amostra 294 corresponde a um cultivo leveduriforme (Figs. 1-E e 8) que, a pedido de um de nós (LACAZ), já havia sido examinada pela Dra. LODDER, que a identificou como uma levedura com haste (stalk-yeast) ou levedura pedunculada. Esta levedura foi identificada em 1966 por FELL⁴² em novo gênero e nova espécie — *Sterigmatomyces halophilus* — juntamente com duas outras amostras isoladas do ar, na Flórida (U.S.A.) e de água marinha, no Oceano Índico. Concluímos que esta levedura nada tem a ver com a etiologia da blastomicose queloidiforme, considerando também razões de ordem imunológica, bem como inoculações em animais de laboratório e membrana cório-alantóide de embriões de galinha.

Quanto às amostras 481 (chamada *Glenosporeopsis amazonica*) e 987 (Figs. 1-B, 1-C, 3, 4, 5 e 6), isoladas de casos de blastomicose queloidiforme, nossas pesquisas confirmaram as observações de RAPER & FENNEL⁹¹, os quais identificaram êsses fungos como *Aspergillus penicillioides*, aparecendo os órgãos de frutificação característicos do gênero, através de cultivos em lâmina com umidade reduzida. Mesmo nas paredes do tubo com Caldo-Sabouraud, as colônias, depois de 30 dias de cultivo, formam órgãos de frutificação bem característicos do gênero *Aspergillus*. Macroscopicamente, tais culturas são cerebriformes e de crescimento lento, levando alguns pesquisadores a identificá-las com o fungo agente da blastomicose queloidiforme. Do ponto de vista imunológico, também não conseguimos verificar positividade nas provas de imunodifusão com lisados dessas culturas frente a soros de blastomicose queloidiforme. Com a cultura 987, refere LEMOS MONTEIRO^{74, 75, 76} ter provocado granuloma em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de galinha, envolvendo o ecto e o mesoblasto. Pelas fotografias apresentadas, não verificamos, todavia, a presença de fungos com as características do *Paracoccidioides loboii*.

Finalmente, quanto à amostra 979, trata-se de um fungo leveduriforme, não identificado (Figs. 1-D e 7), também sem relação

alguma com a blastomicose queloidiforme (ver inoculações e provas imunológicas). Esta amostra foi isolada por SIQUEIRA CARNEIRO²⁹, do doente A.A.B., 15 anos depois de FONSECA FILHO ter isolado do mesmo doente, um cogumelo identificado como *Glenosporopsis amazonica* (amostra 481). Êsses dados mostram que do mesmo paciente, em épocas diferentes, foram isolados dois fungos, com características diversas, fato êste que invalida qualquer relação etiológica de tais cultivos com a blastomicose queloidiforme.

Do trabalho realizado, concluímos que até o presente momento, o fungo agente da blastomicose queloidiforme não foi isolado e que as culturas obtidas de casos clínicos dessa doença correspondem a fungos sem relação etiológica com a doença em estudo.

gir com aquêlo fungo. Os dados obtidos sugerem, então, a presença de antígenos comuns entre o *P. brasiliensis* e *P. lobo*, mais um argumento para a colocação dos dois microrganismos em um mesmo gênero.

Quanto à denominação ao agente causal da blastomicose queloidiforme, somos de parecer que *Paracoccidioides lobo* Almeida & Lacaz 1949, deve prevalecer, dadas certas semelhanças micromorfológicas dos parasitas desta doença e da blastomicose sul-americana. Enquadradas as duas espécies no mesmo gênero, podemos estabelecer as seguintes diferenças fundamentais entre êsses dois fungos, sem levarmos em consideração os aspectos clínicos e epidemiológicos das doenças que êles produzem e já referidos na parte introdutória.

	<i>Paracoccidioides lobo</i>	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
I — Aspectos micromorfológicos em vida parasitária	Células globosas a subglobosas, com membrana de duplo contórno, medindo 6,0-13,5 × 5,0-11,0 μ nos tecidos parasitados, reproduzindo-se por gemulação simples, aparecendo também formas catenuladas de 3 a 6 células, muitas delas unidas por uma haste, formando estrutura em rosário (Fig. 9)	Células esféricas, com membrana de duplo contórno, medindo de 1 a 40 μ . Nos tecidos, células com brotamento simples ou múltiplo (exo-esporulação). Em corte óptico mediano, a estrutura lembra a roda-de-leme.
II — Cultivo	Não comprovadamente cultivado	Cultivável, com dificuldade, obtendo-se variante filamentosa (M) e leveduriforme (L)
III — Inoculação em animais de laboratório	Ausência de lesões experimentais, a não ser pequenos nódulos em animais de sangue frio e hamsters	Orquite em cobaios, sem generalização do processo. Em hamsters e camundongos, lesões generalizadas, quando inoculados por via peritoneal

Do ponto de vista imunológico, conseguimos pela reação de fixação do complemento, revelar em alguns soros de blastomicose queloidiforme (Tabela III) anticorpo fixador do complemento face a antígeno polissacarídico de *Paracoccidioides brasiliensis*. Por reações de imunodifusão e de precipitação em tubos, não evidenciamos anticorpos capazes de rea-

CONANT & HOWELL³³, em 1942, colocaram o gênero *Paracoccidioides* na sinonímia de *Blastomyces*, fato êste contestado, com razão, por ALMEIDA² e EMMONS & col.³⁹. Em tais condições, pensamos que o gênero *Paracoccidioides* descrito por ALMEIDA em 1930, é válido e não fere nenhum dispositivo de nomenclatura botânica, fato êste já assinala-

do por SIMÕES BARBOSA¹⁴. Quanto ao gênero lembrado por BORELLI²¹ — *Lobomyces* — fica o mesmo prejudicado, com a plena validade do gênero *Paracoccidioides* e a espécie *loboi* que pode ser assim descrita:

Paracoccidioides lobo (Fonseca Filho & Arêa Leão, 1940) Almeida & Lacaz, 1949

Sinonímia: *Glenosporella lobo* Fonseca Filho & Arêa Leão, 1940

Glenosporopsis amazonica Fonseca Filho, 1943

Blastomyces lobo Langeron & Vanbreuseghem, 1952

Loboa lobo Ciferri, Azevedo, Campos & Siqueira Carneiro, 1956

“Fungo agente da blastomicose queloidiforme (Doença de Jorge Lôbo), até hoje não comprovadamente cultivado, com doença experimental não reproduzida de modo sistemático, a não ser pequenos nódulos em animais de sangue frio e hamsters dourados, apresentando em vida parasitária riqueza de elementos predominantemente globosos (elípticos a ovóides), catenulados, medindo de 6,0-13,5 x 5,0-11,0 μ , com dupla parede bem espessa, reproduzindo-se por gemulação simples, sem exo-esporulação (Fig. 9). Formas em rosário são frequentes. A parede celular é espessa, atingindo 1 μ ou mais.”

Selecionamos um “neotypus” (amostra do paciente J.P.S.), sendo distribuídas duplicatas, sob a forma de lâminas, para os seguintes herbários, indicados pela abreviação internacional, sugeridas por LANJOUW & STAFLEU⁵⁶: NY (USA), BPI (USA), K (Inglaterra), L (Holanda), LE (URSS), DAOM (Canadá), PC (França), SP (Brasil), UPS (Suécia) e ZT (Suíça).

Provavelmente, enquanto não se conhecer a fase sexuada dos agentes da blastomicose sul-americana, da blastomicose queloidiforme e da blastomicose norte-americana, êsses fungos imperfeitos devem formar um “complexo” ou um “agrupamento” de “entidades” que figurariam em um mesmo gênero. Quanto à espécie *loboi*, ela é perfeitamente válida, tendo em vista os seus atributos micromorfológicos e biológicos, bem diferentes das espécies *brasiliensis* e *dermatitidis*. Os estudos sob microscopia eletrônica não revelaram distinções entre as espécies *brasiliensis* e *lo-*

boi, ao nível de organelas celulares especiais, mas confirmaram a separação segundo o processo de brotamento. Até o ponto em que a artificialidade da prática taxonômica permite, quando se lida com *Fungi Imperfecti*, pode-se dizer que *Paracoccidioides brasiliensis* e *Paracoccidioides lobo* representam espécies distintas. Através dos estudos de CARBONELL & RODRIGUEZ²⁷, sabe-se que a forma perfeita de *Paracoccidioides brasiliensis* deverá ser incluída entre os *Ascomycetes*, pois os septos das hifas, na fase filamentosa, apresentam o poro simples, do tipo *Ascomycetes* (BRACKER²³ e FURTADO⁵⁰).

A posição do *Paracoccidioides lobo* ainda é incerta. Todavia, a julgar pelo comportamento da parede celular das células leveduriformes durante a esporulação, tanto em *Paracoccidioides brasiliensis* (CARBONELL & POLLAK²⁶, FURTADO & col.^{48, 49}), como em *Paracoccidioides lobo* (FURTADO & col.^{48, 49}), é possível que o agente da blastomicose queloidiforme seja relacionado a *Ascomycetes*. Êste ponto de vista é baseado nas características da produção de blastósporos em nível de ultra-estrutura, quando são comparados estágios leveduriformes de fungos cuja fase perfeita pertence a *Ascomycetes* ou *Basidiomycetes*, distintamente (PRUSSO & WELLS⁹⁰, MARCHANT & SMITH⁶⁷). O problema da posição taxonômica de fungos leveduriformes tornou-se extremamente importante, depois que o estágio sexuado de representantes de *Rhodotorula* revelou que se tratava de fungos basidíferos (BANNO¹³, NEWELL & FELL⁸⁴).

Do ponto de vista imunológico destacamos a positividade de algumas reações de fixação do complemento, empregando antígeno polissacarídico do *Paracoccidioides brasiliensis* face a soros de blastomicose queloidiforme (4 soros com título superior a 2 em um grupo de 11 amostras). As reações de precipitação em tubo e de imunodifusão, esta última realizada com a amostra 525 (cepa típica de *Paracoccidioides brasiliensis*) resultaram negativas. Ficou demonstrada a presença, em alguns soros de blastomicose queloidiforme, de um anticorpo fixador do complemento capaz de reagir com antígeno polissacarídico de *Paracoccidioides brasiliensis*. Êste fato constitui um argumento a mais para a colocação do agente da blastomicose queloidiforme no gênero *Paracoccidioides*. Destaque-se,

também, neste particular, o trabalho de SILVA & col.¹⁰⁰, mostrando através de reações de imunofluorescência, que a forma tissular do *Paracoccidioides lobo* é antigênicamente relacionada à forma leveduriforme do *Paracoccidioides brasiliensis*.

Com os antígenos polissacarídicos obtidos das amostras 294, 481, 525, 979 e 987, fizemos reações de precipitação em tubo, diluindo o antígeno a 1/5 e os resultados obtidos revelaram reações positivas da amostra 525 com dois soros de blastomicose sul-americana, sendo negativas tais provas com 8 soros de blastomicose queloidiforme. Todavia, obtivemos com as amostras 481 e 987, reações de precipitação positivas em um soro de blastomicose sul-americana, tratando-se, possivelmente, de um resultado inespecífico.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os Autores estudaram cinco amostras de fungos tidas como isoladas de casos de blastomicose queloidiforme. Fazem uma revisão da literatura sobre a "doença de Jorge Lôbo", que se inicia em 1931 com a publicação da primeira observação dessa micose, prevalente na Amazônia Brasileira e casos esporádicos registrados na Venezuela, Colômbia, Costa Rica, Panamá, Guiana Francesa e Surinam. Estabelecem critérios de ordem clínica, epidemiológica, micológica, anatomo-patológica e imunológica para diferenciar a blastomicose queloidiforme da blastomicose sul-americana, com a qual alguns investigadores pretendiam identificá-la. Os fungos estudados, incluindo a "cepa" de *Paracoccidioides brasiliensis*, considerada como isolada do caso J.B., primeira observação registrada por LÔBO⁶⁴ em 1931, foram semeados em ágar-Sabouraud, Czapeck e caldo-Sabouraud e, a partir desses cultivos, pesquisados em sua atividade bioquímica e verificada sua micromorfologia, inclusive através de cultivo em lâmina. A seguir, foram as mesmas inoculadas em cobaias, hamsters e camundongos, bem como em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de galinha. As pesquisas imunológicas consistiram em provas de imunodifusão, com dois tipos de antígenos e reações de fixação do complemento e de precipitação, estas últimas com polissacarídeos extraídos das cinco culturas, utilizando o méto-

do de FAVA NETTO^{40, 41}. Tais antígenos foram examinados face a soros de blastomicose queloidiforme e de blastomicose sul-americana. Com antígeno de *Paracoccidioides brasiliensis* foram realizadas reações de fixação do complemento e de precipitação em 11 soros de blastomicose queloidiforme.

Dos resultados obtidos, os Autores concluíram que as culturas de números 481 e 987 são *Aspergillus penicillioides*, confirmando observações anteriores de RAPER & FENNELL⁹¹; a de número 525 é uma "cepa" de *Paracoccidioides brasiliensis*; a de número 294 corresponde a uma levedura pedunculada identificada como *Sterigmatomyces halophilus* FELL, 1966 e a de número 979, um fungo leveduriforme ainda em estudo. Com exceção da amostra 525, as outras não se mostraram patogênicas para os animais de laboratório inoculados e ovos embrionados de galinha (membrana cório-alantóide). Do trabalho realizado, concluem que até o presente momento, o fungo agente da blastomicose queloidiforme não foi isolado e que, as culturas obtidas de casos clínicos dessa doença correspondem a fungos sem relação etiológica com a doença em estudo. Quanto à cultura de n.º 525 — *Paracoccidioides brasiliensis* — sem relação etiológica com a doença de Jorge Lôbo, deve a mesma ser excluída dos estudos sobre esta micose.

Finalmente, quanto à denominação ao agente causal da blastomicose queloidiforme, os Autores são de parecer que o binômio *Paracoccidioides lobo* (Fonseca Filho & Arêa Leão, 1940) Almeida & Lacaz, 1949 deve prevalecer, fazendo da referida espécie uma nova descrição, na base de seus caracteres micromorfológicos. O "neotypus" correspondente a esta espécie foi distribuído a diversos herbários, encontrando-se à disposição dos interessados no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Study of fungal strains isolated from cases of keloidal blastomycosis (Lôbo's disease). Taxonomy of the etiological agent

A study of five fungal samples considered as isolants from cases of keloidal blastomycosis is reported. It includes a general review

of the literature on the "Lôbo's disease", comprising the original paper (1931) on the first observation of this mycosis, which is endemic in the Brazilian Amazonic Region, sporadic cases being recorded in Venezuela, Colombia, Costa Rica, Panama, French Guyana and Surinam. Clinical, epidemiological, mycological, anatomic-pathological and immunological criteria are discussed in order to classify the keloidal apart from the South-American blastomycosis, a view not generally shared among mycologists. The fungi examined, comprising the *Paracoccidioides brasiliensis* "strain" held as an isolant from the case J.B., the first observation recorded by LÔBO⁶⁴ in 1931, were grown in agar-Sabouraud, Czapeck and broth-Sabouraud. Culture forms were analysed as to their biochemical activities; their micromorphology was studied on slide cultures. All samples were inoculated in guinea-pigs, hamsters and mice, as well as on chorio-allantoic membranes of embryonated chicken eggs. Their immunological relationship was investigated through agar-gel diffusion tests, with two types of antigens, whereas complement fixation and precipitation tests were carried out with the polysaccharidic fraction of the five cultures, extracted by the method of FAVA NETTO^{40, 41}. Such antigens have also been tested against specific keloidal and South-American blastomycosis antisera. With antigens extracted from standard cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*, complement fixation and precipitation tests were carried out with 11 serum samples of known cases of keloidal blastomycosis.

In view of the results attained, the Authors concluded that the cultures no. 481 and 987 are *Aspergillus penicillioides*, confirming the previous observations of RAPER & FENNEL⁹¹; no. 525 is a "strain" of *Paracoccidioides brasiliensis*; no. 294 corresponds to a pedunculated yeast identified as *Sterigmatomyces halophilus* Fell 1966 and no. 979, to a yeast-like fungus, which is presently undergoing additional examination. With exclusion of no. 525, these samples were all non-pathogenic for laboratory animals and embryonated eggs. The further conclusion was, therefore, that the etiological agent of the keloidal blastomycosis has not yet been isolated, the cultures obtained from known

clinical cases bearing no etiological relationship with the disease. Regarding culture no. 525 — *Paracoccidioides brasiliensis* — without correlation with Lôbo's disease, it should be excluded from investigations on this mycosis.

Finally, regarding the taxonomy of this organism, the Authors' views are that the binomial nomenclature *Paracoccidioides loboi* (Fonseca Filho & Arêa Leão, 1940) Almeida & Lacaz, 1949 should prevail. A description of the new species, based on its micromorphological characteristics, complements the present investigation. The "neotypus" corresponding to this species was distributed to several standard collections, samples being available at the Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

A G R A D E C I M E N T O S

Os Autores agradecem a valiosa colaboração recebida dos Drs. CELESTE FAVA NETTO, RUBENS GUIMARÃES FERRI, THALES DE BRITO, RENATO PIZA DE SOUZA CARVALHO, JOÃO SALVADOR FURTADO, ROBERTO G. BARUZZI e dos técnicos Victor Salcedo Vegas, Antonieta Abbate e Salvador Benedito Cardoso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(Trabalhos consultados, referidos ou não no texto)

1. ALMEIDA, F. de — Estudos comparativos do granuloma coccidioidico nos Estados Unidos e no Brasil. Novo gênero para o parasito brasileiro. *An. Fac. Med. São Paulo* 5:125-141, 1930.
2. ALMEIDA, F. de — Blastomyces e Paracoccidioides. *An. Fac. Med. São Paulo* 22: 61-71, 1946.
3. ALMEIDA, F. de & LACAZ, C. da S. — Blastomicose "Tipo Jorge Lôbo". *An. Fac. Med. São Paulo* 24:5-37, 1948/1949.
4. ALMEIDA, F. de — Considerações sobre a blastomicose sul-americana em sua forma queloidiana. V Congresso Internacional de Microbiologia. Resumo de trabalhos. Rio de Janeiro, 17-24 agosto 1950, pág. 127.
5. ANDRADE, L. M. C.; AZULAY, R. de & CARNEIRO, J. — Micose de Jorge Lôbo (Estudo histopatológico). *Hospital* (Rio) 73:177-188, 1968.

6. ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & GARCIA-ZORRÓN, N. — Las especies del género *Paracoccidioides*, ALMEIDA, 1930. *An. Inst. Hig. (Montevideo)* 2:69-73, 1948.
7. ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & MONTEMAYOR, L. — Estudio comparativo de varias cepas de *Paracoccidioides brasiliensis* y especies afines. *Mycopathologia* 4: 356-366, 1949.
8. AZEVEDO, P. C. de — *Algumas considerações sobre a micose de Jorge Lôbo*. Tese de docência-livre. Belém, Fac. Med. Cir. Pará, 1949.
9. AZEVEDO, P. C. de — Considerações sobre a obtenção de uma nova amostra do agente etiológico da variedade queloideana da micose de Lutz. *Pará Méd.* 12:48, 1950.
10. AZULAY, R. D.; ANDRADE, L. C. de & CARNEIRO, J. de A. — Micose de Jorge Lôbo. Contribuição ao seu estudo experimental. Inoculação no homem e animais de laboratório e investigação imunológica. *Hospital (Rio)* 73:167-174, 1968.
11. AZULAY, R. D.; CARNEIRO, J. de A. & ANDRADE, L. M. C. de — Lobo's blastomycosis: new experiments on culture, immunology and inoculation. *Dermatologia Inter.* 8:33-35, 1969.
12. AZULAY, R. D.; CARNEIRO, J. A. & ANDRADE, L. C. de — Blastomicose de Jorge Lôbo. *An. Brasil. Derm.* 45:47-66, 1970.
13. BANNO, I. — Studies on the sexuality of *Rhodotorula*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 13: 167-196, 1967.
14. BARBOSA, F. A. S. — Em torno de uma questão de nomenclatura botânica médica: *Paracoccidioides brasiliensis* (SPLENDORE, 1912) ALMEIDA, 1930, o agente etiológico da forma brasileira da "Blastomycose" (Granuloma paracoccidioidico). *J. Med. (Pernambuco)* 11:429-444, 1940.
15. BARBOSA, W. & DOLLES, J. — Blastomicose queloidiforme (Doença de Jorge Lôbo). Apresentação do 1.º caso encontrado no Estado de Goiás. *Rev. Goiana Med.* 11: 11-20, 1965.
16. BARUZZI, R. G.; D'ANDRETTA Jr., C.; CARVALHAL, S.; RAMOS, O. L. & PONTES, P. L. — Ocorrência de blastomicose queloideana entre índios Caiabi. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:135-142, 1967.
17. BATTISTINI, F.; GRACIA, S. J. & PERFETTI, O. — Dos casos de blastomicose queloidiana o enfermedad de Jorge Lôbo. *Rev. Dermat. Venezol.* 5:30-36, 1966.
18. BETANCOURT, O. J. & CORREA, G. E. — Blastomycosis queloideana e enfermedad de Jorge Lôbo. *Arch. Argent. Dermat.* 8:231-232, 1958.
19. BORELLI, D. — La reservarea de la lobo-micosis. Comentarios a un trabajo del Dr. Carlos Peña sobre dos casos colombianos. *Mycopath. Mycol. Appl.* 37:145-149, 1969.
20. BORELLI, D. — Lobomycosis experimental. *Dermat. Venezol.* 3:72-82, 1961/1962.
21. BORELLI, D. — Lobomycosis. Nomenclatura de su agente (Revisión critica). *Med. Cutánea* 3:151-156, 1968.
22. BORELLI, D. — *Aspergillus*, sorpresas en micopatologia. *Dermat. Venezol.* 1:290, 1958.
23. BRACKER, C. E. — Ultrastructure of fungi. *Ann. Rev. Phytopath.* 5:343-374, 1967.
24. CAMPO-AASEN, I. — Nota previa sobre el primer caso de enfermedad de Jorge Lôbo o blastomycosis queloidiana en Venezuela. *Dermat. Venezol.* 1:118-119, 1957.
25. CAMPO-AASEN, I. — Blastomycosis queloidiana o enfermedad de Jorge Lôbo en Venezuela. *Dermat. Venezol.* 1:215-240, 1958.
26. CARBONELL, L. M. & POLLAK, L. — Ultraestructura del *Paracoccidioides brasiliensis* en cultivos de la fase levaduriforme. *Mycopathologia* 19:184-204, 1968.
27. CARBONELL, L. M. & RODRIGUEZ, J. — Mycelial phase of *Paracoccidioides brasiliensis* and *Blastomyces dermatitidis*: an electron microscopy study. *J. Bact.* 96: 533-543, 1968.
28. CARNEIRO, J. de A.; AZULAY, R. D. & ANDRADE, L. C. de — Micose de Jorge Lôbo. Isolamento do parasito em cultura artificial. *Hospital (Rio)* 73:153-165, 1968.
29. CARNEIRO, L. S. — *Contribuição ao estudo microbiológico do agente etiológico da doença de Jorge Lôbo*. Tese de livre-docência. Recife, Imprensa Industrial, 1952.
30. CERRUTI, H. & ZAMITH, V. A. — Um caso de blastomicose, tipo Jorge Lôbo. *Rev. Paul. Med.* 34:210, 1949.
31. CIFERRI, R.; CARNEIRO, L. S.; AZEVEDO, P. C. de & CAMPOS, S. — A revision of the *Paracoccidioidaceae* family in the light of recent knowledge. Publicação n.º 54, do *Inst. Micologia Univ. Recife*, 1956.
32. CIFERRI, R.; AZEVEDO, P. C. de; CAMPOS, S. & CARNEIRO, L. S. — Taxonomy of Jorge Lôbo's disease fungus. Publicação n.º 53, do *Inst. Micologia Univ. Recife*, 1956.

FONSECA, O. J. de M. & LACAZ, C. da S. — Estudo de culturas isoladas de blastomicose queloidiforme (Doença de Jorge Lôbo). Denominação ao seu agente etiológico. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13:225-251, 1971.

33. CONANT, N. F. & HOWELL Jr., A. — The similarity of the fungi causing South American blastomycosis (Paracoccidioidal granuloma) and North American blastomycosis (Gilchrist's disease). *J. Invest. Dermat.* 5:353-370, 1942.
34. CONANT, N. F.; SMITH, D. T.; BAKER, R. D.; CALLAWAY, J. L. & MARTIN, D. S. — *Manual of Clinical Mycology*. Philadelphia, W. S. Saunders Co., 1954, pp. 75-92.
35. CONVIT, J.; BORELLI, D.; ALBORNOZ, R.; RODRIGUES, G. & HOMEZ, Ch. J. — Micetomas, cromomicosis, esporotricosis y enfermedad de Jorge Lôbo. *Mycopath. Mycol. Appl.* 15:394-407, 1961.
36. CORREA, P. — Blastomycosis queloidiana. *Rev. Lat. Amer. Anat. Pat.* 2:139-143, 1958.
37. DESTOMBES, P. & RAVICE, P. — Étude histologique de 2 cas Guyanais de blastomycose chéloidiene (Maladie de Jorge Lôbo). *Bull. Soc. Path. Exot.* 57:1018-1024, 1964.
38. DIAS, L. B.; SAMPAIO, M. M. & SILVA, D. — Jorge Lôbo's disease. Observation on its epidemiology and some unusual morphological forms of the fungus. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:8-15, 1970.
39. EMMONS, C. W.; BINFORD, C. H. & UTZ, J. P. — *Medical Mycology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1970.
40. FAVA NETTO, C. — *Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose sul-americana, com antígeno polisacarídico*. Tese de doutoramento. São Paulo, 1955.
41. FAVA NETTO, C. — *Contribuição para o estudo imunológico da blastomicose sul-americana*. Tese de livre-docência. São Paulo, 1960.
42. FELL, J. W. — *Sterigmatomyces*, a new fungal genus from marine areas. *Antoine van Leeuwenhoek* 32:99-104, 1966.
43. FELL, J. W. — Informações referidas à Dra. J. LODDER.
44. FIALHO, A. — Blastomicose do tipo "Jorge Lôbo". *Hospital (Rio)* 14:903-918, 1938.
45. FONSECA Filho, O. da — *Parasitologia Médica. Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1943.
46. FONSECA Filho, O. & AREA-LEÃO, A. E. — Contribuição para o conhecimento das granulomatoses blastomycoides. O agente etiológico da doença de Jorge Lôbo. *Rev. Med. Cir. Brasil.* 48:147-158, 1940.
47. FONTAN, R. — Premier cas de maladie de Lôbo (Blastomycose chéloidiene) observé en Guyane Française. *Arch. Inst. Pasteur Guyane Française et de L'Inini*, Publ. 461, 1-12, 1969.
48. FURTADO, J. S.; BRITO, T. de & FREY-MULLER, E. — Structure and reproduction of *Paracoccidioides loboii*. *Mycologia* 59: 286-294, 1967.
49. FURTADO, J. S.; BRITO, T. de & FREY-MULLER, E. — The structure and reproduction of *Paracoccidioides brasiliensis* in human tissue. *Sabouraudia* 5:226-229, 1967.
50. FURTADO, J. S. — Citologia e ultra-estrutura dos fungos. In LACAZ, C. da S. & col. (ed.). *O Grande Mundo dos Fungos*. São Paulo, Editora Polígono & Editora da Univ. São Paulo, 1970.
51. HERRERA, J. M. — Paracoccidioidosis brasiliense. Estudio del primer caso observado en Panamá de blastomycosis sudamericana en su forma cutánea queloidiana o enfermedad de Lôbo y propuesta de una variante técnica para la impregnación argéntica del parásito. *Arch. Med. Panameños* 4:209-219, 1955.
52. LACAZ, C. da S.; STERMAN, L.; MONTEIRO, E. V. L. & PINTO, D. O. — Blastomicose queloidiana. Comentários sobre novo caso. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. São Paulo* 10:254-264, 1955.
53. LACAZ, C. da S.; FERRI, R. G.; FAVA NETTO, C. & BELFORT A., E. — Aspectos imunológicos na blastomicose sul-americana e blastomicose queloidiana (Doença de Jorge Lôbo). *Med. Cir. Farm.* 298:63-74, 1962.
54. LACAZ, C. da S.; FERRI, R. G.; RAPHAEL, A.; FAVA NETTO, C.; MINAMI, P. S.; CASTRO, R. M. & DILLON, N. L. — Blastomicose queloidiana associada à blastomicose sul-americana. Registro de um caso. *Hospital (Rio)* 71:1-11, 1967.
55. LANGERON, M. & VANBREUSEGHEM, R. — *Précis de Mycologie*. Paris, Masson, 1952.
56. LANJOUW, J. & STAFLEU, F. A. — Index Herbariorum. Part I. The herbaria of the world. *Regnum Vegetabile* 31:1-251, 1964.
57. LANJOUW, J. & col. — *International Code of Botanical Nomenclature*. Vol. 46, de Regnum Vegetabile. Utrecht, Netherland, 1966.
58. LEÃO, A. E. A.; CURY, A.; MELLO, M. T. & GOTO, M. — Blastomicose queloidiana ou doença de Jorge Lôbo. Novas formas do parasito em cultura. *Hospital (Rio)* 30:929-935, 1946.

59. LEAO, A. E. A.; GOTO, M. & CURY, A. — Infecção experimental de animais pela *Glenosporrella loboï* FONSECA & LEAO, 1940. *Hospital* (Rio) 33:273-278, 1948.
60. LEITE, J. M. — *Doença de Jorge Lôbo (Contribuição ao seu estudo anátomo-patológico)*. Tese de cátedra. Belém, Fac. Med. Cir. Pará, 1954.
61. LEITE, J. M. — *Doença de Jorge Lôbo (Estudo clínico-patológico com apresentação de cinco casos)*. *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica* 6:161-176, 1967.
62. LÔBO, J. — Blastomicose queloidiana (Doença de Jorge Lôbo). *Anais Fac. Med. Univ. Recife* 14:151-162, 1954.
63. LÔBO, J. — *Contribuição ao estudo das blastomicoses*. Tese de livre-docência. Recife, Fac. Med. Recife, 1933.
64. LÔBO, J. — Um caso de blastomicose, produzido por uma espécie nova, encontrada em Recife. *Rev. Méd. Pernambuco* 1:763-775, 1931.
65. LODDER, J. — Cartas recebidas pelo Prof. CARLOS DA SILVA LACAZ em 4-11-1963 e 11-12-1963.
66. MACHADO, P. A. — Contribuição para o estudo da epidemiologia da blastomicose queloidiana de Jorge Lôbo. *XVI Cong. Brasil. Hig., Curitiba, Paraná, Brasil*, 1967.
67. MARCHANT, R. & SMITH, D. G. — Bud formation in *Saccharomyces cerevisiae* and a comparison with the mechanism of cell division in others yeast. *J. Gen. Microbiol.* 53:163-191, 1968.
68. MARTÍNEZ, F. A. & HOFFMANN, E. — Blastomycosis queloidiana. *Antioquia Méd.* 15:417-425, 1965.
69. MICHALANY, J. — Corpos asteróides nas lesões granulomatosas, com especial referência à blastomicose ou doença de Jorge Lôbo. *Rev. Assoc. Med. Brasil.* 2:61-68, 1955.
70. MICHALANY, J. & LAGONEGRO, B. — Corpos asteróides na blastomicose de Jorge Lôbo. A propósito de um novo caso. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:33-36, 1963.
71. MINAMI, P. S. — *Contribuição para o estudo da atividade bioquímica do Paracoccidioides brasiliensis*. Tese de doutoramento. São Paulo, Fac. Med. Univ. São Paulo, 1968.
72. MONTEIRO, E. L. — Conjunto alanto-corial no estudo de agentes infecciosos. *Folia Cúm. Biol.* (São Paulo) 16:8-19, 1949.
73. MONTEIRO, E. L.; ALMEIDA, F. de & MOURA, R. de A. — Estudo alanto-corial no estudo de agentes infecciosos. I — Obtenção experimental da granulomatose paracoccidioidica (Blastomicose sul-americana) em ovos embrionados. (II — Inoculação em líquido alantóico). *Folia Cúm. Biol.* (São Paulo) 16:96-122, 1950.
74. MONTEIRO, E. V. L. — Blastomicose sul-americana experimental em ovos embrionados. *J. Brasil. Med.* 6:497-502, 1962.
75. MONTEIRO, E. L. — Experimental behaviour of the etiologic agents of South American blastomycosis and keloid blastomycosis in the chick embryo. *Sabouraudia* 2:12-13, 1962.
76. MONTEIRO, E. V. L. — Blastomicose sul-americana experimental em ovos embrionados. *Bol. Acad. Nac. Med.* (Rio de Janeiro) 134:57-62, 1962.
77. MONTEIRO, E. L.; ALMEIDA, F. de & MOURA, R. de A. — Conjunto alanto-corial no estudo de agentes infecciosos. I — Obtenção experimental da granulomatose paracoccidioidica (Blastomicose sul-americana) em ovos embrionados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (São Paulo) 10:57-66, 1950.
78. MONTEIRO, E. L. & BRITO, T. de — Infection of the chorio-allantoic membrane of the chick with the agent of keloid blastomycosis (*Paracoccidioides loboï*). *J. Path. Bact.* 78:567-569, 1959.
79. MORAES, M. A. P. — Blastomicose tipo Jorge Lôbo. Seis novos casos encontrados no Estado do Amazonas, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:187-197, 1962.
80. MORAES, M. A. P. & OLIVEIRA, W. R. — Novos casos de micose de Jorge Lôbo encontrados em Manaus, Amazonas (Brasil). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:403-406, 1962.
81. MORAES, M. A. P. & FERREIRA, J. L. de S. — Micoses superficiais e profundas na Amazônia. *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica* 6:189-202, 1967.
82. NERY-GUIMARÃES, F. & MACEDO, D. G. — Contribuição ao estudo das blastomicoses na Amazônia. (Blastomicose queloidiana e blastomicose sul-americana). *Hospital* (Rio) 38:223-253, 1950.

83. NERY-GUIMARÃES, F. — Inoculações em hamsters da blastomicose sul-americana (Doença de Lutz), da blastomicose queloidiforme (Doença de Lôbo) e da blastomicose dos índios do Tapajós-Xingu. *Hospital (Rio)* 66:581-593, 1964.
84. NEWELL, S. Y. & FELL, J. W. — The perfect form of marine-occurring yeast of the genus *Rhodotorula*. *Mycologia* 62:272-281, 1970.
85. OUCHTERLONY, O. — *In vitro* method for testing the toxin producing capacity of diphtheria bacteria. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 25:186-191, 1948.
86. PARA, M. — Human and experimental histopathology of the keloid form of Lutz's disease (Lobo's syndrome, Glenosporellosis). *V.º Cong. Intern. Microbiol.* (Resumo de trabalhos). Rio de Janeiro, 17-24 agosto de 1950, p. 128.
87. PEÑA, C. E. — Blastomycosis queiloide en Colombia. Presentación de dos casos. *Mycopath. Mycol. Appl.* 33:313-320, 1967.
88. PÉREIRA-FILHO, M. J. — Os fungos da doença de Adolfo Lutz, da Doença de Jorge Lôbo e o da blastomicose dos índios do Alto Xingu (Brasil Central — Estado de Mato Grosso). *Rev. Med. Rio Grande do Sul* 14:10-64, 1957.
89. PRADINAUD, R.; JOLY, F.; BASSET, M.; BASSET, A. & GROSSHANS, E. — Les Chromomycoses et la maladie de Jorge Lobo en Guyane Française. *Bull. Soc. Path. Exot.* 62:1054-1063, 1969.
90. PRUSSO, D. C. & WELLS, K. — *Sporobolomyces roseus*. I — Ultra structure. *Mycologia* 59:337-348, 1967.
91. RAPER, K. B. & FENNEL, D. I. — *The Genus Aspergillus*. Philadelphia, Williams & Wilkins, 1965.
92. REYES, O.; GOIHMAN, M. & GOLDSTEIN, V. — Blastomycosis queiloideana o Enfermedad de Jorge Lobo. *Derm. Venez.* 2:245-255, 1960/1961.
93. ROBLEDO, V. M. — Enfermedad de Jorge Lobo (Blastomycosis queiloideana). Presentación de un nuevo caso colombiano. *Mycopath. Mycol. Appl.* 25:373-380, 1965.
94. ROCHA, C.; COSTA, E. D. da & RUTO-WITSCH, M. — Doença de Jorge Lôbo. *Anais Brasil. Dermat. Sifil.* 17:54-55, 1942.
95. SAMPAIO, M. M. & DIAS, L. D. — Experimental infection of Jorge Lôbo's disease in the cheek-pouch of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:115-120, 1970.
96. SAMPAIO, M. M.; DIAS, L. B. & SCAFF, L. — Formas bizarras do agente etiológico na doença de Jorge Lôbo experimental, em jabotis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13:191-193, 1971.
97. SILVA, D. & AZEVEDO, P. — Sôbre um novo caso de micose de Jorge Lôbo. *Med. Cir. Farm.* 243:328-336, 1956.
98. SILVA, D. — Sur un nouveau cas de la mycose de Jorge Lôbo. *Arch. Belges Dermat. Syphil.* 13:26-35, 1957.
99. SILVA, D. — Oito casos novos da micose queloidiforme de Jorge Lôbo. *Anais Brasil. Dermat.* 40:307-326, 1965.
100. SILVA, M. E.; KAPLAN, W. & MIRANDA, J. L. — Antigenic relationships between *Paracoccidioides lobo* and other pathogenic fungi determined by immunofluorescence. *Mycopath. Mycol. Appl.* 36:97-106, 1968.
101. SILVERIE, Ch. R.; RAVISSE, P.; VILAR, J. P. & MOULINS, C. — La blastomycose chéloidiene ou maladie de Jorge Lôbo en Guyane Française. *Bull. Soc. Path. Exot.* 56:29-35, 1963.
102. TEIXEIRA, G. de A. — *Doença de Jorge Lôbo*. Tese. Rio de Janeiro, 1961.
103. TEIXEIRA, G. de A. — *Doença de Jorge Lôbo*. Aspectos microscópicos. *Hospital (Rio)* 62:813-827, 1962.
104. TREJOS, A. & ROMERO, A. — Contribución al estudio de las blastomicoses en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 1:63-81, 1953.
105. TREJOS, A. & ROMERO, A. — Contribuição ao estudo das blastomicoses em Costa Rica. *V.º Cong. Intern. Microbiol.* Resumos de trabalhos. Rio de Janeiro, 17-24 de agosto de 1950.
106. WIERSEMA, J. P. & NIEMEL, P. L. A. — Lôbo's disease in Suriman patients. *Trop. Geogr. Med.* 17:89-111, 1965.
107. YARZABAL, L. A. — Anticuerpos precipitantes específicos de la blastomycosis sudamericana revelados por inmunoelectroforesis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13: setembro/outubro, 1971.

Recebido para publicação em 17/2/1971.