

La vía inhalatoria de infección en el ratón y su relevancia en la dilucidación de la patogenia de algunas micosis profundas

Análisis de estudios pioneros realizados en Uruguay

Dr. Ismael A. Conti Díaz*

Resumen

El conocimiento de las posibles puertas de entrada al organismo de agentes infecciosos es fundamental, entre otras cosas, para la adopción de las medidas profilácticas más adecuadas en cada caso. Las micosis y en especial las profundas sistémicas, por su intrínseca gravedad, no escapan a esta norma.

En el caso de la puerta de entrada pulmonar se recurrió clásicamente y en primer lugar a la clínica acompañada de estudios paraclínicos como la radiología y las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada con los antígenos correspondientes.

Por su parte, las investigaciones experimentales en animales de laboratorio han sido reconocidas como herramientas relevantes en el mismo sentido.

El presente trabajo lleva a cabo un encare de conjunto de experimentos realizados en ratones en Uruguay para investigar la viabilidad de la puerta de entrada respiratoria en la paracoccidiodomicosis, criptococosis y esporotricosis. Esos estudios, pioneros en la materia, han resultado importantes para la aceptación hoy día por todos los autores de la vía de entrada pulmonar habitual tanto en la criptococosis como en la paracoccidiodomicosis, así como de la posibilidad de la misma en casos de esporotricosis pulmonar seguidos muchas veces de generalización hemática.

Palabras clave: MICOSIS - epidemiología.
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS.
CRIPTOCOCOSIS.
ESPOROTRICOSIS.
EPIDEMIOLOGÍA EXPERIMENTAL.
ANIMALES DE LABORATORIO.
RATÓN.
URUGUAY.

Key words: MYCOSES - epidemiology.
PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS.
CRYPTOCOCCOSIS .
SPOROTRICHOSIS.
EPIDEMIOLOGY, EXPERIMENTAL.
ANIMALS, LABORATORY.
MICE.
URUGUAY.

* Ex Profesor Director del Departamento y Cátedra de Parasitología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay (1986-1996)

Correspondencia: Dr. Ismael A. Conti
Ayacucho 3314. Montevideo, Uruguay
Correo electrónico: ismaelconti@adinet.com.uy
Recibido: 16/11/07.
Aceptado: 3/3/08.

Introducción

El conocimiento preciso de la llegada y posibles puertas de entrada de los agentes etiológicos en las enfermedades infecciosas del hombre así como del exacto mecanismo de transmisión en cada caso resulta de relevancia fundamental para la determinación de su patogenia y epidemiología y naturalmente para la instauración de las medidas preventivas más adecuadas en tiempo y forma.

Recordamos las enfermedades de origen endógeno y factible penetración tisular a través de las mucosas (actinomicosis, candidiasis), las transmitidas por alimentos con puerta de entrada digestiva, la puerta de entrada inhalatoria pulmonar a punto de partida exógeno en tantas micosis, enfermedades víricas y bacterianas, la vía de entrada cutáneo-mucosa a través de microtraumatismos de diverso origen, de deyecciones o picaduras de insectos, ácaros, etcétera; del contacto íntimo sexual, de inyecciones contaminadas, mordeduras de animales, etcétera; la vía de entrada transfusional en tantas afecciones, tan importante como prevenible, la vía congénita o connatal, etcétera. Bien sabido es, además, que muchas enfermedades infecciosas pueden ser adquiridas ciertamente a través de más de un mecanismo de transmisión, por ejemplo, enfermedad de Chagas, toxoplasmosis, sífilis, VIH-sida, etcétera.

En el caso de las micosis profundas sistémicas, la gravedad potencial inherente a las mismas asigna al conocimiento preciso de la puerta de entrada habitual de los correspondientes gérmenes responsables una importancia fundamental.

Dentro de ellas, la coccidioidomicosis producida por *Coccidioides immitis* en primer término y luego la histoplasmosis clásica por *Histoplasma capsulatum*, fueron las primeras en las que la puerta de entrada respiratoria fue sospechada y aceptada universalmente gracias a la elevadísima frecuencia de lesiones pulmonares asintomáticas benignas acompañadas de reacciones cutáneas positivas a los respectivos antígenos (coccidioidina e histoplasmina). En tal sentido, los trabajos de Dickson y Gifford de fines de la década de 1930 en la coccidioidomicosis⁽¹⁾, y los de Christie⁽²⁾ y Palmer⁽³⁾, de mediados de la década de 1940, fueron ciertamente pioneros en tal sentido.

En otras micosis profundas sistémicas, como la paracoccidioidomicosis (ex blastomicosis sudamericana) producida por *Paracoccidioides brasiliensis* (*P.b.*) o la criptococosis provocada por la levadura *Cryptococcus neoformans* (*C.n.*), la demostración experimental definitiva en animales de laboratorio de aquella puerta de entrada como la principal y habitual en el hombre y vertebrados llevó ciertamente más tiempo.

En ambas enfermedades la obra de la escuela uruguaya de micología resultó fundamental en la dilucidación del tema.

Pero también estudios realizados en el Instituto de Higiene de Montevideo resultaron confirmatorios de la posibilidad de la puerta de entrada pulmonar experimental en la esporotricosis.

Hoy día se acepta sin duda la habitual vía inhalatoria pulmonar de infección tanto en la criptococosis⁽⁴⁾ como en la paracoccidioidomicosis⁽⁵⁾, así como la posibilidad de la vía respiratoria en casos de esporotricosis pulmonar y visceral⁽⁶⁾. Llama la atención la frecuente falta de mención en las publicaciones científicas referidas a los trabajos experimentales originales confirmatorios.

Este trabajo tiene por objetivo principal exponer y comentar tales antecedentes en las enfermedades mencionadas.

Paracoccidioidomicosis

Estudios demostrativos de la existencia de formas subclínicas de la infección paracoccidioidica y de formas pulmonares benignas

Hasta no hace muchos años atrás la creencia generalizada era que la enfermedad comenzaba a nivel de la mucosa bucal con lesiones primarias a ese nivel luego de microtraumatismos provocados por uso de trozos de vegetales como mondadientes o por la masticación de vegetales contaminados con el agente etiológico. También a nivel anal como consecuencia del empleo de hojas vegetales para el aseo de la región luego de la defecación. Tales lesiones constituían y constituyen hoy día el motivo de consulta habitual de los pacientes. Mackinnon, en nuestro medio, sospechó a comienzos de la década de 1950 que aquellas ideas deberían ser erróneas y que, por el contrario, las lesiones mucosas, motivo habitual de consulta de los pacientes, deberían ser muy probablemente secundarias a una generalización a punto de partida pulmonar luego de infecciones subclínicas muchísimo más frecuentes.

Para demostrar su hipótesis prosiguió estudios pioneros de autores brasileños^(7,8) sobre pruebas cutáneas en poblaciones con el antígeno de *Paracoccidioides brasiliensis* denominado por ellos paracoccidioidina, que demostraban la existencia de formas subclínicas de la infección. Mackinnon confirmó la existencia de reactores cutáneos positivos en personas (particularmente leñadores de montes indígenas) totalmente asintomáticas, es decir de formas subclínicas de la infección mediante el empleo de una paracoccidioidina perfectamente estandarizada en animales de laboratorio y considerada por ello altamente específica cuando era usada en diluciones apropiadas⁽⁹⁾. Estos estudios fueron luego confirmados en nuestro medio por Hounie y Artagaveytia-Allende⁽¹⁰⁾ y por Lacaz y colaboradores en Brasil en 1959⁽¹¹⁾. Estos últimos autores llamaron la atención sobre la presencia de lesiones pulmo-

nares en algunos pacientes reactivos a la paracoccidiodina, considerándolas formas pulmonares iniciales de la enfermedad, coincidiendo plenamente así con las ideas de Mackinnon⁽¹²⁾.

La puerta de entrada pulmonar y su demostración experimental

Faltaba demostrar experimentalmente la puerta de entrada pulmonar en animales de laboratorio. En 1957, Mackinnon sugirió al autor de este trabajo intentar la infección de ratones por vía intranasal con *Cryptococcus neoformans*, agente de la criptococosis humana tan importante hoy día como causa directa de muerte en sidóticos, especialmente. Los resultados ciertamente exitosos representaron una contribución pionera en la materia. Como insistiremos más adelante, el método fue utilizado luego y hasta el presente por numerosos autores con diferentes finalidades, incluyendo las farmacológicas de prueba de eficacia de drogas^(13,14).

Al año siguiente, Mackinnon empleó el procedimiento de la instilación nasal en ratones obteniendo lesiones pulmonares seguidas de adenopatías regionales y generalización a vísceras y músculos⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

En 1964, o sea pocos años después, autores brasileños reconocían ampliamente los estudios referidos con estas palabras: "Mackinnon e col. temdem a admitir a possibilidade da porta de entrada pulmonar, la capacidade das lesões pulmonares produzirem metastasis secundarias e finalmente a ocorrência de lesões metastaticas orofaríngeas. E de ver a importancia destas constatacoes que levam a invertir o conceito destas últimas, quasse sempre consideradas pelos clínicos, muito logicamente aliás, como primitivas". (Prof. Dr. Ramos e Silva, en Hospital, 1964; 65: 53).

Confirmación de la observación princeps de Mackinnon de la puerta de entrada respiratoria experimental, por parte de otros autores

En 1976, es decir 17 años después del trabajo pionero de Mackinnon⁽¹⁵⁾, Restrepo y Guzmán, en Colombia, confirmaron sus resultados al instilar aleuriosporos de *P. brasiliensis* en ratones tratados con cortisona. El 38% de los animales desarrolló lesiones pulmonares y 14% presentó lesiones en bazo e hígado⁽¹⁸⁾.

Posteriormente, en 1984, Brummer, Restrepo y colaboradores⁽¹⁹⁾ desarrollaron un modelo experimental de paracoccidiodomicosis en ratones obteniendo formas agudas pulmonares mortales y también crónicas con diferentes dosis de la fase levaduriforme del hongo. En otro interesante trabajo de 1987, McWeen y colaboradores⁽²⁰⁾ lograron también una paracoccidiodomicosis pulmonar en

ratones luego de la inhalación de conidios (aleuriosporos), demostrando su transformación en elementos levaduriformes con posterior diseminación hemática y linfática de la infección.

En resumen, el trabajo pionero de Mackinnon fue ampliamente confirmado por otros investigadores de renombre. Muy curiosamente, en textos de reconocida solvencia, como el de Conant y colaboradores de 1972⁽²¹⁾, los conceptos primitivos ahora considerados perimidos seguían manteniéndose como posibles. En textos editados más tarde, como el de Rippon de 1990⁽⁶⁾, ya la primoinfección pulmonar por vía inhalatoria no se discute.

Obtención de lesiones cutáneo-mucosas periféricas en la paracoccidiodomicosis experimental

Para probar el hecho de que las lesiones orofaríngeas en el hombre, motivo corriente de consulta de los pacientes, no eran en realidad primarias sino secundarias a una generalización hemática de la infección, se llevaron a cabo experiencias en cobayos y en conejos.

En 1959, Conti Díaz y colaboradores obtuvieron numerosas lesiones alrededor del hocico, párpados, orejas, periné y región perianal, riquísimas en parásitos, además de lesiones en ojos y testículos, en cobayos y conejos inoculados por vía intracardiaca con la fase levaduriforme de *P. brasiliensis*. Las lesiones viscerales eran ciertamente escasas⁽²²⁾.

Mackinnon sospechó inmediatamente que la peculiar distribución lesional observada en los animales podría tener que ver con la temperatura de las áreas afectadas y no afectadas. Para demostrarlo se efectuaron nuevas experiencias en cobayos que demostraron fehacientemente que las lesiones observadas se localizaban solamente en regiones periféricas del cuerpo enfriadas por la temperatura ambiente cuando ésta era baja, creándose de ese modo condiciones indispensables para la sobrevivencia y multiplicación del hongo. Por detalles de estas experiencias consultar las publicaciones originales^(23,24).

Esta profusa y profunda investigación de laboratorio sobre la patogenia de la paracoccidiodomicosis, guiada por Mackinnon, creemos que no ha merecido hasta el presente el análisis detallado y la consideración merecida⁽²⁵⁾.

Criptococosis

Como ya fuera dicho, se trata de una micosis profunda sistémica de distribución ecuménica y naturaleza oportunística, producida por la levadura *Cryptococcus neoformans* con una clara afinidad por el sistema nervioso central, de relevancia enorme sobre todo luego del advenimiento del VIH-sida como causa directa de muerte de muchos pacientes. Está considerada en cuarto lugar luego

de la citomegalovirus, pneumocistosis por *Pneumocystis carinii* y micobacteriosis por *Mycobacterium avium* intracellulare como infección capaz de provocar el fallecimiento de pacientes sidóticos⁽⁴⁾.

Para comienzos de la década de 1950 ya se sostenía la posibilidad cierta de la puerta de entrada respiratoria como la habitual en el hombre en base sobre todo a argumentos clínicos y patológicos: frecuencia de la criptococosis pulmonar primaria y de formas respiratorias leves en sujetos con meningitis por *C.n.*; hallazgo de lesiones residuales pulmonares en estudios necrópsicos sistemáticos⁽²¹⁾.

Experimentos pioneros de Fremann y Weidman de 1923 demostraban la posibilidad de la puerta de entrada nasal en el cobayo con incluso generalización a vísceras, entre otras, el cerebro, mientras que tanto Cox y Tolhurst como Wade y Stevenson habían tenido dificultad y fracasos para infectar ratones por vía nasal⁽¹³⁾.

Como ya fue expresado, en 1958 inoculamos ratones por vía intranasal con una gota de suspensión de cultivo de *C.n.* en solución fisiológica, obteniéndose el desarrollo de criptococosis generalizada a varias vísceras en 50% de los animales inoculados. Con suspensiones diluidas del inóculo se logró infectar sólo los pulmones que serían así las primeras vísceras afectadas en la enfermedad experimental⁽¹³⁾. De este modo se demostró, sin duda alguna, la posibilidad de la vía inhalatoria de infección en la enfermedad en cuestión hoy día universalmente aceptada. Nuestros resultados fueron confirmados luego por Ritter y Larsh en 1963 y por Smith y colaboradores en 1964, ambos estudios realizados en Estados Unidos^(26,27).

Es muy curioso que, a pesar de su importancia como experiencias confirmatorias de índole patogénica probando la puerta de entrada pulmonar en la enfermedad, no se haga ninguna referencia a estos trabajos originales en textos médicos publicados con posterioridad^(6,21).

Esporotricosis (“enfermedad de las mulitas en el Uruguay”)

Como decíamos, es la micosis profunda más frecuente en Uruguay, esencialmente dermo-hipodérmica, con puerta de entrada habitual en la piel, penetrando su agente *Sporothrix schenckii* a través de soluciones de continuidad de la misma producidos generalmente por vegetales contaminados. En Uruguay –y muy curiosamente–, 80,5% de los casos se infectan mediante arañazos de armadillos durante la cacería de los mismos^(28,29).

Las formas pulmonares puras simulando a veces la tuberculosis y las diseminadas de origen hematógeno con localización posible en mucosas, articulaciones, ojos, sistema nervioso central, piel, en múltiples vísceras, etcétera, mucho menos frecuentes que las primitivamente cutáneas, son conocidas desde la publicación señera de Beurmann y Gougerot de 1912⁽³⁰⁾.

La posibilidad de la vía broncopulmonar en un modelo animal fue demostrada por primera vez por Sethi y colaboradores al provocar una infección generalizada en ratones por instilación nasal de la fase levaduriforme de *S. schenckii*⁽³¹⁾.

Con el fin de reproducir en lo posible las probables condiciones naturales de contaminación pulmonar en el hombre, intentamos la infección de ratones con conidios pigmentados liberados de la fase micelial, es decir la fase normalmente infectante en la naturaleza del agente etiológico. Para ello se emplearon maderas artificialmente cultivadas en el laboratorio con el patógeno y luego suspendidas dentro del matraz de un aparato inhalador de vidrio ideado por Piggott y Emmons, especialmente diseñado a tales efectos. Se logró cultivar *S. schenckii* en dos de 20 animales expuestos, a partir de pulmón en uno y de hígado y bazo en el otro, comprobándose así, por primera vez, la posibilidad, aunque con dificultad, de la vía inhalatoria de infección en esta enfermedad en animales expuestos a la fase miceliana del agente⁽³²⁾.

Rippon, en su libro de 1990⁽⁶⁾, sostiene la existencia en la literatura de alrededor de 150 casos de esporotricosis pulmonar primaria secundarios a la inhalación de conidios con, en alguno de ellos, diseminación a otras vísceras. Si bien cita nuestro trabajo experimental en la bibliografía no realiza, empero, comentario alguno sobre el mismo. Agregamos que un reciente trabajo de Schubach y colaboradores⁽³³⁾ admite también la vía inhalatoria de conidios en la esporotricosis del gato, amén de la inoculación traumática.

Summary

Knowing what potential access infectious agents have to the body is essential to, among other things, adopt the most suitable prophylactic measures in every case. This undoubtedly applies to mycoses, and especially deep systemic mycoses, given their severity. In the case of pulmonary entrance door the study included the classical clinical examination, as well as paraclinical studies such as radiology and skin tests of retarded hypersensitivity with the corresponding antigens.

Similarly, it has been acknowledged that experimental research in laboratory animals constitutes a relevant tool for making progress in the field. This study comprises a number of experiments carried out in Uruguay, where mice were used in order to investigate the feasibility of pulmonary entrance door for paracoccidioidomycosis (PCM), cryptococcosis and sporothricosis. These studies, pioneers in the field, have been of paramount importance for authors to accept that pulmonary entrance door is usual in both cryptococcosis and paracoccidioidomycosis, as it can also be a potential entrance door in cases of pulmo-

nary sporotrichosis, which are often followed by hematic generalization.

Résumé

La connaissance des possibles portes d'entrée à l'organisme d'agents infectieux est fondamentale, entre autres, pour adopter de mesures prophylactiques plus adéquates à chaque cas. Les mycoses, surtout les profondes systémiques, étant donnée leur gravité implicite, n'y échappent pas. En ce qui concerne la porte d'entrée pulmonaire, on a eu recours en premier lieu à la clinique, accompagnée d'études para cliniques telles que la radiologie et les tests cutanés d'hypersensibilité retardée avec les antigènes correspondants.

D'autre part, les recherches expérimentales chez des animaux de laboratoire ont été reconnues en tant qu'outils de grande valeur. Ce travail envisage un ensemble d'expériences réalisés chez des souris en Uruguay, dans le but de décerner la viabilité de la porte d'entrée respiratoire à la paracoccidioidomycosis, cryptococcose et sporotrichoses. Ces études, les premières dans la matière, ont été importantes pour l'acceptation actuelle de la part de tous les auteurs de la voie d'entrée pulmonaire habituelle, soit pour la cryptococcose soit pour la paracoccidioidomycosis, ainsi que la possibilité de la même entrée pour des cas de sporotrichose pulmonaire souvent suivis de généralisation hématiche.

Resumo

O conhecimento das possíveis portas de entrada ao organismo de agentes infecciosos é fundamental, entre outras razões, para a adoção de medidas profiláticas adequadas a cada caso. As micoses, especialmente as sistêmicas profundas não fogem a essa regra.

Quando a porta de entrada é pulmonar a abordagem clássica é a realização de exame clínico com exames complementares como a radiologia e as provas cutâneas de hipersensibilidade retardada com os respectivos antígenos.

Por outro lado, as pesquisas experimentais com animais de laboratório são reconhecidas como ferramentas de relevância.

Neste trabalho se observaram experimentos realizados com camundongos para investigar a viabilidade da porta de entrada respiratória na paracoccidioidomycose, na criptococose e na esporotricose. Estes estudos, pioneiros, foram importantes para a aceitação da via de entrada pulmonar tanto na criptococose como na paracoccidioidomycose, e também da possibilidade de essa mesma porta de entrada na esporotricose pulmonar, muitas vezes acompanhada de sistematização hemática.

Bibliografía

1. **Dickson E, Gifford M.** Coccidioides infection (Coccidioidomycosis): the primary type of infection. *Arch Intern Med* 1938; 62: 853-71.
2. **Christie A, Peterson J.** Pulmonary calcification in negative reactors to tuberculin. *Am J Public Health* 1945; 35: 1131-47.
3. **Palmer CE.** Nontuberculous pulmonary calcification and sensitivity to histoplasmin. *Public Health Rep* 1945; 60: 513-20.
4. **Vandepitte J.** Clinical aspects of cryptococcosis in patients with AIDS. In: Vanden Bossche H, Mackenzie WR, Cauwenbergh G, Van Cutsen J, Drouhet E, Dupont B, eds. *Mycoses in AIDS patients*. New York: Plenum, 1990: 115-22.
5. **Van Damme P, Bierenbroodspot F, Telgt D, Kwakman J, De Wilde P, Meis J.** A case of imported paracoccidioidomycosis: an awkward infection in the Netherlands. *Med Mycol* 2006; 44: 13-8.
6. **Rippon J.** Tratado de micología médica. 3 ed. México: Interamericana, 1990: 360.
7. **Almeida F, Lacaz C da S.** Intradermoreação com paracoccidioidina no diagnóstico do granuloma paracoccidioidico. A reação de Montenegro no granuloma paracoccidioidico. *Folia Clin Biol* 1941; 13: 177-82.
8. **Lacaz C da S.** Blastomicose Sul-Americana. Reações intradérmicas com a paracoccidioidina, coccidioidina e blastomicetina. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1948; 3: 11-8.
9. **Mackinnon JE, Artagaveytia-Allende RC, Arroyo L.** Sobre la especificidad de la intradermorreacción con paracoccidioidina. *An Fac Med Montevideo* 1953; 38: 363-82.
10. **Hounie P, Artagaveytia-Allende RC.** Encuesta sobre la sensibilidad al agente de la blastomicosis sudamericana. *An Fac Med Montevideo* 1957; 42: 27-32.
11. **Lacaz C da S, Passos Filho MCR, Fava Netto C, Macarrón B.** Contribuição para o estado da "blastomicose-infeccao": inquerito com a paracoccidioidina, estudo sorológico e clínico-radiológico dos paracoccidioidina-positivos. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1959; 1: 245-59.
12. **Conti Díaz IA.** Skin tests with paracoccidioidin and their importance. In: *Paracoccidioidomycosis. Proceedings of the First Pan American Symposium*. Washington: PAHO, 1972: 197-202. (PAHO Scientific Publication, 254).
13. **Conti Díaz IA.** Criptococosis generalizada del ratón por instilación nasal. *Arch Soc Biol Montevideo* 1958; 23: 63-7.
14. **Conti Díaz IA.** Highlights of cryptococcosis in Uruguay. *Bull Soc Fr Mycol Med* 1990; 1: 83-90.
15. **Mackinnon JE.** Blastomicosis sudamericana experimental evolutiva obtenida por vía pulmonar. *An Fac Med Montevideo* 1959; 44: 355-8.
16. **Mackinnon JE.** Pathogenesis of South American blastomycosis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1959; 53: 487-94.
17. **Mackinnon JE.** Miositis en la blastomicosis sudamericana experimental. *An Fac Med Montevideo* 1959; 44: 149-55.
18. **Restrepo A, Guzmán de Espinosa G.** Paracoccidioidomycosis experimental del ratón por vía aerógena. *Sabouraudia* 1976; 14: 299-311.
19. **Brummer E, Restrepo A, Stevens D, Azzi R, Gomez A, Hoyos G, et al.** Murine model of paracoccidioidomycosis. Production of fatal pulmonary or chronic pulmonary and disseminated disease: immunological and pathological observations. *J Exp Pathol* 1984; 1241-55.
20. **McWeen JG, Bedoya V, Patiño MM, Salazar ME, Restrepo A.** Experimental murine paracoccidioidomycosis induced by the inhalation of conidia. *J Med Vet Mycol* 1987; 25: 165-75.

21. **Conant NF, Smith DT, Baker RD, Callaway JL.** Manual de micología clínica. 3 ed. México: Interamericana, 1972: 106.
22. **Conti Díaz IA, Yarzabal L, Mackinnon JE.** Lesiones cutáneas, orofaríngeas, rectales y musculares por inoculación intracardiaca de *Paracoccidioides brasiliensis* al cobayo y al conejo. *An Fac Med Montevideo* 1959; 44: 601-07.
23. **Mackinnon JE, Conti Díaz IA, Yarzabal L, Tavella N.** Temperatura ambiental y blastomicosis sudamericana. *An Fac Med Montevideo*, 1960; 45: 310-8.
24. **Mackinnon JE.** The effect of temperature on the deep mycoses. In: Wolstenholme G, Porter R, eds. *Systemic mycoses*. London: Churchill Livingstone, 1968: 164-75.
25. **Conti Díaz I.** Juan Enrique Mackinnon (1904-1987). In: Mañé Garzón F, Turnes A, eds. *Médicos uruguayos ejemplares*. Montevideo: SMU, 2006: 430-40.
26. **Ritter RC, Larsh HW.** The infection of mice following instillation of *Cryptococcus neoformans*. *Am J Hyg* 1963; 78: 241-6.
27. **Smith CD, Ritter R, Larsh HW, Furcolow ML.** Infection of white Swiss mice with airborne *Cryptococcus neoformans*. *J Bacteriol* 1964; 87: 1364-8.
28. **Conti Díaz I.** Sporotrichosis in Uruguay: epidemiologic and clinical aspects. In: *Proceedings of the Fifth International Conference of the Mycoses*. Caracas: OPS, 1980: 312-21. (PAHO Scientific Publication, 396).
29. **Conti Díaz I.** Esporotricosis. In: *Micosis que afectan piel y mucosas*. Torres Rodríguez J, ed. Doyma: Barcelona, 1987.
30. **Berumann L de, Gougerot H.** *Les Sporotrichosis*. Paris: Librairie Felix Alcan, 1912.
31. **Sethi K, Kneipp V, Schwarz J.** Pulmonary sporotrichosis in mice following intranasal infection. *Amer Rev Resp Dis* 1966; 93: 463-4.
32. **Conti Díaz I, Civila E.** Exposure of mice to inhalation of pigmented conidia of *Sporothrix schenckii*. *Mycopathol Mycol Appl* 1969; 38: 1-6.
33. **Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Barros MB, Figueiredo FB, Cuzzi T, et al.** Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). *Med Mycol* 2006; 44(1): 87-92.