

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**AISLAMIENTO DE LEVADURAS DEL
GENERO CANDIDA EN PACIENTES CON
PROCESOS BRONCONEUMONICOS.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

REBECA ESMERALDA SALINAS GOMEZ

MEXICO, D. F.

1 9 7 3



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE PROF: OSCAR AMOR DODERO
VOCAL "": CATALINA OROZCO VICTORIA
SECRETARIO "": DEA CORONADO PERDOMO
1er. SUPLENTE "": RAMON LARA AGUILERA
2do. SUPLENTE "": MANUEL WONG CHIO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

**Laboratorio de Micología. Departamento de Ecología
Humana. Facultad de Medicina.**

SUSTENTANTE: REBECA ESMERALDA SALINAS GOMEZ
ASESOR DEL TEMA: CATALINA OROZCO VICTORIA
SUPERVISOR TECNICO: RUBEN ALVAREZ CH.

A MAMA BEQUITO QUE CON SU CARACTER VIGOR Y -
OPTIMISMO LOGRARO HACERME UNA PROFESIONISTA.

A MI MADRE COMO UN HOMENAJE -
A LO QUE ELLA DESEO SER.

A MI PADRE BENIGNO, GRACIAS
POR SUS CONSEJOS Y ENTUSIASMO
MO PARA SEGUIR ADELANTE.

A MI TIA REBECA EN ESPECIAL AGRADECIMIENTO.

AL DR. RUBEN ALVAREZ CH. Y
BIOL. RAMON LARA A. POR SU
DIRECCION Y VALIOSA AYUDA.

AL H. JURADO.

I N D I C E

INTRODUCCION

GENERALIDADES

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS Y COMENTARIOS

RESUMEN

BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

CANDIDA

Las primeras contribuciones al conocimiento acerca del llamado "hongo aftoso" fueron realizadas por el médico inglés Underwood en 1784 (1); en 1839 Langenbeck, lo encontró en una autopsia en lesiones en forma de placa sobre la mucosa bucal y en diferentes partes del cuerpo; posteriormente las Investigaciones efectuadas por Berg en 1841 y Robin en 1853 confirmaron estos hallazgos: Robin lo llamó Oidium albicans dándole por primera vez un nombre y como sucede siempre, otros investigadores posteriormente le llamaron de diferente manera; en 1868 Quinquaud le nombró Syringospora robini, en 1877 Rees: Saccharomyces albicans, en 1890 Zopf lo denominó Monilia albicans, en 1898 Vuillemin: Endomyces albicans, Verdun en 1912 Parasaccharomyces harteri; hasta que en 1923 Berkhout creó el género Candida para estos hongos en forma de levadura y la especie albicans que actualmente y con mucha frecuencia aún recibe el nombre de Monilia albicans y a la enfermedad moniliasis o candidosis. Con todas estas variaciones aún existe gran confusión en el nombre y número de las diferentes especies del género Candida. Así para C.albicans hay 172 sinonimos: los anotados anteriormen-

te y algunos otros como por ejemplo micotoruloide, etc. (2, 3, 4).

Los micólogos holandeses diferencian 30 especies, pero en patología médica solo 7 son importantes para fines prácticos: C.albicans, C.stellatoidea, C.tropicalis, C.pseudotropicalis, C.krusei, C.parasilopsis (parakrusei) y C.quilliermondii. De estas siete, sólo C.albicans se ha considerado patógena, sin embargo en la literatura médica hay reportes de varias infecciones causadas por otras especies de Candida. C.tropicalis ha sido reportada como agente causal de un caso fatal de moniliasis broncopulmonar y micosis sistémica; C.krusei junto con C.albicans en una hidronefrosis y cistopielitis; C.parakrusei en endocarditis con micosis generalizada y C.quilliermondii junto con C.albicans en endocarditis (2). C.stellatoidea es según varios autores la especie más frecuente hallada en la vagina, siendo difícil distinguirla de C.albicans con la que muchos suelen confundirla, o bien admiten la identidad de ambas especies (5).

Berkhout incluyó al género Candida en la clase de los Fungi Imperfecti quedando entonces dentro de la División XI Eumycetes (hongos); Clase 4 Deuteromycetes (Fungi imperfecti).

Es un hongo saprófito que suele encontrarse frecuen

temente sobre restos vegetales (hojas secas, madera podrida, paja, fruta podrida, etc.) en el hombre también se encuentra como saprófito o bien en muchas ocasiones como parásito en tejidos superficiales (piel y anexos) originando lesiones superficiales; otras veces invade órganos y mucosas (pulmones, corazón, sangre, tracto gastro intestinal, árbol bronquial, vagina, etc.) causando lesiones profundas.

Es un hongo que puede presentar dos aspectos morfológicos según las condiciones en que se encuentre, en un estudio de material fresco de un corte histológico o en cultivo superficial aparece en forma de levaduras ovoides, de pared delgada que suelen encontrarse en etapa unicelular y miden de 2 a 4 micras; en cambio si se cultiva en condiciones de semianaerobiosis, en cultivos sumergidos o se observa en cortes de tejidos, se puede ver el pseudomicelio que en muchas ocasiones mide varias decenas de micras de longitud por 2 a 3 de ancho; sus hifas son septadas; forma blastosporas, las cuales sobrepasan de 3 a 4 micras de diámetro y de membrana delgada; encontrándose en algunas especies con cierta disposición típica, produce generalmente clamidosporas que pueden ser terminales o laterales, redondas y ovaladas que miden de 6 a 12 micras de diámetro y membrana gruesa; se reproduce por gemación. (3,6,7.)

Crece fácilmente en varios medios de cultivo: Sabouraud, Mycosel, medio de Nickerson, papa-zanahoria-bilis, harina de maíz, fermenta siempre los azúcares. Las colonias son húmedas de color blanco cremoso y en las colonias gigantes se puede observar un centro liso con bordes filamentosos. Si se efectúa un cultivo por punción en gelatina se presentan las dos morfologías, pues mientras el crecimiento en la superficie presenta células levaduriformes, el desarrollo a lo largo de la línea de inoculación es en forma de filamentos radiales que constituyen el pseudomicelio. (3,7,8).

La finalidad primordial de este estudio es el de contribuir al conocimiento de la frecuencia con la cual las levaduras del género Candida se pueden aislar en niños que padecen enfermedades del aparato respiratorio y en que casos se les puede incriminar como agentes causales de esa patología.

GENERALIDADES

En el año de 1905 Castellani, observando en Ceylan a los tomadores o catadores de té, vió que muchos de ellos presentaban síntomas de tuberculosis pulmonar como eran: tos persistente, fatigabilidad excesiva, perdida de la fuerza y del peso corporal, fiebre, sudores nocturnos, etc; sus estudios e investigaciones dieron como resultado la descripción del primer caso de moniliasis broncopulmonar, causada por la inhalación de hojas secas del té contaminadas con Candida, posteriormente se han reportado gran cantidad de casos con iguales características. (1,9).

Otras enfermedades reportadas como resultado de infecciones por Candida en el árbol bronquial con la traqueo-- bronquitis, neumonía lobar, bronconeumonía y asma bronquial. (2).

De acuerdo con los estudios de Castellani hay dos tipos de esta enfermedad: la forma leve de bronquitis crónica afebril que se caracteriza por disnea y tos y por otro lado la forma grave que es semejante a la tuberculosis y suele ser mortal.

La puerta de entrada más común para el hongo es directamente por vía respiratoria superior y en raras ocasio--

nes de aquí puede partir una diseminación hematógica a varios órganos. (10).

Se conoce que Candida vive como saprofito en cavidad y tracto respiratorio (11) y que todos los hongos saprofitos carecen de lo que se ha llamado mecanismo de agresión (toxinas, alto poder de invasión, etc.) y ninguno tiene la capacidad de realizar funciones de fotosíntesis o de alguna otra forma de autotrofismo, además son aerobios, requiriendo humedad elevada para su vida, con un pH óptimo de crecimiento entre 5.5 y 6.5 y la temperatura más favorable para su desarrollo es entre 18 y 25°C (12), por lo cual se deduce que las condiciones que prevalecen en los tejidos humanos no son las adecuadas para el crecimiento de estos hongos; en efecto el potencial de óxido-reducción de los tejidos es relativamente bajo en comparación con el habitat natural de estos organismos; el pH es ligeramente alcalino en la mayor parte de los tejidos; la concentración de CO₂ es más elevada que la que aprecia en la atmósfera y la temperatura es de 37°C (13). ¿Cómo es posible que pueda instalarse en el organismo y producir enfermedad?

Se han supuesto diversos factores que parecen condicionar la aparición de la enfermedad como:

La capacidad del hongo para invadir los órganos internos del hombre y los animales superiores se encuentra en parte supeditada a la potencialidad de cambios morfológicos, al pasar a la forma parasitaria, la que generalmente es levaduriforme. En el caso especial de la candidosis se ve en cortes de tejidos afectados tanto formaciones pseudomiceliales como levaduriformes. Para que se inicie el proceso patológico se requiere al parecer la presencia de levaduras, dado que una mutante puramente micelial de este organismo es incapaz de producir enfermedad experimental. Esta mutante carece de una reductasa que aparentemente es indispensable para promover la formación del estadio de levadura; estos hongos en presencia de grupos sulfhidrilos obtenidos a partir de cistefina, recupera tanto la capacidad de formar hifas como levaduras y por ende la patogenicidad. (12,13).

Otros factores son: enfermedades caquetizantes, metabólicas, neoplásicas, mieloproliferativas, disgamaglobulinemia, infecciones crónicas, anemia aplásica, anemia grave, (12) también el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro son responsables de un aumento en la incidencia de candidosis broncopulmonar.

Hay varias teorías para tratar de explicar cual es -

el efecto o mecanismo de acción de los antibióticos, por --- ejemplo para Woods y col. la terapia con antibióticos de amplio espectro puede alterar el balance ecológico al suprimir a bacterias gram-positivas y gram-negativas creando un vacío sin control natural, mientras que C.albicans no es afectada y puede crecer en este habitat sin competencia, ocasionalmente en medios adversos para la proliferación de Candida; esto sugiere que los antibióticos de amplio espectro estimulan -- directamente el crecimiento de la misma o también pueden cambiar el pH del medio a través de alteraciones en la flora -- bacteriana o por cambios en la resistencia de los tejidos -- del huésped, o por miopragia. (3,14).

También se ha demostrado que la terapia con corti-- coesteroides puede ser responsable del incremento de candido-- sis broncopulmonar o de otros aparatos y sistemas sobre todo cuando se usan asociados con antibióticos. Se ha dicho que -- los corticoides podrían actuar retardando el comienzo o disminuyendo la intensidad y duración de la adherencia leucocitaria o la pared vascular, bajando la acción fagocitaria o -- la formación de anticuerpos. (14).

Se ha observado también que los medicamentos inmunodepresores, antimetabolitos, citotóxicos, las intervenciones quirúrgicas y la roentgenterapia son factores importantes pa

ra el establecimiento y proliferación de Candida.

Entre los factores que frenan la invasión micótica -
están los denominados mecanismos de defensa del huésped, dado
por la integridad de la piel y de las mucosas, la fagocitosis
y los mecanismos humorales específicos (anticuerpos) e inespe-
cíficos, siendo necesario que estos pierdan su efectividad pa-
ra que los hongos encuentren la oportunidad de manifestarse -
en el organismo humano. (12).

MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este estudio, se tomaron al azar 27 niños internados en el Hospital Infantil de México - que presentaban sintomatología de tipo pulmonar. A cada paciente se le hizo un resumen de la historia de su enfermedad el que se anotó en una forma diseñada especialmente. Se hizo énfasis sobre la investigación de datos que tuvieran relación con candidosis como son: tratamiento prolongado con antibióticos, corticoides, enfermedades debilitantes concomitantes, fundamentalmente procesos malignos; también se buscaron antecedentes de candidosis cutánea o mucocutánea, "algodoncillo". En algunos casos se hicieron estudios radiográficos de tórax.

La edad de los pacientes fluctuó entre 5 meses y 15 años.

Trece fueron del sexo masculino y catorce del femenino.

La investigación de levaduras en estos pacientes se hizo mediante los siguientes procedimientos:

A cada niño se le hizo un lavado bronquial, cuyo producto era colocado en frascos estériles para transportarse al laboratorio para su estudio, cada muestra se procesó en la siguiente forma:

1.- Examen microscópico directo, agregando cloral - azul algodón de Amann.

2.- Frotis teñidos mediante la técnica de Gram y -- Ziehl-Neelsen de acuerdo a los siguientes métodos:

Técnica de coloración de Gram:

- 1.- Fijar la preparación al calor
- 2.- Cubrir la preparación con cristal violeta durante un minuto
- 3.- Lavar ligeramente con agua corriente
- 4.- Cubrir con lugol un minuto
- 5.- Lavar con agua corriente
- 6.- Decolorar con alcohol-acetona
- 7.- Lavar con agua corriente
- 8.- Cubrir con safranina 30 segundos
- 9.- Lavar con agua corriente
- 10.- Dejas secar y observar con el objetivo para inmersión.

Técnica de coloración de Ziehl-Neelsen:

- 1.- Fijar la preparación al calor
- 2.- Cubrir con la solución de fucsina de Ziehl y calentar hasta la emisión de vapores, durante 5 a 7 minutos, cuidando de que el coloran

te no se seque

3.- Decolorar con la mezcla alcohol-ácido --

hasta que no escurra colorante

4.- Lavar con agua de la llave

5.- Cubrir con la solución de azul de metile

no durante 2 a 3 minutos

6.- Lavar con agua de la llave, secar y ob--

servar con el objetivo para inmersión.

3.- Otra porción de la muestra fué sembrada en medio de Sabouraud y al obtenerse una colonia con las características atribuidas a las del género Candida se hizo observación microscópica directa con azul cloral lactofenol para la identificación de levaduras.

4.- Este primer aislamiento así obtenido se sembró en medio de harina de maíz (corn meal agar) adicionado de Tween 80 para demostrar la presencia de clamidosporas -- características de C.albicans.

5.- Al mismo tiempo se sembró otra porción de esa colonia en suero humano para observar el brote germinativo de las levaduras (15).

6.- Y finalmente se hizo la prueba de fermentación de azúcares (Zimograma) según el método de Langeron y Guerra, que consiste en lo siguiente (16)

- 1.- Colocar en tubos de Khan agua peptonada al 2%...
2ml
 - 2.- Agregar los diferentes azúcares (glucosa, galactosa, sacarosa, lactosa, fructosa, rafinosa, maltosa) a una concentración del 20%.....2ml
 - 3.- Mezclar
 - 4.- Sellar con tapones de parafina más vaselina en proporción 1:4 la altura debe ser de 2 a 3 mm.
 - 5.- Tyndallizar en baño maría o a vapor fluente en autoclave durante media hora.
- Nota: En los tubos que tengan burbujas, calentarlos y meterlos al autoclave 10 minutos.
- 6.- Observar y comparar resultados de acuerdo con el cuadro del zimograma. El método de Langeron y Guerra separa a las diferentes levaduras en grupos que incluyen varias especies, de acuerdo con su capacidad fermentativa. (Tabla I)

T A B L A I
Z I M O G R A M A

ESPECIE	Glucosa	Galactosa	Sacarosa	Lactosa	Fructosa	Rafinosa	Maltosa
krusei	+	-	-	-	+		-
parasitopsis	+				+		
albicans	+	+	-	-	+	-	+
stellatoidea	+	+			+		+
guilliermondii	+	+	+	-	+		-
tropicalis	+	+	+	-	-	-	
pseudotropicalis	+	+	+	+	+	+	-

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En siete de los 27 casos se encontraron levaduras - del género Candida o sea en el 25.9% del total de los niños- estudiados en donde la especie más frecuente fué C.albicans. (Tabla II)

El porcentaje encontrado en este trabajo se conside- ra importante si tomamos en cuenta que la selección que se - hizo de las muestras incluía solamente pacientes que por su- historia clínica era posible encontrar esta etiología (Tabla III). Sin embargo es necesario hacer notar que en nuestro me dio pocas veces se realizan estudios de laboratorio encamina- dos a la demostración de dichas levaduras en vida del pacien te, pues en la mayoría de los trabajos publicados la compro- bación se hizo post mortem por lo que creemos que al menos - las instituciones hospitalarias deben contar con un laborato- rio adecuado para estas investigaciones ya que si se tienen- en cuenta ciertos factores relacionados con el tipo de pro-- ducto en donde se pretende encontrar levaduras: expectoración, sangre, líquido cefaloraquideo, orina, etc. es indudable que esta consideración ya es de suyo importante si tenemos pre-- sente que hay productos como el líquido cefaloraquideo y la- sangre en donde por ser líquidos orgánicos esteriles, la ob-

T A B L A II

LEVADURAS ENCONTRADAS EN 27 NIÑOS CON SINTOMATOLOGIA PULMONAR:

CASOS POSITIVOS	GENERO Y ESPECIE	%
5	C. albicans 5	18.5
1	C. pseudotropicalis 1	3.7
1	C. albicans y C.tropicalis 1	3.7
7		TOTAL 25.9

servación de estos hongos es de gran valor pues en ellos no-
viven normalmente estos organismos, no así en otros materia-
les en donde debe hacerse una correlación muy cuidadosa en-
tre varios factores para determinar si la levadura se encuentra
tra como patógena o no.

En cuanto a la metodología empleada (Tabla IV) es im-
portante señalar que de los siete casos positivos, en la
totalidad de ellos se encontraron las levaduras tanto por
examen microscópico directo como por frotis teñido del mate-
rial enviado al laboratorio. Este hecho pudiera explicarse
en función de una cantidad excesiva de levaduras que pudie-
ran a su vez estar traduciendo un desequilibrio importante
en la flora normal de esos pacientes lo cual es ya de impor-
tancia clínica, si se indagan cuales podrían ser las causas
de tal desequilibrio en cada caso particular. Por otra parte
dicho resultado nos indica que el estudio microscópico directo
to y el frotis deben ser procedimientos rutinarios en estos
casos, ya que dependiendo del número de levaduras observadas
se tendría así el primer dato positivo.

El cultivo en medio de Sabouraud simple comprueba
si se trata de una levadura del género Candida; por lo que
los dos procedimientos antes mencionados junto con el culti-
vo aportan datos de interés práctico que servirán para nor-

T A B L A I I I

DIAGNOSTICO ENFERMEDAD:	No. PACIENTES
TUBERCULOSIS PULMONAR	2
BRONQUIECTASIS	1
BRONCONEUMONIA	3
BRONQUITIS	1

T A B L A IV

PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE ESPECIES DE LEVADURAS DEL GENERO CANDIDA:

METODO	N° DE CASOS POSITIVOS	GENERO Y ESPECIE
OBSERVACION MICROSCOPICA DIRECTA	7	Candida
TINCION DE FROTIS	7	Candida
DEMOSTRACION DE CLAMIDOSPORAS	5	Candida
BROTE GERMINATIVO	5	C. albicans
ZIMOGRAMA	6	C. albicans
	1	C. seudotropicalis
	1	C. tropicalis

mar la conducta del médico en el sentido de instituir o no un tratamiento orientado a esta etiología.

El cultivo en medios especiales para la demostración de clamidosporas y la demostración de brote germinativo en suero son técnicas más precisas que aportan datos de interés académico; sin embargo dada la sencillez de su realización son procedimientos al alcance de un laboratorio clínico general que tenga profesionistas adecuados para su interpretación.

El zimograma desde el punto de vista práctico no se realiza y tiene utilidad en estudios de investigación ya que determina las especies de Candida que se encuentren en un paciente, sin embargo este procedimiento puede requerirse en algunos casos pues aunque sabemos que C.albicans es la levadura más frecuente en las diversas formas clínicas de la enfermedad, hay especies como C.quilliermondii, C.tropicalis y otras que se han aislado en candidosis severas como es en un gran porcentaje de endocarditis y de septicemia (17,18) o bien pueden encontrarse en un mismo paciente como se demostró en uno de los casos estudiados en el que se aislaron 2 especies de levaduras C.albicans y C.tropicalis.

El valor que pudieramos haberle dado al aislamiento

de levaduras del género Candida en la secreción bronquial - de los pacientes seleccionados para este estudio y procesados con la metodología señalada se vió apoyado por el hecho de haber realizado una prueba terapéutica convincente con la administración de Anfotericina B (que es el antibiótico de elección en candidosis sistémicas) a dos de los pacientes más graves y los cuales curaron de su enfermedad.

Finalmente es necesario señalar que de acuerdo con este estudio C.albicans es relativamente frecuente como agente etiológico de procesos broncopulmonares, por lo que es importante pensar en esta levadura en casos con sintomatología de tipo respiratorio que reúnan algunos de los factores condicionantes ya mencionados.

R E S U M E N

Se estudiaron 27 pacientes internados en el Hospital Infantil de México que presentaban alteraciones bronconeumónicas con el fin de estudiar la posibilidad de candidosis localizada a ese nivel.

Catorce fueron del sexo femenino y trece del masculino, la edad fluctuó entre 5 meses y 15 años.

Se demostró la presencia de levaduras del género Candida en siete casos (25.9%) del total estudiado. La especie más frecuente fué C.albicans, cinco (18.5%); se aislaron e identificaron también: C.pseudotropicalis, uno (3.7%) y C.tropicalis, uno (3.7%).

En dos pacientes se comprobó que su proceso bronconeumónico era debido a la presencia de C.albicans en base a que se aisló e identificó este microorganismo, se dio tratamiento específico a base de anfotericina B. con resultados terapéuticos satisfactorios.

Se hace hincapié en la necesidad de que los laboratorios de los centros hospitalarios cuenten con personal y equipo adecuados con el fin de hacer diagnósticos más oportunos de candidosis profunda, establecer la terapia específica tempranamente y todo esto redundará en beneficio del paciente y del médico.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Cecil-Loeb. Tratado de Medicina Interna. Tomo I Ed. Interamericana S.A. Undecima Edición. México pág: 336, -- 1964.
- 2.- Falkner S. and Wising P.S. Fatal Bronchopulmonary moniliasis. Acta Med. Scandinav. 151: 117, 1955.
- 3.- Simons, R.D.G. Dermatología Tropical y Micología Médica. Vol II, Prensa Médica. Mex. México. pág: 996-1010, 1959.
- 4.- Coutelen F. et Cochet G. Les Rongeurs Domestiques, Ré--servoirs de virus en Mycopathologie humaine et véteri--naire. Annales de Parasitologie 19: 90, 1942.
- 5.- Makinon J.E. y R.C. Aspectos actuales de la moniliasis. A. Fac. Med. Montevideo 41: 275-292, 1956.
- 6.- Ruiz Oronoz M. Tratado Elemental de Botánica, Ed. E.C.L.A. L. Septima Edición. México, pág: 517-521, 1962.
- 7.- Segretain G. Drouhet E. Mariat F. Diagnóstico de Labora--torio de Micología Médica. Prensa Médica, Méx. México. pág: 50-62, 1966.
- 8.- Burrows W. Tratado de Microbiología. Ed. Interamericana S.A. Decimoctava Edición. México. pág: 685-687, 1965.
- 9.- Chakravarty, S. y Sadhu, R. Incidence of and criteria - for diagnosis of bronchopulmonary candidiasis Acta. Tu--berc. Pneum. Scand 42: 198-206, 1962.

- 10.- Sealing M.S. The role of antibiotics in the pathogenesis of Candida infections. Am J. Med. 40: 887-917, 1966.
- 11.- González, O.A.; Orozco, V.C. y Bravo B.M.A. El papel de las levaduras del género Candida como patógeno único, - patógeno asociado y saprófito. Rev. Inst. Salubr. Enf.- Trop. 24: 89-97, 1964.
- 12.- Larracilla Alegre J. y col. Infección generalizada por hongos oportunistas. Rev. Mex. Pediatr. 39: 245-254, -- 1970..
- 13.- Aguirre y Rojas R. Flores, B. y González, M. Micosis por hongos oportunistas observados en mil autopsias. Rev.- Med. I.M.S.S. 6: 15, 1967.
- 14.- Lascano E.F. Rosai J. Candidiasis diseminada, presentación de 6 casos. Prensa Med. Argentina. 52: 449, 1965.
- 15.- Taschdjian C.L. Burchal J.J. y Kozinn P.J. Rapid identification of Candida albicans by filamentation on serum-substitute. J. Dis. Child. 99: 212, 1960.
- 16.- Langeron M. Guerra P. Nouvelles Recherches de Zymologie Medicale. Annales de Parasitologie. 16: 74-83, 1938.
- 17.- Salter W. and Zinneman H.H.: Bacteremia and Candida septicemia. Minesota Me. 50, 1489-1499, 1967.
- 18.- Wickler A. et al: Mycotic endocarditis J.A.M.A. 119, -- 333-336, 1942.