

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA



**DONADO POR E. G. B. - B. C.**  
**EFEITOS DE LA**  
**INOCULACION BUCAL**  
**DE CANDIDA ALBICANS**  
**EN LENGUA DE RATAS**  
**TRATADAS CON TETRACICLINA**

**T E S I S**

Que para obtener el título de  
**CIRUJANO DENTISTA**  
presenta

MEXICO 1979

**CONSTANTINO LEDEZMA MONTES**

**14919**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## INDICE

	Pág.
I.- INTRODUCCION.	1
II.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.	4
III.- CANDIDA ALBICANS.	27
a) Historia.	28
b) Identificación en el Laboratorio.	29
c) Patología.	35
d) Localización.	39
e) Cuadros Clínicos.	41
f) Inmunología.	49
g) Diagnóstico.	54
h) Tratamiento.	55
IV.- MATERIALES Y METODOS.	59
V.- RESULTADOS.	65
VI.- DISCUSION.	69
VII.- CONCLUSIONES.	73
VIII.- BIBLIOGRAFIA.	76
IX.- LECTURAS COMPLEMENTARIAS.	79

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

El presente trabajo, tiene por objetivo conocer mas profundamente ,una de las lesiones bucales mas frecuentes dentro de la práctica odontológica, y al mismo tiempo una de las menos reconocidas, ella es la "Candidiasis". Por todos nosotros es conocido, que el hongo Candida Albicans es parte integral de la denominada "Flora Bucal Normal", el cuál no causa ningún daño, mientras la relación existente no sea alterada, -- por lo que debemos de tener cuidado de no alterar el Ecosistema existente, el alterar ésta delicada relación, se puede hacer mediante la administración de antibióticos de amplio espectro en casos de infecciones, que podemos resolver mediante la aplicación de técnicas especiales, cuando tengamos la necesidad de usarlos, lo hagamos con las precauciones necesarias y-- durante el tiempo indispensable, para no provocar problemas a nivel local ó sistémico.

Esta enfermedad ya era conocida desde tiempos muy remotos, pero no se le había dado la importancia que se le da -- ahora, por el desconocimiento de las verdaderas causas que la provocan, prácticamente el verdadero estudio de ésta afección-- comenzó a raíz de los estudios de los Dres. Cawson y Lehner en el año de 1966.

Los Dres. J. Harold Jones y C. Russell parecen ser los investigadores que mas han estudiado acerca de ésta enfermedad, pues no solamente han hecho un gran número de experimentos en animales, sino también han publicado una apreciable cantidad de artículos con respecto a ella, y así un considerable número de investigadores han seguido su ejemplo.

Los objetivos principales de éste trabajo han sido: el encontrar la relación entre las lesiones provocadas por la excesiva proliferación de éste microorganismo, que como sabemos es un habitante normal de la cavidad bucal, con las llamadas lesiones pre-malignas por fortuna se han comenzado a -- dar los primeros pasos, para establecer las bases de ésta relación.

Ello ha provocado en mí una gran inquietud y al mismo tiempo curiosidad por conocer mas a fondo, las causas y -- condiciones en las cuales éste microorganismo se desarrolla-- en el medio bucal, cuales son sus características microscópicas, y primordialmente el efecto que tiene su excesiva proliferación.

Creo que éstas incógnitas merecen hacer un esfuerzo y debemos buscar la forma de encontrar las respuestas a éstas incógnitas tan importantes, lo que redundará no solo en la satisfacción personal de haber hecho algo útil, que en el últi-

mo de los casos es lo menos importante, sino que es el lograr que nuestras Ciencias Médicas logren un pequeño avance, que los conocimientos resultantes del trabajo realizado, no queden en el olvido, sino que sean conocidos por todas aquellas personas que se dedican al estudio de las Ciencias, para que puedan ser utilizados en beneficio de la humanidad.

Tomando en cuenta lo anteriormente expresado, decidí que la mejor forma de calmar esa inquietud, era realizando una investigación, exponiendo en éste trabajo, los resultados de la misma, al mismo tiempo los pongo a consideración de mis maestros y compañeros, esperando sirvan para aumentar el caudal de conocimientos odontológicos.

## ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.

Está reconocido que los elementos miceliales de *Candida Albicans*, pueden ser encontrados penetrando el estrato -- córneo del epitelio bucal, en algunos pacientes con Leucopla-- sia, (Cawson, 1966), Candidiasis, y algunos otros con Eritro-- plasia (Shear, 1972), además existe un estudio de presencia de *Candida Albicans*, en pacientes con diversos tipos de cáncer -- en cabeza y cuello, cuando son sometidos a radioterapia, en -- combinación con tratamiento antimicótico y sin él (Chen y --- Webster, 1974).

La relación precisa entre la infección bucal por el hongo *Candida Albicans*, el proceso leucoplásico, su premalig-- nidad y su transformación en carcinoma, no ha sido claramente establecido y las opiniones se encuentran divididas, en cues-- tión a considerar a éste microorganismo, como un factor causal ó un factor desencadenante de éstas transformaciones. Los Dres. Cawson y Lehner (1968), sugirieron una relación de causa a efec-- to, entre ambas, por otra parte Shear (1972), consideró que la penetración micelial del microorganismo, era demasiado superfi-- cial, considerando a la *Candida Albicans* como un invasor secun-- dario, mas que un factor causal, sin embargo aceptó, que el pa-- pel de éste hongo en la producción de éstas alteraciones y su--

posible acción carcinogénica, es una condición abierta e importante.

Dos casos reportados por Williamson (1968), con diagnóstico clínico de Leucoplasia, ambos con idénticas características clínicas como son: Placas blancas, rugosas, de límites bien definidos, en partes retiformes, situados en la superficie de la mucosa bucal, bilaterales, continuas anteriormente con estomatitis angular, fué posible demostrar en ambos pacientes la presencia de Candida Albicans. El diagnóstico del paciente 1 (H.P., 61 años), fué de Candidiasis Hiperplástica Crónica, en el paciente 2 (A.A., 81 años), se demostró que era un carcinoma de células escamosas, en ambos no había antecedentes de tratamiento prolongado con antibióticos ó esteroides, la biometría hemática, la electroforesis del suero, la concentración de Ca. y glucosa en sangre, y la reacción de Wasserman, - estuvieron dentro de los límites normales.

Aceptando que aunque en el paciente 2 (A.A., 81 años), no fué posible demostrar la presencia de micelio, penetrando en el epitelio, la leucoplasia candidal pudo tener cambios malignos (¿Leucoplasia sifilítica?), y que la Candidiasis hiperplásica Crónica, es una entidad completamente distinta, pero puede desarrollar cambios malignos, y el hongo invadir un carcinoma ya existente.

Roed-Petersen y colaboradores (1970), encontraron -- *Candida Albicans*, en el 31% de las leucoplasias biopsiadas en ese año.

Renstrup (1970), en un estudio de 235 pacientes con leucoplasia en distintos grados, encontró invasión candidal en 55 de las biopsias, distintos grados de alteraciones epiteliales: Atipia epitelial 59 (25%), Hiperqueratosis 129 (55%), Hiperortoqueratosis 80 (34%), y combinación de hiperortoqueratosis-Hiperparaqueratosis 26 (11%).

El trabajo de los Dres. Tah Yee Chen y John Webster (1974), "Estudio de moniliasis oral en pacientes con cáncer de cabeza y cuello durante radioterapia", analiza los resultados de 101 pacientes, sometidos a cultivo bucal para *Candida Albicans*, antes, durante, y después de 1 mes de tratamiento con radioterapia, deduciendo que es clínicamente imposible, diferenciar la mucositis por radiación, de las lesiones provocadas por el microorganismo.

En éste trabajo, todos los pacientes recibieron radiación externa al área orofaríngea, sin importar el sitio u extensión del tumor, las edades fluctuaron entre 34 y 87 años, 18 -- mujeres y 83 hombres, tomándoseles un cultivo previo y depen--diendo del resultado, fueron divididos en dos grupos, uno de --pacientes con cultivo inicial positivo, el que se separó en dos

sub-grupos y otro con cultivo inicial negativo, que también se sub-dividió en dos, de los sub-grupos positivos, uno fué tratado con Anfotericina B en dosis de  $1\text{cm}^3$  (100 mg) antes de cada alimento, durante cuatro semanas, y el otro con un placebo, -- 4 al día, por cuatro semanas. Los pacientes con cultivo negativo, la mitad recibieron Anfotericina B, en dosis de  $1\text{cm}^3$  ---- (100 mg), cuatro veces al día, durante 4 semanas, después de - completar la radioterapia, la otra mitad no recibió tratamiento.

Se tomó en cuenta la reacción aguda a la radiación, - clasificándose como leve, moderada y severa considerando: Molestia local y eritema pequeño como leve, dolor moderado, in-- flamación y placas de mucositis como moderada, ulceración con- mucositis membranosa, como severa no encontrándose relación- de la severidad con los resultados de los cultivos.

El placebo mostró no tener ningún efecto, 17/17; la efectividad de la Anfotericina fué del 34.8%, ya que de 46 pa- cientes positivos, solamente 16 fueron transformados a negativos, los pacientes con cultivo inicial negativo, se mantuvie--- ron la mitad negativos, 49.7%, durante, y después del tratamiento, por los cual se deduce que el uso de Anfotericina B, no es- satisfactorio, para la conversión, de cultivos positivos a negutivos.

Jepsen y Winter, (1965), describieron la presencia-- de *Candida Albicans* en algunos casos de Leucoplasia.

Posteriormente, Cawson (1966), en un estudio histológico, encontró cambios característicos de Candidiasis Crónica, en aproximadamente 10% de los especímenes biopsiados de leucoplasia de 144 pacientes, los cuales fueron examinados durante un periodo de 10 años.

El año de 1964 Cooke y Pindborg, describieron la comúnmente llamada Leucoplasia Moteada ó Leuco-eritroplasia, encontrando que, en ocasiones el hongo se encontraba presente, y es por sí sola la responsable de la inflamación sub-epitelial, encontrando también que, en la gran mayoría de las lesiones,-- se encuentra presente en forma abundante.

Leopoldo F. Montes y Walter H. Wilborn (1968), analizaron lesiones de Candidiasis muco-cutánea, de varios años de duración de 5 pacientes no diabéticos, los que sin haber recibido tratamiento, ya sea local ó general con antibióticos o -- corticosteroides, ni haber recibido tratamiento local ó general anti-cándida, en los últimos 6 meses previos al tratamiento. Tomaron algunas escamas, las cuales usaron para cultivo, - para hacer cortes para microscopio de luz, y para microscopía-electrónica; los cultivos resultaron positivos, además sembraron tubos germen con suero humano, e inocularon ratones, ade--

más de reacciones de fermentación, todo ello demostró que *C. Albicans*, era el único hongo presente.

Los cortes para microscopio de luz, fueron teñidos con la técnica de P.A.S., con la cuál se observaron gran cantidad de levaduras y pseudo-hifas en relación con las células epiteliales, no pudiendo precisar si su situación era intra ó extra-celular, mas las pseudo-hifas si se localizaron dentro de las células, la posición de las bacterias, fué siempre extracelular.

Al microscopio electrónico, las levaduras mostraron un material flocular, adherente en la superficie de la pared celular, cuando su situación fué extracelular.

Otras levaduras, en el momento de penetrar a la célula epitelial, mostraron el material flocular en su parte extracelular y la falta de él en su parte interna ó intra-celular. No fué posible saber si éste material era secretado por la célula epitelial ó por la levadura, como característica notable, fué posible observar que los microorganismos intracelulares presentaban vacuolas de un tamaño prominente, con una membrana limitante del citoplasma, lo cuál podrá indicar que éstas células poseían una gran longevidad, por que es conocido que las vacuolas aumentan de tamaño con la edad de la célula, se ha demostrado in vitro, que éstas vacuolas contienen gran cantidad-

cantidad de enzimas hidrolíticas, pudiendo jugar un importante papel en la invasión de la levadura a las células huésped.

La porción peri-citoplasmática de células desprovistas de hongos, se mostró rico en tonofibrillas, en contraste con el área adyacente al hongo intracelular, en el cuál faltaban estas, una posible explicación es; que las células del hongo hubieran digerido la queratina asociada a las tonofibrillas.

Kápica y Blank (1970), demostraron "in vitro", que *C. Albicans* digiere la queratina, usándola como fuente de nitrógeno. La levadura intracelular parece ser morfológicamente similar a la extra-celular, ya que en ambas, la pared celular se muestra granular en apariencia.

Las áreas de penetración del hongo a la célula, estuvieron marcados por sitios donde la membrana se mostraba discontinua, las bacterias se encontraron siempre en una situación extra-celular.

El artículo del Dr. C.J. Smith (Leucoplasia oral), recalca la necesidad de hacer diagnósticos certeros, con respecto a la presencia de lesiones blancas en la mucosa bucal, efectuando su exámen histopatológico, ya que según él menciona, --aproximadamente el 5% de las leucoplasias, desarrollan carcinoma en algún sitio, o en la cercanía y esto puede ocurrir muchos años después, que la leucoplasia ha sido notificada.

La asociación Leucoplasia- costumbre de masticar -- raíz de betel, tiene una cerrada relación, con la gran morbilidad de cáncer bucal en la India mencionando que esta lesión, se presenta en un 5% de la población adulta de éste país. Como referencia principal, tenemos que la Leucoplasia moteada, está frecuentemente asociada a una infección superficial de C. Albicans y con una incrementada tendencia, a desarrollar características malignas.

Es importante mencionar, que la citología exfoliativa, no debe ser usada en el diagnóstico, ya que las células obtenidas por raspado de las superficies queratinizadas de leucoplasia, no difieren mucho de las células obtenidas de mucosa-- normal, además se han notado manchones falsos negativos, en -- aproximadamente 60% de Leucoplasias bucales, que sobre biopsia mostraron cambios premalignos, por lo tanto, jamás se usará como sustituto de la biopsia.

Recientemente, varios cirujanos, han reportado resultados favorables, con el uso del criofobo, para la remoción -- quirúrgica de leucoplasia, éste método consiste; en usar una sonda metálica delgada, mantenida a muy baja temperatura, enfriando así la lesión. La superioridad de éste método, reside en destruir tejido, mas allá del margen de la incisión.

La investigación arroja sorprendentes resultados, al

mencionar que el mayor número de mujeres no fumadoras, con -- leucoplasia del piso de la boca éstas son mas susceptibles de desarrollar cáncer bucal.

Los Dres. Pappenfort y Schnall observaron que los pacientes, que recibieron aplicaciones locales de clorhidrato de Aureomicina, mostraron un gran desarrollo de *C. Albicans*, - de ésto se deduce, que con la aplicación del antibiótico, se-- crea un vacío de microorganismos, por la destrucción del balan-- ce ecológico de la microflora bucal, creciendo el hongo sin -- inhibición y con gran poder invasivo.

Además pueden ocasionar una disminución de complejo- B, en los tejidos de la mucosa bucal, lo cuál provoca una baja en las defensas, frente a la invasión de los microorganismos.

Maile, comunicó el caso de un paciente, que fué som tido a enucleación del ojo derecho. Sus cortes histológicos, -- revelaron una lesión granulomatosa, con zonas de reacción in-- flamatoria aguda y crónica, con tubérculos, cuando el paciente murió, se hicieron cortes y se tomaron frotis los cuales se ti fieron con la técnica de Gram, observando elementos típicos de hongo, en áreas de caseificación, se piensa que la infección-- se inició como un proceso crónico, que llegó a boca y faringe, debiéndose la muerte a meningitis, ya que en los ventrículos-- se apreciaron gran cantidad de nódulos con células gigantes,--

conteniendo blastosporas de *C. Albicans*.

Otro reporte de candidiasis mortal, es el comunicado por Rockwood y Greenwood, siendo éste un caso de invasión en piel, mucosa bucal y faringe, aquí se observaron abscesos subcutáneos, con células gigantes y pseudohifas en las paredes de los abscesos, de éstos se obtuvieron cultivos puros de *C. Albicans*.

Gresham, Burus y Whitle (1960-1961), consideraron la *Candida Albicans* como un parásito micelial, pero saprófito en fase de levadura, basándose en que; las leucoplasias moteadas mencionadas por Pindborg, casi siempre presentaban el hongo en forma de micelio, y no en fase de clamidospora ó blastospora, por lo cuál menciona que, el desarrollo patológico, depende de la cantidad de hifas presentes.

Taschdjian y Kozim (1969), obtuvieron cultivos de la boca de recién nacidos y comprobaron que si existía reacción positiva a *C. Albicans*, después del cuarto día, era necesario el tratamiento.

Jansen y colaboradores (1963), reportaron 15 pacientes con leucoplasia candidal persistente en los labios, uno de los cuales desarrollo carcinoma.

En otro estudio histológico, Cawson en el año de 1963, observó que de 163 especímenes, de lesiones con diagnóstico de-

leucoplasia, 15 mostraban alteraciones de candidiasis hiperplásica crónica.

Los Drs. J. Harold Jones y C. Russell (1973), se han distinguido por experimentar en animales, los efectos de la -- inoculación bucal de *C. Albicans*, en ratas tratadas con clorhidrato de tetraciclina.

Sus estudios se han hecho en la superficie dorsal de la lengua, de la rata, su método fué la inoculación bucal de -- una solución de *C. Albicans* en una concentración de  $6 \times 10^8$  células de levadura por mililitro, en solución salina normal, este microorganismo fué aislado de seres humanos, las ratas fueron -- divididas en dos grupos; uno de ellas recibió solución de clorhidrato de tetraciclina en una concentración del 0.1% y el --- otro en una concentración del 0.01 %, en el agua de beber, 7 -- días antes de la primera inoculación, de las que se hicieron -- tres, los días, 6, 8, y 10 del experimento, 0.1 ml. de solución del hongo, el cuál fué recogido constantemente de la boca de --- los animales por medio de cultivos en medio de Sabouraud, el -- que contenía 40 U. de penicilina/ml. y 20 mg. de Estreptomicina/ml., posteriormente fueron incubadas a 35°C. por 5 días, y subcultivadas en medio específico de *C. Albicans* (OXOID), Las colonias características fueron confirmadas por medio del Test de -- tubos germen (Taschdjian, Burchal y Kozim, 1960). La mitad de--

las ratas recibieron dieta normal y la otra mitad, dieta rica en carbohidratos.

El otro grupo fué tratado exactamente en igual forma, solamente que el hongo inoculado, estuvo en fase de micelio.

Los animales recibieron este tratamiento, por 13, 20, y 34 días después del comienzo del experimento, fueron sacrificadas 20 ratas los días antes mencionados. La penetración micelial del hongo en el epitelio, fué demostrada en 45 de las 60 ratas inoculadas, por medio de cortes teñidos con la técnica de Acido periódico de Schiff. Las ratas sacrificadas el día 13, mostraron infección en: Lengua, membrana bucal papajosa, la mitad inferior de la boca mas que la superior, la forma de levadura estuvo presente en gran número, sobre la superficie, algunas veces formando una pseudo-membrana. En las ratas sacrificadas el día 20, se encontró micelio penetrando el epitelio ortoqueratótico y ocasionalmente se vió para-queratosis en algunas áreas de infección, el estrato basal presentó edema inter e -- intra-celular, células inflamatorias penetrando en el epitelio y el corium. Las bocas de las ratas sacrificadas el día 34, presentaron infección candidal únicamente en la lengua con desaparición de las papilas filiformes, en las áreas de infección.

Posteriormente, éstos investigadores demostraron que-

donde se instalaba el microorganismo, existía una zona libre de papilas, la cual era hiper ó para-queratósica, en algunas ocasiones bastante prominente. Debajo del epitelio infectado, se encontraron células mononucleares, el músculo subyacente, mostró cambios degenerativos, con proliferación sarcolemal y reacción de células gigantes, con excesiva proliferación de células inflamatorias, las cuales fueron encontradas debajo del músculo y alrededor de los vasos sanguíneos.

Siguientemente con la revisión de éstos trabajos, encontramos una nota importante, que nos dice que, el micelio cuando se le encontró penetrando, nunca llegó mas profundo que el estrato córneo, y cuando éste era muy profundo se producía -- una "indentación". Se observó además un desarreglo y desorganización, además de alteración en apariencia de las células--epiteliales de los estratos profundos, las células muscula---res se encontraron contraídas, con citoplasma basófilo, el núcleo tenía un arreglo central, largo y vesicular.

Además de los cambios arriba descritos, son mas marcados los de desorganización y desarreglo, mencionando que la atipia, nunca fué tan pronunciada, como la que se vió en formas floridas de leucoplasia ó "carcinoma in situ" . El cambio muscular fué similar al ocurrido, durante la regeneración,---acompañando de daño al músculo (Bethlem, 1970), presumiblemen

te cicatrización, con severo daño muscular, dando por resultado una fibrosis sub-epitelial. La evidencia sugestiva, se encontró en el caso reportado por Pochedly et al (1972), de cambios constrictivos en el esófago, acompañados de infección candidal en un niño leucémico.

Se supone que los cambios no son solo epiteliales, sino que además los que ocurren en el corium, y el tejido muscular, son debidos a un "fenómeno de inyección biológica", el que se puede explicar de la siguiente forma:

Los cambios arriba descritos, pueden ser debidos ó estar asociados, con la respuesta del tejido a sustancias liberadas por los elementos miceliales vivos ó en proceso de degeneración, depositados en el estrato córneo, por desgracia la naturaleza de las sustancias "biológicamente inyectadas" intra-epitelialmente y su mecanismo de acción no es conocido --- (Russell y Jones, 1973).

Histológicamente, las leucoplasias candidales, pueden mostrar marcada atipia epitelial, ó las características de un "carcinoma in situ", ello sugiere que éste tipo de lesiones puede tener tendencia a cambios malignos (Cawson, 1969, Eyre y Nally, 1971).

Jones y Adams, (1970), publicaron que, la candidiasis puede ser inducida experimentalmente en ratas, y que la infec-

ción no a sido influenciada por intentos a reducir el flujo ag-  
lival, que la candidiasis no es más fácilmente inducida en ra-  
tas jóvenes que en ratas adultas (Russell y Jones, 1971), pero  
que una dieta rica en carbohidratos, favorece la presencia y-  
tal vez la infectividad del microorganismo, en la boca de --  
las ratas (Russell y Jones, 1973).

En el curso de los experimentos, existió una rever--  
sión espontánea hacia estructura normal, tomándose como desa--  
parición de la infección. Si los cambios fueron debidos a ma--  
yor tiempo de duración de la infección candidal ó promovidas -  
por factores internos ó ambientales, por desgracia ésto es ---  
desconocido (Russell y Jones, 1975), al mismo tiempo, Russell-  
y Lay (1973), surgirieron que la rata es mas afortunada, en li  
brar el microorganismo de su boca que el ser humano. El traba-  
jo experimental de Russell y Jones (1975), ratifica ésta última  
aseveración pues; el microorganismo no obstante la inoculación-  
repetida, estuvo presente en un 48% de infección y un 15% en ra  
tas sacrificadas a las 24 semanas, 45% presente y 20% de infec-  
ción, después de 52 semanas. Parece creíble, que la rata se ---  
adapte, a la presencia de *C. Albicans* y desarrolla resistencia-  
al microorganismo.

La infección candidal a largo término, produce una --  
marcada hiperplasia epitelial, con invaginaciones pseudo-epite-

liomatosas y atrapamiento de queratina en los estratos profundos. Algunas células epiteliales, tienen núcleo atípico, muestran mitosis anormales, botones de células basales hiperplásicas, en la profundidad del corium. En ningún sitio, la atipia epitelial asciende al grado de "carcinoma in situ", la apariencia justifica el nombre de "crecimiento infiltrativo".

El músculo después de 6 meses, en algunas áreas era francamente necrótico, con células mononucleares, que parecían estar fagocitando el mioplasma.

Después de un año, la hiperplasia epitelial fué particularmente extraordinaria, con involucramiento del epitelio, -- atrapando queratina entre las faldas del mismo.

Es posible que el potencial patógeno de *C. Albicans*, en lesiones de membrana mucosa, adscritos a otras causas, puedan ser debidos a infección candidal. Schiodt (1975), ha demostrado que aproximadamente el 50%, de lesiones bucales en Lupus Eritematoso discoide crónico, son debidas a la presencia de *C. Albicans*. Una mayoría considera, la posibilidad que algunos -- cambios adscritos a Lupus, puedan ser debidos a *Candida*.

Es posible que, algunas de éstas lesiones, representen infección candidal crónica, como una complicación de Lupus eritematoso discoide crónico antes que una manifestación de --- ésta enfermedad.

En el aspecto referente a Inmunología, T. Lehner -- (1975), en su artículo "Proporción Cuantitativa de linfocitos y células plasmáticas en, Leucoplasia, Líquen plano y Candidiasis", en el cuál menciona cifras de cuentas diferenciales, de células redondas pironinofílicas y no pironinofílicas, correlacionando éstas cifras, a indicios de transformación carcinomatosa.

Un estudio preliminar inmunopatológico, de Leucoplasia, reveló que los linfocitos y las células plasmáticas, forman parte del proceso de transformación carcinomatosa.

Kramer I.R.H., (1969), encontró un número incrementado de Cuerpos de Russell, en lesiones que evolucionaron a - carcinoma y ésto probablemente, sea similar en situación a la encontrada con respecto a las células plasmáticas.

Mc Carthy, ha usado la variedad y severidad de la-- infiltración celular al corium, como un criterio para clasificar la leucoplasia en 4 grados. Junto con Shklar G. (1965), -- que basándose en lo mismo, la clasifica en 3 grados.

Las miras del estudio del Dr. T. Lehner, fueron analizar cuantitativamente, la infiltración de células mononucleares, de las lesiones blancas y relacionarlas con su grado histológico, relacionando los indicios, a la incidencia de transformación carcinomatosa.

Se utilizaron 100 especímenes de biopsia, con diagnósticos clínicos diferentes, variando desde: Leucoplasia, -- Líquen plano, hasta carcinoma, las lesiones fueron regularmente observadas por un período de 6 años, y la selección fué--- dirigida, en favor de aquellas que posteriormente manifestaron transformarse en carcinoma. Las secciones fueron teñidas, algunas con Hematoxilina-Eosina y otras con la técnica de Acido Periódico de Schiff. El diagnóstico fué establecido, bajo el siguiente criterio histológico:

1. La leucoplasia fué evolucionando a:

a).- Hiperqueratosis, b). Epitelio con ó sin Hiper-- ó para-queratosis y atrofia epitelial, y c). Epitelio atípico con maduración desordenada sin afectar todas las capas del mismo. La candidiasis hiperplásica crónica fué diagnosticada, por la presencia de hifas y levaduras, con la técnica de P.A.S., - además se pudo identificar: Ig G, Ig A, e Ig M, con la técnica de anticuerpos fluorescentes, (análisis cuantitativo de Titiers).

El conteo fué hecho en banda, 4 mm. a lo largo de la membrana basal y 0.5 mm. de ancho, fué usada una gráticula, el resultado fué expresado, como número de células por mm.<sup>2</sup>.

Para hacer éstas cuantificaciones, algunas secciones fueron teñidas con verde de metilo y pironina, la infiltración del corium fué estimada diferenciando las células redondas pi--

roninofílicas y no pironinofílicas.

Las células pironinofílicas predominantes fueron, células plasmáticas maduras, y otras células largas (inmunoblastos). Las no pironinofílicas fueron, linfocitos pequeños, algunos histiocitos y células arboladas (mastocitos), pocos neutrófilos y algunos fibroblastos.

La cuenta de células pironinofílicas en carcinoma--fué de  $(181 \pm 90.4)$  y Candidiasis  $(226 \pm 45.5)$  difiriendo significativamente de la Acantosis  $(22 \pm 6.5)$ . La preparación de especímenes de leucoplasia que posteriormente se transformaron en carcinoma se incrementaron según el grado histológico variando desde cero en hiperqueratosis, a 20% en acantosis, y 52%--en epitelio atípico, las células no pironinofílicas aumentaron, de un 17% a 48% hasta 400 por  $\text{mm}^2$ . La incidencia de transformación carcinomatosa, subió de 11 a 55% y 100%, como incremento de células pironinofílicas, de menos de 10 a 10, a 100 y más de cien por  $\text{mm}^2$ . En muchas series pequeñas de Candidiasis-hiperplásica crónica, resultados comparables, fueron registrados solamente con el grado histológico.

Como hallazgo principal, solo en aquellos especímenes que cambiaron a carcinoma, se encontraron cuentas mayores de --  $100/\text{mm}^2$ , es de notar que la candidiasis hiperplásica fué la mas alta en su cuenta de células pironinofílicas, de todas las le--

siones blancas de la boca.

En las lesiones puramente hiper ó para-queratósicas, fué notable el número de células no pironinofílicas, que en--- cualquier otra lesión y la ausencia de células pironinofílicas, en la acantosis aumentaron ambas, lo cual sugiere, que puede--- haber algún cambio de tipo inmunológico, en la transición de--- hiperqueratosis a acantosis.

En las lesiones que evolucionaron a carcinoma y epitelio atípico, existió un número progresivo en aumento, de ambos tipos de células, Muchos de los estudios publicados, du--- rante los últimos años, agregan que la leucoplasia, puede desa--- rrollar un carcinoma, pero difieren en la incidencia de trans--- formación carcinomatosa, por ej.

Renstrup, 1958; Shafer y Waldrom, 1961; Cooke, 1964;--- mencionan una incidencia del 18%. En cambio, durante los 2 ú--- ltimos años, la incidencia ha sido vista en razón del 4-6% por--- Einhorn y Werrisall, 1967; Pindborg et al, 1968; Silverman, Ro--- zen, 1968 y Kramer, 1969.

Linfocitos fueron estudiados "in vitro" , para obser--- var su respuesta, a "Autologus Homogenates" de leucoplásia y a--- un número de antígenos, una prueba fué hecha a relacionar la -  
C<sub>14</sub> Timidina de los linfocitos, a la cuenta de células mononu--- cleares y cambios epiteliales, en el sitio de la lesión. Se --

usaron 16 pacientes, con lesiones bucales blancas en diferentes partes de la boca, 11 de ellos era fumadores y 5 no fumadores, - de los cuales 3 tuvieron carcinoma, para la prueba de transformación linfocítica, se les extrajo sangre, y por centrifugación se separaron los linfocitos, se cultivaron durante 4 días, - - O.l.U. de  $C_{14}$  Timidina (35 M.C./MM) por millón de células, fué inyectado o incubado a 37°C. durante 24 horas (Dutton y Eady, -- 1977). Los resultados fueron expresados en términos de  $C_{14}$  Timidina comprendida, que fué la cuenta por 10 min. de antígeno-es-timulado, para que la cuenta de cultivo salino control, fuera--- deducida.

Los antígenos fueron agregados separadamente, a los-- cultivos de linfocitos de cada paciente. Fitohemaaglutinina, -- solución salina estéril, 0.1 ml. de extracto acuoso caliente -- de C. Albicans, diluciones 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 de solución -- salina de homogenado de cada biopsia. Los agentes fueron agre-- gados en 0.5 volúmenes por ml.

Las lesiones histológicamente, fueron clasificados en 3 grados: I) Hiperqueratosis ó para-queratosis únicamente. II)-- Acantosis ó Atipia epitelial, con ó sin hiper ó para-queratosis. III) Carcinoma ó carcinoma "in situ".

Los resultados demostraron, 6 casos de hiperquerato-- sis, en grado I. 4 con acantosis, y 2 con atipia epitelial en -

grado II, y 3 casos de carcinoma de células escamosas y uno con carcinoma "in situ" en grado III. Una relación inversa, -- establecida entre la C<sub>14</sub> Timidina reconocida de linfocito, es estimulado con homogenados de leucoplásia, y la infiltración -- de células no pironinofílicas. Además el tejido hiperqueratósico (grado I), pareció estar asociado con la mayor proporción de transformación linfocítica, e inferior infiltración mononuclear, hubo un decrecimiento en el primero y un aumento en el segundo, como el grado histológico de progreso hacia carcinoma.

Una relación similar, no fué encontrada cuando los linfocitos, fueron estimulados con Fitohemaaglutinina, antígenos de Herpes ó Candida, en éste trabajo, El Dr. T. Lehner (1977), menciona que pueden existir éstas 3 posibilidades: Si el comienzo del carcinoma, estuviera acompañado de una pérdida ó alteración en el sistema antigénico, ésto pudiera contar para la disminución de la transformación linfocítica de células pironinofílicas, que sugieren una respuesta de anticuerpos humorales. Otra posibilidad, es la que indica que no hay cambios antigénicos, pero que una depresión selectiva de células inmunocompetentes (inmunomediadoras), ocurre durante la transformación cancerosa de leucoplásia. Los mecanismos que pudieran contar para ésta inmuno-parálisis, como un resultado

de inhibición directa ó cansancio de las células inmunológicas (Dresser y Mitchison, 1968), inhibición selectiva de células inmunomediadores e inmunodesviación (Asherson y Htare, --- 1965), ó inhibición retroalimentada de la respuesta por anticuerpos humorales (Xelrad y Rowley, 1968), también es posible que, como la infiltración de células mononucleares, se encuentra incrementada en el sitio de la leucoplasia, también el número de linfocitos sensibilizados en la periferia de los vasos está disminuída.

Parece que dos nuevos criterios pueden ser agregados, en la valoración de la premalignidad: Depresión selectiva de transformación linfocítica, y ésto puede ser llevado a cabo secuencialmente con tejido guardado de la biopsia original y un número incrementado de células pironinofílicas en el sitio de la lesión. Kramer (1969), con ayuda de un computador, estudió la leucoplasia, y encontró Cuerpos de Russell, en aquellas lesiones que cambiaron a carcinoma.

Como nota importante, se menciona la biopsia, de un paciente con atipia epitelial, depresión linfocítica y una --- cuenta de células pironinofílicas de  $29/\text{mm}^2$ . el cuál desarrolló carcinoma, ésto apoya la hipótesis que una depresión de transformación linfocítica y un aumento de las células pironinofílicas, puede significar un cambio de leucoplasia a carcinoma.

## CANDIDA ALBICANS.

De todos los hongos aislados de fuentes humanas, el grupo de los de forma de levadura, ha sido el de más difícil estudio, debido a las grandes diferencias de opinión, en cuanto a los criterios que deben utilizarse en su clasificación, por ejemplo; para la especie *Candida Albicans*, existen 172 sinónimos. Recientemente se han ideado mejores métodos de clasificación.

El género *Candida*, es un grupo de hongos del tipo de las levaduras, que no produce ascosporas, pero si produce micelio y clamidosporas, por ésta característica, se distingue a la especie *Albicans*, ya que es la única del Genero *Candida* que la produce.

El género *Candida* encierra a 16 especies, de las cuales solo siete se encuentran comunmente en el hombre, éstas especies son:

- 1.- *Candida Albicans*.
- 2.- *Candida Guillermondi*.
- 3.- *Candida Krusei*.
- 4.- *Candida Parakrusei* ó *parapsilosis*.
- 5.- *Candida pseudotropicalis*.
- 6.- *Candida Tropicalis*.
- 7.- *Candida Stellatoides*.

## HISTORIA

En la antigüedad, Hipócrates observó, que en algunos recién nacidos, la lengua se encontraba cubierta por una pasta blanca.

Quién realmente observó y describió éste hongo, fué -- Lanhenbeck en el año de 1938, quien observó que en placas de la mucosa bucal y en otras partes del cuerpo, era posible recoger e identificar éste hongo, al efectuar una necropsia. De la gran variedad de nombres que se le han dado a éste microorganismo, -- destacan los siguientes:

- 1.- *Oidium Albicans*; Robin, 1853.
- 2.- *Monilia Albicans*; Zopf, 1890.
- 3.- *Endomyces Albicans*; Viullemín, 1898.
- 4.- *Monilia Pinoyi*; Castellani y Chalmers, 1913.
- 5.- *Monilia Psilosis*; Ashford, 1917.
- 6.- *Parassacharomyces Ashfordi*; Anderson, 1917.
- 7.- *Monilia Metalondinensis*; Castellani y Chalmers; --  
1917.
- 8.- *Candida Albicans*; Borkhout y Robin, 1923.
- 9.- *Monilio Richmondi*; Shaw, 1926.
- 10.- *Monilia Aldoi*; Pereira, 1927.
- 11.- *Mycotoruloides Triadin*, Langerón y Talice, 1923.
- 12.- *Syringospora Inexorabilis* Dodge, 1935.

## MORFOLOGIA

Es un hongo de tipo levadura, forma oval, de paredes delgadas, su tamaño aproximado de 2 a 3 micras por 4 a 6 micras, su reproducción es asexual, por gemación, también produce pseudo micelio, el cual está formado por pseudo hifas de tamaño variable, con extremos redondeados, los cuales miden de 3 a 5 micras de ancho, encontrándose blastosporas adheridas a los nodos y clamidosporas en las partes terminales, éstas clamidosporas se desarrollan, en condiciones especiales, están formadas por una condensación del citoplasma celular, acompañado de una contracción, del mismo pueden ser redondas, ovales, su pared es doble, su posición en el micelio puede ser; intermedia, lateral ó terminal, miden aproximadamente de 6 a 12 micras de diámetro, la membrana doble es bastante gruesa, y son claramente diferentes a las levaduras gemantes, las esporas en general (blastosporas y clamidosporas), son muy resistentes a las condiciones desfavorables, aunque parece ser que las clamidosporas lo son más.

Esto significa que el crecimiento de *Candida Albicans*, es difásico ó dimórfico, en las lesiones de los tejidos infectados, se suelen encontrar de las dos formas.

## IDENTIFICACION EN LABORATORIO.

Exámen directo.- Se toma una muestra directamente de la lesión con un hisopo estéril, se extiende sobre un porta-objeto

tos limpio, se fija a la temperatura de cuarto ó al calor directo de la flama de un mechero, se tñe con la técnica de Gram, la observación al microscópio, se hará buscando células con forma de levadura, las que se tñen intensamente de color violeta, por lo cuál se dice, que son Gram positivas, el micelio se puede encontrar con yemas adheridas, el cuál también es Gram positivo.

Medios de cultivo.- Si colocamos el microorganismo en Medio Sabouraud Glucosado, a la temperatura de cuarto, ó en una estufa para cultivos a 37° C., se desarrollarán colonias blandas, de color crema, con centro liso y bordes filamentosos, la colonia tiene un olor distintivo a levadura al segundo ó cuarto día de incubación. Mientras que las colonias viejas, son grandes, aparecen hundidas y gruesas.

El crecimiento superficial está formado por células en gemación, ovales, mientras que en la parte sumergida, la composición principal de la colonia, es pseudomicelio, en forma de contornos paralelos, lisos y ondulados. Estos pseudomicelios en preparaciones teñidas, se observan como células alargadas con agrupamientos de blastosporas, distribuídas en los puntos de constricción, en cultivos de Patata-Zanahoria-Bilis de buey, también se obtienen éstas características, desarrollándose clamidosporas, se le denomina, medio P.Z.B., la incubación se hace a 25° C.

En Agar-Marina de maíz, se producen clamidosporas típicas, las cuales no se desarrollan en Caldo Glucosado de Sabouraud.

Para ésta prueba, se inocula una caja de Petri, que contenga cualquier de los siguientes medios:

- a) Agar con Harina de maíz.
- b) Agar Harina de maíz con Polisorbato 80.
- c) Agar Crema de arroz con Polisorbato 80.
- d) Agar Clamidospora de Difco.

La inoculación se hará con un alambre recto, que contenga una pequeña cantidad del cultivo a analizar, haciendo un corte recto en el medio de cultivo.

En una placa conteniendo Agar-Azul de metileno-Eosina - de Levine, sembrando en estrias una solución diluída del cultivo, - se producirá micelio de 18 a 24 horas, cuando la incubación se efectúa en una estufa para cultivos a 37° C., en una atmósfera de Hidróxido de carbono al 10%. La diferencia con *Candida Stellatoidea* estriba en que ésta forma una colonia más pequeña.

La especie *Albicans* se diferencia de las demás porque es la única que produce túbulos ó tubos germinales en: Tioglicolato, suero sanguíneo, líquido cefalo-raquídeo, albúmina de huevo, ó albúmina-ácido oléico. Los cultivos se inoculan en 0.5 ml. de éste material a 37° C. durante cuatro horas.

Otro medio para cultivo, es el de Pagano y Levine, éste consiste en un extracto de levadura, con peptona-dextrosa-agar; - se enfría ésta base a 50°C., después se añaden: Estroptomicina y cloruro de fenil-tetrazolio. El cloruro de fenil-tetrazolio, es -

el indicador para la diferenciación de los diferentes especies de *Candida*.

*Candida Tropicalis* y otras en menor grado, reducen la sal de tetrazolio a formazán, que es un depósito rojo y cristalino, que se forma en la periferia de las células de tipo levadura. Esta reacción libera deshidrogenasas, por ello éstos géneros cambian el medio a color rojo oscuro. *Candida Albicans* no reduce la sal de tetrazolio, se desarrolla como, una colonia color crema, al igual que *Candida Kruzei*, con la diferencia que ésta tiene un crecimiento más seco.

El aislamiento es fácil en medios sencillos como peptonina y dextrosa, maltosa ó sacarosa, con agar, si a éste medio se le agrega un antibiótico como estreptomycin ó cloramfenicol, los cuales impiden el crecimiento bacteriano, pero no evitan el desarrollo del hongo.

Cuando el cultivo se hace en Agar-Glucosa de Sabouraud a 37° C. ó a la temperatura ambiente, se deberá agregar -- cloromicetín y cicloheximida al medio, para evitar, la contaminación con bacterias y hongos saprofiticos. El desarrollo se manifiesta de dos a cuatro días como colonias cremosas, de tamaño medio, aspecto húmedo, y color mate.

Para identificar las diferentes especies, se siguen los siguientes métodos:

- 1.- Se toma una muestra del cultivo que se coloca en-

Agar-Glucosa de Sabouraud y se inocula a, 2) Caldo de Glucosa de Sabouraud, se incuba a 37°C. durante 48 horas, después de anotar el tipo de crecimiento en la superficie, se agita el tubo, para obtener una suspensión de los organismos sedimentados, 3) se siembra en estrías, en una placa de Agar-sangre, que debe tener un P.H. de 7.4, se incuba a 37°C., durante 10 días; se registra el tipo de colonia, se toma la muestra, de una colonia bien aislada, seguidamente se siembra en Agar-Glucosa de Sabouraud en tubo inclinado, se incuba a 37°C., ó a temperatura ambiente, durante 28 ó 48 horas. 4) Parte del producto del crecimiento se trasplanta a un trozo de zanahoria, que se conserva a temperatura ambiente, después se examina en busca de ascas. 5) El resto del material se siembra en estrías sobre un medio de agar con extracto de carne, en tubo inclinado, con un P.H. de 7.4, a continuación, se procede al subcultivo del crecimiento en éste medio, durante dos ó tres generaciones. 6) Se toma con una asa y se siembra en estrías, sobre un cultivo en porta-objetos, el cual se prepara a base de agar con harina de maíz, se pone a incubar en una cámara estéril y húmeda a temperatura ambiente, durante algunos días. Se toma un frotis, se fija, se tiñe, y se examina al microscopio, para identificar detalles con respecto al crecimiento micelial. Se inoculan después con una pipeta provista con una solución salina, más el producto del último trasplante del hongo en agar con extracto de carne en tubo inclinado, en cuatro tubos de cal-

do de extracto de carne, que contengan solución de glucosa, sacarosa, lactosa y maltosa al 1% respectivamente.

La identificación por métodos de bioquímica se hace con cuatro azúcares.

Glucosa.- Oxida completamente el medio, produciendo ácido y gas.

Maltosa.- El microorganismo fermenta éste azúcar, produciendo ácido y gas.

Sacarosa.- Produce ácido.

Lactosa.- El microorganismo no utiliza ésta substancia.

La identificación de *Candida Albicans* por medio de la producción de clamidosporas características, se puede hacer en medio P.Z.B., se realiza sembrando en estrías, en el fondo del tubo, en seguida una estría más o menos profunda, se conserva a la temperatura del laboratorio durante 48 horas, después de este tiempo, se toma un trozo del medio, se comprime entre dos porta-objetos, y se observa utilizando iluminación tenue en el microscopio.

Este hongo produce filamentos en el suero, lo cuál se puede utilizar como medio de identificación. Este método se basa en la germinación de *Candida Albicans* y la formación de filamentos en el suero humano ó de animales, en el transcurso de 4 horas, en 10.5 ml. de suero, más algunas gotas de solución de *Candida Albicans*.

## PATOLOGIA.

*Candida Albicans* es una especie patógena, ésto ha sido demostrado en conejos, que parecen ser los más susceptibles, también la rata de laboratorio lo es.

Los conejos inyectados por vía endovenosa, con 1 ml. de solución salina del hongo al 1%, murieron en 4 ó 5 días. Las características más importantes fueron: Tumefacción renal con -- gran número de abscesos blancos y pequeños, diseminados por la -- corteza.

Los estudios de Roth y col., muestran que *Candida Albicans*, es patógena en las ratas inyectadas por vía endovenosa ó -- intraperitoneal combinada con mucina gástrica de cerdo al 5%. Luria y col., demostraron ésto mismo, pero usando radioterapia y -- corticoesteroides, llegaron a la conclusión de que en esa forma, es más patógena para la rata que para el ratón, al que habría -- que inyectarle una dosis mayor.

Las inyecciones subcutáneas en conejos, producen abscesos en 48 horas.

En un caso mortal de Candidiasis generalizada, reportado por Maile, las biopsias, de la boca revelaron en frotis teñidos con hematoxilina - eosina, una lesión granulomatosa, con formación de células gigantes y epiteloides en los tubérculos, que llevaron a un diagnóstico de Tuberculosis. En la necropsia, se --

pudo apreciar la verdadera naturaleza del padecimiento, haciendo un frotis del material obtenido, se tificaron con el método de --- Gram, y en el examen microscópico, aparecieron los elementos fungosos típicos en los tejidos profundos y en las áreas de caseifi cación:

Durante su vida, el paciente fué sometido a enuclea--- ción del ojo derecho, interpretándose los cortes, como una le--- sión granulomatosa, pero no se encontró el hongo.

En el otro caso mortal ya mencionado anteriormente, -- fué reportado por Rockwood y Greenwood, el microorganismo invadió, piel, cavidad bucal y faringe, en éste caso, las biopsias revela ron; absesos cutáneos con células gigantes y pseudohifas en la - pared de los mismos, los cultivos resultaron positivos para Can dida Albicans, los cuales se tomaron de los absesos. Las áreas - necróticas presentaron a veces ulceración, con infiltración de - células redondas en el epitelio, además al teñir los cortes con la técnica del Acido Periódico de Schiff, los microorganismos -- aparecieron en forma de micelio y blastosporas.

En el caso comunicado por Maile, la infección se ini--- ció como un proceso granuloso crónico, que invadió la boca y fa- ringe, de ahí pasó la infección al globo ocular. En la necropsia, se descubrió laringitis por Candida, pero no se encontraron le--- siones pulmonares.

En éste caso la muerte se debió a meningitis.

Se observó un exudado espeso en la base del cerebro, - sobre la protuberancia y pedículos, en dicho exudado y en los - vasos de las caras laterales del cerebro, se comprobó la presen - cia, de tubérculos de menos de 1 mm. de diámetro. Los ventrícu- los se observaron ligeramente dilatados, con gran cantidad de - nódulos, cuyo corte puso en evidencia células gigantes que con- tenían blastosporas, éstas no fué posible identificarlas fácil- - mente, su diagnóstico fué confirmado por el cultivo.

En el caso reportado por Rockwood y Greenwood, se esta- bleció el diagnóstico antes de la necropsia, pues el paciente - presentaba lesiones cutáneas, que afectaban casi todo el cuerpo, hiperqueratosis en las manos y abscesos subcutáneos sin involu- - crar las vísceras.

También se ha observado endocarditis en adictos a las drogas, principalmente en aquellos que se las administraban por vía endovenosa. Las principales lesiones consistían en: Vegeta- ciones macizas, localizadas en una porción de la circunferencia de una válvula. Por lo menos en un paciente se logró identifi- - car un gran número de levaduras en las vegetaciones.

En las necropsias practicadas a pacientes, con leuce- mia y otras enfermedades debilitantes, se encontró a menudo Can- diasis de la parte inferior del esófago. Las lesiones son ulce- rosas ó membranosas, en el exámen microscópico se observan leva- - duras y pseudomicelio, en algunos casos el crecimiento se extien- - de hasta la capa muscular.

La candidiasis generalizada ó candidiasis pulmonar mortales, pueden complicar la leucemia, principalmente si la neutropenia es intensa.

De los 13 casos de micosis visceral diseminada, durante tratamiento de leucemia aguda reportados por Craig y Faber, 11 eran debidos a Candida.

La Candidiasis diseminada mortal, con abscesos miliares en muchos organos, fué el tema del informe Gausewitz, (1960) uno de los autores (R.D.B.), vió material de 3 casos de niños en la Gran Bretaña.

En otras formas mortales, menos frecuentes de Candidiasis en niños lactantes, la mucosa del esófago, estómago o íleon, puede estar cubierta por una capa granulosa y vellosa de "algodoncillo". Las paredes de éstos conductos, suelen encontrarse engrosadas, y se observan las mismas hifas, que penetran, pero sin llegar a atravezarla, mientras que las levaduras proliferan en la superficie.

El Síndrome de Alinefocitosis, se acompaña, pero no es necesariamente causado por infección por Candida, fué revisado por Donahue, (1953) Candida Albicans puede crecer a menudo en la sangre, pero el signo más característico, consiste en la disminución de la cuenta de linfocitos circulares, hasta en un 4 a 8 %, además los pacientes presentan atrofia del tejido linfoide en todo el organismo.

El Síndrome de Granuloma por Candida, fue revisado -- por Hauser y Rothman; (1950). Estos autores recopilaron 13 casos de la literatura, además añadieron uno nuevo. Papazian y -- Koch, informaron de la curación de un caso muy grave, mediante el uso de Anfotericina B, por vía local y endovenosa.

Weiner; (1959), estudió el Síndrome de Acrodermatitis Enteropática. La infección primaria, parece radicar en el intestino, pero se propaga al pelo, uñas y unión mucocutánea. El crecimiento de éstos niños, queda muy restringido ya que prácticamente son enanos. La vacuna de Candida Albicans, produce reacción local en forma de lesión cutánea típica. Weiner (1959) ha informado de curaciones, después de tratamiento con diyodohidroxiquinolina por vía bucal.

En ocasiones muy raras existe Candidiasis de huesos - y articulaciones.

Lo anteriormente expuesto demuestra que Candida Albicans, puede diseminarse por vía hemática a todo el organismo. - Parece ser que su virulencia aumenta, con la administración de antibióticos de amplio espectro. Su diseminación ocurre cuando existe alguna causa de inmunosupresión.

#### LOCALIZACION

Candida Albicans es un germen universal, habita como morador habitual de la cavidad bucal, puede encontrarse en aprox

ximadamente, del 17 al 50% de las bocas de individuos sanos, ha sido identificado en hasta un 40% de las bocas de niños recién nacidos.

Se encuentra con mayor frecuencia en ancianos y recién nacidos.

También se han aislado cepas patógenas de: 1) Piel -- normal. 2) Mucosas bucal y vaginal y 3) en las materias fecales de individuos sanos.

En algunas ocasiones la infección puede ser contagiosa, dándose casos de verdaderas epidemias. Se ha observado Balanopostitis en los maridos de enfermas de vaginitis candidal, -- Candidiasis cutánea en torno a los pezones de madres de lactantes, con muguet ó algodoncillo.

Se han observado epidemias de muguet en lactantes, -- así como de: Paroniquia, intertrigio, "per leche" ó boqueras. -- La presencia del hongo en individuos normales explica su diseminación durante enfermedades debilitantes, padecimientos malignos del sistema hematopoyético, diabetes sacarina, lupus eritematoso, etc.

El muguet se observa con mayor frecuencia en lactantes, cuyas madres padecen Candidiasis vaginal, en personas ancianas que padecen enfermedades consuntivas como Tuberculosis. -- Las lesiones en las manos se observan con mayor frecuencia en: amas de casa, panaderos, taberneros, lavadores de platos, empa-

cadadores de fruta, etc., ya que éstas personas se tienen que lavar frecuentemente las manos ó las tienen húmedas con frecuencia. Los pacientes portadores de placas mal ajustadas, sufren esta infección con mayor frecuencia en los labios y en la lengua. Es también conocido que el embarazo y la Diabetes predisponen a vaginitis por Candida.

Se han informado casos de Candidiasis en todas las partes del mundo, a todas las edades, en todas las razas y en ambos sexos.

Los antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides, y las drogas citotóxicas, predisponen a la infección por Candida Albicans y otras especies de Candida.

Los efectos colaterales indeseables causados por estas drogas, han producido un número cada vez mayor, de infecciones locales y generales por Candida.

#### CUADROS CLINICOS

Estos cuadros son muy variables, según la localización del proceso infeccioso, por lo cual se menciona por separado.

Candidiasis de las mucosas.- Cuando el hongo causa infecciones bucales, produce unas placas blancas características, blandas, fácilmente desprendibles, cremosas, conocidas comúnmente como muguet. Pueden verse éstas lesiones en forma de placas-

de tamaño variable, únicas ó múltiples, diseminadas en la mucosa, a la cual se encuentran adheridas, cuando se retiran dejando al descubierto una zona roja, brillante, fácilmente sangrante y dolorosa, de límites bien definidos.

En algunos pacientes la mucosa tiene un color rojo, -- destacando sobre ella las manchas blancas características. Esto se observa principalmente en pacientes que han desarrollado hipersensibilidad al hongo.

Boqueras (per leche).- Lesión caracterizada por la aparición de grietas y fisuras en las comisuras bucales, son erosiones del epitelio con una base eritematosa, la causa es el humedecimiento constante de la zona, ya sea por: Pérdida de la dimensión vertical, en pacientes edéntulos portadores de prótesis totales mal diseñadas, en pacientes edéntulos que no usan este tipo de aparatos protésicos, en pacientes con tensiones nerviosas, los cuales llegan a hacer un hábito, el mojar con la lengua ésta zona.

La glositis crónica, revela la presencia de Candida Albicans por la presencia de las siguientes características: Lengua lisa, parecida al caucho, con papilas atróficas, en forma de lesiones blancas, localizadas en cualquiera de las superficies linguales, las lesiones localizadas están fuertemente adheridas a la lengua, son ligeramente elevadas y algo rugosas. Si el paciente fuma en exceso, el color puede ser diferente. La --

lengua vellosa, también se ha atribuido a la presencia de éste hongo.

La carencia de Rivo flavina, se ha mencionado como un factor predisponente, ya que se supone que la artivoflavinosis propicia la proliferación de *Candida Albicans* en la boca.

La vulvovaginitis, es frecuente en pacientes diabéticos y en embarazadas. En la diabetes, la infección puede deberse a las grandes cantidades de azúcares en orina y sangre. El embarazo se considera como un factor predisponente, por la presencia excesiva de productos tipo glucógeno en el epitelio vaginal, las lesiones tiene el aspecto de "dermatitis eczemátide" ó presentarse como pústulas vesiculosas escoriadas, y en ocasiones ulceración. La vaginitis se observa más frecuentemente, en mujeres de clase económicamente pobre, más a menudo durante el embarazo (15 a 30%), que en mujeres no embarazadas (7 a 16 %), - lo más frecuente se observa en mujeres de raza negra, cuando -- existe el embarazo (41%).

Las investigaciones de Carter. y col., han revelado - que éste microorganismo, es frecuente en casos de vulvovaginitis, pero si no existen síntomas de vaginitis, suele predominar *Candida Stellatoidea*, que se parece morfológicamente a *Candida Albicans*.

Candidiasis cutánea. Se han observado 2 tipos.

a).- Lesiones localizadas,

1.- Oniquia y paroniquia.- Es la más frecuente manifestación de Candidiasis localizada cutánea, sus características clínicas son: dolor, tumefacciones rojizas, las cuales parecen lesiones piógenas que no contienen pus, la uña se torna dura se le forman surcos, engrosa, en ocasiones puede tomar un color pardusco, conserva parte de su brillo, sin tornarse quebradiza, ni teniendo residuos acumulados como sería el caso de la tina ungueal.

2.- Intertrigio.- Se caracteriza por placas eritematosas, bien delimitadas por bordes papulo-escamosos, con pequeñas vesículas y pústulas.

Su localización más frecuente, es en una zona de flexión, principalmente aquellas que se mantienen húmedas, como -- axilas, pliegues glúteos e ingle, además pliegues inframamarios y ombligo, cuando el hongo invade los pliegues interdigitales, puede confundirse con la tina pedis.

3.- Candidiasis perianal. Como característica principal, está el intenso prurito en esa zona, pudiendo existir un exudado de color blanquecino, de consistencia cremosa, pareciéndose a otras infecciones por hongo de otro tipo.

Las lesiones cutáneas producen la caída del pelo, asociados con glositis, paroniquia, estomatitis, y otros tipos de infección localizada. Se encuentra a menudo en recién nacidos, de madres que padecían Candidiasis vaginal, lo cuál es un ejem-

plo de una deficiencia del sistema inmunológico.

b) Lesiones generalizadas.

1).- Candides ó Levúrides.- Son lesiones en grupo, va-  
siculosas y tiene la peculiaridad de que su contenido es esté-  
ril, pueden encontrarse en cualquier parte del cuerpo.

2).- Candidiasis bronco-pulmonar.- La Candidiasis ---  
bronquial es más frecuente en la Isla de Ceylan, aquí existe un  
grupo de personas; los catadores de te, que padecen con mucha -  
frecuencia ésta enfermedad, (Castellani). El signo más caracterís-  
tico es la tos, la cual es muy molesta, el estado general ape-  
nas se encuentra afectado. El esputo por lo general es incoloro,  
mucoide, gelatinoso, y puede contener pequeños copos de color -  
gris, los cuales están compuestos en su mayoría por células en-  
gemación, además de residuos celulares.

La enfermedad puede curar espontáneamente, más a menu-  
do se prolonga durante varios años, con períodos de remisión y-  
exacerbación. Los signos corresponden a los de la bronquitis: es-  
tertores húmedos de pequeñas y medianas burbujas, en la base de  
los pulmones.

A los rayos X, se observa un engrosamiento peribron-  
quial, en ocasiones, se notará una imagen confusa peculiar de -  
fibrosis lineal. La cuál por desgracia carece de valor en el --  
diagnóstico definitivo, esta característica debe siempre ser --  
confirmada por medio de los cultivos.

**Candidiasis pulmonar.**- Es una forma grave y afortunadamente rara, como características tenemos las siguientes; elevación moderada del pulso y la temperatura, dolor pleural frecuente, y ocasionalmente derrame pleural. La tos es muy molesta, el esputo es mucoso, gelatinoso, llegando a contener pequeñas cantidades de sangre.

Durante el examen físico se sospechará de una infección bronconeumónica ó en placas diseminadas en dos ó más lóbulos, - en las áreas afectadas, se aprecian estertores húmedos de medianas burbujas, es rara la matidez y los cambios del murmullo vesicular. Cuando la infección es más grave, los signos físicos corresponden a los de una neumonía lobar ó confluyente, acompañada de matidez, aumento del fremito ó estremecimiento por palpación, voz cuchicheada, prolongación del ruido espiratorio, es ocasional oír estertores húmedos de medianas burbujas.

Algunas veces, las lesiones curan espontáneamente y en ocasiones completamente, cuando la recuperación no es completa, - puede surgir un cuadro de tipo bronquial crónico, en ocasiones - ocurre la muerte por proceso neumónico denso, al haber invasión de dos ó más lóbulos.

**Examen radiológico.**- Se observan sombras de tamaño y forma variable, parecidos a los de bronco-neumonía, con la diferencia, que en éste caso los límites son bien definidos, los vértices pulmonares no suelen estar afectados, pero casi siempre se

encuentran invadidos dos ó más lóbulos.

En placas tomadas con intervalos de una semana, se observa que mientras en algunas áreas se advierte notable mejoría, en otras, se nota que están diseminándose. En enfermedades francamente graves, éstas lesiones son masivas, densas, lisas, y a menudo afectan un lóbulo casi entero.

4).- Endocarditis.- En otro tiempo, era frecuente observarla como complicación de Endocarditis Bacteriana y cirugía cardíaca. Harrel y Thompson, se han dedicado a estudiar las infecciones micóticas que siguen a la endocarditis bacteriana, -- además Utz y col., las que siguen a la cirugía cardíaca. De los 21 pacientes estudiados por Utz, seis fueron tratados con antibióticos. Se utilizó el hongo no patógeno, Candida Guillermondi para provocar la enfermedad en perros, mediante insuficiencia aórtica inducida quirúrgicamente, administración de tetraciclina e inoculación endovenosa del hongo, en cambio, la enfermedad no se produjo, cuando se hizo la cirugía ó el tratamiento antibiótico exclusivamente, aún cuando se hizo la inoculación endovenosa.

5).- Meningitis y abscesos cerebrales fueron observados, después de la diseminación por vía hemática del microorganismo, dando síntomas similares, a los de infección cerebral y meningitis por bacilo tuberculoso.

6).- Infecciones en la córnea.- Mendelbatt, Roberts,

George y Manchester, observaron 3 enfermos, dos por *Candida Albicans* y el otro por *Candida Parapsilosis*. Kaufman y Levine, observaron *Candida* en esófago, cuando los datos de las radiografías eran los suficientes para sugerir el diagnóstico.

7).- Pielo-nefritis y cistitis.- Cada vez se encuentra con mayor frecuencia en éstos casos el hongo *Candida Albicans*. Sin embargo es importante hacer notar que, es necesario comprobar cuando menos mil colonias del hongo en la muestra - fresca de orina, antes de dar el diagnóstico de Candidiasis de las vías urinarias, cuando la prueba se hace por el método de placa.

Se han propuesto diversas teorías, para explicar el aumento en el crecimiento del microorganismo, y su capacidad para producir enfermedad, de ellas se mencionan solamente las principales:

- a).- Aumento directo del crecimiento por influencia del antibiótico.
- b).- Eliminación de los microorganismos que le hacen competencia, en la flora bucal normal.
- c).- Disminución de la resistencia del huésped, consecutiva a la infección original, tratamiento intenso y estados hiponutricionales.
- d).- Avitaminosis.- Debido a la supresión de los organismos que la sintetizan.

## EXAMENES DE LABORATORIO.

En los exámenes de laboratorio, no es frecuente observar leucocitosis, la velocidad de sedimentación es normal, más en la Candidiasis bronquial se encuentra aumentada, casi siempre hay reacción cutánea al hongo, más rara vez existen aglutininas en la sangre, el número de neutrófilos en formas graves de Candidiasis pulmonar se encuentra aumentado, con elevación de las cifras de eritrosedimentación, los pacientes con infección bronquial, dan una reacción cutánea positiva, la cual es muy intensa haciendo pruebas con vacunas de Candida Albicans. En infecciones difusas, ésta prueba puede ser negativa. En ocasiones se detectan aglutininas en sangre, en diluciones de 1:80 a 1:240, y otras veces no.

## INMUNOLOGIA.

Gran número de investigaciones han estudiado, el efecto antifungoso del suero humano, sobre el crecimiento de Candida Albicans. Se comprobó que el efecto, no era debido a la presencia de un bajo nivel de anticuerpos en el suero, a causa de un estado de portador endógeno de éste hongo, sino a un factor inespecífico de quelación del hierro por el suero. Este factor es bajo ó no existe, en el caso de la diabetes, linfoblastomas y otras enfermedades. En la enfermedad generalizada, se describen anticuerpos, para antígenos solubles de Candida Albicans.

Es por ésto que hay que tener en cuenta la hipersensibilidad a *Candida*, en los pacientes con éste tipo de infección. Ya que se ha demostrado que los pacientes con Candidiasis crónica, carecen de un factor anticandidal.

La invasión celular indica que las células epiteliales pueden carecer de otros factores para combatir éste hongo, también cabría la posibilidad, de que éstas personas produzcan sustancias, que favorezcan la proliferación candidal.

Se ha logrado inmunizar activamente a animales de laboratorio, logrando que sean resistentes a la Candidiasis diseminada.

**Serología.**- Dada la constante presencia de *Candida Albicans*, en la boca del adulto normal, se utiliza poco la prueba serológica con fines diagnósticos. Más un título elevado en forma repetida, podría despertar sospecha de Candidiasis diseminada, en pacientes con enfermedades debilitantes. Kozim, Taschdjian y col., han comprobado en valor y utilidad, de una prueba de precipitina contra un extracto citoplásmico de éste hongo, en casos de Candidiasis generalizada.

Un carbohidrato extraído del grupo A de *Candida Albicans*, el cual da una reacción positiva de precipitación, con los sueros al 50% de personas normales y el 70% de los sueros de personas con Candidiasis mucocutánea.

Las pruebas serológicas han permitido a Tsuchiya y -

col., diferenciar a éstos microorganismos por su estructura antigénica. Hasenclever y Mitchell, comprobaron que *Candida Albicans* pertenece a dos grupos, A y B, los cuales son distintos, - en sus pruebas de aglutinación. El grupo A, parece ser idéntico a *Candida Tropicalis*, y el B a *Candida Stellatoidea*. Sin embargo los dos grupos antigénicos son idénticos respecto a:

1.- Formación de clamidosporas.

2.- Reacciones de fermentación y asimilación de carbohidratos.

3.- Pruebas de patogenicidad en animales.

Los anticuerpos frente al hongo, dan lugar a algunas reacciones cruzadas, con otras especies de *Candida*, incluso con algunas de *Criptomococcus*, levaduras de ascomicetos verdaderos como: *Saccharomyces*, *Torulopsis glabrata* y con *Salmonella* Cl.

Summers y col., Furezawa y col., Hasenclever y Mitchell, han estudiado la reactividad serológica de los polisacáridos de superficie.

Akiba y col., creen que la prueba de precipitina, hecha con un polisacárido puro, extraído de los cultivos de especies de *Candida*, proporciona resultados más exactos que la aglutinación, aportan pruebas en el sentido de que la fracción polisacárida de *Candida Albicans*, da pruebas cutáneas más exactas - que la célula entera. Es posible que un exceso de la fracción polisacárida antigénica del microorganismo, pudiera desbaratar-

el mecanismo de defensa del paciente.

Hiatt y Martin (1946), estudiaron un paciente con infección pulmonar con *Candida Albicans*, que mostró ser rápidamente progresiva. Esta enferma, presentaba ausencia de aglutininas en la sangre, la reacción cutánea resultó negativa, pero dió -- reacción inmediata positiva a los 20 minutos a una prueba intracutánea con suero inmune de conejo, el cual contenía un título elevado de aglutininas, se descartó la hipersensibilidad al suero de conejo, mediante una inyección de prueba con 0.1 ml., - de una dilución de 1:10 por vía subcutánea, se fueron aumentando las fracciones de 0.1 hasta llegar a 1.0 ml., se repitieron las series de hiposensibilización, dos veces durante el mes siguiente.

Después de la curación, el paciente aglutinaba *Candida Albicans* en dilución de 1:80, la reacción cutánea fué positiva. Los autores concluyeron que ésta paciente tenía un exceso de antígenos en los tejidos, antes de la administración del suero de conejo. Por desgracia la aparición y desarrollo de la enfermedad del suero, a partir del suero de conejo, limita la duración de éste tipo de tratamiento.

El descubrimiento de Hiatt y Martin, (1946) respecto a un tipo anérgico de reacción, a infecciones por *Candida Albicans*, sugirió que algunos de los niños con *Candidiasis generalizada*, podrían tener el mismo defecto inmunológico.

Solamente se ha podido estudiar un paciente de éste tipo, el cuál estuvo enfermo durante 5 ó 4 años. Los estudios electroforéticos revelaron, cantidad normal de gamma globulina en el suero, además ausencia de aglutininas en el mismo.

La vacuna autónoma preparada a partir de su propio cultivo de *Candida Albicans*, resultó con cutirreacción negativa, en cambio dió roncha positiva a los 20 min., con suero humano que contenía aglutininas contra *Candida Albicans*, pero con reacción negativa a suero humano libre de aglutininas. La paciente fue tratada con Anfotericina B, por vía local y endovenosa, además recibió una serie de inyecciones de suero humano, el cuál contenía aglutininas contra el hongo. La dosis inicial fué de 0.1 ml., después se fué incrementando por fracciones de 0.1 ml., hasta llegar a 1.0 ml., después de lo cuál se continuó el tratamiento con ésta dosis, durante todo un período. Esta paciente nunca produjo aglutininas por si misma, ni desarrolló reacción cutánea positiva, recayendo al cesar el tratamiento. Se nota claramente las ventajas del suero humano con aglutininas, sobre el suero de conejo, ya que el tratamiento puede continuar durante meses si es necesario, sin el peligro que la enfermedad del suero se presente. Ninguna prueba nos permite concluir, que el suero humano desempeñara algún papel en la mejoría del paciente, ya que bien se podría pensar, que la recuperación pudo depender del tratamiento con la Anfotericina B solamente. Es interesante

señalar, que entre 30 y 60 min. después de la primera inyección de suero, las lesiones tomaron un color rojo brillante, éste fenómeno desapareció después de administrar grandes dosis.

En estudios subsiguientes de ésta misma enferma, Buckley y col., demostraron un defecto específico de inmunidad celular. Para ello se administraron leucocitos de su padre en forma pasiva, y de inmediato recuperó su capacidad para dar reacciones demoradas a sus propios antígenos y a otros como Candida. La mejoría clínica fué espectacular, pero persistió una leve queilosis.

#### DIAGNOSTICO.

Es importante hacer notar que, a pesar de algunos casos de Candidiasis bucal, se diagnosticaron claramente en base de su aspecto clínico, especialmente las de aspecto papuloso ó queratósico, el diagnóstico definitivo únicamente quedará bien establecido, mediante los exámenes de laboratorio.

Entre éstos tenemos el examen directo, que es la forma más inmediata de diferenciar éste hongo, de las lesiones causadas por dermatofitos comunes, dermatitis seborrérica, dermatitis por contacto, esprue y lengua geográfica. En los pacientes con Candidiasis el diagnóstico depende de las características clínicas de las lesiones.

El diagnóstico de Candidiasis bronquial y pulmonar, de

be formularse con gran cautela, ya que al aislar *Candida Albicans* en el esputo, no justifica un diagnóstico de candidiasis, ya que el hongo puede crecer en la saliva de individuos normales, y su presencia pudiera ser una coincidencia. Además *Candida Albicans* figura como un invasor secundario en enfermedades bronco-pulmonares.

Sherewsbury, analizó muchos casos de individuos en la literatura, y concluyó, que la mayor parte de ellos eran "muquet secundario" de los bronquios. También se ha comprobado que, *Candida Albicans* actúa como invasor secundario; en carcinoma -- primario del pulmón, tuberculosis pulmonar, neumonía por neumococos, asma, absceso pulmonar, bronquioectasia, e insuficiencia cardiaca congestiva. La presencia de: aglutininas, precipitinas ó anticuerpos fijadores del complemento, solamente prueba que el microorganismo ha invadido algún tejido u órgano de la economía, pero no establece si la infección es primaria ó secundaria. La presencia de anticuerpos en el suero, confirma la certeza del diagnóstico, pero su ausencia no descarta candidiasis.

#### TRATAMIENTO.

Las lesiones locales son tratadas convenientemente -- eliminando la causa, para ésto es necesaria; la identificación y la corrección de los factores predisponentes ó desencadenantes locales ó generales. Esto comprende a grandes rasgos:

Mejorar la dieta, eliminando casi por completo los -  
carbohidratos, aumentar la resistencia general del paciente, --  
con una dieta rica en vitaminas, modificar un tratamiento con -  
antibióticos ó esteroides, tratar con terapia adecuada los - --  
trastornos metabólicos, corregir dentaduras mal ajustadas, tra-  
tamiento profiláctico, controlando la higiene bucal, con la de-  
sinfeción y limpieza de todas las áreas de la boca.

La Nistatina, la Anfotericina B, tienen varias presen-  
taciones comerciales; unguentos, suspensiones, cremas, gargaris-  
mos y tabletas.

La Nistatina es muy eficaz para el tratamiento local,  
pero tiene la desventaja que cuando se administra por vía bucal  
es de un sabor amargo, además las inyecciones intramusculares -  
producen a veces abscesos locales, Harrell y Thompson, lograron -  
curar un caso de endocarditis por *Candida Albicans* con éste pro-  
cedimiento.

Existen en la bibliografía, datos que indican que és-  
tos dos antibióticos poliénicos, lesionan las membranas de los-  
hongos, quizá formando complejos con los esteroides, los cuales-  
se encuentran formando parte de la membrana. Es por eso que los  
esteroides protegen a los hongos de los antibióticos. Wright, --  
Graham, y Steinberg, informaron curación de 122 pacientes con -  
lesiones bucales, mediante la aplicación de Nistatina, los re-  
sultados fueron excelentes, excepto en 5 individuos, las lesio-

nes fueron bucales, vaginales y cutáneas.

Se registraron 42 casos de sujetos con lesiones bucales que recibieron Nistatina, en forma de trociscos, tabletas, polvos, cápsulas, pomadas y solución, los resultados fueron equiparables en todos los casos. Cuando la infección se instaló en los pliegues interdactilares, se aplicó la droga en forma de pomada, los resultados no fueron los satisfactorios, mientras que cuando se aplicó solución en éstas áreas, los resultados fueron excelentes.

Ya que "per leche", es una deficiencia de complejo vitamínico B, la terapia a seguir, consistirá en la administración de tabletas de levadura de cerveza, dos ó tres tabletas cada 12 ó 8 horas, ó sea 15 gramos diarios, durante un período prolongado de tiempo. También se pueden administrar 10 mg. diarios de rivo flavina: ó 50 mg. de piridoxina. Tan pronto como el nivel de vitamina B es restaurado, las grietas desaparecen, la exudación cesa, y los microorganismos levaduriformes desaparecen ó vuelven a ser saprofiticos.

Cuando hay impetiginización secundaria (como es frecuente en niños), un antibiótico local como tirotricina, es efectivo.

Carter, Jones y col., han ensayado Nistatina y Anfotericina B, en el tratamiento de vaginitis candidal, sus resultados no fueron tan efectivos, como en los últimos 10 años, con -

el gel de propión. Esta substancia fué utilizada por Alter y -- col, (1947); se trata de una jalea simple, a base de Bentonita, que contiene calcio y propionato de sodio. Produce alivio inmediato y curación en un 80% de las mujeres no grávidas, es frecuente la recaída, en pacientes con cualquier tipo de tratamiento con antibióticos. Los pacientes que la presentan exhiben una sensibilidad manifiesta a la vacuna autógena ó de depósito, preparada con Candida Albicans. Estos pacientes podrían mejorar -- después de hiposensibilización.

Littman, ha llegado a la conclusión de que existen cepas de Candida Albicans, resistentes a ambas drogas, lo cuál sería una razón para preferir el uso del gel de propión, ello lo demostró aislando cepas a las cuales no les afectó la presencia de éstos antimicóticos, como explicación se da, que el tratamiento prolongado puede inducir la aparición de cepas resistentes, como ha sucedido en el caso de los antibióticos.

Los casos moderados de Candidiasis bronquial, pueden responder adecuadamente al yoduro de potasio.

Los pacientes hipersensibles deben ser sometidos a hiposensibilización antes de prescribir los yoduros.

Los pacientes con enfermedad pulmonar progresiva, infección sanguínea, endocarditis, pielitis y meningitis, deben recibir Anfotericina B, por vía endovenosa, tal como se explicó en capítulos anteriores.

## MATERIALES

24 ratas raza Wistar.

Dilución de Candida Albicans, en una concentración de  $6 \times 10^8$  células por ml. en fase de levadura.

Eter etílico. Mca. J.T. Backer Lote # M-28457.

## Alimentos:

Mca. Purina.

Laboratorio.- Chow, S.A.

Mca. Alimento preparado para ratas.

Laboratorio.- Jorman Internacional, S.A.

Agua destilada por vaporización.

Laboratorio. Theissier. S.A.

## Clorhidrato de Tetracilina.

Mca. Tetracilina Kan,

Laboratorio.- Productos Kan, S.A.

Lote # A5-15

Mca. Tetracilina Erba

Laboratorio.- Carlo Erba de México, S.A.

Lote # 1976-9396.

Mca. Tetracilina Carlets.

Laboratorio.- Productos Vitaminicos Carlets, S.A.

Lote # F.H. -179.

Mca. Tetracilina P.W.

Laboratorio.- Par Werke-Dumex.

Lote # 18375.

Mca. Tetrex.

Laboratorio.- Bristol de México,  
S.A.

Lote # E L 608

Mca. Tetraciclina Laticiclina Laboratorio.- Latinmex, S.A.

Lote # T H 337

#### MEDIOS DE CULTIVO.

Agar Selectivo Nickerson para - Laboratorio.- Merck.  
Candida.

Lote # 4121976

#### Soluciones

Solución neutra fijadora de formalina.

Solución de Hematoxilina de Harris.

Solución de Eosina.

Solución de Alcohol-Acido.

Solución de agua amoniacal.

Solución de Coleman-Feulgen.

Solución de reactivo de Schiff.

#### Soluciones para Microbiología.

Solución de cristal violeta.

Solución de safranina.

Solución de alcohol-acetona.

Solución de Lugol.

Soluciones para deshidratación e inclusión.

Cristalería.

Instrumental y accesorios quirúrgicos.

Aparatos.

Histokinette. Mca. American Optical. Tipo E-7326

Microtomo. Mca. Jung ag Heidelberg con motor, No. 24576.

Afilador de cuchillas. Mca. American Optical, modelo 925.

Tina para baño María. Mca. J. M. Ortiz, No. D.G.E. 774.

Estufa eléctrica de plancha. Mca. Temco, modelo Hot Plate.

Reloj cronómetro. Mca. Gilbert.

Microscópio. Mca. Carl Zeiss, modelo 4004349

## M E T O D O S .

Se utilizaron 24 ratas raza Wistar, machos y hembras, con un promedio de peso de 300 grms., las cuales fueron separadas por sexo, divididas en 2 grupos experimentales con características similares, con 12 ratas cada uno, las cuales se alojaron en jaulas conteniendo dos ratas cada una.

Posterior a su clasificación, se les administró una solución acuosa de Clorhidrato de Tetraciclina, en una concentración de 0.1% para uno de los grupos y de 0.01% para el otro, los animales tomaron ésta solución en el agua de beber a discreción. Se preparó una dilución de Candida Albicans, la que fué aislada de boca de seres humanos en una concentración de  $6 \times 10^8$  células de levadura por ml., con la cuál, los días 7o. y 9o. y llavo. del experimento se les inoculó sobre la superficie dorsal de la lengua, con 0.5 ml. de la solución, previamente se tomó un cultivo a las mismas, para saber si el microorganismo ya existía, además de un frotis directo, con lo cuál fué posible comprobar que el microorganismo se encontraba ausente de la boca de las ratas en ese momento.

El hongo fué aislado por el personal del Dpto. de Microbiología de las bocas de seres humanos, por medio de cultivos en medio específico, los cuales fueron hechos tomando la --

muestra de las lesiones sospechosas, con un hisopo estéril,-- con el cuál se inoculó el medio de cultivo contenido en un tubo inclinado. De los cultivos con desarrollo se tomó una muestra, la cuál se examinó en un frotis teñido con la técnica de Gram, al observarlo al microscopio, se encontraron las clásicas formas de levadura, posteriormente la identificación por el método de Bioquímica, el cuál ya fué descrito en el capítulo II, haciéndose posteriormente otra resiembra, con el resultado de ella se hicieron diferentes diluciones, escogiéndose la de  $6 \times 10^8$  células/ml. en la forma de levadura, resultando la cepa con un alto grado de pureza, en su contenido de levaduras.

La concentración de la solución acuosa de Clorhidrato de Tetraciclina, no se modificó durante el curso del experimento.

Los animales fueron sacrificados el día No.365 del experimento, la técnica usada fué el descerebramiento, posteriormente fueron decapitadas, incluyéndose la cabeza en solución neutra fijadora de formalina durante 7 días, después de los cuales, la lengua fué separada, vuelta a incluir en la solución, ahora durante 72 horas mas, posteriormente fueron cortadas a la mitad, colocadas en el Histokinotte para su deshidratación e inclusión en cera, posteriormente se hicieron cor

tas de aproximadamente 5 micras de ancho, que fueron teñidas--  
con la Técnica del Acido Periódico de Schiff, y Hematoxilina--  
Eosina, la observación de los mismos se hizo con microscopio--  
de luz.

## R E S U L T A D O S .

Durante el curso del experimento, el hongo fué recogido en forma constante de la superficie dorsal de la lengua, por medio de frotis directos y cultivos en medio específico - para *Candida Albicans*, se tomaron 6 frotis y 6 cultivos a cada animal, durante el curso de la investigación, los frotis-- al ser observados al microscopio, siempre revelaron la presencia de células de levadura, en ésta forma fué encontrado con mayor frecuencia, que en la fase de micelio, ya que en ésta - rara vez fué cuando se le encontró. Los cultivos en medio específico, no siempre aparecieron con resultado positivo, ello incluye una rata que, nunca logró dar un solo cultivo con desarrollo, mas en sus frotis, siempre estuvo presente el hongo en su fase de células de levadura.

A los 90 días del inicio del experimento, 3 ratas -- mostraron una lesión con las siguientes características: Situada en el tercio posterior en la línea media de la superficie-- dorsal de la lengua, color blanco-grisáceo, superficie lisa, -- elevada, consistencia dura, forma redondeada, de límites bien definidos, no desprendible y aparentemente no dolorosa (¿Leucoplasia ó hiperqueratosis?), mas en el momento del sacrificio-- no se encontraban presentes, y los cortes histológicos, no presentaban un grado mayor de alteraciones celulares en compara--

ción de los demás.

Al mismo tiempo en otra de ellas, sobre la superficie dorsal, tercio posterior, parte media, presentó una superficie roja, libre de papilas, de límites perfectamente bien--definidos, al igual que en las anteriormente mencionados no--se encontraba al momento del sacrificio, y las alteraciones--vistas al microscopio de luz, no presentaban una diferencia--muy significativa con los demás cortes pertenecientes a otras ratas. Sin embargo todos los animales, presentaron en forma--casi constante, una zona de color rojo brillante, sin papilas, lisa de límites no bien definidos, fácilmente sangrante y al--parecer dolorosa, los cultivos hechos a éstas lesiones, die--ron por resultado cultivos con desarrollo abundante y rápido, siendo que normalmente, los cultivos se desarrollaban de 3 a 4 días, en los tomados de éstas lesiones, su desarrollo era en las 24 horas siguientes, el microorganismo que se logró identificar - como causante de éstas lesiones fue la *Candida Albicans*, con la - característica de que éstas lesiones remitían y volvían a aparecer, con intervalos irregulares, a partir del día 30 del experimento.

Los cambios observados a nivel del epitelio y el corium, de la lengua de las ratas, fueron muy parecidos en todas ellas, estos cambios consistieron en:

Pérdida de papilas linguales normales, aparición de

una superficie plana de epitelio hiperqueratósico, algunas veces observándose acantosis, el estrato granuloso, se observa prominente, el microorganismo fué encontrado penetrando al epitelio a diferentes niveles, mas nunca se le encontró penetrando al estrato espinoso subyacente, la forma de levadura no fué encontrada en posición intracelular, su posición siempre fué extracelular.

Los estratos profundos, mostraron una desorganización y desarreglo bastante marcados, los clavos epiteliales fueron anchos, cortos y romos, en frecuentes ocasiones se encontraron, áreas donde éstos estaban ausentes, siendo la unión epitelio-corium subyacente, completamente plana, éstas características áreas, coinciden la mayoría de las veces con las superficies planas, libres de papilas encontradas en la superficie, la membrana basal se encuentra abundantemente infiltrada por células inflamatorias del tipo mononuclear.

Cuando se observó al micelio penetrando al epitelio, se notó un excesivo engrosamiento de la capa de queratina del mismo, presencia de acantosis, mostrándose gran actividad mitótica, la superficie del epitelio se observa plana, libre de papilas, con abundante infiltración de la membrana basal por células inflamatorias de tipo mononuclear.

La presencia de la forma de levadura en el epitelio,

no mostró jamás, los exagerados cambios que fueron observados, cuando la forma micelial es la que se encontraba presente.

A nivel del estrato basal se encontraron cambios --- atípicos, observándose las células alargadas en su citoplasma, el núcleo se vió también alargado, de forma más bien ovoide, -- cómo característica especialmente notoria, se observó separa-- ción entre las células basales, en las áreas con éstas carac-- terísticas, fué posible observar que eran las que contenían ma yor número de células inflamatorias de tipo mononuclear, lo--- grándose observar infiltración de las mismas al epitelio, la infiltración y separación de las células epiteliales fué mas-- marcada a nivel de las papilas en proceso de degeneración ó ya casi por desaparecer.

A diferentes niveles, se pudieron observar células-- grandes, de citoplasma claro (incoloro), a las cuales no fué-- posible observar el núcleo.

La apariencia celular mostró diferencias bastante -- marcadas, con cambios atípicos consistentes en: Núcleo alargado, agrandado, de forma ovoide, a veces hiperromático, encontrándose en ocasiones con mitósis atípicas.

## D I S C U S I O N .

Las opiniones de investigadores, referidas en capítu los anteriores, estuvieron basadas en estudios de material humano y en experimentos hechos con ratas, no está debidamente-- aclarado que los resultados obtenidos de éstos experimentos y-- observaciones, sean debidos exclusivamente a la presencia del-- microorganismo, ya que existen otros factores de naturaleza di-- versa, con mecanismos de acción bastante complejos y aún no de-- bidamente aclarados y entendidos, los que, trabajando con mate-- rial humano, no es posible excluirlos, y casi tampoco se tiene conocimiento de su existencia, sin embargo, en los experimentos con animales, es posible reducirlos a un mínimo.

Anteriormente la Candidiasis, ha sido inducida expe-- rimentalmente en boca de ratas tratadas con tetraciclina (RU--- ssell y Jones, 1971 1973 a, 1973 b, 1973 c, y 1975; Jones y --- Adams, 1970; Russell y Lay, 1973.), encontrándose que, la infec-- ción no ha sido influenciada por intentos a reducir el flujo--- salival (Jones y Adams, 1970), pero que una dieta rica en carbo-- hidratos, parece favorecer la presencia y tal vez la capacidad-- infecciosa del microorganismo (Russell y Jones, 1973).

Cuando la boca de las ratas, fué infectada artificial-- mente con Candida Albicans, y la infección fué promovida por la administración del Clorhidrato de Tetraciclina, ocurrió pérdida

de la estructura papilar normal de la superficie dorsal de la lengua, apareciendo una superficie plana de epitelio hiperqueratósico, aunque los elementos miceliales del microorganismo-- nunca penetraron más profundo que el estrato córneo (Russell y Jones, 1973 b), cuando el micelio se acercó al estrato espinoso, se produjo una "indentación" (Russell y Jones, 1973 c). Las células mostraron una desorganización y desarreglo, núcleo --- alargado, la relación núcleo-citoplasma se observó incrementada, notándose un alargamiento de las células que componen el estrato basal, las mismas que se notaron separadas, con núcleo grande, algunas veces se observó hiperchromatismo, con mitosis atípicas, encontrándose algunas a nivel del estrato espinoso. El estrato granuloso prominente, con abundantes gránulos de -- queratohialina, los cuales nos dan la confirmación de por qué la abundante producción de queratina. Los clavos epiteliales-- fueron encontrados anchos, cortos, romos, notándose en algunas áreas, que éstos desaparecían por distancias bastante largas, dando como consecuencia una unión epitelio tejido conectivo -- subyacente fuera completamente plana, éstas regiones, la mayoría de las veces se encontraban en relación con las superfi--- cios planas externas.

La característica infiltración de la membrana basal, por células inflamatorias de tipo mononuclear, se mostró mas -

abundante a nivel de las áreas donde las células basales se-- mostraron alargadas y separadas, lo que significa que la presen-- cia de éstas, es debida a algún tipo de cambio dentro de la-- composición y organización del tejido, mas no es posible dife-- renciar si es debido a la presencia del microorganismo única-- mente ó a las alteraciones celulares.

Los resultados obtenidos, confirman los que otros-- investigadores han encontrado y publicado anteriormente, y -- nos dan una idea un poco mas clara de los cambios que ocurren a nivel de microscopio, y que resultan de la penetración del-- hongo al tejido, ello nos induce a pensar que su presencia y-- la aparición de las llamadas lesiones pre-malignas, puede te-- ner una significancia importante como factor de producción,-- ya que éstos cambios primarios, pueden ser agravados por fac-- tores hasta ahora desconocidos, los que únicamente pueden ser considerados inherentes al sujeto afectado, haciendo hincapié en la característica antes descrita, que el microbio, por me-- dio de sus productos, ya sean éstos parte de su metabolismo-- ó como productos de la degeneración del micelio intra-epite-- lial, inducen al epitelio a presentar cambios atípicos, sien-- do el mas extraordinario, el que muestra las células basales-- elongadas y separadas y la infiltración de las células infla-- matorias en los estratos profundos, ésto nos induce a pensar--

que la candidiasis crónica no sólo puede provocar cambios primarios, los que pueden desarrollar lesiones premalignas, sino también agravar una lesión ya existente.

## CONCLUSIONES.

I.- Si por intermedio de un antibiótico de amplio espectro, como el Clorhidrato de Tetraciclina, se reduce la cantidad de microorganismos que le hacen competencia, el hongo se reproduce sin las limitaciones normales y provoca una enfermedad llamada "Candidiasis".

II.- En estas condiciones, el hongo provoca (desencadena) cambios no solo en el epitelio, sino también en el tejido conectivo subyacente.

III.-El microorganismo no penetra más profundo que el estrato córneo, ya sea en la fase de levadura ó de micelio.

IV.- Los cambios inducidos en el epitelio y tejido conectivo son los siguientes:

a).- Pérdida de las papilas linguales, con la aparición de una superficie plana hiperqueratósica.

b).- Aparición de un estrato granuloso prominente, lo que explica el incremento en la producción de queratina.

c).- En ocasiones se puede observar acantosis.

d).- Existe un marcado desarreglo y desorganización en los estratos profundos.

e).- La relación núcleo-citoplasma se encuentra incrementada.

f).- Los núcleos se observan alargados y en ocasiones hipercromáticos.

g).- Es posible observar atipia en algunas de las mitosis encontradas.

h).- Las células basales se encuentran alargadas y separadas.

i).- La membrana basal, se encuentra abundantemente infiltrada por células inflamatorias del tipo mononuclear.

j).- La mayor concentración de células mononucleares, se observa a nivel de las regiones donde las células basales, se muestran alargadas y separadas, además de donde el micelio del hongo penetra al epitelio y provoca alteraciones más marcadas.

k).- Es posible observar áreas donde las células inflamatorias penetran a los estratos profundos del epitelio.

l).- Clínicamente fué posible observar zonas blancas-hiperqueratóticas durante el curso del experimento, más al final del mismo no se encontraron.

VI).- Los cambios microscópicos antes descritos, aunque bastante marcados, no lo son tanto como los observados en seres humanos con lesiones pre-malignas, como leucoplasia y carcinoma "in situ".

VII).- Parece ser que, el microorganismo por sí solo es difícil que llegue a desencadenar una lesión pre-maligna ó un verdadero carcinoma, por lo que es posible deducir que cuando se le encuentra, puede limitarse a ser un factor co-causal ó agravante (desencadenante) de la lesión. Al mismo tiempo, es -

posible provoque los cambios primarios, y éstos sigan su curso hasta convertirse en una lesión pre-maligna ó un carcinoma, por factores desconocidos, únicamente atribuibles al sujeto afectado, en éste aspecto actuaría como un factor desencadenante primario.

VIII).- El compendio de antecedentes, materiales, y métodos, resultados, discusión y conclusiones, presentado en ésta tesis, no es una prueba concluyente en la investigación de la relación "Candida Albicans-Lesiones pre-malignas", sino que deja el campo abierto, para que los interesados en éste tema, - sigan investigando, ya que por desgracia no se ha demostrado ninguna prueba concluyente en éste sentido.

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

- 1.- Cawson, R.A.: Chronic Oral Candidiasis. Oral Surgery 22,-  
582-591, 1966.
- 2.- Cawson, R.A.: Leucoplakia and Oral Cancer. British Journal of Dermatology 62: 610-615, 1962.
- 3.- Cawson, R.A. and T. Lehner.: Chronic Hiperplastic Candidiasis- Candidal Leucoplakia. British Journal Of Dermatology 80: 9-16, 1968.
- 4.- Jepsen, A. and Winter, J.E.: Micotic Infection in Oral--  
Leucoplakia. Acta Odontológica Escandinavica 23: 239-259,  
1965.
- 5.- Jones, J.H. and Russell, C.: The effects oral inoculation of yeast and mycelial phases of Candida Albicans in rats fed on normal and Carbohydrate rich diets. Archs.-  
Oral Biol 18: 409, 1973a
- 6.- Jones, J.H. and Russell, C.: Effects of Oral inoculation of Candida Albicans in tetracycline treated rats. Journal Medical Microbiol 6: 275-279, 1973b.
- 7.- Jones, J.H. and C. Russell.: Experimental Oral Candidiasis in weaning rats. Journal of Dental Research 52: 182, 1973.
- 8.- Jones, J.H. and Russell C.: Journal Clinical Pathology 26: 390, 1973.
- 9.- Jones, J.G. and Russell, C.: Histology of Chronic Candidal infection in rat's tongue and it's relevance to Human --  
Oral Leucoplakia. British Dental Journal. 1973.

- 10.- Jones, J.H. and Russell, C.: Candidal Infection and Leucoplaxia. British Dental Journal of Oral Surgery 11: 177-180, 1973.
- 11.- Lehner, T.: Immunopathology of Oral Leucoplaxia. Journal of Cancer 24: 442-446, 1970.
- 12.- Lehner, T. British J. Dent. 16: 539-545, 1964.
- 13.- Lehner, T.: Qualitative Assesments of Lymphocytes and Plasma Cells in Leucoplaxia, Candidiasis and Lichen Planus. Journal of Dental Research 50; No. 6: 1661-1665, 1970.
- 14.- Lehner, T.: Iatrogenic Oral Candidosis. British Journal--of Dermatology, 1970.
- 15.- Mehta, F.S. et al.: Clinical and Histological study of --- Oral Leucoplaxia in relation to habits.
- 16.- Montes, Leopoldo F. and Wilborn Walter H.: Ultrastructural Features of the Host-Parasite relationship in Oral--Candidiasis. Journal of Dermatology, 1349-1356, 1968.
- 17.- Pindborg, J.J., Roed-Petersen, B., and Renstrup, G.: Roll--of smoking floor of the mouth Leucoplaxia. Journal of --- Oral Pathology, 1972.
- 18.- Pindborg, J.J.: Oral Leucoplaxia. Aust. Dental Journal -- 16: 83-93, 1971.
- 19.- Renstrup, Grete.: Ocurrence Of Candida in Oral Leucopla--kia. Acta Pathologica et Microbiologica Escandinavica, --- Section B-78, 421-424, 1970.
- 20.- Roed-Petersen, B. et al.: Topografical classification of-- Oral Mucosa suitable for electronic data processing. It's-

application 560 Leucoplakias. Acta Odontologica Scandinavica 27: 681-695, 1969.

- 21.- Russell, C. and Jones, J.H.: Histology of chronic Candidal infection of the rat's tongue. Journal of Oral Pathology-113: 97-100, 1974.
- 22.- Shaffer William G., Waldrom Charles A. Clinical and Histopathological study of Oral Leucoplakia. Surgery, Gynecology and Obstetrics, 112: 411-420, 1961.
- 23.- Shear M.: Eritroplakia of the mouth. International Dental Journal 22: 460, 1972.
- 24.- Smith, C.J.: Oral Leucoplakia. Nursing Times, May 20, 1976.
- 25.- Tah-Yee-Chen and Webster, John.: Study of Oral Moniliasis in patients with head and neck Cancer, during radiotherapy. Cancer 34: 246-249, 1974.
- 26.- Williamson, D.M.: Chronic Hyperplastic Candidiasis and --- Squamous Cell Carcinoma. British J. of Dermatology 81: -- 124-125. 1969.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS.

- 1.- Armed Forces Institute of Pathology. "Manual of Histologic Staining Methods". Third Edition. Mc. Graw Hill Book-Co.
- 2.- Burket, Lester W. "Medicina Bucal". Sexta Edición. 1973.
- 3.- Burrows, William. "Tratado de Micología". Décimo novena-- Edición, 1969.
- 4.- Carpenter Philip L. "Microbiología". Segunda Edición, 1961.
- 5.- Conant Norman F. "Micología". Tercera Edición, 1972.
- 6.- Figueroa C. Edna. "Lesiones blancas de la mucosa bucal,-- aspecto clínico, histopatológico y terapéutico". Tesis pa ra licenciatura. 1976.
- 7.- Gorlin, Robert J. , Goldman, Henry M. "Patología Oral" Te rc er a Edición, 1973.
- 8.- Grinspan, David. "Enfermedades de la boca" 1970.
- 9.- Jawetz, E., Melnick J.L. and Adelberg, E.A. " Review of -- Medical Microbiology" 11 th. Edition. 1974.
- 10.- Moss S., Emma. "Atlas of Medical Micology" Second Edition, 1960.
- 11.- Nolte, William A. "Oral Microbiology with basic Microbiolog y and Immunology". Third Edition. 1977.

- 12.- Perez T., Rey, Correa, Pelayo, Arias-Stella, Javier. "Texto de Patología". Segunda Edición. 1976.
- 13.- Findberg, J.J. "Atlas de Enfermedades de La Mucosa Oral. 1970.
- 14.- Ponce M., L. Ruth. "Leucoplasia Candidal". Tesis para Licenciatura. 1976.
- 15.- Robbins, Stanley. "Tratado de Patología". Tercera Edición. 1968.
- 16.- Shaffer, William G., Hine, M.K., Levy B.M. "Oral Pathology (a text book)". Third Edition. 1974.
- 17.- Zegarelli, Edward V. "Diagnóstico en Patología Oral", 1972.

Al C.D. Juan Francisco Salcido García:

Gracias por sus enseñanzas.

Al Personal científico de la División de Investigación,  
de la Facultad de Odontología, U.N.A.M.

Q.F.B. Fernando Franco Martínez.

Encargado de la Sección de Microbiología de  
la misma División.

C.D. Julia Urdiales Ramos.

Encargada del Departamento de Histo-  
patología de la División de Investi-  
gación. F.O., U.N.A.M.

Gracias por la ayuda técnica y mo-  
ral prestada durante el curso de  
la investigación.

A todas aquellas personas que con su apoyo y ayuda, ali-  
viaron los obstáculos que se presentaron durante el cur-  
so de mis estudios de Licenciatura.