# CAPITULO I

# INTRODUCCIÓN

## 1.1 Generalidades

A lo largo de la vida los individuos adquieren una flora microbiana que coloniza su piel y mucosas y que se encuentra en equilibrio con su organismo, sin embargo al ingresar al hospital esta flora microbiana se ve alterada por diferentes factores lo cual representa una puerta abierta para infecciones. Estos factores pueden ser por ejemplo intervenciones quirúrgicas, uso de catéteres y sondas foley. Otro factor que debilita al paciente es el uso de antibióticos y esteroides, así como ciertas condiciones como neutropenia, inmunosupresión; etc [1].

La estancia hospitalaria permite que estos microorganismos presentes en la flora microbiana se tornen infecciosos para el paciente, pasando a otros compartimientos por ejemplo del tracto gastrointestinal a la uretra y posteriormente a la sangre. Estas infecciones intrahospitalarias aumentan la morbilidad y mortalidad del paciente por sobre su enfermedad de base, lo que se ve reflejado en los costos en la atención de cada paciente, y por supuesto demerita la calidad de la atención médica especialmente en hospitales de enseñanza [2,3].

Por los factores que ya se han mencionado se entiende que los agentes causales provienen de la propia flora. Dentro de los principales agentes

causales de estas infecciones se encuentran *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, bacilos gram negativos, (enterobacterias), microorganismos anaerobios, y algunos hongos.

**1.2 Epidemiología de las micosis nosocomiales**

Durante la década de los sesenta gradualmente las levaduras han ido pasando de ser un comensal a un patógeno oportunista ocupando el cuarto lugar de las septicemias primarias de 1980 a 1989, implicando esto un aumento de alrededor del 500% con respecto a la década de los setenta, teniendo una mortalidad del 57% y una mortalidad atribuible del 38%, representando aproximadamente el 8% del total de las infecciones intrahospitalarias [3,4].

La proporción de infecciones intrahospitalarias reportadas debido a micosis aumentó de 6% en 1980 a 10.4% en 1990 siendo los mayores sitios de infección heridas quirúrgicas que pasó del 1.5% al 5.1%, infecciones del tracto urinario del 6.7% al 18.7% e infecciones sanguíneas de 5.4% a 9.9%. Dentro de los principales agentes causales de infecciones micóticas tenemos a hongos como *Aspergillus spp*, *Mucor spp*, *Rhizopus spp*, *Fusarium* spp, *Trichophyton rubrum* y *Malassezia furfur*, y diferentes especies de levaduras como *Candida*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichosporon spp*. En particular las infecciones por levaduras o relacionadas constituyen aproximadamente del 60 al 85% de todas las micosis nosocomiales [5]. En nuestro hospital *Candida* también se encuentra entre los primeros cuatro agentes aislados en infecciones nosocomiales, siendo

el primero en la unidad de cuidados intensivos pediátricos y el tercero en las unidades de cuidados intensivos adultos [6].

En los últimos 25 años las micosis han ido adquiriendo mayor importancia, en los Estados Unidos, según los datos recopilados por el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales que ha observado un aumento en la incidencia de estas infecciones micóticas (2-3.8 por cada 1,000 egresos) [5], esta tendencia continó en la década de los 90.

### 1.3 Características microbiológicas del género *Candida*

Las levaduras del género *Candida* son grampositivas, que miden de 2 a 3 por 4 a 6 μm; sus células son alargadas semejantes a hifas (pseudohifas) las cuales se reproducen por gemación y existen formas sexuadas y asexuadas. En agar de Saboureaud incubado a temperatura ambiente se desarrollan colonias blandas de color cremoso y brillante con olor a levadura de pan. El desarrollo superficial consiste de células ovales en gemación y el desarrollo sumergido consiste en pseudomicelios. Este último está compuesto de pseudohifas que forman blastoconidias en los nódulos y algunas veces clamidoconidias en sus terminales. El hábitat de las diversas especies de *Candida* es el humano y algunos animales homeotérmicos. Estos microorganismos no se aíslan del suelo ni de los detritus vegetales. Los aislamientos que se han hecho de estas fuentes se consideran por contaminación fecal. El género *Candida* está compuesto de varias especies que se pueden diferenciar entre sí por su diversidad fermentativa y de asimilación

de varios carbohidratos. *Candida albicans* se diferencia de las demás especies por la producción de clamidosporas y la formación del tubo germinativo en suero [7].

Desde la antigüedad Hipócrates en su obra "Epidemias" describe que en niños recién nacidos y pacientes debilitados se presentaban placas blanquecinas en la boca, a los que denominó "estomatitis aftosa". En Francia fueron descritas diversas variedades clínicas por Veron y Berg en 1835 y no es sino hasta 1844 cuando Bennet y 1853 Robin, aíslan el hongo y propusieron que la enfermedad era propia de pacientes debilitados. A través de los años han sido muchos los autores que han descrito las variedades clínicas por medio de trabajos epidemiológicos. En la actualidad la candidiasis sigue siendo una de las enfermedades más estudiadas por su creciente importancia [7].

Actualmente *Candida* se sigue considerando como patógeno oportunista y afecta a pacientes en diversos estados como: aquellos sometidos a procedimientos invasivos, que están en uso de sondas urinarias y catéteres intravenosos, que utilizan antibióticos de amplio espectro, esteroides o en quimioterapia. También se presenta en pacientes con neutropenia o linfopenia, en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana, en pacientes con cáncer con o sin la utilización de la quimioterapia, en recién nacidos y pacientes inmunosuprimidos[1].

## 1.4 Especies de levaduras de importancia clínica

Aunque existen más de 100 especies de *Candida* las más comúnmente aisladas de casos clínicos son: *Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicalis, Candida glabrata, Candida kefyr, Candida norvegensis, Candida lusitaniae,* así como especies de *Trichosporon* y *Rhodotorula.*

*Candida albicans* es la especie predominante en una gran variedad de cuadros clínicos. A nivel de infecciones en vías urinarias se le reconoce por que comparada con las otras especies posee menor capacidad de virulencia y tiene mayor susceptibilidad a antifúngicos de uso clínico. Sin embargo en reportes recientes su capacidad de virulencia y resistencia a los antifúngicos ha aumentado [8, 9].

*Candida tropicalis* ha sido reconocida como la mayor causa de candidiasis invasiva en pacientes con cáncer [9]. En estudios tempranos se ha documentado diseminación hematógena en todos los pacientes que presentaron persistentemente colonización con esta especie, se ha reportado también que *Candida tropicalis* es la más frecuentemente aislada en infecciones de vías urinarias. Esto es quizá debido a que *Candida tropicalis* presenta factores de virulencia como mayor capacidad de adherencia e invasividad. *Candida tropicalis* ha sido considerado como un patógeno oportunista en pacientes inmunocomprometidos por neutropenia, con supresión de la flora bacteriana o con daño en la mucosa gastrointestinal [9].

*Candida glabrata* se ha reconocido como la tercer especie más comúnmente reportada en casos de candidemia y como la segunda en importancia a nivel de infecciones en vías urinarias. Se ha documentado una resistencia importante al fluconazol y otros azoles y se ha relacionado con una alta tasa de mortalidad [9].

*Candida krusei* es la especie que es aislada menos frecuentemente de pacientes con infección; ésta se presenta con menos frecuencia como colonizante (menos del 10%), y es considerada menos virulenta que *Candida albicans* o *Candida tropicalis*. Sin embargo es un patógeno considerable en pacientes granulocitopénicos, y lo notable es que esta especie está asociada a resistencia al fluconazol en concentraciones in vitro de 25 mg/mL las cuales son imposibles de alcanzar en la práctica clínica [9].

*Candida parapsilosis* se ha reconocido como causante de fungemia, endocarditis, artritis séptica y peritonitis y se aísla de un 7-10% de las infecciones hematógenas [9].

*Candida lusitaniae* podría ser considerada como una importante causa de infección nosocomial en personas inmunocomprometidas. Esta puede ser resistente a uno o más agentes antifúngicos incluyendo anfotericina B [9].

Existen también levaduras relacionadas al género *Candida* como *Trichosporon* y *Rhodotorula* cuyas infecciones se tratan igual a las producidas por las levaduras del género *Candida*.

## 1.5 Mecanismos fisiopatogénicos

En el medio hospitalario, *Candida* ha pasado de ser un comensal que forma parte de la flora gastrointestinal a ser un patógeno oportunista [10].

Diversas especies de *Candida* son componentes de la flora habitual del cuerpo, se presentan desde los primeros días del nacimiento y tienen una fuerte predilección hacia las mucosas[11]. Se pueden encontrar en el tracto gastrointestinal habitando boca y faringe y su número se puede incrementar por múltiples factores tales como una simple falta de aseo bucal. Estas levaduras colonizan con facilidad el intestino delgado y grueso, de aquí que sea común encontrarlas en la materia fecal y en la región perianal. La flora intestinal compuesta por *Candida* y otras levaduras como *Saccharomyces* y *Torulopsis* se incrementa con dietas ricas en carbohidratos y sobre todo con frutas.

Diversos estudios reportan que las diferentes especies de *Candida* no son frecuentes en piel sana, llegándose a aislar esporádicamente en región perianal, interdigital y umbilical. Cuando la piel está enferma sobre todo por algunas dermatosis (dermatitis por contacto o del área del pañal) la flora de *Candida* se incrementa[11]. En vías respiratorias superiores y urinarias se encuentran frecuentemente. Las mucosas genitales son también colonizadas, en el hombre es menos frecuente y se puede encontrar hasta en un 5%[11]. En las mujeres no embarazadas se encuentra en la vagina aproximadamente también en un 5%, sin embargo en mujeres embarazadas o que ingieren anticonceptivos orales, ésta proporción se incrementa hasta en un 30%[11].

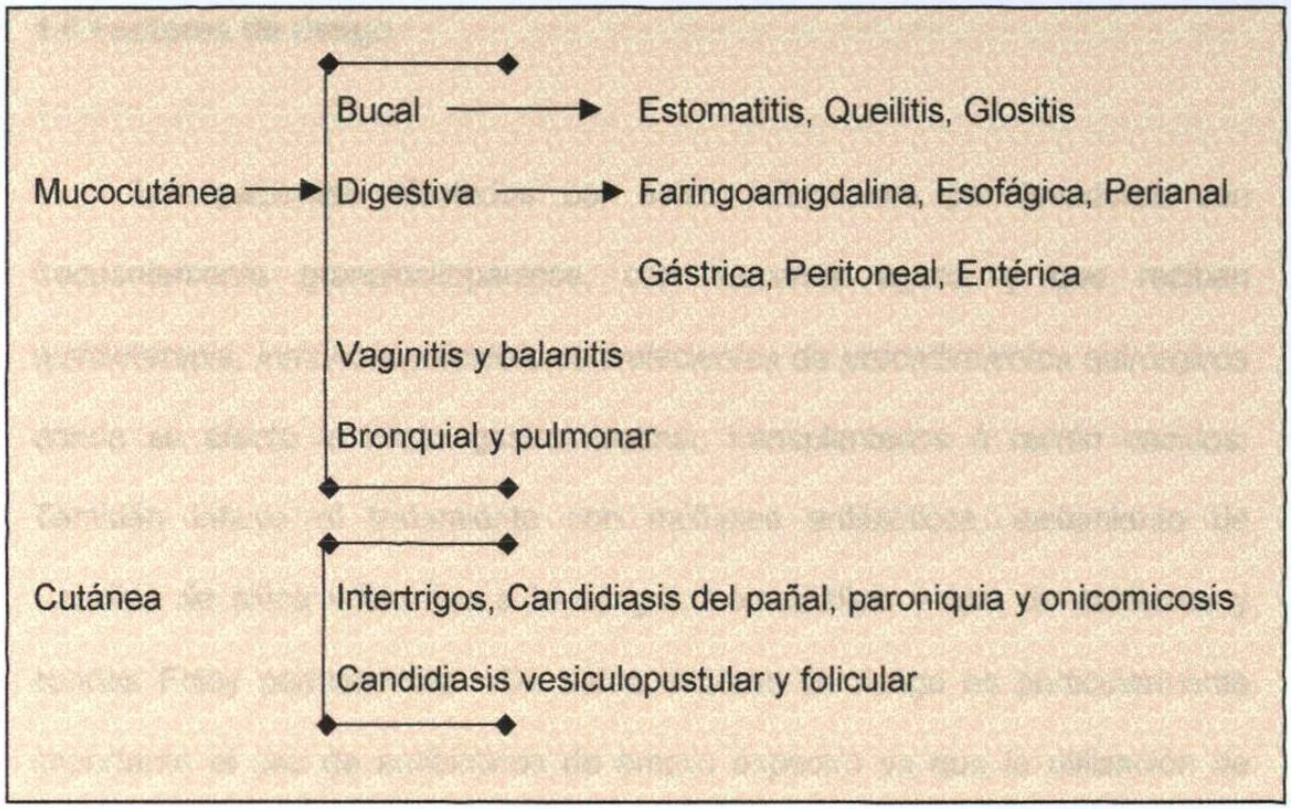
En la figura 1 se muestra como el porcentaje de colonización por *Candida* es diferente en los distintos segmentos del tracto gastrointestinal, siendo menor en la boca y mayor en el colon.

**Figura 1.- Colonización de la levadura *Candida* a través del tracto gastrointestinal.**

| | | | |
|---|---|---|---|
| Flora microbiana del tracto | Boca | Menor % | Piel |
| gastrointestinal | Esófago | | Uretra |
| | Intestino | | Vagina |
| | Colon | Mayor % | |

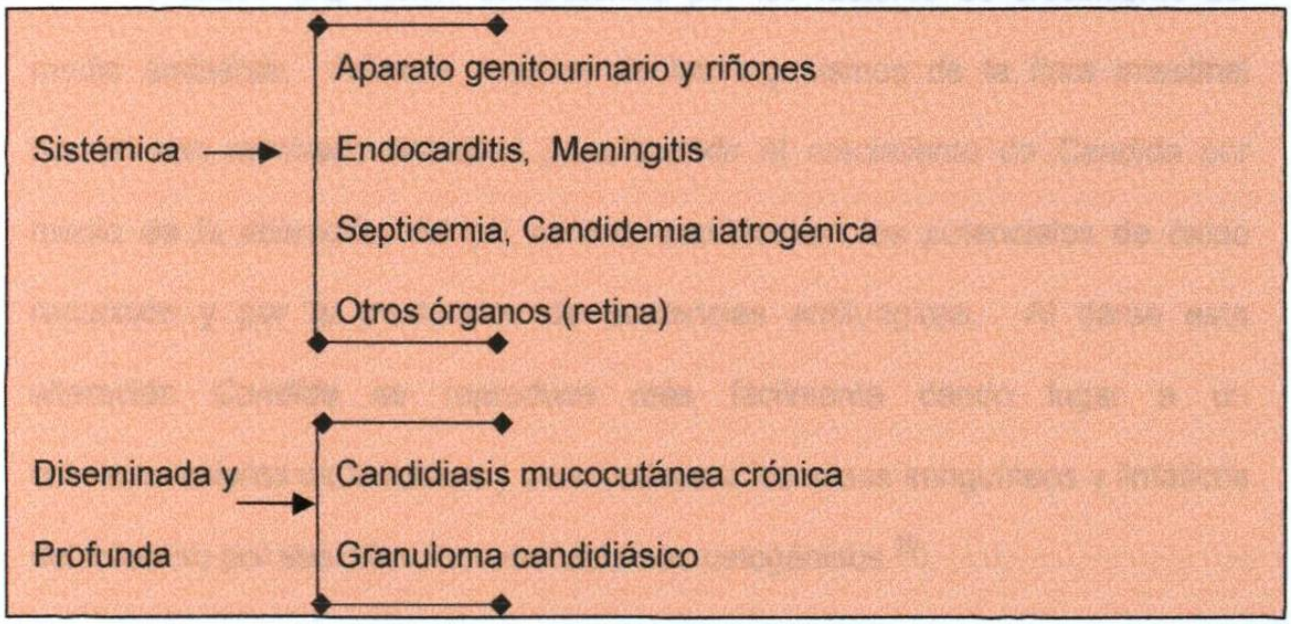
Los pacientes que se encuentran internados en los hospitales presentan los factores de riesgo mencionados anteriormente, y esto contribuye a que las infecciones locales se compliquen a infecciones diseminadas y sistémicas como se observa en la Figura 2 y 3.

**Figura 2.- Espectro clínico de la candidiasis localizada.**




(11)

**Figura 3.- Espectro clínico de la candidiasis diseminada.**




(11)

## 1.6 Factores de riesgo

Los pacientes afectados por estas infecciones por levaduras son frecuentemente granulocitopénicos, con leucemia aguda y que reciben quimioterapia, inmunosuprimidos, convalecientes de procedimientos quirúrgicos donde se afecta al tracto gastrointestinal, transplantados ó recién nacidos. También influye el tratamiento con múltiples antibióticos, aislamiento de *Candida* de sitios diferentes a la sangre, hemodiálisis y uso de catéteres y sondas Foley permanentes. De estos factores de riesgo es particularmente importante el uso de antibióticos de amplio espectro ya que la utilización de estos rompe el equilibrio normal entre los habitantes microbiológicos del intestino delgado. Una disminución en la población de las bacterias puede traer como resultado una menor competencia por los factores de crecimiento del medio ambiente. Además muchos de los organismos de la flora intestinal normal han mostrado habilidad para impedir el crecimiento de *Candida* por medio de la alteración del pH normal, cambios en los potenciales de óxido reducción y por la producción de sustancias antifúngicas. Al darse esta alteración *Candida* se reproduce más fácilmente dando lugar a un sobrecrecimiento de la misma y se introduce a los vasos sanguíneos y linfáticos del intestino por sus diferentes mecanismos patogénicos [10].

Wey y col[12]. demostraron en un estudio de casos y controles, que el factor de riesgo independiente más fuertemente asociado a candidemia es el

uso de antibióticos y que dicho riesgo aumentaba según el número de antibióticos utilizados, siendo más importante en aquellos con dos o más antibióticos.

Por otra parte Karabinis y col[13]. reportaron los resultados de un estudio de casos y controles en el cual utilizaron análisis multivariado para determinar factores de riesgo en 33 pacientes con cáncer y candidemia, encontrando que el factor más importante fue la colonización por *Candida spp* en otro sitio diferente a la sangre y el uso de antibióticos[13].

En las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) la candidemia se ha asociado hasta en un 40% de aumento en la mortalidad de los pacientes, ésta es una complicación importante por que el tratamiento es costoso y tóxico, además que ya se mencionó que varias de las especies de *Candida* son resistentes al fluconazol [3,8]. De las infecciones causadas por *Candida* el 46% son en vías urinarias, esta candiduria es el paso previo a la candidemia y puede ser prevenible por lo que es importante entender sus mecanismos fisiopatogénicos [14].

### 1.7 Tipos de colonización

La candiduria como otras infecciones nosocomiales pueden provenir de fuentes exógenas como endógenas. El principal reservorio y puerta de entrada de la candiduria es generalmente, la flora del tracto gastrointestinal[15]. La colonización por *Candida* en la mucosa del tubo digestivo ocurre normalmente

desde las primeras horas de vida y en diferentes muestreos de adultos sanos se han cuantificado en saliva desde 0 hasta 500 ufc/mL y en heces desde 0 hasta 1,000 ufc/gramo [16]. Estas cuentas normalmente se encuentran contenidas por la flora microbiana, pero este equilibrio constante se ve amenazado por la tendencia proliferativa de las levaduras, el cual se rompe a favor de éstas con presencia de antibióticos con actividad sobre la flora intestinal.

En un estudio realizado por Krause y col. a voluntarios sanos se les administró por vía oral en una suspensión 80 gramos de *Candida albicans*, lo cual equivale a aproximadamente $1 \times 10^{12}$ células de levaduras, en este experimento se logró recuperar el hongo, tanto en sangre como en orina a las tres horas siguientes, este fenómeno lo llamó persorpción, como una forma de absorción. Esto demuestra que la *Candida* es capaz de pasar del tracto gastrointestinal a la sangre [17,18].

Aunque no existen estudios controlados que demuestren la cifra necesaria de levaduras en heces para su invasividad, lo anteriormente dicho hace suponer que una cuenta mayor de $10^9$ colonias de levaduras por mL en las heces puede resultar en invasión hematógena y excreción por la orina [17,18]. Por todos estos puntos mencionados se asume que la mayoría de las candidurias provienen de origen endógeno, sin embargo existen también fuentes exógenas que se relacionan con el medio ambiente hospitalario, infusiones contaminadas, lavado inapropiado de manos, métodos invasivos

tanto diagnósticos como terapéuticos, como sondas urinarias, sondas nasogástricas y catéteres intravenosos. Este origen se ha demostrado sobre todo en estudios a nivel de neonatos donde se ha encontrado colonización en el catéter y esta cepa corresponde a cepas encontradas en las manos del personal, existen también estudios donde se han recolectado muestras de las manos del personal que trabaja en las UCI y ha sido posible el aislamiento de *Candida* de las mismas [19,20].

A nivel de candidurias no existen estudios que determinen que proporción corresponde a cada uno de los mecanismos, aún así el porcentaje que se esperaría de origen exógeno no sería mayor al 20%.

El origen exógeno no es tan fácilmente demostrable debido a que sería necesario tomar muestras de todo el personal de la sala así como del instrumental médico y otros probables reservorios. En este estudio decidimos demostrar el origen endógeno y asumir un origen exógeno en las que no correlacionen con la cepa endógena.

Es importante entender los mecanismos en las candidurias debido a que esto permitirá orientar con mayor eficacia las medidas preventivas, si es de origen endógeno modificando las condiciones que alteran la flora intestinal con el control de antibióticos y la profilaxis con antimicóticos. Sin embargo si es de origen exógeno se tendrá que dar énfasis al lavado de manos por parte del personal y a evitar la manipulación innecesaria de la sonda.

## 1.8 Identificación de especies de levaduras

### 1.8.1 Métodos fenotípicos

Las especies de *Candida* deben ser identificadas correctamente a nivel del laboratorio de microbiología. Los métodos tradicionales para la identificación de especies de *Candida* y otras levaduras incluyen el análisis de características morfológicas y la utilización de carbohidratos en pruebas de fermentación y asimilación [21,22].

Wickerham y Burton demostraron el uso de las pruebas de asimilación de carbohidratos para la clasificación de levaduras en 1948, los cuales fueron simplificados en 1975 [23], sin embargo estos métodos tradicionales de laboratorio son laboriosos y el tiempo de procedimiento es largo, es por eso que se han desarrollado numerosos sistemas comerciales que pueden identificar las levaduras entre 4 y 72 horas dependiendo del sistema [21].

Idealmente, estos sistemas deben tener las siguientes características:

1.- La identificación de levaduras que se aíslen de todos los especímenes clínicos debe ser rápida y precisa.

2.- Facilitar el proceso y la inoculación para permitir el procesamiento rápido de varios aislamientos.

3.- Capacidad para identificar aislamientos que son poco comunes recuperados del material biológico [24].

El sistema API 20C fue uno de los primeros sistemas comerciales introducidos para la identificación de levaduras, y actualmente es considerado un sistema confiable el cual puede ser comparado con otros, este sistema utiliza ambas pruebas, fermentación y asimilación de carbohidratos. Otro

sistema de identificación es el AUXACOLOR, su principio es similar al API 20C, y utiliza también ambas pruebas. Ambos sistemas han sido reportados como métodos simples, rápidos y proveen un medio preciso para la identificación de levaduras en aislamientos clínicos [25]. El sistema RapID es otra alternativa para la identificación de levaduras, este sistema se basa en reacciones bioquímicas y requiere solamente 4 horas de incubación, lo cual permite una identificación muy rápida de las levaduras [21].

### 1.8.2 Métodos genotípicos

Actualmente existen técnicas para comparar genotípicamente las especies de levaduras aisladas en infecciones nosocomiales, entre estas técnicas se encuentran: electroforesis en gel por campo pulsado, hibridación con sondas de DNA y corte con enzimas de restricción, ribotipificación, amplificación al azar del DNA polimórfico, análisis con enzimas de restricción y secuenciación genotípica [26].

La electroforesis en gel por campo pulsado es considerada el estándar de oro de los métodos de tipificación molecular. El aislamiento del DNA cromosómico intacto es un requisito previo para la generación reproducible de los fragmentos, los cuales son cortados con enzimas de restricción que tienen pocos sitios de reconocimiento. Para el análisis por electroforesis en gel se prepara una lisis in situ de las células, las cuales son preparadas en bloques de agarosa. Esto provee un medio ambiente protegido de fuerzas moleculares. Con el microorganismo en el bloque se realiza una lisis enzimática con

detergentes y la digestión con la enzima de restricción, esta técnica puede separar fragmentos en un rango de 10 a 800 kb [27]. La electroforesis es multidireccional, y continuamente hay cambios en la localización de la carga positiva. Las moléculas de DNA responden continuamente reorientando su dirección de migración a través del gel de agarosa. Los pulsos electroforéticos de duración diferente favorecen la reorientación de diferentes tamaños de moléculas de DNA (un pulso de mayor duración favorece la reorientación de moléculas grandes y viceversa). Los patrones electroforéticos pueden ser visualizados en geles teñidos con bromuro de etidio[28]. Uno de los factores que ha limitado el uso de la electroforesis en gel por campo pulsado es el tiempo, el cual es largo y se necesitan de 2 a 3 días para completar todo el procedimiento. Esto tiene impacto en los laboratorios debido a que no se puede analizar un numero grande de muestras [27].

Los métodos de hibridación con sondas de DNA han sido utilizados por años para detectar y localizar secuencias genómicas en células eucarióticas y procarióticas. En este método se realiza una digestión del DNA cromosomal y los fragmentos son separados por electroforesis a través de un gel de agarosa. Los fragmentos de DNA separados son transferidos a un papel de nitrocelulosa o membrana de nylon para la hibridación con la sonda de DNA. La membrana con los ácidos nucleicos es hibridizada con una o más sondas para el gene que se requiere encontrar. Las sondas están unidas a una enzima, la cual reacciona con un sustrato el cual es colorimétrico, con esto es posible visualizar si el gen que se está buscando se encuentra presente o no. Este método ha

sido adaptado para la diferenciación de cepas bacterianas en base a la observación que la localización de varios sitios cortados con la enzima de restricción da como resultado bandas que difieren en tamaño entre las mismas cepas.

La ribotipificación es una variación del análisis con enzimas de restricción e hibridización con sondas, en este método se utilizan sondas que provienen para el 16S y 23S de los genes del RNA ribosomal. Esto ha sido aplicado en muchos estudios para la diferenciación de cepas bacterianas. La ventaja de esta técnica es que la cantidad de bandas que se detectan es limitada simplificando la interpretación. Sin embargo esto dificulta la habilidad para distinguir entre cepas muy relacionadas [27].

En la amplificación al azar del DNA polimórfico se utilizan iniciadores al azar en la reacción en cadena de la polimerasa, este ensayo fue descrito por Williams[29] y col. y Welsh and McClelland[30]. El ensayo de amplificación al azar se basa en el uso de secuencias cortas de iniciadores de 9 a 10 bases de longitud, los cuales se aparean a secuencias del DNA. Las temperaturas de apareamiento son muy bajas. El número y la localización de los iniciadores al azar varían para diferentes cepas de la misma especie; esto da como resultado la amplificación de bandas de diferente tamaño. El producto de la amplificación se separa por electroforesis en gel de agarosa, dándonos el patrón de bandas distintivo para cada cepa [27].

La desventaja de esta técnica es que el proceso es extremadamente sensible respecto a cambios en la temperatura de apareamiento, lo cual puede causar variabilidad en el patrón de bandas. Además la utilización de iniciadores empíricos dificulta la estandarización de la técnica [27].

En el método de fragmentos de restricción a lo largo del DNA polimórfico se analiza la secuencia de variación del genoma usando endonucleasas de restricción. Estas enzimas de restricción reconocen secuencias específicas del DNA, usualmente de 4-6 nucleótidos y corta el DNA dentro o cerca de la secuencia de reconocimiento. Las alteraciones de las secuencias por sustitución de nucleótidos alteran el patrón electroforético de la cepa. Mutaciones en los sitios de corte de la enzima pueden cambiar también el patrón electroforético. Cualquier región del DNA puede ser utilizada para el análisis con enzimas de restricción [26].

Todos estos métodos de genética molecular para distinguir los subtipos de microorganismos están basados en diferencias en la secuencia del DNA, lógicamente la secuenciación del DNA es el método más apropiado para diferenciar subtipos. Esta técnica emplea nucleótidos fluorescentes para marcar el DNA, y se realiza en un aparato automatizado [27].

Hay varias consideraciones que deben tomarse en cuenta para la utilización de la secuenciación del DNA para subtipificación de microorganismos: Primero para propósitos prácticos en el laboratorio clínico la

secuenciación debe ser directamente en solo una pequeña región del cromosoma de un organismo. Esto es impráctico para secuencias de múltiples regiones o regiones largas del cromosoma. En contraste en las técnicas de electroforesis en gel por campo pulsado o amplificación al azar del DNA se examina el cromosoma entero. La secuenciación examina solo una pequeña parte del genoma, el cual puede variar potencialmente sobre todo en bacterias o cepas de levaduras y hongos [27].

La secuenciación es considerada como el estándar de oro para la tipificación viral. La secuenciación de ácidos nucléicos tiene mayor poder discriminatorio por ejemplo para genotipos de hepatitis C y detección de mutaciones en el virus de la inmunodeficiencia humana [27].

En el presente trabajo se realizó la técnica de amplificación al azar del DNA polimórfico para la diferenciación genotípica de las diferentes cepas de *Candida* obtenidas a lo largo del estudio.

## HIPÓTESIS

La colonización de las vías urinarias por levaduras, observada en los pacientes hospitalizados con catéter vesical, proviene de su propia flora intestinal (origen endógeno) en un 80% de los casos.

## OBJETIVO GENERAL

Describir la frecuencia con la que la candiduria observada en pacientes cateterizados de las vías urinarias es de origen endógeno.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Describir la frecuencia de colonización de las vías urinarias por levaduras en pacientes con catéter vesical.

2.- Describir las características clínicas y demográficas de los pacientes que desarrollan candiduria.

3.- Describir la frecuencia de colonización e infección urinaria por las diferentes especies de levaduras.

4.- Describir la evolución clínica de los casos de candiduria.

5.- Comparar las especies de levaduras que colonizan simultáneamente orina y heces.

6.- Comparar genotípicamente los pares de levaduras provenientes de muestras de orina y de heces de la misma especie.