



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de ciencias biológicas de la salud

Química Farmacéutica Biológica

**Aplicación de métodos de laboratorios para identificación
de microorganismos patógenos asociados a
enfermedades infecciosas en pacientes atendidos en el
INER**

PROTOCOLO PARA “ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA
PROFESIÓN”

Por la alumna Karen Navarrete Arroyo

Matrícula 2193071986

Fecha de inicio: 1 de abril del 2024

Fecha de conclusión: 11 de octubre del 2024

ASESOR INTERNO

Mtra. Alma Elena Ibarra Cázares

No. Eco. 32807

Maestra en Ciencias Químicas

Profesora asociada de tiempo completo,

Depto. Sistemas Biológicos - QFB

ASESOR EXTERNO

Q.B.P Mario Alberto Mújica Sánchez

Coordinador del laboratorio de

Microbiología Clínica

Instituto Nacional de Enfermedades

Respiratorias

Índice

1. Nombre de la actividad
2. Introducción
3. Antecedentes
 - 3.1. Microbiología clínica
 - 3.2. Etapas del análisis en microbiología clínica
 - 3.3. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
 - 3.4. Microorganismos de interés para enfermedades respiratorias
 - 3.5. Susceptibilidad Antimicrobiana
 - 3.6. Tinciones
 - 3.7. Equipos automatizados
 - 3.8. Medios de cultivo
 - 3.9. Estudios
4. Objetivo general
 - 4.1. Objetivos particulares
5. Título del proyecto
6. Lugar de realización
7. Justificación
8. Aporte a la sociedad
9. Actividades por realizar
10. Cronograma de actividades
11. Actividades específicas que se realizaron en el INER durante la estancia del servicio social
12. Resultados y discusión
13. Vínculo de las actividades desarrolladas con el plan de estudios
14. Conclusión
15. Bibliografía

1. Nombre de la actividad: Aplicación de métodos de laboratorios para identificación de microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas en pacientes atendidos en el INER

2. Introducción:

a) Lugar de realización del SS: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”

b) Marco institucional

Misión: Mejorar la salud respiratoria de los individuos y las comunidades a través de la investigación, la formación de recursos humanos y la atención médica especializada.

Visión: El INER debe ser la entidad nacional normativa en salud respiratoria y el principal sitio de enseñanza, investigación, promoción y atención de alta especialidad con competitividad nacional e internacional.

Objetivos de la Institución donde se realizarán las actividades: Participar en el desarrollo de las diferentes técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica del INER para la detección de microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas.

3. Antecedentes

3.1 Microbiología clínica

La microbiología clínica es una ciencia de juicio interpretativo que responde a las necesidades clínicas del médico tratante, con el fin de identificar el agente etiológico de una infección y establecer la actividad in vitro de las drogas antimicrobianas contra el (los) microorganismo (s) identificado (s) (Muhlhauser,2014).

El cultivo de un microorganismo se basa en el conocimiento de sus necesidades nutritivas y físicas. En el laboratorio podemos preparar o seleccionar medios adecuados a las necesidades de crecimiento de una bacteria. Un medio puede ser de consistencia líquida, en este caso se denomina caldo, o sólido, si se agrega agar al caldo. El agar es un polisacárido, extraído de algas, que funciona como sustancia solidificante e inerte, ya que no actúa como elemento nutritivo frente a la gran mayoría de las bacterias (Lopardo, 2016).

3.2 Etapas del análisis en microbiología clínica

- **Etapas pre-analítica: selección, recolección y transporte de la muestra**

Para obtener resultados que avalen el diagnóstico de enfermedades infecciosas, es esencial realizar una apropiada recolección y manipulación de la muestra. Por este motivo las recomendaciones descritas en el manual de toma de muestras del laboratorio del lugar donde trabaja el clínico deben tenerse presentes y cumplirse cabalmente. Las muestras enviadas al laboratorio de microbiología deben ser idealmente obtenidas en el período donde haya mayor excreción del agente infeccioso, desde un sitio representativo

de la infección y en una cantidad suficiente que garantice su buen procesamiento en el laboratorio, usando técnicas apropiadas que eviten la contaminación. Por otro lado, los sistemas de recolección utilizados deben ser estériles, herméticos y apropiados al tipo y volumen de muestra que se desea obtener.

- **Etapa analítica: diagnóstico microbiológico**

Una vez recibida la muestra en el laboratorio, el personal verifica su adecuada calidad, el correcto transporte y una completa y concordante rotulación entre el sistema de recolección y la orden de examen. Cuando cumple con todos los requisitos establecidos, se registra en el sistema informático o libro de registro, iniciando así la etapa analítica.

- **Etapa post-analítica: reporte de resultados**

En esta etapa los resultados obtenidos por el laboratorio de microbiología son transferidos al sistema informático, emitiendo un informe final, el cual debe estar rápidamente disponible para ser visualizado por el personal de las diferentes áreas del laboratorio clínico y por el médico tratante (Muhlhauser, 2014).

3.3 Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

El INER, referente importante en el cuidado de la salud, desarrolla actividades de investigación, docencia, formación de personal, y atención médico-quirúrgica y de alta especialidad, enfocada a la medicina respiratoria, abarcando tanto enfermedades de vías respiratorias superiores como inferiores. Como parte de los padecimientos que se atienden se encuentran principalmente los de origen infeccioso, entre los que destaca la tuberculosis, que se mantiene latente dentro de la problemática de salud pública; particularmente, se tratan los casos de larga evolución y multirresistentes; con frecuencia también atienden a personas con neumonía por diferentes microorganismos; desde hace más de una década la influenza es un problema de salud relevante y en la actualidad la COVID-19 (Wences, 2021).

3.4 Microorganismos de interés para enfermedades respiratorias

3.4.1 Bacterias

3.4.1.1 Micobacterias

Está formado por bacilos aerobios inmóviles y no esporulados con un tamaño de 0,2 a 0,6 x 1 a 10 micras.

Son ácido-alcohol resistentes, es decir, son resistentes a la decoloración por ácidos o alcoholes.

Las micobacterias poseen una pared celular compleja y rica en lípidos. Esta pared celular es la responsable de muchas de las propiedades características de las bacterias (p. ej., su ácido-resistencia, crecimiento lento, resistencia a detergentes, resistencia a los antibióticos antibacterianos frecuentes, antigenicidad, formación de agregados). La estructura básica de la pared celular es característica de las bacterias grampositivas: una membrana citoplásmica interna cubierta con una gruesa capa de peptidoglucanos y carente de membrana externa (Murray, 2015). La mayoría de las especies que integran este género son de crecimiento lento. Esto

quiere decir que tardan más de 7 días en generar colonias observables en los cultivos.

- ***Mycobacterium tuberculosis***

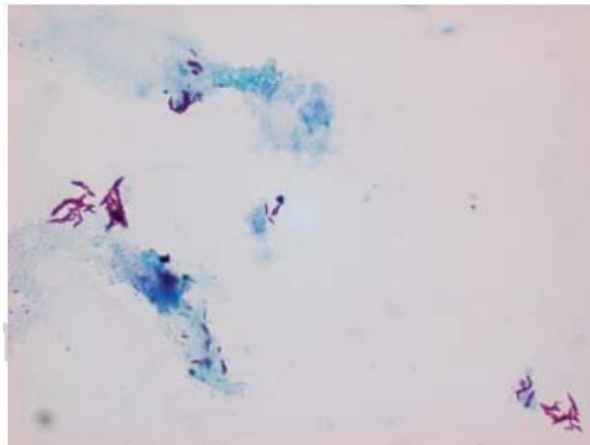
La tuberculosis o TB es causada por una bacteria llamada *Mycobacterium tuberculosis*. La *Mycobacterium tuberculosis* es una bacteria que pertenece al grupo de los bacilos. Tienen forma de barra, y pueden ser células rectas o ligeramente curvadas.

Son células sumamente pequeñas, con unas medidas aproximadas de 0,5 micras de ancho por 3 micras de largo (Imagen 1).

Este tipo de bacteria no presenta movilidad. Esto se debe a que en su estructura no presenta prolongaciones (cilios o flagelos) que estimulen su desplazamiento. Así mismo, son organismos estrictamente aerobios. Debido a esto obligatoriamente deben estar en un ambiente en el que haya amplia disponibilidad de oxígeno.

Son bacilos alcohol – ácido resistentes. Cuando son teñidas, son capaces de resistir la decoloración con ácido o alcohol, sin sufrir ningún tipo de daño estructural. Su temperatura óptima promedio de crecimiento se ubica en los rangos 32 a 37° C. Su tiempo de multiplicación celular se ubica entre 15-20 horas. Como fuente de carbono puede utilizar compuestos como el glicerol y como fuente de nitrógeno, los iones de amonio y la asparagina. Igualmente requiere de albúmina, la cual puede ser incorporada como agregado de huevos de gallina o seroalbúmina (Lifeder, 2024).

Imagen 1. Fotomicrografía de una muestra de expectoración donde se observan los bacilos de color rojo fucsia (*Mycobacterium* spp)(aumento 100x). (López-Jácome, 2014).



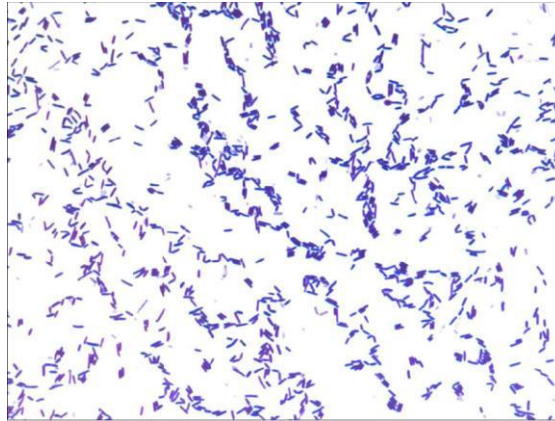
3.4.1.2 Bacterias Gram positivas

Una bacteria grampositiva posee una pared celular gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglicano, que conforman una estructura gruesa y rígida; éste es un elemento clave para la estructura, la replicación y la supervivencia de la célula en las condiciones normalmente hostiles en las que proliferan las bacterias (Imagen 2). Además, la pared celular de las bacterias Gram + contiene ácidos teicoicos, que están compuestos,

principalmente, por un alcohol (glicerol o ribitol) y fosfato. Los ácidos teicoicos son unos polímeros hidrosolubles de fosfatos de polirol que están unidos al peptidoglicano mediante enlaces covalentes y son fundamentales para la viabilidad celular. Los ácidos lipoteicoicos poseen un ácido graso y se encuentran unidos a la membrana citoplásmica. Estas moléculas son antígenos de superficie frecuentes que diferencian los serotipos bacterianos y favorecen la fijación a otras bacterias y a receptores específicos localizados en la superficie de las células de los mamíferos (adherencia) (Murray, 2015).

En la tabla 1 se nombran algunos ejemplos de bacterias Gram positivas como cocos y bacilos que causan enfermedades infecciosas en los humanos.

Imagen 2. Bacterias bacilos Gram positivos vistas en microscopio (*Oceanobacillus jeddahense*). (Khelaifia, 2016)



3.4.1.3 Bacterias Gram negativas

Desde el punto de vista estructural, una pared celular gramnegativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica se encuentra una delgada capa de peptidoglicano que representa tan sólo un 5% a 10% del peso de la pared celular. Además, la pared celular gramnegativa no contiene ácidos teicoicos y lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglicano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias gramnegativas (imagen 3).

La zona comprendida entre la superficie externa de la membrana citoplásmica y la superficie interna de la membrana externa se conoce como espacio periplásmico. Este espacio es un compartimento que contiene diversas enzimas hidrolíticas importantes para la degradación y metabolización por la célula de las macromoléculas de gran tamaño. La membrana externa mantiene la estructura bacteriana y constituye una barrera impermeable a moléculas de gran tamaño (p. ej., proteínas como la lisozima) y moléculas hidrófobas (Murray, 2015).

En la tabla 1 se nombran algunos ejemplos de bacterias Gram negativas como cocos y bacilos que causan enfermedades infecciosas en los humanos.

Imagen 3. Se observan bacterias Gram negativas en cultivo directo (aumento 100x).
(López-Jácome, 2014)

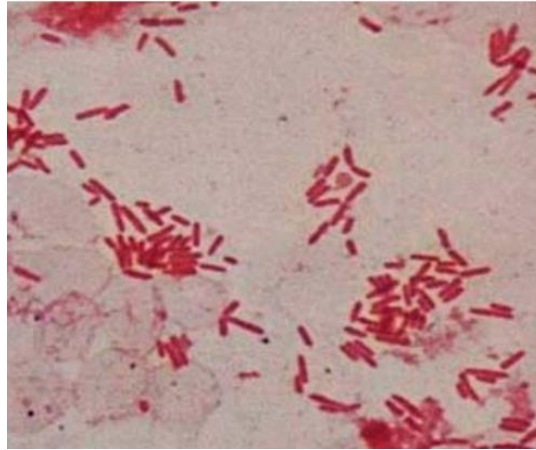


Tabla 1. Ejemplos de bacterias asociadas a enfermedades infecciosas (Murray, 2015).

Microorganismo	Características	Enfermedad
Cocos Gram +		
<i>Staphylococcus aureus</i>	formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, son anaerobias facultativas.	Infecciones menores de la piel e infecciones invasoras serias como: bacteriemia, infecciones del sistema nervioso central, osteomielitis, infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario y el síndrome de choque tóxico, así como infecciones gastrointestinales.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bacterias Gram-positivas, presentan una forma esférica, se agrupan en racimos y son inmóviles, coagulasa negativo, aerobio facultativo, es parte de la microbiota normal de la piel pero son patógenas oportunistas.	Abscesos, flebitis, septicemia, endocarditis
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Es una bacteria Gram positiva, normalmente anaerobia facultativa, catalasa negativa, inmóvil, de forma esférica y con un diámetro inferior a 2 micras. Se suele agrupar formando cadenas de dos (diplococos) o más	faringitis estreptocócica, escarlatina, septicemia, otitis media, mastitis, sepsis, celulitis, erisipela, miositis, osteomielitis, artritis séptica, meningitis, endocarditis, fiebre puerperal,

	bacterias. Es bastante exigente desde el punto de vista nutricional, por lo que se cultiva en medios de agar sangre, hemólisis completa (b)	pericarditis e infecciones neonatales.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	estreptococo β-hemolítico del grupo B (EGB), es un coco grampositivo, catalasa y oxidasa negativo, anaerobio facultativo, que se presenta formando cadenas de longitud variable. El EGB puede crecer en medios simples, aunque los medios suplementados con sangre o suero favorecen su crecimiento.	Se encuentra en catéteres o prótesis valvulares cardíacas mecánicas lo que puede provocar infección nosocomial, Involucrado en endocarditis, endoftalmitis y sepsis: neonatos e inmunodeprimidos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Es una bacteria Gram positiva, normalmente anaerobia facultativa, catalasa negativa, inmóvil, con forma ovalada, rodeada de una cápsula y se suele agrupar formando cadenas de dos (diplococos) o más bacterias. En cultivo crece en agar sangre formando colonias redondas, mucosas y rodeadas de un halo de α-hemólisis verdoso.	infecciones del tracto respiratorio superior, como: otitis media, sinusitis, etc.; mientras que las menos frecuentes pero las más graves son: la neumonía neumocócica (NN), la enfermedad neumocócica invasora (ENI), la meningitis y la septicemia.
<i>Streptococcus viridans</i>	cocos grampositivos, anaerobios facultativos, asociados en parejas o cadenas, que no producen catalasa y fermentan la glucosa con producción de ácido láctico, alfa hemolíticos	Endocarditis
Cocos Gram -		
<i>Neisseria meningitidis</i>	es una bacteria Gram negativa aeróbica inmóvil, no esporulada, usualmente encapsulada y piliada, que se logra aislar en medio enriquecido GC suplementado, sin inhibidores cuando se aísla de líquido cefalorraquídeo, y con inhibidores cuando se buscan portadores; antes se aislaba en agar chocolate, se localiza en la faringe, fermenta maltosa y glucosa	Meningitis, bacteremia, afectar al tracto respiratorio en la forma de neumonía, epiglotitis y otitis media.

<i>Bordetella pertussis</i>	cocobacilos pleomórficos (en cultivos envejecidos pueden adquirir forma filamentosa), Gram negativo, que se disponen aislados o en parejas, con un tamaño de 0,2-0,5 x 0,5-2 micras, aerobios estrictos, inmóviles, encapsulados y de crecimiento lento.	Tos ferina/tos convulsiva
<i>Moraxella catarrhis</i>	Diplococo Gramnegativo, aerobio, oxidasa positiva. Es aceptado como el	En niños: Otitis media, sinusitis, infecciones del tracto

	tercer patógeno más importante en el tracto respiratorio humano después de <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> . Ausencia de pigmentación en agar sangre (no hemolítica), producción de oxidasa y catalasa, producción de DNAasa, Hidrólisis de la tributirina, ausencia de producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa y fructosa, reducción de nitratos y nitritos.	respiratorio medio (laringitis, traqueítis, bronquitis) e inferior. En adultos: Exacerbaciones en pacientes con EPOC, Neumonía en ancianos, Infección nosocomial, laringitis, peritonitis (principalmente en pacientes con diálisis peritoneal), sinusitis, meningitis, artritis séptica, celulitis, osteomielitis, endocarditis y pericarditis.
Bacilos Gram +		
<i>Bacillus anthracis</i>	Son bacilos Gram positivos, con un tamaño de 1-3 x 3-10 micras, aerobios o anaerobios facultativos, inmóviles, encapsulados y formadores de esporas.	Carbunco: cutáneo, respiratorio, gastrointestinal, orofaríngeo
Bacilos Gram -		
<i>Salmonella Typhi</i>	Pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae. Es un bacilo Gram negativo, aerobio, anaerobio facultativo, flagelado (móvil, con alguna excepción) con flagelos peritricos, no encapsulados. No forma esporas.	Fiebre tifoidea o entérica Enterocolitis Infecciones sistémicas

<i>Haemophilus influenzae</i>	Bacteria Gram negativa, en forma de pequeños cocos o cocobacilos pleomórficos que miden de 0.2-0.3 por 0.5-0.8 μm , son inmóviles, no esporulados, anaerobios facultativos. Crece a una temperatura de 35-37°C en condiciones aeróbicas o con 5% de CO ₂	Las cepas no capsuladas suelen producir enfermedades como otitis media y sinusitis por propagación a partir de la nasofaringe, 3 mientras que las cepas capsulares, al migrar de la nasofaringe hacia el torrente sanguíneo pueden producir sepsis o propagarse a otros sitios del cuerpo dando lugar a meningitis, neumonías, artritis séptica, osteomielitis y pericarditis
<i>Escherichia coli</i>	Bacilos Gram negativos, no esporulante, producción de indol a partir de triptófano, no utilización de citrato como fuente de carbono y no producción de acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas, mesófila, anaerobia facultativa	Intoxicación alimentaria grave, shock séptico, meningitis o infecciones del tracto urinario en humanos
<i>Shigella</i>	Bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, no móvil, no forma esporas, no presenta cápsula,	shigelosis o disentería bacilar, megacolon
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	bacilo recto o ligeramente curvado Gram negativo, con un tamaño de 2-4 x 0,5-1 micras, y móvil gracias a la presencia de un flagelo polar, es aerobio (aunque puede desarrollarse en condiciones anaerobias utilizando nitrato), catalasa positivo y oxidasa positivo, patógeno oportunista, Puede crecer entre 20 y 43°C. Se encuentra en suelo húmedo, agua, aguas residuales, vegetación, humanos y animales.	Foliculitis, osteomielitis, ectima gangrenoso, neumonía, bronquitis, otitis externa, infección ocular, infección de las vías urinarias, endocarditis bacteriana aguda
<i>Haemophilus influenzae</i>	Está formado por bacilos o cocobacilos Gram negativos con pleomorfismo. Las cepas capsuladas son patógenas. Las del tipo b son las más invasivas y frecuentemente aisladas en procesos infecciosos graves. Mientras que las no capsuladas son consideradas microbiota habitual. Necesitan medios muy enriquecidos para su desarrollo óptimo, tales como agar chocolate o agar Levithal.	otitis, conjuntivitis, absceso dental, neumonía, empiema, septicemia, endocarditis, artritis, osteomielitis, infecciones hepatobiliares, meningitis, absceso cerebral, e infecciones urinarias y genitales, tanto uretrales como prostáticas.

<i>Klebsiella oxytoca</i>	Es una bacteria gramnegativa del género <i>Klebsiella</i> dentro de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> y está ampliamente distribuida en la naturaleza, no forman esporas ni son móviles, son positivas para indol, lactosa, manitol, patógeno oportunista	colitis hemorrágica asociada a antibióticos (AAHC), la infección del tracto urinario, la bacteriemia, neumonía, Infecciones intraabdominales, entre otras infecciones.
<i>Serratia marcescens</i>	Es un bacilo Gram negativo, patógeno oportunista perteneciente a la familia <i>Enterobacteriaceae</i> . aerobio facultativo, móvil. Es habitante ubicuo del suelo, el agua y la superficie de las plantas. Puede crecer a temperaturas desde 3.5° C hasta 40° C, fermenta glucosa, reduce los nitratos a nitritos y es oxidasa negativo.	infección de las vías urinarias, infección de heridas, artritis, conjuntivitis, endoftalmítis, queratoconjuntivitis y queratitis ulcerativa, septicemia, meningitis, neumonías, osteomielitis y endocarditis.

3.4.2 Hongos

Los hongos se clasifican en un reino propio, el reino Hongos (Myceteae). Son microorganismos eucariotas que se distinguen de otros eucariotas por la presencia de una rígida pared celular formada por quitina y glucano, y una membrana celular en la que el ergosterol sustituye al colesterol como principal componente esteroideo.

Los hongos pueden ser organismos unicelulares o pluricelulares. La clasificación más sencilla, cimentada en aspectos morfológicos, agrupa a los hongos en levaduras y formas miceliales. Desde el punto de vista morfológico, una levadura se define como una célula que se reproduce mediante gemación o fisión, de modo que la célula progenitora o «madre» se desprende de una porción de sí misma para producir una célula descendiente o «hija».

Por lo general, las levaduras son unicelulares y producen colonias redondeadas, pálidas o mucoides en las placas de agar. Por su parte, las formas miceliales son microorganismos pluricelulares formados por unas estructuras tubulares semejantes a hebras conocidas como hifas. Las hifas pueden ser cenocíticas (huecas y multinucleadas) o septadas (divididas por tabiques). El conjunto de hifas conforma una estructura semejante a un tapete llamada micelio (Imagen 4).

Casi todos los hongos son aerobios, aunque algunos son anaerobios (fermentadores) facultativos y otros son anaerobios estrictos. En cuanto a su metabolismo, los hongos son heterótrofos. Los hongos se reproducen mediante la formación de esporas, las cuales pueden ser sexuales (lo que implica un proceso de meiosis precedido por la fusión del protoplasma y los núcleos de dos cepas compatibles) o asexuales (lo que únicamente implica procesos de mitosis) (Murray, 2015).

En la tabla 2 se describen algunos ejemplos de hongos que están asociados a enfermedades infecciosas en el ser humano.

Imagen 4. *Aspergillus fumigatus*, vesícula en forma de mazo, una serie paralela de fiálides visto en microscopio (Arenas, 2014).



Tabla 2. Ejemplos de algunos de los hongos asociados a enfermedades infecciosas (Murray, 2015).

Hongo	Características	Enfermedades
<i>Aspergillus spp.</i>	Es un género de hongos que abarca a más de 100 especies que se caracterizan por ser filamentosos. Los hongos que pertenecen a este género son saprófitos y se encuentran en hábitats en los que hay mucha humedad. Crecen principalmente sobre la materia orgánica muerta, a la que ayudan a	Aspergilosis, Sinusitis fúngica, Otomicosis
	descomponer, se reproducen de manera asexual, a través de conidios (esporas)	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Son levaduras redondas u ovals (3,5-8 μm), que se reproducen por gemación única, con un cuello estrecho entre la célula madre y la hija. Excepcionalmente se observa gemación múltiple, formas alargadas y pseudohifas. Poseen una cápsula de naturaleza polisacáridica que le confiere virulencia, protegiendo al hongo de la fagocitosis, y cuyo tamaño varía dependiendo de la cepa y del medio de cultivo que se utilice para aislar la levadura.	criptococosis pulmonar, neumonía aguda atípica y meningitis crónica.

<p><i>Coccidioides immitis</i></p>	<p>Es un hongo dimorfo, es decir, se presenta con dos morfologías: una saprófita y la otra parasitaria. En su forma saprófita (infectante), se encuentra a manera de micelio, la cual presenta hifas septadas, constituidas por cadenas de artrosporas o artroconidios de forma rectangular, elipsoidal, parecida a un barril, con paredes gruesas de 2,5 x 3-4 μ de diámetro. En su forma parasitaria se presenta como una esférula de pared gruesa de 20 a 60 μ de diámetro, llenas de un gran número de pequeñas endosporas de 2-5 μ de diámetro.</p>	<p>Coccidioidomicosis, Enfermedad pulmonar sintomática (la intensidad de la patología dependerá del número de conidios inhalados), coccidioidomicosis cutánea secundaria, neumonía aguda a crónica (coccidioidomicosis progresiva o crónica).</p>
------------------------------------	---	---

3.4.3 Virus

Los virus son unos parásitos intracelulares obligados y para replicarse dependen de la maquinaria bioquímica de la célula anfitriona. Los virus abarcan desde microorganismos pequeños y de estructura simple (parvovirus y picornavirus) hasta otros grandes y complejos (poxvirus y virus herpes). Los virus pueden agruparse por características como la enfermedad que producen (p. ej., hepatitis), los tejidos diana que afectan, los modos de transmisión (p. ej., entéricos, respira torios) o el vector encargado de su transmisión (arbovirus; virus transmitidos por artrópodos).

Características y propiedades de los virus:

- Los virus son agentes filtrables
- Los virus son parásitos intracelulares obligados
- Los virus no son capaces de producir energía independientemente de una célula anfitrión
- Los genomas víricos pueden ser de ARN o de ADN, pero no de ambos
- Los virus poseen una morfología de cápside sin envoltura o con envoltura
- Los componentes de los virus se ensamblan y no se replican por «división»

Estructura del virión:

El virión (la partícula vírica) contiene un genoma de ácido nucleico envuelto en una capa de proteínas (cápside) o en una membrana (envoltura). La cápside o las proteínas de fijación del ácido nucleico pueden asociarse al genoma y formar una nucleocápside, que puede ser la misma del virión o bien estar rodeada de una envoltura. La cápside es una estructura rígida capaz de soportar unas condiciones ambientales adversas. La envoltura es una membrana formada por lípidos, proteínas y glucoproteínas (Murray, 2015).

3.4.3.1 PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio que permite la producción (amplificación) rápida de millones a miles de millones de un segmento específico de ADN, que así se podrá estudiar en mayor detalle. La PCR implica el uso de fragmentos

cortos de ADN sintético, denominados cebadores, para seleccionar un segmento del genoma que se amplificará, y luego múltiples sesiones de síntesis de ADN para amplificar ese segmento (NIH, 2024).

La PCR utiliza ciclos de temperatura para iniciar y finalizar la síntesis de DNA catalizada por enzimas. La reacción en cadena de la polimerasa consta de tres etapas (González, 2022):

1. Desnaturalización del DNA molde

En esta etapa, las cadenas de DNA son sometidas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos para poder separarlas. Este tiempo dependerá de la secuencia del templado; es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones, debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. También dependerá del origen del templado; no es lo mismo trabajar con DNA eucariota, que con DNA plasmídico o bacteriano

2. Alineamiento de dos primers sintéticos al DNA molde desnaturalizado

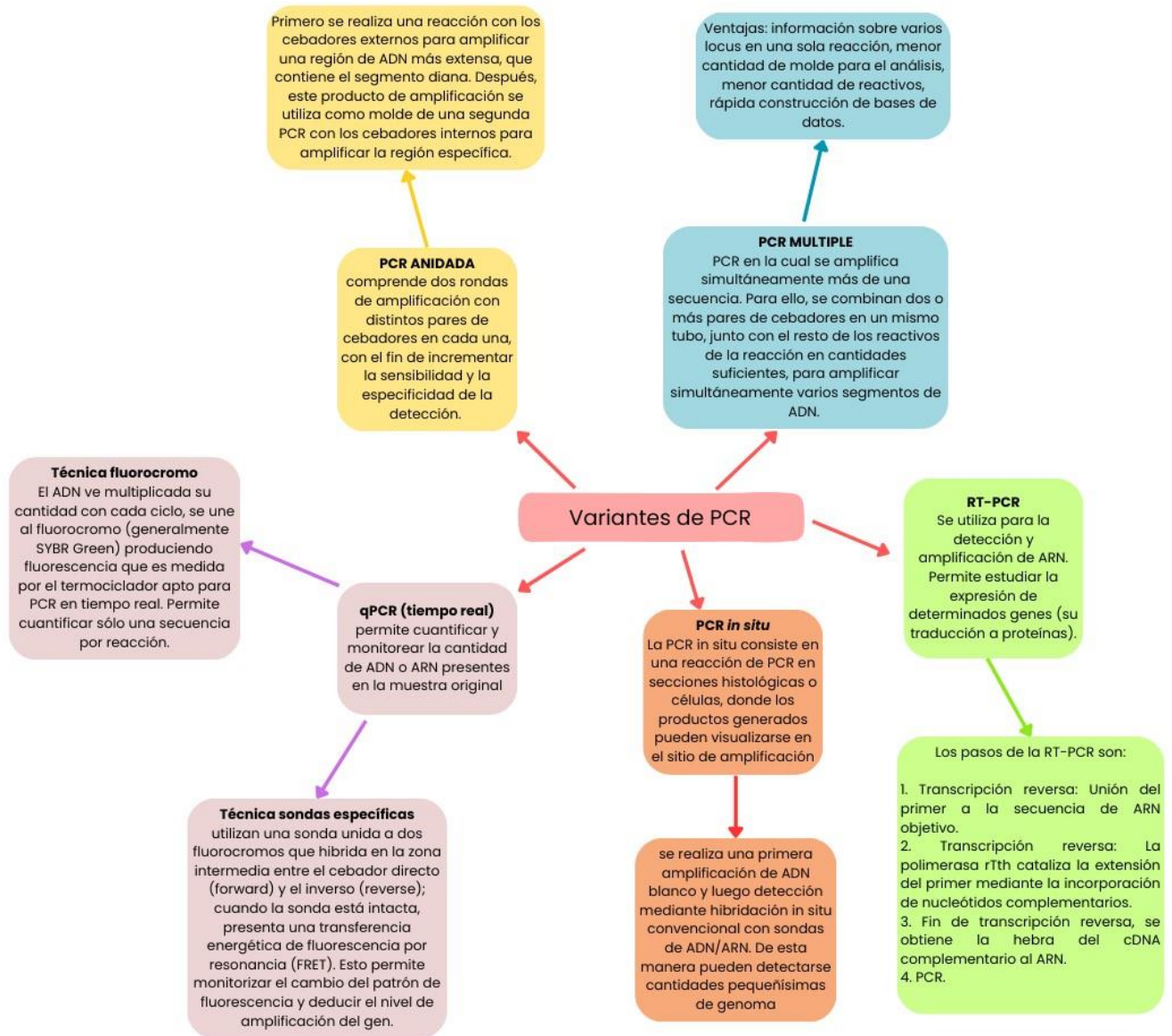
Los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria; suelen tener una longitud de 20-25 nucleótidos; se diseñan a partir de un conocimiento previo de la secuencia de DNA. Los dos primers son complementarios a secuencias de cadenas opuestas de las cadenas opuestas de la secuencia blanco. Se lleva la reacción a 45° C - 60° C.

3. Extensión En esta última etapa, la síntesis de DNA se inicia en los extremos 3' de los primers unidos. La extensión de los primers se produce a temperaturas entre 55 °C y 70 °C en una reacción enzimática catalizada por una DNA polimerasa termoestable.

3.4.3.2 Variantes de PCR

En el diagrama 1 se dividen los diferentes tipos de PCR más usados y comunes que puede haber y que se llegan a usar en el laboratorio. Se puede encontrar el diagrama en: https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRgvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link

Diagrama 1. Tipos de PCR más comunes que se pueden realizar, donde algunas se usan en el laboratorio de Microbiología clínica (RSI, 2021).



3.5 Susceptibilidad Antimicrobiana

3.5.1 Método de Kirby-Bauer

El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con

la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución (Picazo, 2000).

3.5.2 Estándar de McFarland

Se utilizan como referencia para ajustar la turbidez de las suspensiones bacterianas de modo que el número de bacterias esté dentro de un rango determinado para estandarizar las pruebas microbianas. Un ejemplo de este tipo de pruebas es la prueba de susceptibilidad a los antibióticos mediante la medición de la concentración inhibidora mínima, que se utiliza habitualmente en microbiología e investigación médica. Si una suspensión utilizada es demasiado espesa o diluida, podría producir un resultado erróneo (ya sea falsamente resistente o susceptible) para cualquier agente antimicrobiano determinado (Picazo, 2000).

3.6 Tinciones

3.6.1 Tinción de Gram

Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. La tinción de Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta, el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana. Posteriormente, se coloca lugol, el cual sirve como mordiente e impide la salida del cristal violeta por la formación de un complejo cristal violeta yodo que satura los espacios del peptidoglicano de la pared bacteriana.

En seguida, se coloca una mezcla de alcohol-acetona, la cual deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de la misma, también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas debido a que ésta es soluble a la acción de solventes orgánicos, como la mezcla de alcohol acetona. Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglicano.

Por último, se coloca safranina, la cual funciona como un colorante secundario o de contratinción y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-yodo (López-Jácome, 2014).

3.6.2 Tinción de Ziehl-Neelsen

Esta tinción permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: aquellos que son capaces de resistir la decoloración con alcohol-ácido y aquellos que no lo son.

La tinción de Ziehl-Neelsen utiliza compuestos básicos de fucsina y fenol para teñir la pared celular de las especies de Mycobacterium.

El uso de calor junto con carbol-fucsina y fenol permite la penetración a través de la pared celular bacteriana para su visualización. El uso de Carbol-fucsina, que es básico, se une

fuertemente a los componentes negativos de las bacterias, que incluyen el ácido micólico y la pared celular lipídica. La adición de alcohol ácido junto con la aplicación de calor forma un complejo fuerte que no se puede lavar fácilmente con disolventes.

Los bacilos acidorresistentes toman el color rojo del tinte primario, carbol-fucsina. Mientras que las bacterias no acidorresistentes se decoloran fácilmente con la adición del alcohol ácido y absorben el tinte de contratinción de azul de metileno y se ven azules (Passenn, 2021).

3.6.3 Tinciones especiales

3.6.3.1 Wright

La tinción de Wright es una técnica que se emplea generalmente para la diferenciación de elementos celulares de la sangre y es clasificada como una tinción policromática, dado que puede teñir compuestos ácidos o básicos presentes en una célula. Existen dos compuestos conocidos como eosina y que están intrínsecamente relacionados: eosina Y, conocida también como tetrabromofluoresceína –o, comúnmente, eosina amarilla–, y la eosina B, conocida como dibromodinitrofluoresceína o eritrosina B azulada (López-Jácome,2014).

3.6.3.2 Grocott

La sección se trata con la solución de ácido peryódico utilizada para oxidar los 1,2-glicoles a aldehídos.

Durante la incubación en la solución de trabajo de metenamina-borato de plata, los aldehídos se reducen a alcoholes primarios con reducción simultánea de iones de plata a plata elemental (de color marrón oscuro a negro). A continuación, se tonifica la sección con una solución de cloruro de oro que mejora adicionalmente la intensidad de la tinción de las estructuras objetivo y elimina la tinción no específica. Los enlaces de plata-oro no unidos en exceso se eliminan enjuagando la sección con una solución de tiosulfato de sodio. Finalmente, las secciones se exponen al colorante Fast Green F.C.F. que tiñe las estructuras de fondo de verde; eso a su vez crea un contraste claro y visualmente rico con las estructuras objetivo (de color marrón a negro) (Biognost, 2021).

3.6.3.3 Kinyoun

Se usa como decolorante una solución acuosa al 1% (volumen/volumen) de ácido sulfúrico, mientras que en la técnica original se utiliza una solución de alcohol-ácido al 3%. La tinción de Kinyoun modificada y no modificada identifica microorganismos llamados ácidosresistentes porque son resistentes a la decoloración por ácido, al igual que la tinción de Ziehl-Neelsen y la de Ziehl-Neelsen modificada que no utiliza calor durante la tinción (Pérez, 2021).

3.6.3.4 Blanco de Calcoflor

Es una tinción fluorescente que permite observar estructuras micóticas en distintas muestras clínicas gracias a la afinidad que tiene por la quitina. La microscopía en campo oscuro facilita la visualización correcta de los patógenos lo que favorece el diagnóstico oportuno y correcto de los pacientes (Duque-Restrepo, 2023).

3.7 Equipos automatizados

3.7.1 MALDI-TOF

El desarrollo de la tecnología MALDI-TOF ha permitido la utilización de la espectrometría de masas en la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas, principalmente ribosomales, a través de la creación de un espectro de masas que es específico para cada género y especie.

Un espectrómetro de masas se compone de tres unidades funcionales, una fuente de ionizante para transferir iones a las moléculas de la muestra en una fase gaseosa, un analizador de masas que separa los iones de acuerdo con su relación masa/carga y un dispositivo de detección para monitorizar los iones separados (Maldonado, 2018).

3.7.2 VITEK 2

VITEK 2 es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática.

Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimática y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras (Biomérieux, 2022).

3.7.3 Filmarray

El BIOFIRE® FILMARRAY® Pouch es un ensayo de PCR multiplex que almacena todos los reactivos necesarios para la preparación de muestras, la transcripción inversa de PCR, PCR y la detección en formato liofilizado. Durante una prueba, el sistema BIOFIRE extrae y purifica todos los ácidos nucleicos de la muestra sin procesar. A continuación, realiza una PCR multiplexada anidada en dos etapas. La primera etapa incluye una reacción múltiple única de gran volumen. La segunda etapa incluye reacciones individuales de un solo plex para detectar los productos de la primera etapa.

Utilizando los datos de la curva de fusión del punto final, el software del sistema BIOFIRE analiza automáticamente los resultados de cada objetivo en el panel. Cuando se completa la ejecución, el software informa si se detecta cada patógeno en la muestra. Esta información se imprime en una respuesta automática al final de la ejecución de la prueba (Biomérieux, 2021).

3.7.4 GeneXpert

El sistema GeneXpert realiza pruebas de PCR (CBNAAT, Cartridge Based Nucleic Acid Amplification Test) en configuraciones de 2,4 o 16 módulos. Todas incluyen el módulo probado GeneXpert como centro de análisis y utilizan la misma tecnología de cartucho patentada para todos los ensayos Xpert®. Es un sistema que integra y automatiza los cuatro pasos de la PCR en tiempo real: Extracción, Purificación, Amplificación y Detección dentro del cartucho. Tiene las ventajas de mínima manipulación de la muestra, algunas pruebas a partir de la muestra original, sistema de cartucho individual desechable y resultados rápidos (30min hasta 2.5 horas) (Werfen, 2024).

3.8 Medios de cultivo

3.8.1 Agar MacConkey

El agar MacConkey es un agar selectivo y diferenciador que solo cultiva especies bacterianas Gram negativas. Puede diferenciar aún más los organismos gramnegativos en función de su metabolismo de la lactosa. Las propiedades selectivas y diferenciadoras del agar MacConkey permiten su utilización tanto para aplicaciones de investigación como clínicas. La mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva. La fermentación de la lactosa produce ácidos orgánicos, particularmente ácido láctico, que disminuye el pH del agar. MAC contiene un indicador de pH que se vuelve rosado en condiciones ácidas. Por lo tanto, los gramnegativos que fermentan lactosa (fermentadores de lactosa) formarán colonias rosadas, mientras que los fermentadores sin lactosa formarán colonias opacas de color blanquecino (Jung, 2024).

3.8.2 Agar Sangre

Es un medio no selectivo, compuesto por un agar base que contiene una fuente proteica al cual se le agrega de 5% a 8% de sangre ovina; el agar sangre, permite el crecimiento de la mayoría de las bacterias (Gram positivas y Gram negativas), permite verificar capacidad hemolítica (medio diferencial), las hemólisis que se pueden evidenciar en este medio son: beta, alfa y gamma (Lozano, 2021).

- Hemólisis alfa: Lisis parcial de los glóbulos rojos, con un halo de color verdoso alrededor de las colonias, debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, con la liberación de un producto de degradación llamado biliverdina por el peróxido de hidrógeno generado en el metabolismo de los microorganismos.
- Hemólisis beta: Lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, translúcido alrededor de la colonia, estas hemolisinas interactúan con el colesterol en la membrana celular, dando como resultado el deterioro de esta estructura celular protectora.
- Hemólisis gamma: Ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de las colonias

3.8.3 Agar chocolate

Este medio permite el crecimiento de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales, como es el caso de algunos *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Neisserias* patógenas; corresponde a la misma fórmula del medio agar sangre, en el cual, por calentamiento a 60°C se lisan los glóbulos rojos, éstos al ser lisados liberan la hemoglobina y otros nutrientes como factor X (hemina) y factor V (Nicotin Adenin Dinucleótido - NAD). Este medio de cultivo es muy nutritivo por la presencia de peptona, tripteína, extracto de levadura, extracto de corazón y almidón, se pueden agregar suplementos definidos que proporciona el factor V, vitaminas, aminoácidos, coenzimas, glucosa iones férricos (Fe+3) y otros factores que favorecen el crecimiento de especies exigentes (Lozano, 2021).

3.8.4 Agar Verde brillante

Medio de enriquecimiento altamente selectivo para el aislamiento de *Salmonella spp.*, excepto *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* a partir de muestras clínicas, alimentos, y otros materiales de importancia sanitaria. En el medio de cultivo, la pluripeptona y el extracto de levadura, constituyen la fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales. La lactosa y la sacarosa son los hidratos de carbono fermentables, el rojo fenol es el indicador de pH, que vira al amarillo cuando hay producción de ácido a partir de la fermentación de azúcares, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el verde brillante actúa como agente selectivo que inhibe fundamentalmente el desarrollo de flora Gram positiva y de algunos microorganismos Gram negativos (Britania, 2021).

3.8.5 Agar salmonella- shigella

Medio de cultivo selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de *Salmonella spp.* y de algunas especies de *Shigella spp.* a partir de heces, alimentos y otros materiales en los cuales se sospeche su presencia.

En el medio de cultivo la pluripeptona y el extracto de carne aportan los nutrientes para el desarrollo microbiano. Las sales biliares y el verde brillante inhiben el desarrollo de una amplia variedad de bacterias Gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del *Proteus spp.* La lactosa es el hidrato de carbono fermentable. El tiosulfato de sodio permite la formación de SH₂ que se evidencia por la formación de sulfuro de hierro. El rojo neutro es el indicador de pH y el agar es el agente solidificante. Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollar acidifican el medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo (Britania, 2021).

3.8.6 Caldo tetrionato

Es un medio de cultivo líquido selectivo para el enriquecimiento y recuperación de cepas del género *Salmonella*.

Las peptonas presentes corresponden a digeridos pancreáticos de caseína y digerido péptico de tejido animal. Estas proporcionan la fuente de carbono, nitrógeno y nutrientes en general para el crecimiento bacteriano.

Por su parte, el tiosulfato de sodio reacciona con la solución iodurada para formar tetrionato. Este inhibe el crecimiento de coliformes y favorece el desarrollo de bacterias que contienen la enzima tetrionato reductasa, entre ellas se encuentra el género *Salmonella*, pero también *Proteus*.

Las sales biliares también actúan como sustancias inhibidoras de la mayoría de las bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas (coliformes) (Lifeder, 2023).

3.8.7 Caldo tioglicolato

Es un medio líquido de enriquecimiento de uso general utilizado en procedimientos cualitativos para la prueba de esterilidad y para el aislamiento y cultivo de aerobios como anaerobios y microaerófilos que no son exigentes en exceso. En microbiología clínica se puede utilizar como medio de enriquecimiento para muestras clínicas.

La glucosa, la peptona y el extracto de levadura proporcionan los factores de crecimiento necesarios para el crecimiento bacteriano. El tioglicolato sódico y la L-cistina son agentes reductores que previenen la acumulación de peróxidos, que son letales para algunos microorganismos. La resazurina es un indicador de oxidación-reducción: presenta un color rosa con la muestra oxidada y es incolora cuando está reducida. La pequeña cantidad de agar ayuda al mantenimiento de un bajo potencial de oxidación-reducción, al estabilizar el medio contra las corrientes de convección, por lo que mantiene la anaerobiosis a mayores profundidades del medio. Debido a su contenido de agar, el medio líquido de tioglicolato parece ligeramente opaco (BD, 2003).

3.8.8 Agar Mueller-Hinton

Es un medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad frente a antimicrobianos y recomendado por el Comité de la Organización Mundial de la Salud para la estandarización de pruebas de susceptibilidad por no contener sustancias inhibitoras de los antimicrobianos. Además, es útil con el agregado de sangre para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes. El agar Mueller-Hinton, se utiliza para la realización del ensayo de difusión en placa (Lozano, 2021).

3.8.9 Agar mycosel

El agar Mycosel es un medio de cultivo diseñado específicamente para el aislamiento y la identificación de hongos patógenos en muestras clínicas y ambientales. Su composición selectiva y diferencial permite la inhibición del crecimiento bacteriano mientras favorece el desarrollo de hongos, lo que lo convierte en una herramienta invaluable en el diagnóstico de infecciones fúngicas. El agar Mycosel se compone principalmente de extracto de levadura, peptona y cloruro de sodio, proporcionando nutrientes esenciales para el crecimiento de hongos. Además, se agrega un agente selectivo, para inhibir el crecimiento bacteriano, y un indicador de pH.

La Cicloheximida es usada en una variedad de medios para el aislamiento de hongos patogénicos, para inhibir ciertos hongos no patogénicos, como los mohos y levaduras saprófitas.

El Cloranfenicol es un antibiótico de largo espectro, que posee una acción inhibitora para una gran variedad de bacterias Gram negativas y Gram positivas (Microgen, 2024).

3.8.10 Agar Sabouraud

Medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. También es útil para el cultivo de levaduras. Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo). En el medio de cultivo, la peptona, la tripteína y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, inhiben el desarrollo bacteriano y favorecen el crecimiento de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante. Puede ser suplementado con otros agentes selectivos de crecimiento (Britania, 2011).

3.9 Estudios

En el INER se realizan diferentes estudios en el área del laboratorio de microbiología clínica (tabla 3) con sus respectivas muestras, las muestras dependen del tipo de estudio, y cada una tiene diferentes tiempos de crecimiento y de resultados.

Tabla 3. Estudios que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica del INER con sus respectivas muestras.

Área	Estudio	Tipo de muestra
Siembras	Baciloscopia urgente	Expectoración
	Ag SARS-Cov-2/ influenza	Exudado oro/nasofaríngeo
	Panel de neumonía	Expectoración, Aspirado bronquial, Lavado bronquio alveolar
	Panel respiratorio urgente	Exudado oro/nasofaríngeo
Bacteriología	Cultivo de Bacterias	Exudados: faríngeo, nasal y rectal; expectoración, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial, líquidos corporales, heces líquidas, orina, heridas, abscesos, secreciones, biopsias, punta de catéter, hemocultivo, LCR
Micología	Cultivo de hongos	Expectoración, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial, líquidos corporales, heridas, abscesos, secreciones, biopsias, médula ósea
	Tinciones especiales: Grocott, Buffy Coat, Tinta china, Wright, Kinyoun, Blanco de calcoflúor	Lavado bronquio alveolar, biopsia pulmonar, aspirado bronquial, Líquido cefalorraquídeo
	Toxina A&B de <i>C. difficile</i> / GeneXpert <i>C. difficile</i>	Heces líquidas
	Panel gastrointestinal	Heces líquidas
Inmunoensayos	Inmunofluorescencia <i>P. jirovecii</i>	Aspirado bronquial, lavado bronquio alveolar, esputo inducido

	Ag de <i>Legionella/S. pneumoniae</i>	Orina
	Ag <i>Cryptococcus</i>	Suero, Líquido cefalorraquídeo
	Ag Galactomanano de <i>Aspergillus</i>	Aspirado bronquial, lavado bronquio alveolar, suero
	Ac anti <i>C. immitis</i>	Suero, Líquido cefalorraquídeo
	Ag <i>Histoplasma</i>	Orina
	Ensayo de liberación de interferón gamma	Sangre heparinizada
Biología molecular y virología	Panel de meningitis	Líquido cefalorraquídeo
	GeneXpert SARS CoV2/Influenza	Exudado oro/nasofaríngeo, aspirado bronquial, lavado bronquio alveolar
	PCR Influenza A/B	Exudado oro/nasofaríngeo, aspirado bronquial, lavado bronquio alveolar, Biopsia pulmonar
	PCR Viral respiratorio	
	PCR Bacteriano respiratorio	
	PCR SARS CoV2	Exudado oro/nasofaríngeo, aspirado bronquial, lavado bronquio alveolar, Biopsia pulmonar
	PCR <i>M. tuberculosis</i>	Biopsia en bloque de parafina
	PCR <i>Aspergillus spp</i>	Plasma, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial
	PCR <i>Pneumocystis jirovecii</i>	Expectoración inducida, Lavado bronquio alveolar
	PCR Parvovirus B19	Sangre total
PCR <i>Toxoplasma gondii</i>	Sangre total, Líquido cefalorraquídeo	

	PCR SARS CoV2/Influenza/ VSR	Exudado oro/nasofaríngeo, aspirado bronquial, Lavado broquioalveolar
	PCR Citomegalovirus	Plasma, LCR, orina, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial
Micobacterias	Baciloscopia seriada	Expectoración
	Baciloscopia de cultivo	Expectoración, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial, líquidos corporales, heridas, abscesos, biopsias, secreciones
	Cultivo de micobacterias	Expectoración, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial, líquidos corporales, heridas, abscesos, biopsias, secreciones, orina, jugo gástrico, hemocultivo, médula ósea, LCR
	Identificación de micobacterias	Cultivo positivo
	Genes de resistencia a fármacos antituberculosos	
	GeneXpert MTB/Rif	Expectoración, lavado bronquio alveolar, aspirado bronquial, líquidos corporales, heridas, abscesos, biopsias, secreciones, orina, LCR

4. Objetivo General:

- Identificar y comprender los diferentes tipos de estudios y técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica del INER, para la detección de microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas.

4.1. Objetivos Particulares:

- Analizar las muestras biológicas para estudios microbiológicos, inmunológicos y moleculares que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica.

- Inocular en medios de cultivo, aislamiento bacteriano, hongos y levaduras, así como observar la morfología microscópica, para una correcta evaluación de las muestras biológicas.
- Comprender el uso de los sistemas automatizados como Vitek y MALDI-Tof para la identificación de bacterias y hongos de interés médico, y el uso del sistema GeneXpert para el diagnóstico de la tuberculosis.

5. Título del proyecto: Aplicación de métodos de laboratorios para identificación de microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas en pacientes atendidos en el INER.

6. Lugar de realización: Microbiología clínica en el INER.

7. Justificación

El servicio social se realizará en el área de microbiología clínica en el INER, en donde se aplica el desarrollo de las diferentes técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares que se llevan a cabo en el laboratorio. En esta área se vinculan dos de los módulos llevados en la carrera de QFB, el de Prevención y Control de la Propagación Microbiana (módulo 10) y Obtención de Metabolitos de Interés Industrial para la Salud (Módulo 11), donde se aprendió sobre los diferentes patógenos que afectan a la salud, con diferentes técnicas para su crecimiento (la inoculación de bacterias en medios de cultivo), identificación como es el uso del microscopio usando tinciones como la tinción de Gram al igual que el uso de pruebas bioquímicas para una correcta identificación y aislamiento de los microorganismos. Con estos conocimientos adquiridos en la licenciatura lograré realizar el plan de trabajo en el INER correctamente, terminando el servicio social con más conocimiento sobre el área, un mejor manejo de las muestras, la correcta inoculación de los microorganismos para su correcta identificación, al igual que comprender el uso de aparatos como el GeneXpert o el Film Array que ayudan en su identificación y análisis.

La principal atención del INER por 85 años ha sido brindar atención de la más alta calidad para tratar las enfermedades que afectan al aparato respiratorio. En promedio, anualmente, el Instituto atiende entre 5 mil y 6 mil pacientes en consulta externa, y 2 mil pacientes en áreas de hospitalización, sin embargo, debido a la pandemia en este año ha atendido a más de 5 mil pacientes de forma ambulatoria y 2 mil 500 en el área de hospitalización, todo esto de manera gratuita, indicó el doctor Salas Hernández al asegurar que “el compromiso del INER es mantener los estándares de calidad de atención en salud y formar cada vez más y mejores profesionales, médicos, enfermeras e investigadores” (Wences, 2021).

8. Aporte a la sociedad

La microbiología es una de las ramas que integran la biología y se enfoca en el estudio de los microorganismos. Se dedica a su clasificación, descripción, distribución y al análisis de sus formas de vida y funcionamiento. En el caso de los microorganismos patógenos, la microbiología estudia, además, su forma de infección y los mecanismos para su eliminación.

El INER, referente importante en el cuidado de la salud, desarrolla actividades de investigación, docencia, formación de personal, y atención médico-quirúrgica y de alta especialidad, enfocada a la medicina respiratoria, abarcando tanto enfermedades de vías respiratorias superiores como inferiores. (Wences, 2021).

El laboratorio de microbiología clínica tiene un papel crucial en el proceso diagnóstico, terapéutico y preventivo de las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, hongos, virus y parásitos, pues determinar el agente causal de manera eficaz permite tomar acciones oportunas para definir el manejo individual de las personas infectadas y cortar la cadena de transmisión cuando se requiera (Loaiza-Díaz, 2023). Una de las funciones principales del laboratorio de microbiología es garantizar un rápido resultado al clínico, que contribuya a la toma de decisiones en aquellas situaciones que así lo requieran.

La interpretación de los resultados obtenidos en el laboratorio de microbiología depende de la calidad de las muestras recibidas, siendo el manejo previo a su recepción en el laboratorio, crítico para la exactitud de los resultados (Muhlhauser, 2014).

En la fase preanalítica se realizan las tareas de toma de muestras, transporte y registro en el sistema informático del laboratorio; en la fase analítica las muestras se procesan, analizan y se obtienen los resultados y por último, en la postanalítica, se realiza la validación de los resultados y la emisión de los informes (García-Lechuz Moya, 2017).

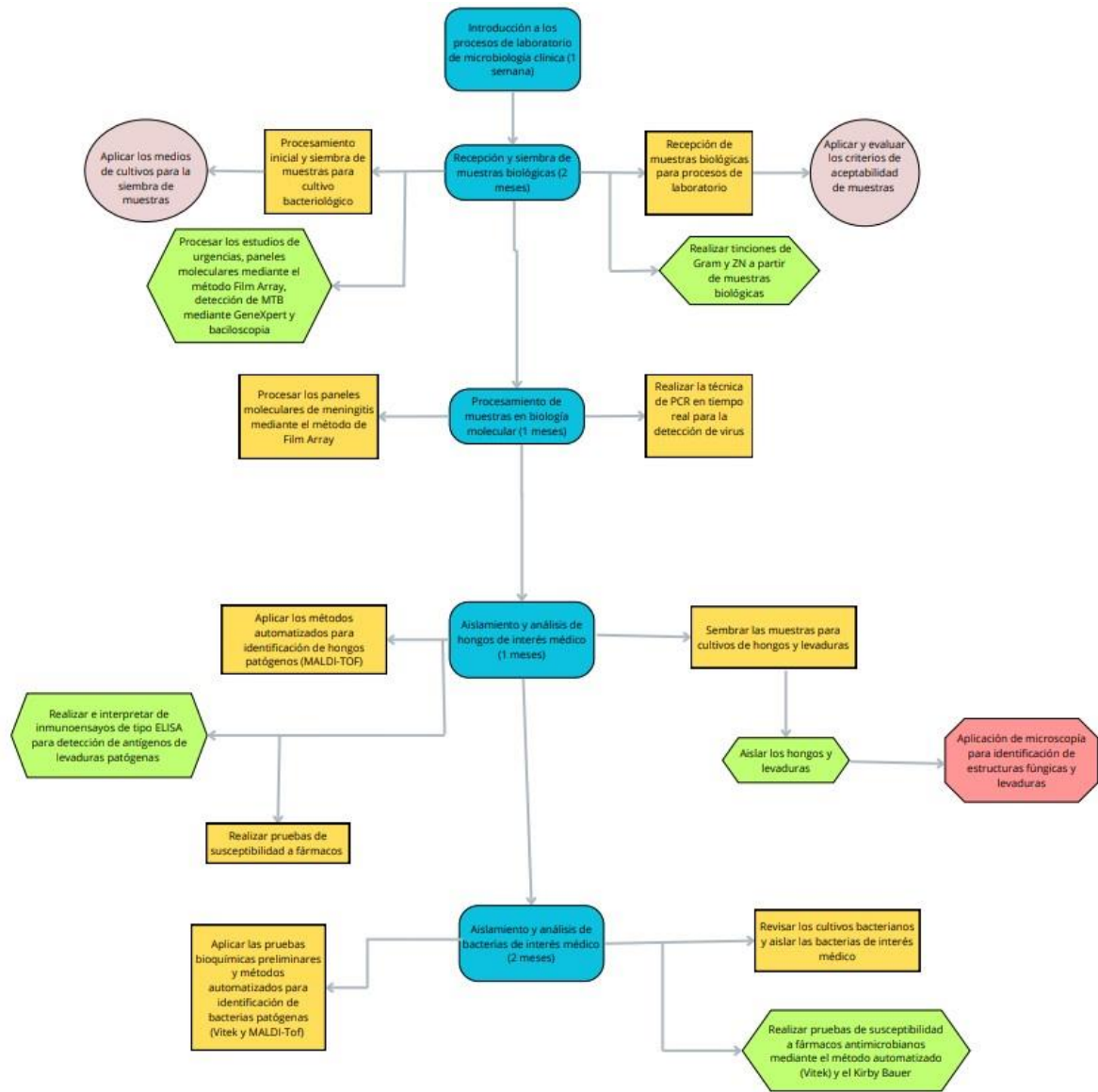
El laboratorio de microbiología es esencial en la detección oportuna de los agentes causales de infección, en la selección del tratamiento antimicrobiano y determinación del éxito terapéutico, en la vigilancia epidemiológica, y en el estudio y contención de brotes o epidemias, contribuyendo a preservar y mejorar la salud y bienestar de las personas (Loaiza-Díaz, 2023).

9. Actividades a realizar:

En el diagrama 2 se observan las diferentes actividades que se realizarán durante los 6 meses del servicio social en las diferentes áreas del laboratorio de microbiología clínica.

Se puede encontrar el diagrama en:
https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRgvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link

Diagrama 2. Actividades que se realizarán a lo largo del servicio social en el laboratorio de microbiología clínica



10. Cronograma de actividades

En la tabla 4 se detallan las actividades que se realizarán durante el servicio social en las diferentes áreas

Tabla 4. Cronograma de las actividades que se realizarán durante los 6 meses que dura el servicio social

		Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Objetivo	Actividades a realizar	MES 1	MES 2	Mes 3	Mes 4	MES 5	MES 6	

<p>Participar en el desarrollo de las diferentes técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica del INER para la detección de microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas.</p>	<p>Introducción a los procesos de laboratorio de microbiología clínica (1 semana)</p>	<p>La primera semana estará en una capacitación de introducción general a los procesos que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica, en donde se le mostrará de manera general, la importancia clínica de la detección de microorganismos patógenos, las enfermedades infecciosas a las que están asociados, y la importancia de los métodos de los laboratorios aplicados para su detección</p>	<p>Se capacitará para llevar a cabo la aplicación de criterios para valoración y aceptación de muestras clínicas</p>	<p>Procesamiento de muestras en biología molecular</p>	<p>Procesos de cultivos y aislamiento de hongos y levaduras en los diferentes medios de cultivo</p>	<p>Los procesos de cultivo y aislamiento de bacterias de interés médico en los diferentes medios de cultivo</p>	<p>En el periodo restante hasta la culminación del servicio social, el alumno realizará un trabajo de integración en donde aplicará los conocimientos y habilidades obtenidas a lo largo del servicio social</p>
	<p>Recepción y siembra de muestras biológicas (2 meses)</p>	<p>Aprenderá las medidas de bioseguridad que debe cumplir en un laboratorio de microbiología nivel 2</p>	<p>Manejo de muestras clínicas y su pretratamiento e inoculación en medios de cultivo, así como el fundamento de los mismos</p>	<p>Se realizará la técnica de PCR en tiempo real para la detección de virus en los pacientes</p>	<p>Observará la morfología microscópica y colonial de hongos, así como su descripción</p>	<p>Observará la morfología microscópica y colonial de bacterias</p>	
	<p>Detección de virus en biología molecular (1 mes)</p>	<p>Se capacitará en el área de recepción de muestras en donde conocerá, las muestras adecuadas para la realización de los distintos procesos de laboratorio, los criterios que deben ser aplicados para la correcta recepción de muestras biológicas aplicables para los estudios microbiológicos, inmunológicos y moleculares que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica</p>	<p>Métodos de aislamiento bacteriano para cultivos cualitativos y cuantitativos de muestras clínicas</p>	<p>Se procesarán muestras para panel de meningitis mediante el método de Film Array</p>	<p>Realizará tinciones microbiológicas para la observación de estructuras fúngicas y levaduras, como la tinción de Grocott, Wirght, tinta china, azul de lactofenol, e inmunofluorescencia para observación de <i>Pneumocystis jirovecii</i></p>	<p>Realizará pruebas bioquímicas para la identificación presuntiva de bacterias, así como los fundamentos y mecanismos de acción de las mismas</p>	
	<p>Aislamiento y análisis de bacterias de interés médico (2 meses)</p>		<p>Aprenderá la realización, lectura e interpretación de tinciones microbiológicas de Gram, Ziehl Neesen, y de sedimentos urinarios para la búsqueda de microorganismos patógenos mediante microscopía, así como la importancia y</p>		<p>Realizará la preparación de cultivos fúngicos para su identificación</p>	<p>Realizará la preparación de cultivos bacterianos para su identificación</p>	

			fundamento de las mismas				
	Aislamiento y análisis de hongos de interés médico (1 meses)		Procesamiento de paneles moleculares mediante el sistema de Film Array para estudios de urgencia.		Aprenderá el uso de los sistemas automatizados Vitek y MALDI ToF para la identificación de hongos de interés médico	Aprenderá el uso de los sistemas automatizados Vitek y MALDI-ToF para la identificación de bacterias de interés médico	
					Realizará pruebas de susceptibilidad a fármacos antifúngicos, así como la interpretación de los mismos	Realizará pruebas de susceptibilidad a fármacos antimicrobianos, así como la interpretación de los mismos	
					Se involucró en la realización de pruebas inmunoenzimáticas tipo ELISA para la determinación de antígenos y anticuerpos fúngicos		

11. Actividades específicas que se realizaron en el INER durante la estancia del servicio social

El laboratorio de microbiología clínica tiene unas peculiaridades que lo hacen diferente a otros laboratorios de diagnóstico. Su objetivo fundamental es el aislamiento y cultivo de microorganismos patógenos, actividad que genera un riesgo para el personal y que, de acuerdo con los agentes biológicos que se manejen, obliga a un determinado nivel de bioseguridad. Por otro lado, la correcta interpretación de los cultivos microbiológicos depende de la capacidad del laboratorio de evitar o minimizar la presencia de flora contaminante, y es fundamental el correcto tratamiento de las muestras y cultivos (condiciones asépticas, cabinas de bioseguridad) (Alados, 2010).

En el laboratorio de microbiología clínica del INER se dividen por áreas específicas para poder procesar las muestras adecuadamente si el paciente solicita el estudio correspondiente (tabla 3), estas son: Recepción de muestras y siembras, bacteriología, micología, biología molecular y micobacterias.

Diferentes decretos de autorización de laboratorios clínicos de las comunidades autónomas especifican que los laboratorios contarán, al menos, con las siguientes áreas diferenciadas: a) administrativa; b) extracción y recepción de muestras; c) trabajo o análisis (aquellas en las que se realizan los análisis específicos y las actividades relacionadas); d) limpieza de material y eliminación de residuos, y e) áreas de apoyo (Alados, 2010).

La diferenciación de las áreas de trabajo del resto de las áreas auxiliares permite un mejor control del riesgo e incluso disminuye costes en la gestión de residuos y diseño de los sistemas de acondicionamiento de aire y ventilación seguros. El RD 664/199713 establece que las actividades que supongan la manipulación de agentes biológicos se ejecutarán en zonas de trabajo con sus correspondientes niveles de contención (Alados, 2010).

11.1 Recepción de muestras y siembras

En esta área se reciben todo tipo de muestras, como biopsias, expectoraciones, aspirados bronquiales, médulas óseas, líquidos cefalorraquídeos, lavados bronquioalveolares, entre otros, en donde con una solicitud se piden diferentes estudios dependiendo si el paciente lo requiere. Antes de recibir la muestra se aplican criterios que se pueden observar, como lo es la cantidad mínima que debe de tener para que alcance para todos los estudios solicitados, los estudios que solicitan van de acuerdo al tipo de muestra, ya que no todas las muestras se procesan de la misma manera, el contenedor donde viene la muestra, la temperatura y algunas especificaciones de toma de muestra, como se observa en la tabla 5.

La recepción de muestras debe situarse a la entrada del laboratorio, de manera que se reduzca la circulación del personal no autorizado en el espacio de trabajo. Es recomendable que disponga de un acceso directo (ventanilla, mostrador) con el exterior del laboratorio, de manera que las muestras se depositen sin necesidad de acceder a las áreas internas. Es también recomendable que estos espacios tengan un acceso fácil con el área administrativa, que debiera situarse en una zona adyacente, pero separada (Alados, 2010).

Tabla 5. Criterios de aceptación o rechazo de las muestras recibidas en el laboratorio de microbiología clínica

Tipo de muestra	Estudios	Cantidad mínima	Contenedor	temperatura	Criterios de rechazo y especificaciones	
Espujo inducido espontáneo	o Cultivo de bacterias	1 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético	<2 h/TA	No cumple con los criterios de la valoración macroscópica (para cultivo de bacterias)	
	Cultivo de hongos					
	IFI	1 ml			Contiene restos o artefactos no propios de la muestra	
	Cultivo de micobacterias	3 ml			Es secreción postnasal o moco nasal	
	Baciloscopia seriada urgente	o 1 ml			>2 h/ 2-8 °C	Es solo saliva (excepto para CBK o GEMTB)
	GeneXpert MTB	1 ml				

	Panel de neumonía	0.5 ml			
--	-------------------	--------	--	--	--

Abscesos	Cultivo de bacterias	1 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético		Muestras tomadas con hisopo (excepto cuando se indique desbridamiento o hay presencia de secreción externa)
Heridas	Cultivo de hongos	1 ml	Jeringa con tapón de rosca	< 2 h / TA	
Secreciones	Cultivo de micobacterias	3 ml	Hisopo (solo cuando se realizó un proceso de desbridamiento o si hay presencia de secreción externa)	> 2 h / 2-8°C	
	GeneXpert MTB	1 ml			
Sangre total	Buffy Coat	3 ml	Tubo para sangre con EDTA		Muestras de sangre contenidas en un tubo diferente al mencionado
Suero	Ag de Galactomanano	3 ml	Tubo para sangre sin anticoagulante	Sangre:	Sangre hemolizada (solicitar nueva muestra)
	Ag de <i>Cryptococcus</i>			< 12 h / TA,	
	Ac <i>Coccidioides</i>			12 - 48 h / 2-8°C	
Plasma	Quantiferon TB Gold	4 ml	Tubo para sangre con Heparina de litio o sodio		
Exudado faríngeo	Cultivo de bacterias	No aplica	Medio de cultivo en placa	TA	La muestra debe tomarse por el personal asignado a la recepción o el personal de siembras e inocularse directamente en los medios de cultivo.
Exudado nasal					
Exudado rectal	Cultivo de bacterias	No aplica	Hisopo contenido en tubo seco	<2 h / TA	Se debe tomar un exudado por estudio. La muestra debe ser obtenida por el médico o personal de salud tratante
	GeneXpert Carba			>2 h / 2-8°C	
Exudado faríngeo oro/naso	PCR SARS	No aplica	Tubo con medio de transporte universal (UTM)	<2 h / TA	La muestra no viene contenida en medio de transporte universal (UTM)
	PCR Influenza				
	Panel viral				

	Panel de bacterias atípicas			>2 h / 2-8°C	Muestras obtenidas con hisopo de algodón
	GeneXpert SARS/Flu				
	Panel respiratorio urgente				
Líquido cefalorraquídeo	Cultivo de bacterias	0.5 - 1.5 ml	Tubo estéril de tapa con cierre hermético	TA	Muestra contenida en tubos con tapa de algodón
	Cultivo de hongos	0.5 ml			
	Tinciones especiales				
	Ac <i>Coccidioides</i>				

	Ac <i>Cryptococcus</i>				Evitar la refrigeración, dar prioridad a su procesamiento
	Cultivo de micobacterias	0.8 ml			
	GeneXpert MTB	0.5 ml			
	Panel meningitis	0.5 ml			
Líquido pleural	Cultivo de bacterias	5 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético		
	Cultivo de hongos	1 ml	Jeringa con tapón de rosca	<2 h / TA	Se recomienda que el contenedor tenga anticoagulante
Líquidos corporales	Cultivo de Micobacterias	5 ml		>2 h / 2-8°C	
	GeneXpert MTB	1 ml	Frasco de hemocultivo		
Orina	Cultivo de bacterias	10 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético (orina chorro medio)		Muestras recolectadas de primer chorro, cómodos, o bolsas recolectoras
	Cultivo de micobacterias	40 ml muestra		<2 h / TA	Muestra que hayan superado las 24 horas posteriores a su obtención

	GeneXpert MTB				
	Ag de Histoplasma	1 ml		>2 h / 2-8°C	
	Ag de <i>Legionella/S. pneumoniae</i>	1 ml	Jeringa (punción suprapúbica o sonda)		Para cultivo de micobacterias se deben solicitar 3 muestras de orina de 3 días consecutivos
Heces	Cultivo de bacterias		Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético		Muestra de heces de consistencia sólida (salvo su autorización bajo concesión por la jefatura del servicio)
	GeneXpert C.diff				Muestras que ya hayan superado las 24 h posteriores a su obtención
	Tinciones especiales (Kinyoun)	10 ml	Medio de transporte (Stuart, Cary-Blair, Amies) para muestras pediátricas	TA	Evitar su refrigeración
	Panel gastrointestinal				
(para	Cultivo de bacterias	Pacientes pediátricos: volumen varía	Frasco de hemocultivo inoculado:		
Sangre hemocultivo)	Cultivo de micobacterias	según el peso, entre 1 a 5 ml en 1 frasco pediátrico. Pacientes adultos: 8 a 10 ml por frasco	Plus Aerobic/F para adultos	Óptimo <2 h / TA	Solo aplica para bacteriología. El set de frascos no está pareado (excepto pediátricos). No hay en el set al menos un frasco periférico cuando hay 1 frasco central. El set contiene 2 frascos centrales y ningún frasco periférico
	Cultivo de hongos		Peds Plus/F para pediátricos	Máximo 24 h/ TA	
			Myco F/Lytic para cultivo de micobacterias y hongos		
Médula ósea	Cultivo de bacterias	5 a 10 ml por frasco	Frasco de hemocultivo inoculado:		Los frascos para cultivo y tubos con medio de cultivo deben ser recibidos ya inoculados con el volumen de médula ósea adecuado; la obtención de la muestra e inoculación en los frascos y tubos es responsabilidad del médico o personal de salud tratante. En el caso de requerir tinciones microbiológicas, se deben recibir los portaobjetos necesarios con el extendido de médula ósea previamente fijado.
	Cultivo de micobacterias		Peds Plus/F para cultivo de bacterias	Óptimo <2 h / TA	
	Cultivo de hongos				

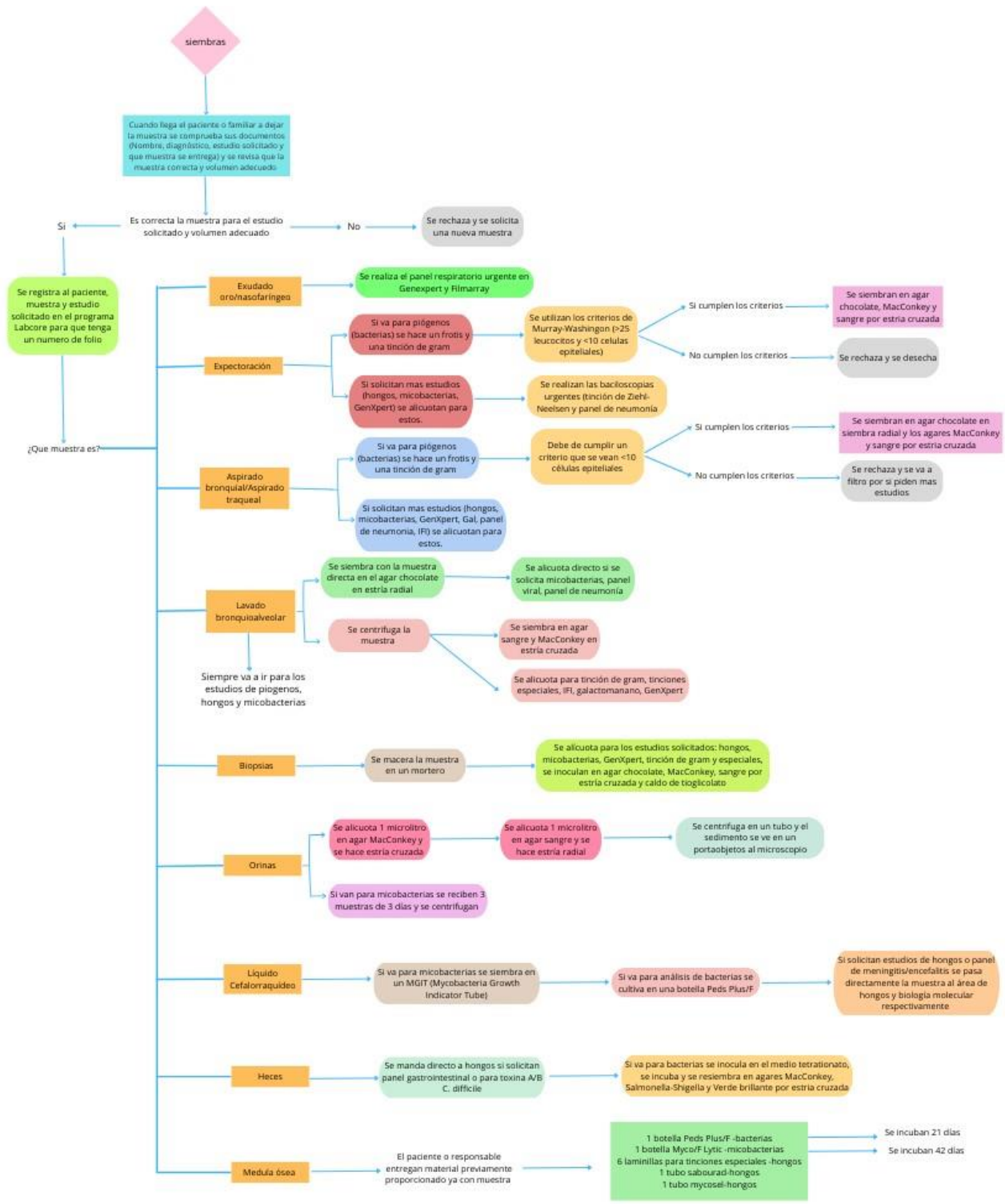
			Myco F/Lytic para cultivo de micobacterias	Máximo 24 h / TA		
			Tubos de agar sabouraud y agar Micobiotico inoculados			
Punta de catéter	Cultivo de bacterias	No aplica	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético	TA	El tamaño de la punta es mayor al indicado o se encuentra contenida en algún tipo de solución	
Jugo gástrico	Cultivo de micobacterias	5 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético	<2 h / TA	Procesar lo antes posible una vez recibida la muestra. Se deben solicitar 3 muestras de 3 días consecutivos. Se recomienda que la recepción del JG sea antes de las 9:00 para su procesamiento inmediato.	
	GeneXpert MTB	0.5 ml		>2 h / 2-8°C		
Aspirado bronquial	Cultivo de bacterias	5 ml	Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético		Muestra se encuentra contenida en algún fijador químico como carbowax u otro	
Aspirado traqueal	Cultivo de hongos	3 ml				
Lavado traqueal	Tinciones especiales			<2 h / TA		
Lavado bronquial	IFI PCP		Trampa recolección secreciones bronquiales para de			
Lavado bronquio alveolar	Ag de galactomanano			>2 h / 2-8°C		
	Cultivo de micobacterias	5 ml				
	GeneXpert MTB	1 ml	Jeringa con tapa de rosca			
	Panel de neumonía	0.5 ml				
	PCR Inf, SARS, PV/ATI	0.5 ml				
Biopsia Respiratoria	Cultivo de bacterias	1 ml			La muestra se encuentra contenida en algún fijador químico como formol u otro.	
	Cultivo de hongos					<2 h / TA
Biopsia no respiratoria	Tinciones especiales	1 ml				
			Frasco estéril de boca ancha con cierre hermético, inmersa en solución salina			

	Cultivo de micobacterias	5 ml		>2 h / 2-8°C	
	GeneXpert MTB	1 ml			
	PCR MTB	NA	Bloque de parafina	TA	

Una vez aceptada la muestra se registra en una base de datos que tiene el INER y se le da un folio. Teniendo el folio se puede procesar la muestra (diagrama 3).

Diagrama 3. Actividades específicas realizadas en el área, donde se procesan paso a paso cada una de las muestras.

También se puede encontrar el diagrama 3 en:
https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRgvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link



11.2 Bacteriología

Las muestras cultivadas en sus respectivos medios se incubaron por 48 h, los sembrados en agar MacConkey y los tioglicolatos en una estufa a 37°C y el agar sangre y chocolate en otra estufa con CO₂ a 37°C. Posteriormente se revisan cada una de ellas y se analiza dependiendo de su morfología macroscópica y el tipo de muestra en que crecen, con estos criterios se aceptan o se rechazan. Una vez aceptadas ya se puede proceder a sus estudios (Diagrama 4). Se puede encontrar el diagrama en: https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRqvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link

Diagrama 4. Actividades específicas realizadas en el área, donde se procesan paso a paso cada una de las muestras.

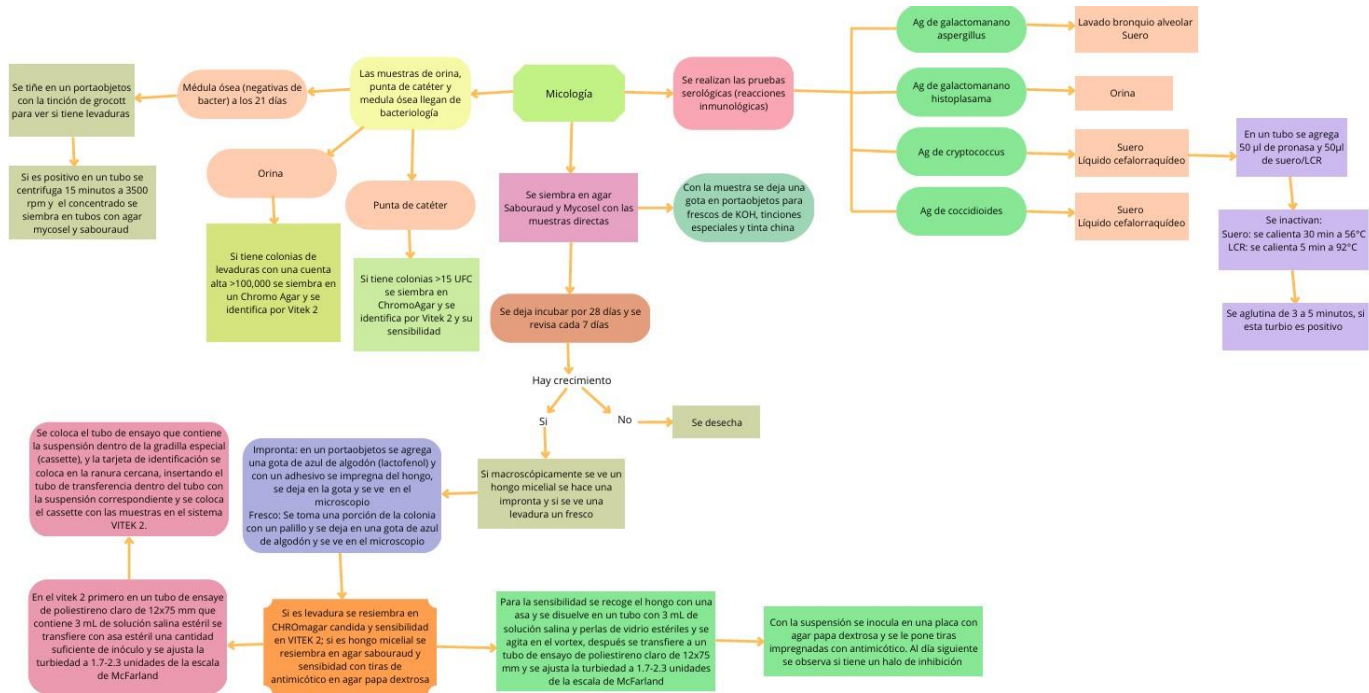


11.3 Micología

En esta área se realizan diferentes estudios, por lo que se tienen diferentes procedimientos para cada uno, se hacen pruebas serológicas, se hacen diferentes tinciones (Grocott, Kinyoun, Wright, Blanco de calcofluor, inmunofluorescencia de *Pneumocystis jirovecii*) y cultivo de las muestras directas en dos tubos con agar mycosel y agar sabouraud, donde se deja por 28 días para ver si hay crecimiento y se revisa cada 7 días, con los criterios macroscópicos se considera seguir su procesamiento o se desecha y el estudio para la Toxina A&B de *C. difficile*/ GeneXpert *C. difficile*. (Diagrama 5). Se puede encontrar el diagrama en:

https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRgvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link

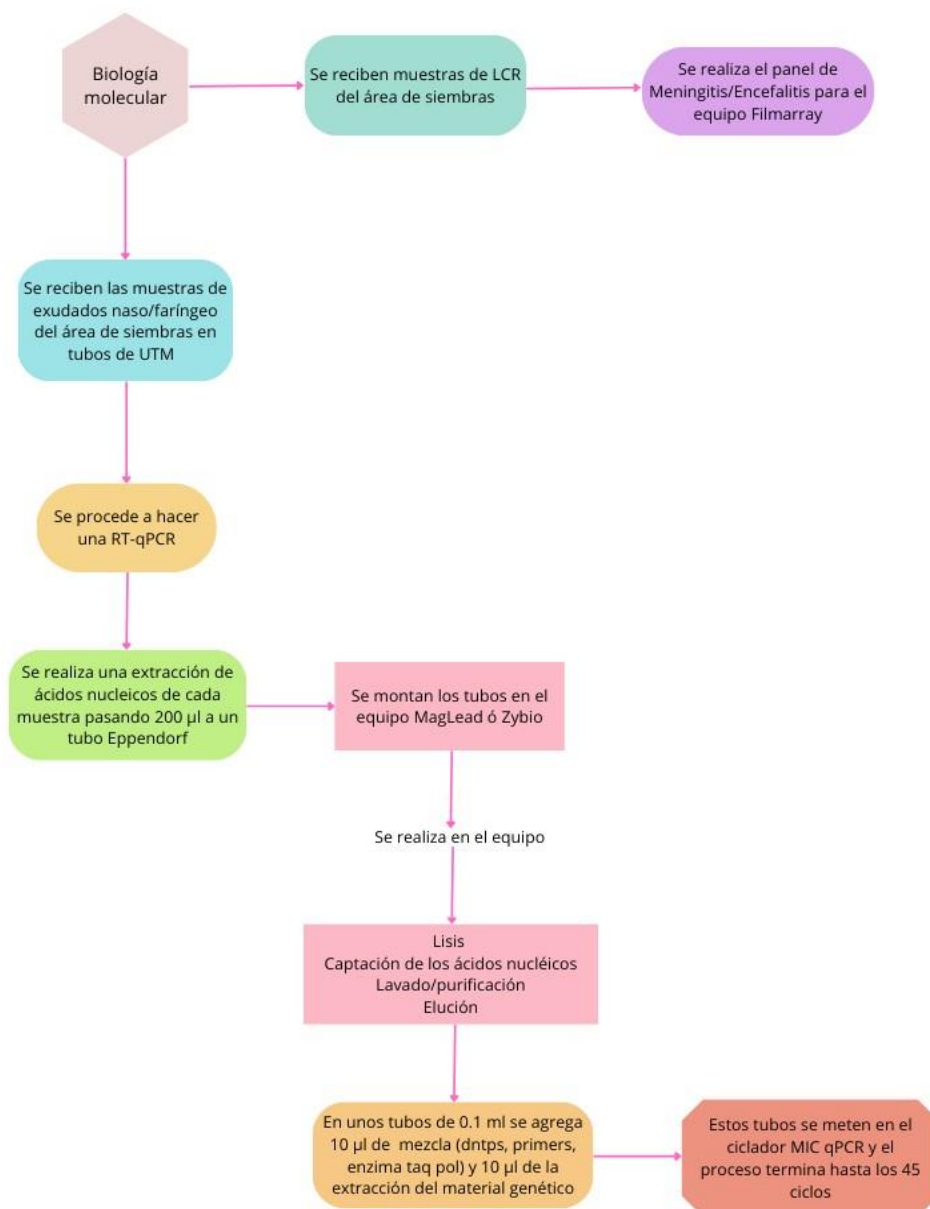
Diagrama 5. Actividades específicas realizadas en el área, donde se procesan paso a paso cada una de las muestras.



11.4 Biología Molecular

En el área se reciben muestras desde el área de siembras de exudado oro/nasofaríngeo en tubos UTM para su estudio de PCR y muestras de Líquido Cefalorraquídeo para el panel de meningitis (Diagrama 6). Se puede encontrar el diagrama en: https://drive.google.com/drive/folders/1xU3vvelzPch7_IO4ptMRgvPR6k_m5B6Q?usp=drive_link

Diagrama 6. Actividades específicas realizadas en el área, donde se procesan paso a paso cada una de las muestras.



12. Resultados y discusión

12.1 Recepción de muestras y siembras

El procesamiento en la recepción de muestras y siembras consiste en la preparación de las muestras, la realización de tinciones y la inoculación en los medios de cultivo para su posterior incubación. En este proceso es preciso considerar: a) el tipo de muestra enviada, b) el diagnóstico clínico del paciente y c) la petición solicitada. El tipo de muestra enviada determina si requiere o no pretratamiento (centrifugación, homogeneización) previo a la inoculación de los medios de cultivo (tabla 5). La información clínica del paciente es fundamental para la selección de los medios de cultivo a inocular y su posterior incubación.

Todo el trabajo de un laboratorio de microbiología se convierte en inútil si las muestras clínicas que se reciben para el diagnóstico no son de calidad, es decir, no están correctamente recogidas y transportadas al laboratorio en las condiciones adecuadas para la determinación que se solicita (Tabla 6). El laboratorio de microbiología debe proporcionar esta información a los servicios solicitantes para que tanto la recogida como el transporte y la conservación se hagan de manera apropiada (Guerrero, 2003).

Tabla 6. Cantidad de muestras recibidas durante el turno matutino en un día.

Muestras	Cantidad por turno matutino
Exudado oro/nasofaríngeo	± 10
Expectoración	25-30
Aspirado bronquial	15-20
Lavado bronquio alveolar	± 15
Biopsias	5-10
Orinas	± 6
Líquido cefalorraquídeo	± 5
Heces	± 2
Médula Ósea	± 4
Secreciones	± 7

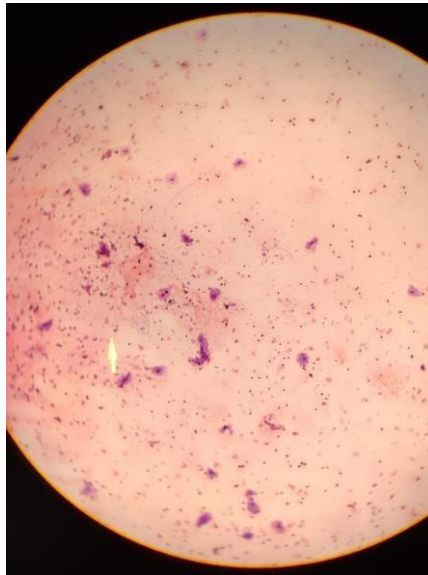
Las infecciones respiratorias bajas (IRB) se encuentran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes y con mayores tasas de morbilidad y mortalidad. El diagnóstico microbiológico resulta esencial para la determinación del agente etiológico y la instauración de un tratamiento antimicrobiano adecuado. Las principales limitaciones del diagnóstico microbiológico se encuentran en su baja rentabilidad (en el 40 – 60 % no se aísla el agente causal) y en la dificultad en la interpretación del valor de los microorganismos aislados en relación con su significación clínica. La baja sensibilidad de los cultivos obedece, por una parte, a la contaminación de las muestras de esputo con secreciones del tracto respiratorio superior, lo que dificulta el crecimiento y enmascara la presencia de los verdaderos patógenos procedentes de localizaciones anatómicas más bajas (Lourdes, 2011).

En México, durante el periodo 2010 a 2019 se registraron un total de 1,485,290 casos de neumonías y bronconeumonías, siendo los grupos más afectados los menores de cinco y adultos de 65 y más años, los cuales concentran el 58.5% de los casos. Durante el mismo periodo se observa un decremento en el número de casos y tasa de incidencia al pasar de 156,636 casos y tasa de incidencia de 144.5 casos por cada 100 mil habitantes, a 132,982 y 105.6, respectivamente.

Del 30 al 60 % de las muestras de esputo recibidas en los laboratorios de Microbiología corresponden a saliva, por lo que la valoración de la calidad de la muestra al examen microscópico tras la tinción de Gram, en función del número de células epiteliales y leucocitos polimorfonucleares observados, aumenta considerablemente el valor del resultado y es aún más significativo en su correlación clínico-microbiológica si se realizan cultivos cuantitativos (Rodríguez, 2002).

La tinción de Gram en las muestras respiratorias es indispensable para evaluar su calidad en los laboratorios de microbiología; siendo una técnica rápida, económica y fácil de realizar. Para establecer parámetros de calidad en el esputo en pacientes sin Fibrosis Quística, se han reportado diferentes formas; la más aceptada es la descrita por Murray, quien considera un esputo de buena calidad, cuando tiene menos de 10 células epiteliales y más de 25 leucocitos por campo de alto poder. En los pacientes con FQ la persistencia del fenómeno inflamatorio en la vía aérea aún sin colonización bacteriana, genera dificultades para el reconocimiento de una muestra respiratoria de "calidad" (Morales-Múnera, 2020). Entre el 25 y el 40 % de las muestras no son aptas para su estudio por diversos motivos. La presencia de muchas células epiteliales es signo de contaminación, como se observa en la imagen 5, mientras que cuando están en pequeño número la sospecha de infección es mayor. La presencia de moco apoya la existencia de un componente inflamatorio evidente (Liñan, 2001)

Imagen 5. Muestra de expectoración en tinción de Gram, en la que se observa que tiene más de 10 células epiteliales, por lo que es una muestra inadecuada y se desecha



La siembra manual se realizará utilizando la técnica de aislamiento para la mayoría de las muestras y la técnica de recuento para aquellas que necesitan un recuento de colonias (p. ej., orina). En el que el aislamiento se usa un estriado por cuadrantes: se divide la parte inferior de la caja Petri en cuatro partes iguales con un marcador. Se esteriliza el asa y se hace una estría en el 1er cuadrante con el procedimiento básico de siembra. Se trabaja en el sentido de las agujas del reloj, estriando cuadrante por cuadrante, esterilizando el asa antes de seguir a otro (García, 2014); En la de recuento se hace una siembra en estría radial, en la que se esteriliza el asa calibrada a 1 microlitro, se toma la muestra y se estría de extremo a extremo de la placa mientras se va girando hasta llegar al inicio.

12.2 Bacteriología

Durante los 2 meses de estancia en el área, cada día al inicio del turno se revisan cada una de las placas inoculadas. Se revisan a las 24 horas de incubación de alrededor de 40 pacientes (de 2 a 3 cajas petri con agar por persona, dependiendo de la muestra, ésta ya inoculada) con alrededor de 100-120 cajas, de los cuales el 30% se separan las colonias que se observan que pueden ser patógenas y el resto se vuelve a incubar. Las cajas de 48 horas se revisan después, con alrededor de otros 40-50 pacientes (de 120-150 cajas petri). De las cuales el 40% se separan las colonias que se observan que pueden ser patógenas de interés, el resto se desecha. Después se revisan los cultivos que ya están separados para ver si ya se pueden trabajar. De estas son ± 90 cajas petri, de las que unas ± 15 cajas se trabajan para poder identificarlas, hacerles pruebas bioquímicas, y hacerles una prueba de sensibilidad a antibióticos (Tabla 7) La mayoría de los microorganismos patógenos que se trabajan son en las vías respiratorias, esto podría ser debido a que es uno de los sistemas orgánicos que comunica en forma directa el ambiente interno con el ambiente externo. Prácticamente cualquier microorganismo, si se presentan las circunstancias adecuadas y los factores del huésped lo permiten, puede producir infección de las vías respiratorias inferiores. Gran parte de los microorganismos que producen infecciones de las vías respiratorias inferiores primero

colonizan el epitelio nasal y faríngeo (Somogyi, 1998). La cantidad de bacterias que crecen en un cultivo diariamente causantes de alguna enfermedad infecciosa es preocupante, eso sin contar los casos en los que no se hace un estudio microbiológico. En relación al número de microorganismos aislados en el mes de enero a febrero del 2023, los diez microorganismos causantes de Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) más frecuentes notificados en la plataforma de la RHOVE siguen siendo los mismos que los registrados en el año 2022: *Escherichia coli*, seguido de la *Pseudomonas aeruginosa*, la *Klebsiella pneumoniae*, el *Acinetobacter baumannii* y en quinto lugar el *Staphylococcus aureus*, es muy importante señalar que del total de las IAAS registradas, el 28.7% no cuentan con registro de resultado de aislamiento microbiológico y que en un 3% de los cultivos tomados, no se aisló ningún microorganismo (Secretaría de salud, 2023).

Tabla 7. Resultados del crecimiento en los cultivos ya inoculados con muestra e incubados a las 24 h y 48 h, con un aproximado de cajas por día.

	24 h		48 h	
	No.	%	No.	%
Al día cultivos revisados	±130	100	± 120	100
Crecimiento	± 50	38.4	± 85	70.8
Crecimiento de interés	± 20	15.3	± 36	30
No crecimiento	± 80	61.53	± 35	29.16

Cuando se realiza una siembra en medios sólidos es deseable obtener las bacterias en forma aisladas. Sin embargo, generalmente las muestras tienen una flora mixta, que se manifiesta por el desarrollo de distintas especies bacterianas: algunas son saprófitas (microbiota) o contaminantes del proceso de muestreo y otras son las que tienen un rol patógeno, las que tienen este rol son las que interesan para poder trabajar, las que son microbiotas o contaminantes no se toman en cuenta y se desechan

Para realizar diagnósticos microbiológicos el organismo debe ser primero aislado y mantenido puro en condiciones de laboratorio.

Si en la placa de agar ha crecido más de un tipo de bacterias, se debe realizar el aislamiento de 1 colonia a otro medio de cultivo semejante o a medios selectivos.

Si fuese necesario las colonias se someterán a uno o más re-aislamientos, hasta obtener cultivos puros; es decir, presenten la misma morfología y microscópicamente correspondan a un solo tipo de bacteria.

Sólo en este momento se puede proceder a la identificación de la especie bacteriana mediante el traspaso de 1 sola colonia a una batería de medios diferenciales (Wikilibros, 2015).

Para poder identificar una bacteria de algún cultivo primero se observaron sus características morfológicas que se observan macroscópicamente. Los esquemas tradicionales de

identificación fenotípica bacteriana se basan en las características «observables» de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas (Vargas 2014). La morfología de una colonia dependerá del borde y la forma en que se eleva sobre el medio de cultivo.

En las siguientes imágenes se observan diferentes bacterias que crecen con alguna característica macroscópica que se pueden diferenciar en diferentes medios de cultivos, estos fueron resultados de re-siembras para poder hacer un cultivo puro, y en la que se identificaron con sistemas automatizados como el Maldi-tof y Vitek 2, además de su posterior sensibilidad en el Vitek 2 al confirmar una bacteria patógena de interés. La sensibilidad dependiendo de la bacteria se completa con el método de Kirby-Bauer con sensidiscos. Estas bacterias patógenas de interés, el 95% de las veces es acertada por los expertos en el laboratorio, por lo que son muy pocos cultivos al día que son desechadas una vez que son trabajadas. Las sensibilidades pueden variar dependiendo de la cepa y del paciente, ya que no siempre una especie de bacteria es sensible o resistente a los medicamentos.

En la imagen 6 se puede observar en la placa que la *E. coli* pigmento de un color rosado el agar MacConkey, indicando que fermenta la lactosa, al igual que se observa que es un bacilo ya que la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva. La colonia es circular, un poco seca, entera, ligeramente elevada, consistencia lisa. Por el contrario, en la imagen 7 se puede observar que aunque es un cultivo de *E. coli* la fermentación de la lactosa es negativa, el color de las colonias es del mismo color que el medio, esto puede ocurrir ya que el 3% de esta bacteria da este resultado.

Imagen 6. Cultivo de *Escherichia coli* en agar MacConkey

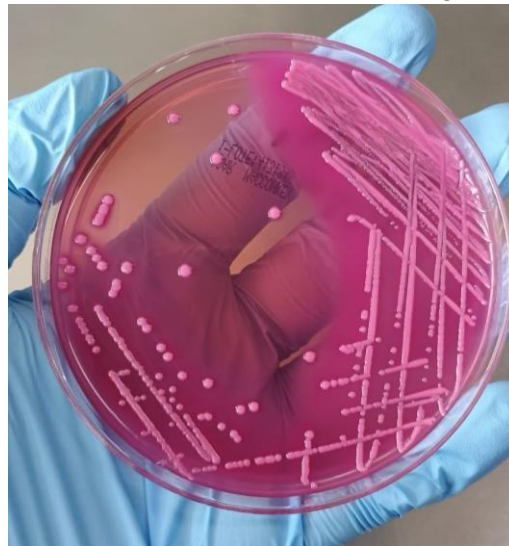


Imagen 7. Cultivo de *Escherichia coli* en agar MacConkey



En la imagen 8 se puede observar en el cultivo de la *Moraxella Catarrhalis* las colonias son pequeñas, brillosas, convexas, circulares, lisas, blancas.

Imagen 8. Cultivo de *Moraxella catarrhalis* en agar sangre



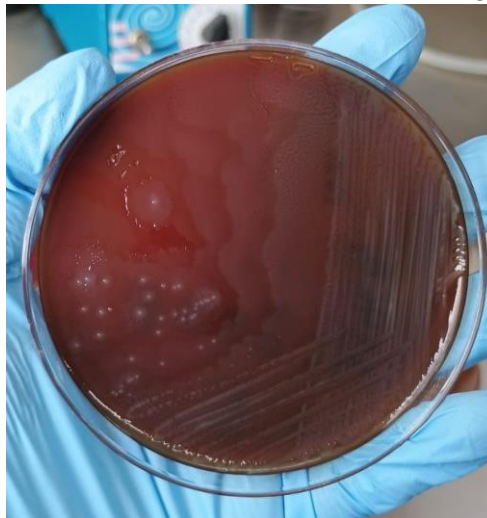
En la imagen 9 se puede observar que, si fermentan la lactosa al pigmentar de un color rosado, las colonias son concéntricas, brillosas, consistencia mucoide, convexas, grandes, olor a putrefacto, circulares.

Imagen 9. Cultivo de *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey



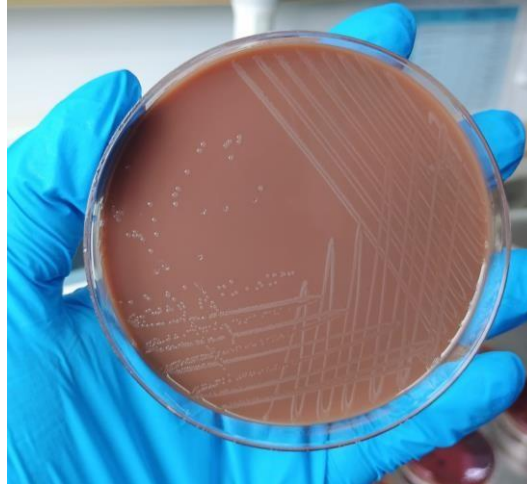
En la imagen 10 se puede observar el efecto característico de los *Proteus*, que es el swarming, es un movimiento que le hace extenderse sobre las placas de agar sangre, formando una película de crecimiento que obstaculiza el aislamiento de cualquier otro agente. En términos generales, las bacterias sufren alteraciones ultraestructurales e inician el desplazamiento a partir del borde de la colonia y luego de unas dos horas se da la fase de consolidación, donde se detienen o aminoran la velocidad, aumentando la densidad de la población en ese punto e inician nuevamente otro ciclo similar (Hernández, 1993). También se puede observar que las colonias son blanquecinas en el centro y se extienden de un color grisáceo, concéntricas, pequeñas, olor a putrefacto parecido a coladera, un poco brillosas, forma irregular, arrugadas.

Imagen 10. Cultivo de *Proteus mirabilis* en agar sangre



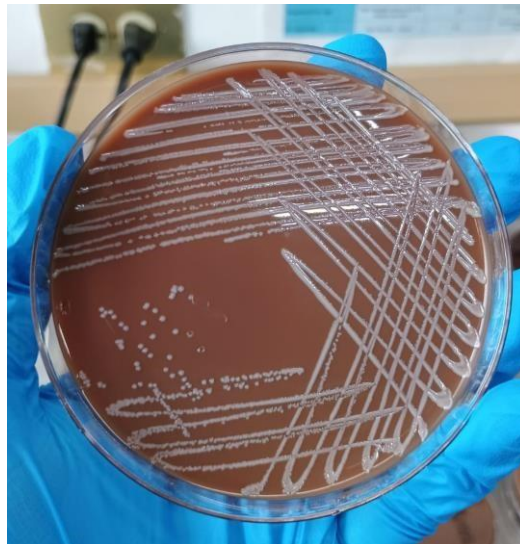
En la imagen 11 se puede observar que las colonias son muy pequeñas, transparentes, enteras, puntiformes o como si fuera una “brizna”, convexas, consistencia lisa, sin mucho olor.

Imagen 11. Cultivo de *Haemophilus influenzae* en agar chocolate



En la imagen 12, a diferencia de la 11, esta se ve más blanquecina, un poco más grande, puntiforme, se ven enteras, con un olor parecido a queso, un poco elevadas.

Imagen 12. Cultivo de *Staphylococcus haemolyticus* en agar chocolate

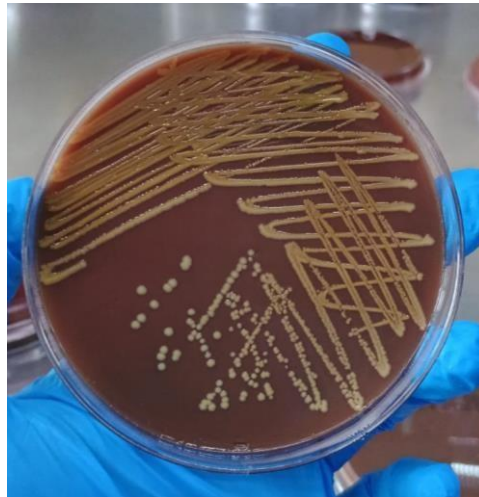


En la imagen 13 se observa el cultivo de *Staphylococcus aureus* que claramente se ve la hemólisis beta que son aquellos que tienen la capacidad de lisar o romper completamente los glóbulos rojos, formando un halo claro alrededor de las colonias, por tanto producen hemólisis β o β -hemólisis (lifeder, 2024). En la imagen 16 esta misma bacteria en agar chocolate se observa de un color amarillento eso porque las colonias de *S. aureus* son doradas debido a los pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento, de ahí el nombre de la especie (Murray, 2015).

Imagen 13. Cultivo de *Staphylococcus aureus* en agar sangre

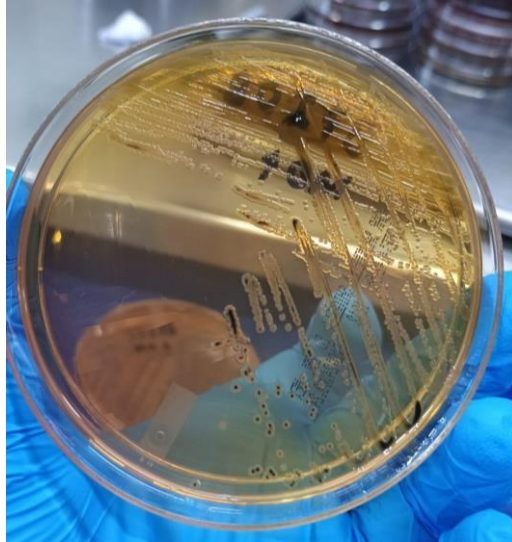


Imagen 14. Cultivo de *Staphylococcus aureus* en agar chocolate



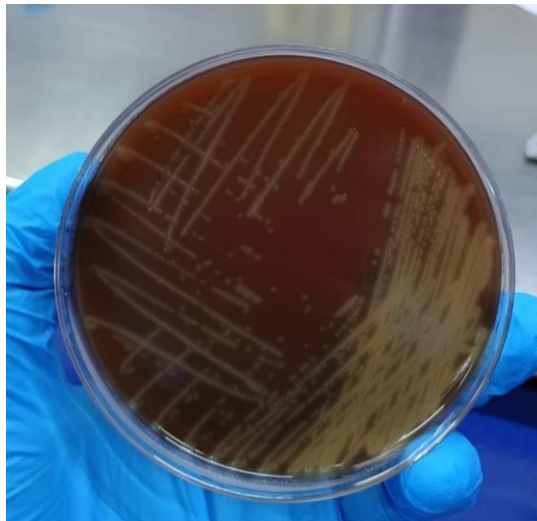
En la imagen 15 se observan colonias transparentes con el centro negro significando que hay una producción de ácido sulfhídrico por parte de la salmonella, esto se da porque el medio contiene tiosulfato sódico como fuente de sulfuro y citrato férrico como fuente de hierro. Ambos compuestos logran diferenciar las bacterias capaces de producir sulfuro de hidrógeno (lifeder, 2024).

Imagen 15. Cultivo de *Salmonella enterica* en agar Salmonella-Shigella



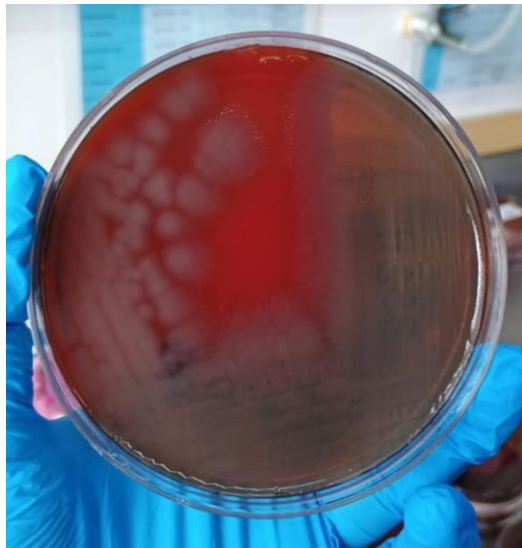
En la imagen 16 en el cultivo de *Streptococcus pneumoniae* tiene una coloración verdosa, esto es por tener una alfa hemolisis, esto por la lisis parcial de los glóbulos rojos, con un halo de color verdoso alrededor de las colonias, debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, con la liberación de un producto de degradación llamado biliverdina por el peróxido de hidrógeno generado en el metabolismo de los microorganismos.

Imagen 16. Cultivo de *Streptococcus pneumoniae* en agar sangre



En la imagen 17 la *Pseudomona aeruginosa* tiene una pigmentación de un color grisazulado, esto ya que algunas producen pigmentos difusibles (p. ej., piocianina [azul], fluoresceína [amarillo], pirrubina [marrón]) (Murray, 2015). Aunque algunas pseudomonas adquieren un aspecto mucoside como consecuencia de la abundancia de polisacáridos capsulares (Murray, 2015), la mayoría tiene aspecto plano, las colonias expandidas con bordes lobulados, con curvas, opacas y con olor característico a “tortilla”.

Imagen 17. Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* en agar sangre



Para las pruebas bioquímicas se utilizaron pruebas en la identificación preliminar y con lectura inmediata como la catalasa, oxidasa e indol, que nos ayuda mejorar su identificación desde antes de meterlos por equipos automatizados como lo es el Maldi-tof. La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas (Olmos, 2010). La oxidasa sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. El oxígeno actúa por tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones. Por lo general, el sistema citocromo oxidasa sólo se encuentra en las bacterias aerobias, algunas anaerobias facultativas y, excepcionalmente, en alguna microaerófila (Olmos, 2010). El indol es uno de los productos de degradación del aminoácido triptófano. La presencia de la enzima triptofanasa en la bacteria provoca la hidrólisis del aminoácido y su desaminación, produciendo indol, ácido pirúvico y amoníaco (Olmos, 2010).

12.3 Micología

En esta área los cultivos se revisan cada 7 días hasta los 28 días, durante el mes que estuve en el área observé que cada 7 se revisan alrededor de \pm 35 pacientes inoculados con muestra en los tubos mycosel y sabouraud (aproximadamente 70 tubos). Además de revisar los de cada 14, 21 y 28 días que ya se cumplieron. En la 4 semana es cuando se tiene un mayor crecimiento, ya que se le dió tiempo a hongos de lento crecimiento de interés como los dimórficos: *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides*, *Blastomyces*, *Sporothrix*, aunque algunos de rápido crecimiento llegan a proliferar en los primeros 7 días, como el *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados del crecimiento en los cultivos ya inoculados con muestra e incubados a los 7, 14, 21 y 28 días, con un aproximado de tubos por día.

	7 días		14 días		21 días		28 días	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Al día cultivos revisados	± 70	100	± 67	100	± 65	100	± 62	100
Crecimiento	15	21.4	20	29.8	26	40	34	54.8
Crecimiento de interés	4	5.7	5	7.46	8	12.3	12	19.3
No crecimiento	55	78.5	47	70.1	39	60	28	45.16

El alto crecimiento de hongos y levaduras en vías respiratorias principalmente podría deberse a que, en la mayoría de los casos, los hongos patógenos penetran al organismo por vía aérea (inhalación), teniendo al pulmón como órgano blanco primario. Un alto porcentaje de personas que habitan en zonas de alta prevalencia cursan con una infección pulmonar asintomática o sintomática leve, que es controlada en forma adecuada por su sistema inmune y se autolimita. Sin embargo, en otras ocasiones, aun cuando los mecanismos de defensa del hospedero se encuentren aparentemente íntegros, se desarrolla una enfermedad pulmonar moderada o grave con diseminación a diversos órganos y/o tejidos profundos, con manifestaciones sistémicas diversas. En México, entre las micosis sistémicas más frecuentes se encuentran: Histoplasmosis, Coccidioidomicosis y

Paracoccidioidomicosis (Facmed, 2021). Se utiliza el término “micosis oportunistas” para designar a un grupo de infecciones por hongos que viven normalmente como saprobios en el ambiente o como comensales en los seres humanos. Su incidencia se ha incrementado en personas que presentan, entre otros factores, anomalías en la respuesta inmune celular y/o humoral: alteraciones de la fagocitosis, granulocitopenia, inmunodepresión consecutiva al uso de glucocorticoides, quimioterapia, quemaduras graves, hiperalimentación parenteral, instalación de catéteres intravasculares, tratamiento para trasplante, diabetes mellitus descompensada, etc. Los hongos oportunistas clásicos son *Candida* spp., *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans* y diversos zigomicetos; pero en condiciones de inmunosupresión del hospedero, cualquier hongo saprobio puede producir alguna patología en el humano (Facmed, 2021).

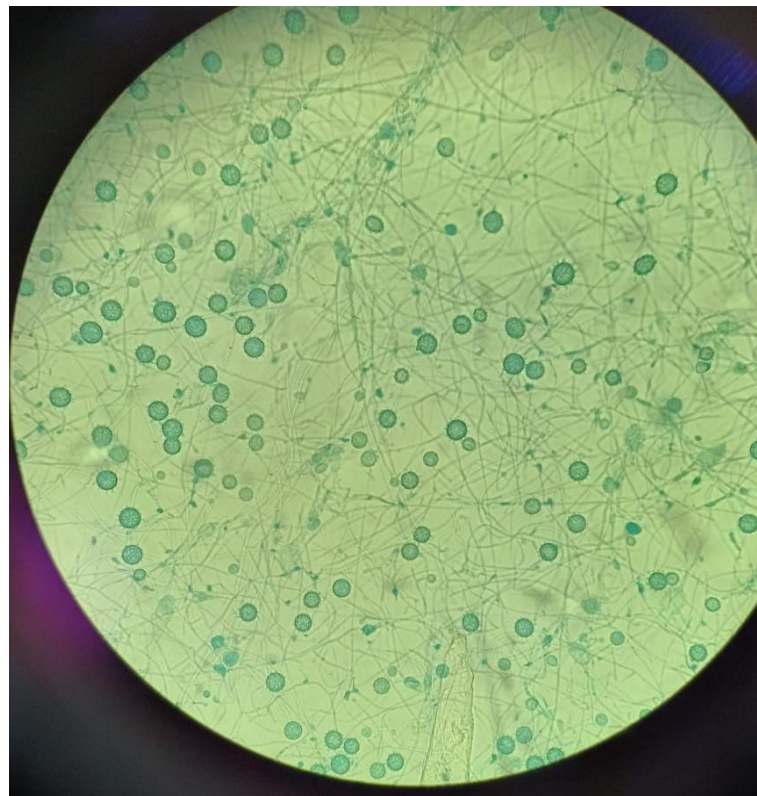
Para la correcta identificación de hongos de interés clínico, ya sea con fines de diagnóstico o estudios taxonómicos, es necesario observar las estructuras fúngicas con una alta calidad y contraste; para ello se utilizan diversos compuestos químicos que permitan la tinción entre la pared y el citoplasma de las células fúngicas. La tinción de azul algodón de lactofenol posee características tintoriales que permiten observar cada uno de los componentes fúngicos y apreciar fácilmente las estructuras para una adecuada identificación. El fenol inactiva las enzimas líticas de la célula e impide que ésta se rompa; de igual forma, destruye la flora acompañante e inactiva a la célula, quitándole el grado de patogenicidad; además, actúa

como mordiente cuando se usa en combinación con colorantes. El ácido láctico preserva las estructuras fúngicas al provocar un cambio de gradiente osmótico con relación al interior fúngico, lo que genera una película protectora. El azul de algodón es un colorante ácido, que tiñe el citoplasma y la quitina presente en las células fúngicas, mientras que el glicerol mantiene húmeda la preparación.

La manipulación de los hongos filamentosos siempre debe llevarse a cabo en una campana de seguridad tipo 2A, ya que la mayoría de éstos son patógenos, y realizar una técnica inadecuada puede poner en riesgo al personal. Cuando se identifique la presencia de un hongo filamentosos, se sugiere realizar el pase a una placa en medio dextrosa Sabouraud, para poder realizar una mejor manipulación e identificar con mayor facilidad las características macroscópicas, tanto en la parte anterior como posterior de la placa. Se debe realizar la impronta con cuidado de no oprimir demasiado las estructuras, ya que se pueden dañar (López-Jácome, 2014). Las estructuras fúngicas se observarán de color azul sobre un fondo blanco (Imagen 18, 19 y 20).

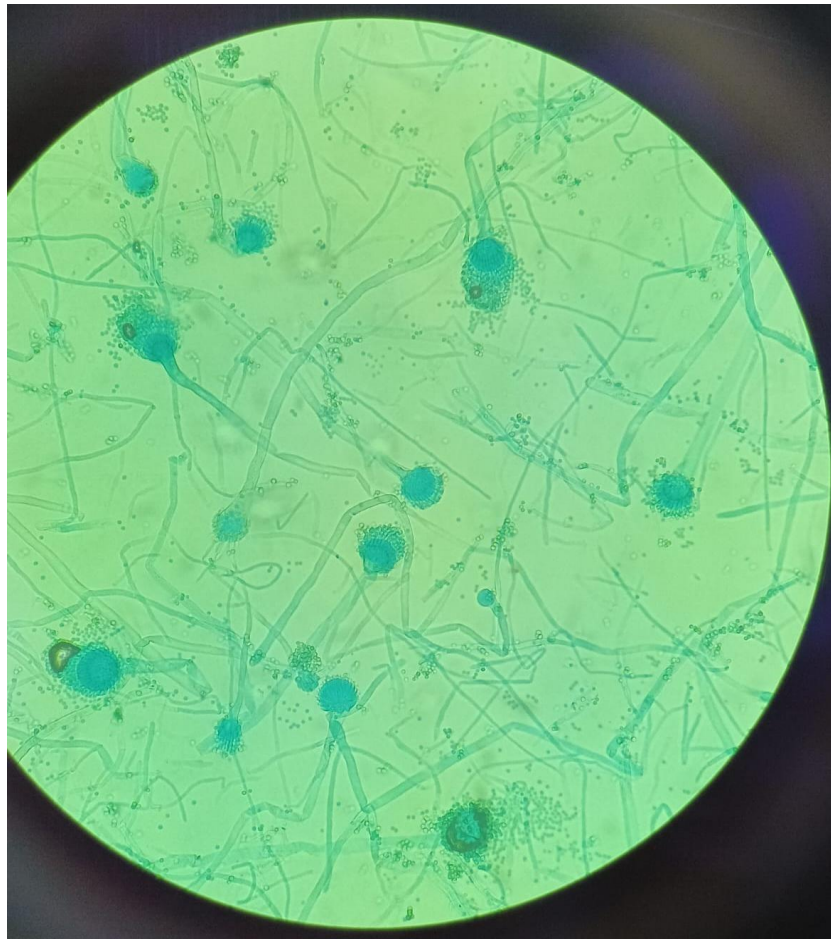
En la imagen 18 a 25–30 °C en cultivos jóvenes, se observan hifas septadas que portan microconidios redondos o en forma de pera, lisos u ocasionalmente espinosos (2–5 µm de diámetro) en ramas cortas o directamente en los lados de las hifas. En esta etapa temprana, *H. capsulatum* podría confundirse con una forma pequeña y rara de *Blastomyces dermatitidis*. Después de varias semanas, se forman macroconidios grandes, redondos y de paredes gruesas (7–15 µm de diámetro); son tuberculados, nudosos o tienen proyecciones cortas y cilíndricas; ocasionalmente pueden ser lisos.

Imagen 18. Fotomicrografía de hongo dimórfico, *Histoplasma capsulatum*, con el método de azul algodón de lactofenol con aumento en 40x.



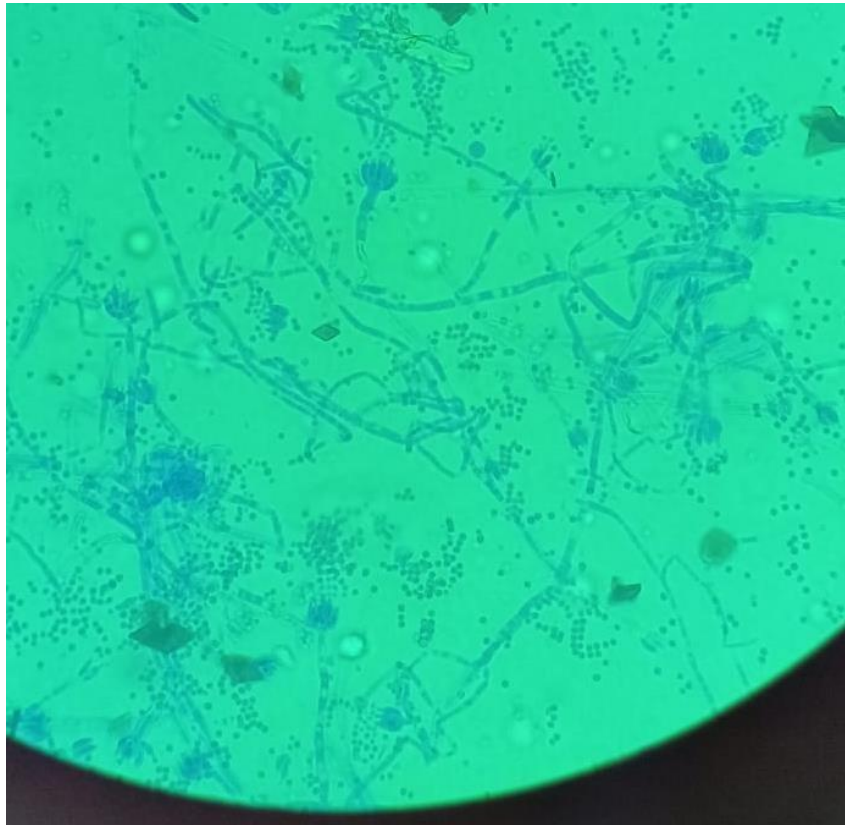
En la imagen 19 las hifas están septadas; conidióforos lisos, relativamente cortos (generalmente de 300 m de largo) y de 5 a 10 m de diámetro. Las fiálides son uniseriadas, están muy juntas (compactas) y se forman solo en los dos tercios superiores de la vesícula, paralelas al eje del conidióforo (formación conocida como columnar). Los conidios son redondos, lisos o ligeramente rugosos y de 2 a 3,5 m de diámetro.

Imagen 19. Fotomicrografía de hongo filamentoso, *Aspergillus fumigatus*, con el método de azul algodón de lactofenol con aumento en 40x.



En la imagen 20 las hifas son septadas (de 1,5 a 5 m de diámetro) con conidióforos ramificados o no ramificados que tienen ramificaciones secundarias conocidas como métulas. Sobre las métulas, dispuestas en verticilos, hay fiálides en forma de matraz que llevan cadenas no ramificadas de conidios lisos o rugosos, casi redondos (de 2,5 a 5 m de diámetro). Toda la estructura forma el aspecto característico de “penicillus” o “pincel”.

Imagen 20. Fotomicrografía de hongo filamentoso, *Penicillium*, con el método de azul algodón de lactofenol con aumento en 40x.



De las muestras recibidas de parte del área de siembras que van para pruebas inmunológicas de ELISA, aproximadamente son de 15 muestras por día aunque en los procesos para realizarlos son 3-4 días a la semana, por lo que en una tanda para trabajar podrían llegar a ser unos 25-30 muestras, de los cuales un 40% es positivo.

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es uno de los ensayos más específicos y sencillos para detectar biomoléculas en la investigación y en la práctica clínica. Con los avances en los métodos analíticos, el ensayo ELISA se ha optimizado constantemente para mejorar su sensibilidad y ahora hay distintos tipos de ELISA disponibles para detectar diversos biomarcadores.

ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas) es una técnica de ensayo basada en placas diseñada para detectar y cuantificar sustancias solubles como péptidos, proteínas, anticuerpos y hormonas. Otros nombres, como inmunoensayo enzimático (EIA), también se utilizan para describir la misma tecnología. En un ELISA, el antígeno (macromolécula diana) se inmoviliza en una superficie sólida (microplaca) y luego se complementa con un anticuerpo que se une a una enzima indicadora. La detección se logra midiendo la actividad de la enzima reportera a través de la incubación con el sustrato apropiado para producir un producto medible. El elemento más crucial de un ELISA es una interacción anticuerpoantígeno altamente específica (ThermoFisher, 2024).

El método ELISA fue desarrollado en 1971 como una alternativa a los métodos de radioinmunoensayo. Basados en inmunoensayos marcados con enzimas, estos métodos (EIA/ELISA) tienen ventajas distintivas, como la larga vida útil de los reactivos utilizados, la ausencia de riesgos de radiación asociados a sustancias de desecho, la posibilidad de

analizar múltiples muestras en un corto período de tiempo en laboratorios de diagnóstico e investigación, y su bajo costo (Aydin, 2015).

12.4 Biología molecular

Las muestras recibidas para procesarlas y hacer una PCR al día solo en el turno matutino varían entre 8 a 15 muestras da como resultado un porcentaje de 2-3% positivo a algún virus, en su mayoría influenza. Esto podría deberse a que las infecciones de las vías respiratorias agudas son las enfermedades más comunes que se producen tanto en niños como en adultos; 80% de éstas se atribuyen a virus respiratorios y representan 30-50% de la consulta externa y 20- 40% de los ingresos hospitalarios pediátricos. Son padecimientos comunes en todas las edades, cuya etiología es variable dependiendo de la edad, las circunstancias medioambientales, el clima, el ámbito asistencial y las enfermedades de base. La mayoría de las infecciones respiratorias solo afectan al tracto respiratorio superior y pueden ser consideradas leves, de curso benigno y autolimitado (catarro común, rinitis y faringoamigdalitis). Se considera que en México la infección aguda de vías respiratorias superiores es la primera causa de enfermedad y el primer motivo por el cual se busca atención médica. Los virus respiratorios son la causa principal hasta en un 70-90 % de los casos. Se han documentado en la edad adulta el rinovirus, seguido del virus de la influenza A y B, coronavirus y adenovirus; en los niños los más comunes son el virus sincitial respiratorio (VSR), el virus de la parainfluenza 1,2,3, el de la influenza A y B, adenovirus y rinovirus.

De las enfermedades respiratorias, se estima que solo el 5 % puede implicar al tracto respiratorio intermedio e inferior (bronquitis, bronquiolitis y neumonía); son potencialmente más graves y, en muchos casos, requieren el ingreso hospitalario (Hernández, 2021). En las temporadas 2010-2011, 2012-2013 y 2014-2015 y 2017-2018 el subtipo viral predominante en el territorio nacional fue A (H3N2), mientras que en las temporadas 2011-2012, 2013-2014 y 2015-2016, 2018-2019 el subtipo viral predominante fue A (H1N1) pdm09. A esta fecha se han confirmado 240 defunciones por influenza. El subtipo viral predominante es el A(H1N1) PDM09 en el 52% de los casos. Hasta el 02 de febrero de 2021, se han notificado a nivel mundial 102,942,987 casos confirmados de COVID-19, incluidas 2,232,233 muertes, la tasa de letalidad es de 2.2. En la región de las Américas se han notificado 45,785,210 casos acumulados y 342,635 muertes. En México, se han confirmado 1,874,092 casos por COVID, con una tasa de incidencia de casos acumulados de 1453.1 por cada 100 mil habitantes y 159,533 defunciones (Secretaría de salud, 2021).

En la actualidad, de entre tales metodologías, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la más sensible y la que se aplica más satisfactoriamente en microbiología clínica. En particular, en el caso de patógenos que son difíciles de crecer *in vitro* o que presentan crecimiento lento, así como en el de todas aquellas infecciones clínicamente atribuibles a diferentes agentes, la PCR ha aportado un gran valor diagnóstico.

Durante los últimos años se han empezado a desarrollar protocolos de PCR múltiple muy prometedores mediante la utilización de PCR en tiempo real. Esta es una nueva metodología que combina la PCR con el uso de marcadores fluorescentes de forma que se pueda monitorizar la cinética de la reacción, conocer la cantidad de ADN molde y detectar la presencia de variaciones genéticas.

La microbiología clínica necesita optimizar a nivel de especificidad, sensibilidad y rapidez, la detección de agentes infecciosos y de sus genes de virulencia y de resistencia, lo cual

permitirá ejecutar programas adecuados de prevención y tratamiento de estas enfermedades. Para lograr este propósito, la constante optimización de la PCR múltiple se plantea como una gran alternativa que permitirá la detección simultánea de un número cada vez mayor de dianas, a partir de un número también creciente de tipos de muestras clínicas y necesitando una cantidad menor de ácido nucleico molde. Además, la reciente introducción de la PCR en tiempo real en el diagnóstico clínico permitirá el desarrollo de nuevos y eficientes protocolos de PCR múltiple (Méndez, 2004).

13. Vínculo de las actividades desarrolladas con el plan de estudios

El servicio social se realizó en el área de microbiología clínica en el INER, en donde se aplica el desarrollo de las diferentes técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares que se llevan a cabo en el laboratorio. El laboratorio se divide en diferentes áreas:

- a) Recepción de muestras y siembras, donde se reciben y manejan muestras biológicas con protocolos establecidos y con un criterio de aceptación para su procesamiento y análisis, se realizan tinciones como la tinción de Gram y la siembra en diferentes medios de cultivo, en la que la selección depende del tipo de muestra. En esta área se aplican los conocimientos adquiridos en la licenciatura en el módulo de Prevención y Control de la Propagación Microbiana (módulo 10), en la que se vio conceptos generales de los microorganismos y su crecimiento, los diferentes medios de cultivo y pruebas bioquímicas para diferenciarlos, los tipos de siembra en estos, conceptos básicos de comensalismo, colonización, infección y enfermedad, además de el concepto básico de un control sanitario (desinfección, esterilización y contaminación bacteriana), también se aplicó el uso de equipo como el microscopio para observar la tinción de Gram y Ziehl-Neelsen, además del módulo 11 (Obtención de Metabolitos de Interés Industrial para la Salud) en que analice la formulación de medios de cultivo.
- b) Bacteriología: en esta área se reciben y se incuban los cultivos del área de siembra, donde se realiza la identificación y sensibilidad de las bacterias patógenas de interés. Aquí se aplican los conocimientos de dos módulos, el de Prevención y Control de la Propagación Microbiana (módulo 10) y Obtención de Metabolitos de Interés Industrial para la Salud (Módulo 11), en la que en el módulo 10 vuelvo a retomar los conocimientos de las bacterias y los agentes antimicrobianos con su mecanismo de acción, esto para poder comprender y analizar los resultados de los cultivos obtenidos en las diferentes muestras con el patógeno de interés; del módulo 11 los conocimientos del crecimiento microbiano y la formulación de medios de cultivo.
- c) Micología: en esta área se cultivan muestras para el crecimiento de hongos patógenos y su posterior identificación y sensibilidad, además de pruebas serológicas y el apoyo de tinciones especiales para su identificación. En esta área empleo los conocimientos del módulo de Prevención y Control de la Propagación Microbiana (módulo 10) en la que se realizan las siembras en diferentes medios de cultivo y como lo mencionado en el inciso a, conceptos generales de los microorganismos y su crecimiento, comensalismo, colonización, infección y enfermedad, además de el concepto básico de un control sanitario (desinfección, esterilización y contaminación bacteriana), además del uso del microscopio para el análisis de las diferentes tinciones, al igual que el uso de otro tipo de equipos como la campana de bioseguridad.

- d) **Biología molecular:** En esta área se realizan procesos moleculares para la identificación de microorganismos, principalmente los virus usando procedimientos como la PCR, además del uso de equipos automatizados para el análisis de muestras como Líquido ceforraquídeo, esto con los conocimientos adquiridos en los módulos, el de Prevención y Control de la Propagación Microbiana (módulo 10) y Obtención de Metabolitos de Interés Industrial para la Salud (Módulo 11), conceptos generales de los microorganismos y su crecimiento, comensalismo, colonización, infección y enfermedad, además del concepto básico de un control sanitario (desinfección, esterilización y contaminación bacteriana), de igual forma los mecanismos que regulan la expresión de la información genética y los procesos que permiten su manipulación, respectivamente.

14. Conclusión

1. En el área de la microbiología, se analizaron cada muestra, ya que el laboratorio dispone de unas normas de recepción y aceptación de muestras para diagnóstico microbiológico que los médicos solicitantes deben conocer. Dado que toda muestra clínica es irreplicable, se intenta por todos los medios evitar el rechazo de las mismas, tratando de resolver en la propia sección de registro y recepción de muestras los problemas que pudieran ser causa de rechazo. Cada muestra debió ir acompañada de su correspondiente petición (volante de solicitud o petición electrónica). Este análisis es importante, ya que la calidad y fiabilidad de los resultados analíticos dependen en gran medida de la correcta gestión de las muestras desde su recogida hasta su procesamiento y conservación. El laboratorio debe garantizar la implementación de procedimientos estandarizados y rigurosos para asegurar la integridad de las muestras y, por ende, la validez de los resultados obtenidos. El procesamiento de las muestras se realizó conforme a protocolos estrictos que garantizan la precisión y reproducibilidad de los resultados. Esto incluye la estandarización de técnicas, la calibración de equipos, y la formación continua del personal.
2. Inocular en medios de cultivo es algo fundamental para el crecimiento de algún microorganismo, por lo que en el laboratorio en casi todas las áreas se requiere, dependiendo la muestra y los estudios, así que durante el turno matutino, en el área de recepción de muestras se siembran aproximadamente 100 cajas en agar MacConkey, sangre y chocolate, en el área de bacteriología se re-siembran las colonias en estos mismos medios dependiendo el tipo de bacteria para su mejor desarrollo, aunque la cantidad puede variar dependiendo de la cantidad de cultivos con crecimiento de interés con un aproximado de 60 cajas más para su crecimiento con la colonia aislada y en el área de micología se siembran en tubos con agar sabouraud y micosel alrededor de 35 muestras en ambos tubos cada una. La selección del medio de cultivo utilizado para realizar el cultivo primario se basa en el conocimiento del diagnóstico presuntivo del paciente, sitio de recolección de la muestra y en la fisiología de las bacterias u hongos que podrían estar causando la infección. Se observó en el microscopio en las diferentes áreas así como lo requería con su tinción correspondiente, estudiando su agrupación, afinidad tintorial y morfología del microorganismo, por ejemplo, en el área de recepción de muestras se

observaban por día con la tinción de Gram en cada muestra de esputo para observar si está adecuada o no unas 25-30 muestras, de las cuales solo un 35% es aceptada, de aspirados bronquiales también se observa para ver si está adecuada o no con 17-20 muestras en las que el 40% es aceptada, de biopsias unas 5-10, en las que un 10% se llega a ver algún microorganismo, médulas óseas aprox. 4 muestras, al igual que se observa en fresco las orinas, que vienen siendo unas 5. También en esta área se realizan las baciloscopias de urgencia en muestras de esputo con la tinción de Ziehl-Neelsen, estas son menos frecuentes, con ± 2 de las cuales solo el 50% es positivo. En el área de micología, se realizan unas 40 tinciones especiales, de las 12-15 cultivos en las que crecieron un hongo o levadura de interés se realizó en cada una coloración de azul de lactofenol, unas 10 de KOH en muestras de biopsias, secreciones y líquidos, y unas 3-4 tinción de tinta china en muestras de Líquido cefalorraquídeo.

3. La comprensión en usar metodologías rápidas y automatizadas en el laboratorio de microbiología en las diferentes áreas durante los 6 meses del servicio social, además de observar diariamente como implica una adaptación del personal técnico y profesional, sirvió para poder interpretar correctamente los resultados obtenidos, tanto en identificación como en estudios de susceptibilidad, para poder contar con información de manera rápida, mejora el pronóstico de los pacientes, así como la realización de los procesos más eficientes.

15. Bibliografía:

- Natalia Loaiza-Díaz (2023). El papel del laboratorio de microbiología en la práctica clínica. Volumen 27, Número 4. Medellín, Colombia. Recuperado de <https://doi.org/10.36384/01232576.680>.
- Dra. Margareta Muhlhauser P., Lina Rivas J. (2014). Laboratorio de microbiología: conocimientos básicos de un clínico. Programa de Microbiología y Micología Médica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. (2017). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).
- Lili Wences, Ricardo Ambrosio. (2021). El INER cumple 85 años al servicio de los mexicanos. Gaceta, Facultad de Medicina.
- Murray, P., Rosenthal, K., y Pfaller, M. (2015). Microbiología médica. (5ta edición) España: Elsevier
- Luis Esaú López-Jácome, et. al. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Vol. 3, Núm. 1. pp 10-18

- Martin Pasen (2021). Tinción de Ziehl-Neelsen: principio y procedimiento con resultados. Recuperado de: <https://microbiio.info/tincion-de-ziehl-neelsen/>
- Estrella Cervantes-García, et. al. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2014; 61 (1): 28-40
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022). *Streptococcus pyogenes*. Madrid.
- Manuel de la Rosa Fraile, Marina de Cueto López. *Streptococcus agalactiae*. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen de las Nieves, Granada.
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022). *Streptococcus pneumoniae*. Madrid.
- Fernando Alcaide Fernández de Vega. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE LOS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS. Servicio de Microbiología. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge
- Almeida-González, Lourdes, Franco-Paredes, Carlos, Pérez, Luis Fernando, & Santos-Preciado, José Ignacio. (2004). Enfermedad por meningococo, *Neisseria meningitidis*: perspectiva epidemiológica, clínica y preventiva. *Salud Pública de México*, 46(5), 438-450. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003636342004000500010&lng=es&tlng=es.
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022). *Bordetella pertussis*. Madrid. Recuperado de <https://www.insst.es/agentes-biologicosbasebio/bacterias/bordetella-pertussis>
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2021). *Bacillus anthracis*. Madrid. Recuperado de <https://www.insst.es/agentes-biologicosbasebio/bacterias/bacillus-anthraxis>
- Gestema. (2021). *Salmonella* y sus características. Recuperado de <https://www.gestema.com/salmonella-y-sus-caracteristicas/>
- Carlos Federico Lira Gómez. (2020). *Shigella dysenteriae*: características, morfología, cultivo, enfermedades. recuperado de [Shigella dysenteriae: características, morfología, cultivo, enfermedades \(lifeder.com\)](https://www.lifeder.com/shigella-dysenteriae-caracteristicas-morfologia-cultivo-enfermedades/)
- Alber Elí Lavana. (2022). ANÁLISIS DE SEROTIPOS Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Haemophilus influenzae* CAUSANTE DE ENFERMEDAD EN POBLACIÓN MEXICANA (2019-2021). TESIS. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS.
- Victor Manuel Paz-Zarza, et. al. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Rev. chil. infectol.* vol.36 no.2 Santiago. Recuperado de: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180
- Esparcia, Oscar y Magraner, Josefina. *Moraxella catarrhalis* Y SU IMPLICACIÓN EN PATOLOGÍA INFECCIOSA. Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario de Valencia.
- Campos, José. GÉNERO *Haemophilus*: INTERÉS CLÍNICO Y EPIDEMIOLOGICO. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid.
- Yang, J., Long, H., Hu, Y., Feng, Y., McNally, A., & Zong, Z. (2022). Complejo de *Klebsiella oxytoca*: actualización sobre taxonomía, resistencia a los antimicrobianos y virulencia. *Revisiones de microbiología clínica*, 35(1), E0000621. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-21>

- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022). Coccidioides immitis. Madrid. Recuperado de <https://www.insst.es/agentes-biologicosbasebio/hongos/coccidioides-immitis>
 - Saber Khelaifia, et. al. (2016). Microbial Culturomics to Map Halophilic Bacterium in Human Gut: Genome Sequence and Description of Oceanobacillus jeddahense sp. Omics: a Journal of Integrative Biology 20(4):248-258 DOI:10.1089/omi.2016.0004
 - Arenas, Roberto. (2014). Micología médica ilustrada (5a. ed.) Mexico, D.F. McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V
 - BioGnost. (2021). Grocott kit, stabilized. Recuperado de: [Grocott-kit-stabilized-IFUV20-EN11.pdf \(biognost.com\)](https://www.biognost.com/Grocott-kit-stabilized-IFUV20-EN11.pdf)
 - Álvarez Pérez, José Roberto¹ Sánchez Girón, Francisco. (2021). Criptosporidiosis pulmonar. Reporte de un caso y revisión de la literatura. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, vol. 41, núm. 4
 - N. Maldonado, et al. La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. Infectio 2018; 22(1): 35-45
 - Werfen. (2024). Productos Cepheid. Recuperado de: <https://www.werfen.com/mx/es/biologia-molecular/genexpert-iv>
 - BIOMÉRIEUX (2021). BIOFIRE® FILMARRAY® TORCH System. Recuperado de: <https://www.biomerieux.com/us/en/our-offer/clinical-products/biofire-torchsystem.html>
 - Jung B, Hoilat GJ. MacConkey Medio. [Actualizado el 10 de septiembre de 2024]. En: StatPearls [Internet]. Isla del Tesoro (FL): StatPearls Publishing; 2024 Ene-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557394/>
 - Caycedo Lozano, Liliana, Ramírez, Lucía Constanza Corrales, & Suárez, Diana Marcela Trujillo. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. Nova, 19(36), 49-94. Epub January 17, 2021. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
 - Britania. (2021). Verde brillante agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60709e32e6386.pdf
 - Britania. (2021). Salmonella Shigella Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070900c78db3.pdf
 - Lifeder. (10 de mayo de 2023). Caldo tetrionato. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/caldo-tetrionato/>.
 - Becton, Dickinson and Company (2003). BD Fluid Thioglycollate Medium (FTM) Recuperado de: [bing.com/ck/a?!&&p=07f708a703d7d1451f9ee23f523e5824e21f68bc15d9b6fe179525e251dd1428JmItdHM9MTcyOTIwOTYwMA&ptn=3&ver=2&hsh=4&fclid=3ea492adc260-6aa5-1db4-82f2c3036bfc&psq=caldo+tioglicolato+fundamento&u=a1aHR0cHM6Ly9hbXlkLnF1aW1pY2EudW5hbS5teC9wbHVnaW5maWxlLnBocC85ODc3L21vZl9mb2xkZXIvY29udGVudC8wL01IZGlvJTlwVGlvZ2xpY29sYXRvJTlwZmx1aWRvLnBkZg&ntb=1](https://www.bing.com/ck/a?!&&p=07f708a703d7d1451f9ee23f523e5824e21f68bc15d9b6fe179525e251dd1428JmItdHM9MTcyOTIwOTYwMA&ptn=3&ver=2&hsh=4&fclid=3ea492adc260-6aa5-1db4-82f2c3036bfc&psq=caldo+tioglicolato+fundamento&u=a1aHR0cHM6Ly9hbXlkLnF1aW1pY2EudW5hbS5teC9wbHVnaW5maWxlLnBocC85ODc3L21vZl9mb2xkZXIvY29udGVudC8wL01IZGlvJTlwVGlvZ2xpY29sYXRvJTlwZmx1aWRvLnBkZg&ntb=1)
 - Microgen Ltda. (2024). Agar Mycosel: Fundamentos y Aplicaciones en Microbiología clínica. Recuperado de: <https://www.linkedin.com/pulse/agar-mycosel-fundamentos-y-aplicaciones-en-microbiolog%C3%ADa-51woe/>
 - Laboratorios britania. (2011). Sabouraud Glucosado Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5af08a08a7afe.pdf
- Duque-Restrepo, Clara María, Muñoz-Monsalve, Laura Valentina, GuerraBustamante,

- Diana, Cardona-Maya, Walter D, & Gómez-Velásquez, Juan Carlos. (2023). Blanco de calcoflúor: en búsqueda de un mejor diagnóstico. Revista Médica de Risaralda, 29(2), 39-48. Epub March 23, 2024. <https://doi.org/10.22517/25395203.25151>
- Hernandez, F., & Rodriguez, E. (1993). El fenómeno de swarming y otros tipos de desplazamiento bacteriano. Revista Costarricense de Ciencias Médicas.
- Vargas-Flores, T. & Kuno-Vargas, A. (2014). Morfología bacteriana. Revista de Actualización Clínica, 49(2), 2594-2598
- Ana Fernández Olmos. et al. (2010). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. SEIMC.
- O.L. Morales-Múnera, et al. Utilidad de los criterios de Murray para el procesamiento de esputo en pacientes con fibrosis quística. Laboratorio de Infectados de la Universidad de Antioquia (Medellín/Colombia). Infectio 2020; 24(4): 229-233
- Expósito Boué, L. M., Bott Croublet, A. B., de la Torre Rosés, I., Betancourt Arguello, Y., & Sánchez Romero, M. (2011). DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO MEJORADO DE INFECCIONES RESPIRATORIAS BAJAS A PARTIR DE MUESTRA DE ESPUTO. Revista Información Científica, 69(1), Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=551757298010>
- S. Liñán Cortés. (2001). Pruebas diagnósticas en patología infecciosa respiratoria. Vol. 54. Issue S2. Pages 1-5 (10 May 2001). Recuperado de: <https://www.analesdepediatria.org/en-pruebas-diagnosticas-patologia-infecciosa-respiratoria-articulo-12004537>
- Juan Carlos Alados. et. al. (2010). Diseño de un laboratorio de microbiología clínica. Vol. 28. Núm. 7. Páginas 453-460 (agosto - septiembre 2010). DOI: 10.1016/j.eimc.2009.04.016
- Microbiología/Obtención de cultivos puros: siembra y aislamiento. (2015, enero 17). Wikilibros. Consultado el 23:47, octubre 28, 2024 en https://es.wikibooks.org/w/index.php?title=Microbiolog%C3%ADa/Obtenci%C3%B3n_de_cultivos_puros:_siembra_y_aislamiento&oldid=240625.
- Quistián García Hylary. (2014). Técnicas y Métodos de estriado en caja y tubo (medios de cultivo). Recuperado de: <https://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/tecnicas-y-metodos-deestriado-en-caja.html>
- Aydin S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. Peptides. 72:4-15. doi: 10.1016/j.peptides.2015.04.012.
- Sebastián Méndez-Álvarez, Eduardo Pérez-Roth. (2004). La PCR múltiple en microbiología clínica. Vol. 22. Núm. 3. Páginas 183-192
- Hernández-González, Diana G., Rodríguez-Muñoz, Lorena, & Solórzano-Santos, Fortino. (2021). Impacto del uso de PCR múltiple en diagnóstico etiológico y tratamiento de infecciones respiratorias agudas en un hospital privado del norte del país. Gaceta médica de México, 157(2), 160-165. Epub 23 de junio de 2021. <https://doi.org/10.24875/gmm.20000355>
- National human genome. Research institute. (2024). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Recuperado de: <https://www.genome.gov/es/geneticsglossary/Reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa>

- González, L., López, R., Domínguez, M. y Gutiérrez, A. (2022). Reacción en cadena de la polimerasa. Unidades de Apoyo para el Aprendizaje. CUAIEED/FES Cuautitlán-UNAM. Recuperado de: https://repositorio-uapa.cuaieed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2162/mod_resource/content/8/contenido/index.html
- Revista Sanitaria de Investigación (RSI). (2021). (Diagnóstico y tipos de PCR. Revisión bibliográfica. Recuperado de: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/diagnostico-y-tipos-de-pcr-revisionbibliografica/>
- Rodríguez Acosta, Carmen, & Martínez Pérez, Jorge Luis. (2002). Vigilancia microbiológica en infecciones respiratorias bajas. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 40(3), 189-202. Recuperado en 02 de diciembre de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156130032002000300004&lng=es&tlng=es.
- Secretaría de salud. (2023). Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE)
- Secretaría de salud. (2021). Prevención y control de infecciones respiratorias agudas (Neumonías, Influenza y COVID-19).