



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE TÉCNICAS
MOLECULARES PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES INFECCIOSAS
PRODUCIDAS POR ENTEROBACTERIAS

AVILES PASTOR MARIA JOSE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE
TÉCNICAS MOLECULARES PARA IDENTIFICAR
ENFERMEDADES INFECCIOSAS PRODUCIDAS POR
ENTEROBACTERIAS

AVILES PASTOR MARIA JOSE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE TÉCNICAS
MOLECULARES PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES INFECCIOSAS
PRODUCIDAS POR ENTEROBACTERIAS

AVILES PASTOR MARIA JOSE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

SILVERIO CALDERON CARMEN ELIZABETH

MACHALA, 26 DE ABRIL DE 2021

MACHALA
26 de abril de 2021

CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES INFECCIOSAS PRODUCIDAS POR ENTEROBACTERIAS

por Maria Jose Aviles

Fecha de entrega: 12-abr-2021 11:17a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1554156003

Nombre del archivo: CAR_ENFERMEDADES_INFECCIOSAS_PRODUCIDAS_POR_ENTEROBACTERIAS.docx
(33.09K)

Total de palabras: 2650

Total de caracteres: 14753

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, AVILES PASTOR MARIA JOSE, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES INFECCIOSAS PRODUCIDAS POR ENTEROBACTERIAS, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 26 de abril de 2021



AVILES PASTOR MARIA JOSE
1720387693

DEDICATORIA

Cada uno de los esfuerzos realizados dedico a Dios por permitirme seguir adelante y no decaer ante ninguna adversidad, también a mis padres y a cada una de las personas que estuvieron a mi lado durante toda la formación de la carrera que con su apoyo incondicional pude lograr culminar mi objetivo planteado.

AGRADECIMIENTO

Sin duda agradezco a dios una vez más que sin él nada hubiese sido posible, a mis padres, familia y personas muy importantes que forman parte de mi vida los cuales estuvieron día a día dándome el apoyo y ánimo de seguir adelante a pesar de las adversidades que se presentaban, a mi hija que pude demostrar que nada es imposible cuando existen ganas de superarse, y a cada uno de los docentes que forjaron conocimientos, sobre todo a mi tutora Dra. Carmen Silverio quien supo ser una guía muy importante en el desarrollo de mi trabajo.

RESÚMEN

La microbiología durante varios años se ha basado en técnicas convencionales las mismas que no son suficientes debido a los constantes cambios en características físicas y variantes en microorganismos, sin embargo los avances en la tecnología han incorporado distintas técnicas moleculares, las mismas que ayudan para analizar ácidos nucleicos, detectar e identificar el agente causal que provoca una determinada enfermedad infecciosa, identificar diferentes genotipos dentro de una misma especie y genes de resistencia al tratamiento farmacológico. Debemos considerar que cada una de las técnicas moleculares se apoyan dentro de un proceso previo que se contempla en los protocolos de extracción de ADN o ARN basados en aspectos éticos que brindan confiabilidad y seguridad además de la rapidez con la que se efectúa la prueba, dependiendo de la evolución temporal de la enfermedad infecciosa, que contribuye a un correcto diagnóstico clínico.

El objetivo de esta investigación es brindar el apoyo al correcto diagnóstico clínico de enfermedades infecciosas causadas por enterobacterias, cumpliendo con el objetivo, se categorizaron las ventajas y desventajas de las técnicas convencionales y automatizadas.

El método de estudio utilizado fue cualitativo en la recopilación, procesamiento y análisis de información referente a la pregunta problema y los objetivos planteados.

Entre las técnicas que se han revisado, la más recomendada es la técnica de PCR, que resulta conveniente dentro de la evolución temporal en la etapa aguda de la enfermedad entérica del paciente, de esta manera el médico tratante realizará un diagnóstico clínico acertado para el bienestar del paciente.

PALABRAS CLAVES:

Diagnóstico clínico, Técnicas Moleculares, enfermedades infecciosas, enterobacterias.

ABSTRACT

Microbiology for several years has been based on conventional techniques, which are not enough due to the constant changes in physical characteristics and variants in microorganisms, however advances in technology have incorporated different molecular techniques, the same ones that help to analyze acids nucleic diseases, detect and identify the causative agent that causes a certain infectious disease, identify different genotypes within the same species and genes for resistance to drug treatment. We must consider that each of the molecular techniques are supported within a previous process that is contemplated in the DNA or RNA extraction protocols based on ethical aspects that provide reliability and safety in addition to the speed with which the test is carried out, depending of the temporal evolution of the infectious disease, which contributes to a correct clinical diagnosis.

The objective of this research is to provide support for the correct clinical diagnosis of infectious diseases caused by Enterobacteriaceae, fulfilling the objective, the advantages and disadvantages of conventional and automated techniques were categorized.

The study method used was qualitative in the collection, processing and analysis of information regarding the problem question and the objectives set.

Among the techniques that have been reviewed, the most recommended is the PCR technique, which is convenient within the temporal evolution in the acute stage of the patient's enteric disease, in this way the treating physician will make an accurate clinical diagnosis for well-being of the patient.

KEYWORDS:

Clinical diagnosis, Molecular Techniques, infectious diseases, Enterobacteriaceae.

ÍNDICE

DEDICATORIA.. 1

AGRADECIMIENTO.. 2

RESÚMEN.. 3

1. INTRODUCCIÓN.. 5

1.1. OBJETIVOS.. 6

1.2. DESARROLLO Y ANÁLISIS DE PREGUNTA A RESOLVER.. 6

2. MARCO TEÓRICO.. 7

2.1. Diagnóstico clínico. 7

2.2. Diagnóstico general y específico. 8

2.3. Enfermedades infecciosas. 8

2.4. Bacterias causantes presentes en enfermedades entéricas. 8

2.5. Enterobacterias. 8

2.6. Métodos de análisis microbiológico convencionales y moleculares. 9

2.7. Técnicas moleculares aplicadas a enfermedades infecciosas. 10

2.8. Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) 10

2.9. Técnica PCR.. 10

2.9.1. Fases de la técnica de PCR.. 11

2.10. METODOLOGÍA.. 11

2.11. CONCLUSIÓN.. 12

3. BIBLIOGRAFÍA.. 12

1. INTRODUCCIÓN

El siguiente trabajo tiene un vínculo muy importante con el criterio del médico al momento de realizar un diagnóstico clínico adecuado, el mismo que se basa según la Real Academia Española en la identificación de la existencia de una enfermedad en donde se presentarán síntomas y signos clínicos, los mismos que nos permitirán establecer una confirmación, padecimiento o condición clínica, basado en estudios auxiliares al momento de emitir el diagnóstico y tratamiento adecuado para determinadas enfermedades infecciosas causadas por enterobacterias. ¹

Existen una serie de problemas a nivel de salud que actualmente dificultan el diagnóstico clínico demostrando así un aumento de infecciones graves provocadas por bacterias, por lo que se han intentado encontrar nuevas tecnologías que permitan establecer de manera rápida resultados óptimos, así también disminuir errores asociados a tratamientos empíricos y farmacológicos. ²

En el ámbito mundial este tipo de enfermedades ocupa el segundo lugar en lo que respecta a mortalidad, sobre todo en países con recursos muy limitados en el sistema de salud, en nuestro país el campo de la microbiología clínica no solo es aplicado en el área de la biomedicina, además está presente en diversos campos de la investigación y en la invención de nuevas tecnologías.

Por lo tanto en la actualidad los laboratorios clínicos han incluido de una manera muy exitosa técnicas moleculares las que nos permiten amplificar, detectar y determinar las secuencias de ADN y ARN, frente a una duda clínica, la misma que se llevará a cabo el manejo de la enfermedad, y en lo epidemiológico para conocer la fuente de contagio y la presencia del agente causal, en lo que respecta a distintas enfermedades infecciosas causadas por enterobacterias entre las más utilizadas tenemos a la reacción en cadena de polimerasa (PCR), la misma que es considerada de gran confiabilidad para poder tener un diagnóstico de gran valor ya que se busca de manera segura cuales son los causantes de dichas enfermedades infecciosas. ³

De tal manera es de carácter importante tener en cuenta como objetivo primordial el apoyo a un correcto diagnóstico de enfermedades infecciosas causadas por enterobacterias mediante el estudio de la relación diagnóstico clínico- técnicas moleculares para preservar la salud del paciente, en donde se realizó una búsqueda bibliográfica para saber cuándo es necesario la aplicación de una técnica molecular y seleccionar la más recomendada, en la

cual se eligió la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), la misma que nos brinda un alto nivel de especificidad, confiabilidad, tiempo y costo.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. General

Ø Apoyar al correcto diagnóstico clínico de enfermedades infecciosas causadas por enterobacterias mediante el estudio de la relación diagnóstico clínico- técnicas moleculares para preservar la salud del paciente.

1.1.2. Específico

Ø Categorizar ventajas y desventajas de los distintos métodos de análisis microbiológicos convencionales y automatizados para la detección de microorganismos infecciosos para la determinación de un diagnóstico clínico.

Ø Elegir la técnica molecular más recomendada de acuerdo a la evolución temporal de la enfermedad entérica.

Ø Relacionar el diagnóstico clínico con la fiabilidad de la técnica molecular elegida.

1.2. DESARROLLO Y ANÁLISIS DE PREGUNTA A RESOLVER

PREGUNTA A RESOLVER

¿Cuándo es necesario elegir un método molecular para apoyar al diagnóstico clínico?

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico en la actualidad es lo que el médico especialista diagnostica, "el qué del diagnóstico" este proceso ha cambiado a lo largo de la historia y de cómo. Para *Hipócrates* este criterio debe conocerse como la realización de ideas referentes a la existencia de una enfermedad, siendo de esta manera un "conjunto de conocimientos" que padece el paciente, "Podemos llamar historia del paciente a las facultades para determinar una enfermedad por medio de signos. Mediante el libro de las palabras cultas del griego la palabra análisis clínico quiere decir que es el (arte de distinguir o identificar enfermedades), demostrando que proviene desde un verbo que significa distinguir, seleccionar siendo así otras variedades dependiendo de las terminaciones de la palabra diagnóstico clínico (conocer), las condiciones en la que se presenta una enfermedad en contexto general. ¹

Luego de identificar el proceso fundamental más utilizados en la determinación de un diagnóstico clínico se relacionan de forma una manera lógica haciendo referencia con sus equivalentes de un resultado adicional de ciertos exámenes y pruebas, dando a conocer la intensidad de lo que queremos conocer de una enfermedad, aplicando así un proceso adecuado y un criterio que nos guíe que pruebas complementarias debemos aplicar, definitorio del estado de salud- enfermedad. En la exploración realizada por el médico deben contar factores primordiales que nos ayuden a verificar las distintas condiciones o de donde se origina el patógeno que estamos buscando relacionado a la persona enferma que presenta síntomas. Durante todo el procedimiento se va verificando la información más relevante. ²

Debemos tener en cuenta las etapas y clasificación que contemplan las enfermedades infecciosas, para poder aplicar el mejor criterio y de manera adecuada la técnica a fin desde un punto de vista diagnóstico, entre esta clasificación podemos tener las infecciones según la evolución temporal en agudas, subagudas o crónicas, y las etapas en las que estas infecciones se desarrollan tenemos: ⁶

- Periodo de incubación
- Periodo de desarrollo
- Periodo de convalecencia

2.2. Diagnóstico general y específico

El diagnóstico cuando es realizado por un médico sobre enfermedades infecciosas tiene como fundamento en lo que es conocido la anamnesis siendo la reseña completa de los signos que presenta el paciente teniendo en cuenta encontrar factores de riesgo y signos que orienten una alarma ante un diagnóstico general y específico, para lo cual será derivado a una secuencia de pruebas que complementen para la identificación de la presencia de la enfermedad.⁷

2.3. Enfermedades infecciosas

Son aquellas enfermedades que en un momento dado dependiendo de las condiciones de contagio sufre un proceso de infección produciendo síntomas y signos característicos provocados por el agente infeccioso llegando a causar daño, se pueden clasificar por el agente causal o de la manera en la que se manifiesta en el paciente que lo padece.³

2.4. Bacterias causantes presentes en enfermedades entéricas

Las Bacterias que están presentes en las enfermedades entéricas tienen características muy singulares por los signos que estos presentan especialmente relacionados con el sistema gastrointestinal, entre ellas tenemos vómitos, náuseas, disenterías desde agudas a crónicas y aumentos de temperatura, pudiendo llegar a que estas presenten cuadros de severas complicaciones hasta provocar el deceso de quienes las padecen.⁴

2.5. Enterobacterias

Las enterobacterias conforman el conjunto de microorganismos de los cuales muchas de las veces están involucrados y relacionados frecuentemente en infecciones tanto que se encuentran en la sociedad como en instituciones de atención de salud; añadiendo a esto, el surgimiento de cepas multirresistentes a los antibióticos, son recursos que conforman uno de los mayores problemas de la medicina del presente y del futuro.⁵

La cantidad de muestras en las que se encuentran las bacterias asociadas y una enfermedad entérica no suelen ser comunes debido a razones que mencionaremos a continuación:

1. No todas las bacterias asociadas a este tipo de enfermedades entéricas se buscan mediante un proceso de rutina, por ejemplo, los de baja prevalencia.

2. La inestabilidad de ciertos enteropatógenos tales como la *Shigella*.
3. La baja sensibilidad de la técnica a utilizarse para la determinación de algunos enteropatógenos.
4. Bacterias entéricas desconocidas. ⁶

Debemos tener en cuenta que para poder combatir este tipo de enfermedades es necesario conocer su origen, a que grupo pertenecen y en qué grupo de propagación se encuentran después de haber realizado pruebas complementarias nos han demostrado una resistencia a antibióticos. ⁷

2.6. Métodos de análisis microbiológico convencionales y moleculares

Los profesionales que se dedican al estudio microbiológico en su amplio conocimiento saben que pueden aplicar diversos métodos de diagnóstico para poder ayudar en un correcto diagnóstico clínico entre ellos se encuentran los métodos directos o convencionales en los que están inmersos la detección de microorganismos con vista microscópica que mediante las características se puede predecir, también son importantes los cultivos existentes, identificación de genes y antígeno, dentro de los métodos indirectos, tenemos pruebas de sangre que detectan anticuerpos, los que nos determinan el tipo de respuesta ante una enfermedad infecciosa de acuerdo a microorganismos específicos. En conceptos generales deben tener características específicas y eficientes para ser aplicados en un laboratorio. ⁶

Por otro lado, tenemos los procesos aplicados a técnicas moleculares que por el avance tecnológico forman parte de un correcto diagnóstico de rutina en varios laboratorios microbiológicos. En conceptos generales estos métodos se pueden agrupar en dos grupos:

- Detección mediante PCR es aquella técnica que se encarga de la identificación de uno o varios genes de un mismo microorganismo ⁶
- Detección mediante PCR múltiple, está fundamentado en la detección organismos secundarios como bacterias, virus y parásitos causantes de enfermedades entéricas. ⁶

Mediante investigaciones recientes se ha podido definir que las técnicas moleculares automatizadas presentan una gran ventaja para facilitar el trabajo de los especialistas en estas áreas de laboratorio. Los protocolos existentes en el mercado de productos para análisis de muestras contienen materiales para las extracciones correctas de muestras, amplificaciones de dianas y resultados de una prueba estudiada. Todos estos tipos de

técnicas y método presentan una excelencia tales en tiempos como en emisión de resultados (1-2h), es importante conocer que no es necesario capacitar personal para el manejo de estas máquinas ya que el tiempo de trabajo es disminuido y con factores de riesgo muy mínimos. ⁶

2.7. Técnicas moleculares aplicadas a enfermedades infecciosas.

“Los métodos genotípicos estudian el genoma del microorganismo causal de la enfermedad y posibilitan el análisis de características de polimorfismo genético concurrente en los agentes etiológicos. Se basan en la localización del material genético del organismo, lo que permite generar nuevos cambios en el patrón de expresión genética, y brinda alternativas más estables y reproducibles”. ⁸

Existe una gran variedad de técnicas utilizadas en el estudio automatizado y son las siguientes:

1. Reacción en cadena de la polimerasa (RCP).
2. Secuencia del genoma.
 - a. Secuenciación NGS.
 - b. Pirosecuencia.
3. Hibridación con sondas de ADN.
4. RAPD.
5. RFLP. ⁸

Todas estas técnicas juegan un papel muy importante de acuerdo a la función que son aplicadas ofreciendo así alternativas en la epidemiología y ciencias aplicadas.

La reacción en cadena de la polimerasa es una de las técnicas más empleadas debido a su facilidad para multiplicar el ADN de una determinada muestra biológica, pudiéndose obtener un gran número de copias exactas y presenta especificidad ya que se puede obtener una secuencia determinada de ADN. ⁶

2.8. Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR)

Esta es una técnica puesta en marcha en “1983 por el Bioquímico Kary B. Mullis, y le valió el Premio Nobel de Química en el año 1993. Desarrollada inicialmente en 1985, primero se aplicó al diagnóstico prenatal de anemias y al poco tiempo se aplicó al diagnóstico de la infección por HIV y otros microorganismos”.⁹

2.9. Técnica PCR

Este tipo de procedimientos tienen unos principios que consiste en la lectura de las amplificaciones de una zona específica de ADN denominada PCR, que tiene como objetivo ser específica y sensibles, pero sin embargo pueden algunas veces dar unos resultados falsos positivos.

Este método tiene que ver con la amplificación de los primers o cebadores (secuencias de ADN que delimitan la zona de amplificación, que tienen una longitud de 15-30 nucleótidos y son complementarios a la región del ADN que se quiere amplificar). Se basa en la acción de diferentes enzimas, entre ellas la ADN polimerasa, que incorpora los nucleótidos en la síntesis de nuevas cadenas de ADN (amplificación).¹⁰

2.9.1. Fases de la técnica de PCR

Es importante conocer que estas técnicas llevan un tipo de procesos éticos que se deben cumplir en cada ciclo de la PCR y son:

- **Fase de desnaturalización:** para dar el inicio de esta técnica tan importante en el estudio de la determinación y secuenciación de ADN, todos estos procesos se llevan a cabo en un termociclador, en donde las muestras son introducidas para ser analizadas alcanzarán en esta primera etapa temperaturas superiores a 90 °C lo cual nos ayudará a romper los puentes de hidrógeno y que sus bases nitrogenadas se mantengan unidas a la cadena doble de ADN, tomando en cuenta que no se puede alterar los enlaces fosfodiéster los que contienen grupos fosfato con el azúcar de desoxirribosa y que permiten la integridad de la hebra sencilla.¹¹
- **Fase de apareamiento o annealing:** los cebadores con las hebras sencillas de ADN estarán inmersos en una solución de cadenas de ADN complementarias, las mismas que contienen regiones pequeñas de dobles cadenas que permitirán la lectura de la cadena principal. En esta etapa se deberá reducir la temperatura de 40 °C - 70 °C que ayuda a la unión de los demás factores presentes para que se cumpla esta fase.¹¹

- **Fase de extensión o elongación:** es la última etapa y la más importante debido se cumple la función importante de la ADN polimerasa, que es la formación de un nuevo ADN interponiendo cadenas complementarias a las sencillas esta actividad se lleva a cabo a una temperatura de 75-80 °C. ¹¹

2.10. METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica e investigativa de artículos científicos que constan en las bases de datos referidas por la biblioteca- virtual de la Universidad Técnica de Machala como Ebsco, (Scielo), (Redalyc), (Mediagraphic). de la web, con vigencia 2017-2020; se procede a comparar la importancia de la aplicación de técnicas moleculares más recomendadas para un correcto diagnóstico clínico; se verifica, se elige la técnica acertada y se resuelve la pregunta problema.

2.11. CONCLUSIÓN

Se categorizaron los métodos de análisis microbiológico convencionales (aquellos que demoran más en dar un resultado y tienen un bajo costo) y automatizados (aquellos que se realizan en menor tiempo y presentan un costo elevado), que brindan resultados confiables para la detección de microorganismos infecciosos.

El método nuclear es considerado muy importante al momento de emitir un diagnóstico clínico, pues brinda confianza y rapidez al momento de la determinación de un agente causal de enfermedades infecciosas.

Entre las técnicas que se han revisado la más recomendada y que es utilizada en laboratorios clínicos, tenemos la PCR, la misma que tiene como fundamento una alternativa en el estudio de los ácidos nucleicos, muy conveniente dentro de la evolución temporal en la que se desarrolla la enfermedad entérica del paciente, de esta manera poder confirmar un tratamiento correcto y el bienestar en la salud de quienes lo padecen.

3. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Hurtado, T. C. Diagnóstico Médico Medical Diagnostic. 69–73.
<https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/biociencias/article/view/2872/2286>
- (2) Odio, E. F. V.; Almaguer Delgado, A. J.; García Rodríguez, R. E.
Consideraciones de La Enseñanza Del Método Clínico En La Formación

Médica Superior. *Rev. Cuba. Educ. Medica Super.* **2015**, 29 (1), 182–190.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086421412015000100017&lng=es&tlng=es.

- (3) Amasino, C. F. Enfermedades Infecciosas de Los Animales y Zoonosis.
- (4) Drancourt, M.; Michel-Lepage, A.; Boyer, S.; Raoult, D. The Point-of-Care Laboratory in Clinical Microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, 29 (3), 429–447.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00090-15>.
- (5) Armindo, P. M.; Milagros, M.; Maribel, C.; Eliana, L. T.; Daniela, N.; Messaria, G.; Jessica, V.; José, B. G.; Rafael, V.; Liliana, G. G. Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido En Enterobacteriaceae En Un Centro de Salud de Maracaibo, Venezuela. *Kasmera* **2017**, 45 (2), 88–99. ISSN: 0075-5222. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=373061523003>
- (6) Vila, J.; Dolores, M.; Salavert, M.; Bosch, J. Métodos de Diagnóstico Rápido En Microbiología Clínica: Necesidades Clínicas. **2017**, 35 (1), 41–46.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.11.004>
- (7) Russomando, G. El Diagnóstico Clínico Laboratorial Aplicando Técnicas Moleculares. *Pediatr (Asunción)* **2016**, 43 (1), 09–11.
<https://doi.org/10.18004/ped.2016.abril.09-11>
- (8) Angarita, M.; Torres, M. I.; Díaz, A. Técnicas de Biología Molecular En El Desarrollo de La Investigación. Revisión de La Literatura. *Rev. Habanera Ciencias Medicas* **2017**, 16 (5), 796–807. ISSN: . Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180454487012>
- (9) Franco-Duarte, R.; Černáková, L.; Kadam, S.; Kaushik, K. S.; Salehi, B.; Bevilacqua, A.; Corbo, M. R.; Antolak, H.; Dybka-Stępień, K.; Leszczewicz, M.; Tintino, S. R.; de Souza, V. C. A.; Sharifi-Rad, J.; Coutinho, H. D. M.; Martins, N.; Rodrigues, C. F. Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms—from Past to Present. *Microorganisms* **2019**, 7 (5).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7050130>.
- (10) DREYER, M. S. Enfermedades Infecciosas. *Prensa Med. Argent.* **1956**, 43 (44), 3284–3302. [https://doi.org/10.1016/s1134-2072\(04\)75676-5](https://doi.org/10.1016/s1134-2072(04)75676-5).

- (11) Clinical, T.; Current, M.; Guerra, A. F.; Amalia, S.; Figueredo, S.; Alejandra, M.; Castro, M.; Lalama, J. J. El Método Clínico : Perspectivas Actuales . Segunda Etapa : Búsqueda de Información Quinta Etapa : Exposición. 255–260. DOI. 10.21931/RB/2017.02.01.8 <http://revistabionatura.com/files/2017.02.01.8.pdf>