



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

APLICACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE
TRANSMISIÓN EN MICROBIOLOGÍA PARA FINES DE DIAGNÓSTICO
Y EN LA INVESTIGACIÓN PATÓGENO-HUÉSPED.

BUSTAMANTE OVIEDO MERCY DANIELA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

APLICACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE
TRANSMISIÓN EN MICROBIOLOGÍA PARA FINES DE
DIAGNÓSTICO Y EN LA INVESTIGACIÓN PATÓGENO-
HUÉSPED.

BUSTAMANTE OVIEDO MERCY DANIELA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

APLICACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN EN
MICROBIOLOGÍA PARA FINES DE DIAGNÓSTICO Y EN LA INVESTIGACIÓN
PATÓGENO-HUÉSPED.

BUSTAMANTE OVIEDO MERCY DANIELA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACKLIFF JARAMILLO CAROLINA GRACE

MACHALA, 26 DE ABRIL DE 2021

MACHALA
26 de abril de 2021

APLICACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN EN MICROBIOLOGÍA PARA FINES DE DIAGNÓSTICO Y EN LA INVESTIGACIÓN PATÓGENO- HUÉSPED

por Mercy Daniela Bustamante Oviedo

Fecha de entrega: 18-may-2021 04:59p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1589094887

Nombre del archivo: FINES_DE_DIAGN_STICO_Y_EN_LA_INVESTIGACI_N_PAT_GENO-HU_SPED..pdf (116.14K)

Total de palabras: 2464

Total de caracteres: 14197

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

La que suscribe, BUSTAMANTE OVIEDO MERCY DANIELA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado APLICACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN EN MICROBIOLOGÍA PARA FINES DE DIAGNÓSTICO Y EN LA INVESTIGACIÓN PATÓGENO-HUÉSPED., 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



BUSTAMANTE OVIEDO MERCY DANIELA
0705611887

RESUMEN

La microscopía electrónica de transmisión es una técnica que utiliza un haz de electrones acelerado, únicamente aquellos que atraviesan la muestra generan la imagen en la pantalla fluorescente, más no, aquellos que rebotan o son absorbidos por la muestra. Es por ello, que ha resultado pertinente en la presente investigación determinar las principales aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión, la cual mediante revisión bibliográfica de artículos científicos referentes al tema, se demuestra que la microscopía electrónica de transmisión permite determinar la composición química y observar características ultraestructurales de microorganismos que con otros tipos de microscopios no se lograría, además permite el rápido diagnóstico y diferenciación de enfermedades de origen viral. Dentro de las aplicaciones en la cuales resulta fundamental su uso encontramos: bacteriología, virología, identificación de ciertos protozoarios, entre otras. Mediante la microscopía electrónica de transmisión se aprecia la relación patógeno-huésped, al observar a nivel ultraestructural el comportamiento de las células de defensa del huésped frente a los agentes patógenos invasores, lo que permite entender el proceso infeccioso a partir del cual se pueda establecer un estudio enfocado al control, prevención y tratamiento para combatir el patógeno y la enfermedad subsecuente. El procedimiento a seguir para lograr el correcto procesamiento y análisis de la muestra consiste en una doble fijación, lavado, deshidratación, infiltración, polimerización, seccionamiento y tinción.

Palabras clave: microscopía, ultraestructura, microbiología, diagnóstico, análisis

ABSTRACT

Transmission electron microscopy is a technique that uses an accelerated electron beam, only those that pass through the sample generate the image on the fluorescent screen, but not, those that bounce or are absorbed by the sample. That is why it has been relevant in the present investigation to determine the main applications of transmission electron microscopy, which by means of a bibliographic review of scientific articles on the subject, it is shown that transmission electron microscopy allows determining the chemical composition and observing Ultrastructural characteristics of microorganisms that could not be achieved with other types of microscopes, in addition it allows the rapid diagnosis and differentiation of diseases of viral origin. Among the applications in which its use is essential we find: bacteriology, virology, identification of certain protozoa, among others. Transmission electron microscopy shows the pathogen-host relationship, by observing at an ultrastructural level the behavior of the host's defense cells against invading pathogens, which makes it possible to understand the infectious process from which a study focused on the control, prevention and treatment to combat the pathogen and subsequent disease. The procedure to follow to achieve the correct processing and analysis of the sample consists of a double fixation, washing, dehydration, infiltration, polymerization, sectioning and staining.

Keywords: microscopy, ultrastructure, microbiology, diagnosis, analysis.

ÍNDICE

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 | Objetivo General..... | 1 |
| 1.2 | Objetivos Específicos..... | 2 |
| 2 | DESARROLLO | 2 |
| 2.1 | Microscopia electrónica de transmisión | 2 |
| 2.1.1 | Definición | 2 |
| 2.1.2 | Fundamento del método..... | 2 |
| 2.1.3 | Instrumentación | 3 |
| 2.2. | Caso práctico..... | 3 |
| 2.3. | Metodología..... | 4 |
| 2.4. | Solución al problema práctico planteado..... | 4 |
| 2.4.1. | ¿Cuáles son las principales aplicaciones de la microscopia electrónica en el Laboratorio de Microbiología?´ | 4 |
| 3 | CONCLUSIONES..... | 7 |
| 4 | BIBLIOGRAFÍA..... | 8 |
| 5 | ANEXOS..... | 10 |

1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de potenciar la visualización y caracterización a nivel ultraestructural de microorganismos, ha convertido a la microscopía electrónica de transmisión (MET) como una herramienta valiosa. La mayor relevancia de la MET se basa en el rápido diagnóstico de enfermedades de origen viral y posee una menor importancia en el diagnóstico de enfermedades de origen bacteriano, parasitario y fúngico, debido a que, estos son microorganismos con un tamaño suficiente para poder ser observados mediante la microscopía óptica (Jung and Mun, 2018).

El funcionamiento de la MET consiste en el paso de un haz de electrones sobre la muestra, en la cual los átomos que componen dicha muestra van a producir una dispersión electrónica. En comparación con otras pruebas diagnósticas como PCR (reacción en cadena polimerasa) existe menor riesgo de contaminación cruzada de la muestra y menor costo en cuanto al uso de materiales y reactivos (Wenzel et al., 2021).

El requerimiento de pruebas diagnósticas que brinden resultados precisos, fáciles de aplicar y de costos considerables, sumado a la aparición de nuevas cepas de virus y la necesidad de estudiar sus características ultraestructurales, conllevó a la creación de la microscopía electrónica de transmisión, cuya aplicabilidad ayudó a solventarlas cumpliendo las condiciones y especificaciones que no se logran con otros métodos diagnósticos (Roingeard, Raynal, Eymieux and Blanchard, 2019).

Por lo tanto la presente investigación tiene como importancia determinar las principales aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión, mediante la revisión bibliográfica en artículos científicos referentes al tema, para el conocimiento de los usos del método en el Laboratorio de Microbiología.

1.1 Objetivo General

- Determinar las principales aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión, mediante la revisión bibliográfica en artículos científicos referentes al tema, para el conocimiento de los usos del método en el Laboratorio de Microbiología.

1.2 Objetivos Específicos

- Identificar las principales aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión en el diagnóstico microbiológico.
- Indicar el método para el procesamiento de la muestra.
- Reconocer la aplicabilidad de éste método en la investigación de la relación entre agente patógeno y huésped.

2 DESARROLLO

2.1 Microscopía electrónica de transmisión

2.1.1 Definición

La microscopía electrónica de transmisión es una técnica que utiliza un haz de electrones acelerado que al atravesar un espécimen muy fino permite determinar su composición química y observar características como estructura y morfología. La MET es caracterizada por ser la única técnica de imagen que permite apreciar una visualización directa de la estructura de los virus (Calderón, 2020).

El primer microscopio electrónico de transmisión fue desarrollado por el físico Ernest Ruska y colaboradores (1931-1933), actualmente sigue representando una herramienta importante en diferentes áreas dentro de la investigación científica, tales como medicina, biología, nanopartículas, entre otras (Shoemark, 2017).

2.1.2 Fundamento del método

Para la obtención de imágenes en el microscopio electrónico de transmisión, se usan los electrones aprovechando su carácter de ondas, luego de ello se produce un punto de interferencia en la imagen, como resultado de la iluminación paralela, lo que genera imágenes directas al instante (Cizmar and Yuana, 2017).

La MET posee la capacidad de examinar muestras en regiones o partes grandes, para ello, el seccionamiento debe ser muy fino, al realizar el enfoque del haz de electrones sobre la muestra, únicamente los electrones que atraviesan la muestra generan la

imagen en la pantalla fluorescente, más no, aquellos que rebotan o son absorbidos por la muestra (Burghardt and Droleskey, 2006).

2.1.3 Instrumentación

El MET consta de las siguientes partes (Borges, Assis, Santos and Abrahão, 2018):

- Cañón de electrones, es la fuente de emisión de electrones, que permitirá la creación de la imagen aumentada.
- Lentes magnéticas, responsables de la creación de campos que enfocan y direccionan el haz de electrones.
- Sistema de vacío, corresponde una parte importante del microscopio ya que los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire.
- Pantalla fluorescente, permite observar la imagen aumentada.

2.2. Caso práctico

1) Contexto o situación del problema (caso práctico)

La microscopía electrónica de transmisión (MET) es una herramienta de gran utilidad en microbiología, tanto para fines de diagnóstico como en la investigación de las relaciones entre los agentes patógenos y el huésped. La MET tiene menor importancia en el diagnóstico tisular de infecciones parasitarias, bacterianas y fúngicas, ya que estos microorganismos son suficientemente grandes como para ser detectados con microscopía óptica. Sin embargo, el aporte de la MET al diagnóstico microbiológico abarca también el de estos microorganismos, ya que sus características ultraestructurales son las que permiten, algunas veces, clasificarlos específicamente. Se puede examinar un rango muy amplio de muestras clínicas: fluidos corporales, sangre, heces, orina, biopsias, agua, etc. Las inclusiones víricas o algunos virus en particular pueden ser identificados fácilmente en tejidos que ya estén fijados en formol e incluidos en parafina. Por tanto, será importante conocer la fundamentación y aplicabilidad de esta técnica por el personal que trabaja en el laboratorio de microbiología.

- 2) Fuente de consulta (Bibliografía):** nombre del artículo o normas internacionales, documentos, textos (página)

- Aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión en el diagnóstico microbiológico. Páginas 1-7
- Link:
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11173/Documento_completo.pdf?sequence=1

3) Pregunta o preguntas a resolver: La pregunta para resolver el caso

¿Cuáles son las principales aplicaciones de la microscopia electrónica en el Laboratorio de Microbiología?

2.3. Metodología

La metodología empleada para la resolución de la presente investigación es de tipo descriptiva no experimental, realizada mediante revisión bibliográfica de 20 artículos científicos relacionados con el tema, del año 2015 hasta el año 2021, los cuales han sido encontrados en Google académico, Pubmed, Scielo, Redalyc, ScienceDirect.

2.4. Solución al problema práctico planteado

2.4.1. ¿Cuáles son las principales aplicaciones de la microscopia electrónica en el Laboratorio de Microbiología?

Woods y Stirling (2019), mencionan:

- Biopsias de trasplante renal: en este caso la MET posibilita la búsqueda de glomerulopatía de trasplante, enfermedad primaria recurrente, enfermedad glomerular de novo. Los virus que se logran observar son de ADN, icosaédricos o de forma redonda a poligonal, miden aproximadamente 40-50 nm de diámetro y no poseen envoltura.
- Microsporidios: la MET facilita la identificación y especiación de estos parásitos, los cuales pueden ser identificados en biopsias de tejido o materia fecal. Para lograr tipificarlas se considera la configuración de los núcleos en esporas, además del tamaño y la morfología en sus diferentes etapas del desarrollo.

Curry, Appleton, & Dowsett (2006), detallan como principales aplicaciones de la MET:

- Bacteriología: mediante la MET se identifican estructuras y se localizan antígenos presentes en células bacterianas. Además en muestras de biopsias, posibilita la identificación de algunas bacterias.
- Virología: mediante la MET se puede observar características ultraestructurales de virus, las cuales no pueden ser observadas mediante otros métodos.
- Diagnóstico rápido de viruela, enfermedad que puede confundirse con la varicela, mediante la MET se identifica rápidamente el grupo de virus implicado analizando el líquido de las vesículas.
- Gastroenteritis viral: gracias a la microscopía electrónica de transmisión se descubrió que los virus eran causas comunes de gastroenteritis no bacteriana infantil y eran responsables de muchos brotes de gastroenteritis en todos los grupos de edad.
- Poliomavirus: con la MET se descubrió dos poliomavirus humanos, denominados virus BK y virus JC, estos poseen 45 nm de diámetro y presentan capsómeros, los cuales forman la cápside del virus.
- Patógenos presentes en lesiones cutáneas: los virus pueden ser detectados dentro de los 30 minutos luego de haber receptado la muestra, obtenida de raspados de piel o líquido aspirado de una lesión, donde se logrará distinguir virus del papiloma, herpes y otros poxvirus.
- El uso de la MET es de gran importancia para el estudio de proteínas recombinantes, particularmente en el desarrollo de antígenos usados en vacunas y ensayos.

Jurado (2005), menciona como aplicaciones de la MET:

- Virología: la MET permite la obtención de resultados en menos tiempo en comparación con los medios de cultivo tradicionales.
- Bacteriología: MET posibilita observar los procesos fagocíticos.
- En parasitología, permite identificar protozoarios, diferenciándolos mediante su morfología.

Jalil y Fraig (2019), mencionan:

- La MET resulta de gran utilidad en la detección rápida de organismos, como en el caso de epidemias (alta mortalidad) en los que depende el tiempo de diagnóstico para el control de la enfermedad.

Rojas, Mayo y Neira (2012), mencionan:

- La MET fue de gran utilidad en el análisis de biopsias renales cuyo diagnóstico no fue concluyente utilizando técnicas convencionales, mediante este método se logró observar características ultraestructurales, para determinar la existencia de nefropatía por virus BK.

Menéndez et al (2016), mencionan:

- La MET contribuye en la caracterización de los antígenos recombinantes que pasarán a formar parte de vacunas, mejorando la visualización y caracterización ultraestructural de las proteínas recombinantes.

Hopfer et al (2021), mencionan:

- En la actualidad la MET constituye aquella herramienta valiosa para el estudio de muestras de tejidos en pacientes COVID-19, con el cual se ha logrado determinar su estructura, genoma asociado con la proteína nucleocápside, diámetro (60-140 nm) y morfología.

a) Métodos para el procesamiento y análisis de la muestra

La doble fijación consiste en una fijación primaria, en la cual se recomienda la utilización de un aldehído, luego se debe lavar la muestra en tampón, posteriormente se procede a realizar la fijación secundaria con tetróxido de osmio, a continuación se lava nuevamente en tampón para eliminar el exceso de osmio (Ayub; Wani; Shoukat; Ahmad; Ganguly and Ali, 2017).

Seguidamente se procede a deshidratar la muestra, debido a que en la presencia de agua las muestras pueden colapsar al vacío, para ello se debe reemplazar con etanol o acetona. Continuando el proceso se efectúa la infiltración con resina líquida, el cual se lo realiza de manera gradual, 50:50 óxido de propileno y resina, seguido de 25:75 y se finaliza con resina pura (Tizro, Choi and Khanlou, 2019).

Luego se realiza la polimerización, la cual consiste en colocar la muestra en un gabinete de secado 2 días (40 ° C) y 2 días (60 ° C). En lo que respecta al seccionamiento se emplean cuchillas de vidrio o de diamante. El grosor debe ser de aproximadamente 60

nm. Se tiñen secciones con azul de toluidina en una placa caliente (70°C a 90°C) (Malatesta, 2016).

b) Aplicabilidad en la investigación de las relaciones entre los agentes patógenos y el huésped

Al ser invadido un huésped por un agente patógeno, se activará inmediatamente la primera línea de defensa, que corresponde a la participación inmediata de los macrófagos en su acción de fagocitosis, mediante la cual pueden destruir los microorganismos invasores. Una de las formas de conocer si los macrófagos fueron activados, resulta de la aplicación de la técnica de precipitación de la fosfatasa ácida acoplada a la MET, observando como característica un precipitado dentro de los fagosomas, lo cual indica que se ha dado la activación celular (Palma, Castrillón, Castañeda, Duarte, Mendoza and Padilla, 2017; Watteau and Villemin, 2018).

3 CONCLUSIONES

Luego de haber planteado la solución a la pregunta del problema práctico, la conclusión a la que llego es la siguiente:

- La microscopia electrónica de transmisión posee una amplia variedad de aplicaciones dentro del campo de la microbiología, resultando ser de gran importancia ya que permite observar a niveles ultraestructurales, lo que en otros microscopios no se lograría. Como por ejemplo encontramos su uso en bacteriología, virología, identificación de ciertos protozoarios, entre otras.
- En la relación patógeno-huésped permite comprender el proceso infeccioso a partir del cual se pueda establecer un estudio enfocado en el control, prevención y tratamiento del patógeno y la enfermedad subsecuente.
- El procedimiento a seguir para el procesamiento y posterior análisis de una muestra consiste en una doble fijación, lavado, deshidratación, infiltración, polimerización, seccionamiento y tinción.

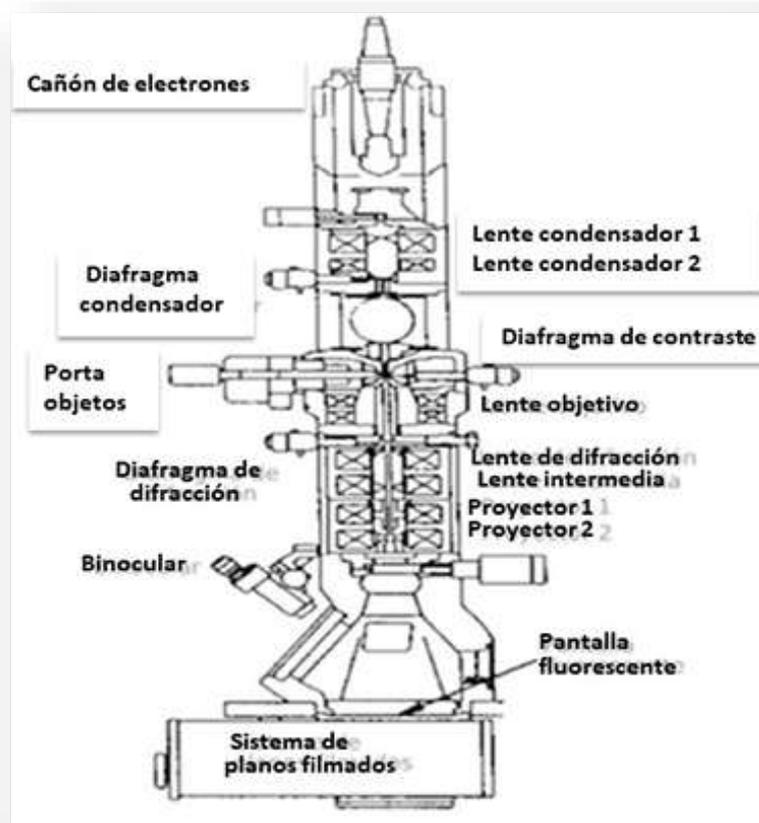
4 BIBLIOGRAFÍA

- (1) Menéndez, I.; Hermida, L.; Hernández, A.; Aguilar, J. C.; Garateix, R.; Molina, R.; Pérez, D.; Rodríguez, M. P.; León, J.; Falcón, V. Characterization Nanoparticles-Based Vaccines and Vaccine Candidates: A Transmission Electron Microscopy Study. *Bionatura* **2016**, 1 (2), 75–78. <https://doi.org/10.21931/RB/2016.01.02.7>.
- (2) Wenzel, M.; Dekker, M. P.; Wang, B.; Burggraaf, M. J.; Bitter, W.; van Weering, J. R. T.; Hamoen, L. W. New Flat Embedding Method for Transmission Electron Microscopy Reveals an Unknown Mechanism of Tetracycline. *Commun. Biol.* **2021**, 4, 1–13. <https://doi.org/10.1101/820191>.
- (3) Roingear, P.; Raynal, P. I.; Eymieux, S.; Blanchard, E. Virus Detection by Transmission Electron Microscopy: Still Useful for Diagnosis and a plus for Biosafety. *Rev. Med. Virol.* **2019**, 29 (1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/rmv.2019>.
- (4) Calderón, H. A. Microscopía Electrónica de Transmisión Para Observar Átomos: Principios y Desarrollo. *Mundo Nano. Rev. Interdiscip. en Nanociencias y Nanotecnología* **2020**, 13 (25), 133–156. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69649>.
- (5) Shoemark, A. Applications of Emerging Transmission Electron Microscopy Technology in PCD Research and Diagnosis. *Ultrastruct. Pathol.* **2017**, 41 (6), 408–414. <https://doi.org/10.1080/01913123.2017.1365789>.
- (6) Cizmar, P.; Yuana, Y. Detection and Characterization of Extracellular Vesicles by Transmission and Cryo-Transmission Electron Microscopy. *Methods Mol Biol* **2017**, 1660, 221–232. <https://doi.org/10.1525/9780520948068-021>.
- (7) Burghardt, R. C.; Droleskey, R. Transmission Electron Microscopy. *Curr. Protoc. Microbiol.* **2006**, 2, 1–39. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc02b01s03>.
- (8) Borges, I. A.; Assis, F. L. de; Silva, L. K. dos S.; Abrahão, J. Rio Negro Virophage: Sequencing of the near Complete Genome and Transmission Electron Microscopy of Viral Factories and Particles. *Brazilian J. Microbiol.* **2018**, 49, 260–261. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.07.003>.
- (9) Woods, A. E.; Stirling, J. W. *Transmission Electron Microscopy.*, Eighth Edi.; Elsevier, **2019**. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00021-9>.
- (10) Curry, A.; Appleton, H.; Dowsett, B. Application of Transmission Electron Microscopy to the Clinical Study of Viral and Bacterial Infections: Present and Future. *Micron* **2006**, 37 (2), 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2005.10.001>.
- (11) Jurado, S.; Petruccelli, M. Aplicaciones de La Microscopía Electrónica de Transmisión En El Diagnóstico Microbiológico. *Analecta Vet.* **2005**, 25 (1), 18–

- 24.
- (12) Jalil, B.; Fraig, M. Transmission Electron Microscopy in Severe Pneumonia: Back to the Future? *Am. J. Med. Sci.* **2019**, *357* (4), 271–272.
<https://doi.org/10.1016/j.amjms.2019.01.003>.
- (13) Ayub, B.; Wani, H.; Shoukat, S.; Ahmad Para, P.; Ganguly, S.; Ali, M. Specimen Preparation for Electron Microscopy: An Overview. *J. Environ. Life Sci.* **2017**, *2* (3), 85–88.
- (14) Tizro, P.; Choi, C.; Khanlou, N. Sample Preparation for Transmission Electron Microscopy. *Methods Mol. Biol.* **2019**, *1897*, 417–424.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_33.
- (15) Hopfer, H.; Herzig, M. C.; Gosert, R.; Menter, T.; Hench, J.; Tzankov, A.; Hirsch, H. H.; Miller, S. E. Hunting Coronavirus by Transmission Electron Microscopy – a Guide to SARS-CoV-2-Associated Ultrastructural Pathology in COVID-19 Tissues. *Histopathology* **2021**, *78* (3), 358–370.
<https://doi.org/10.1111/his.14264>.
- (16) Palma Ramos, A.; Castrillón Rivera, L. E.; Castañeda Sánchez, J. I.; Duarte Muñoz, A. R.; Mendoza Pérez, F.; Padilla Desgarenes, C. Fagocitosis de *Actinomadura Madurae* Por Macrófagos Peritoneales Murinos: Estudio Realizado Por Microscopia Electrónica de Transmisión. *Rev Cent Dermatol Pascua* **2017**, *26*, 85–91.
- (17) Rojas, N.; Mayo, N.; Neira, E. Aplicación de la Microscopia Electrónica en el Diagnóstico de las patologías renales. *An. la Fac. Med.* **2012**, *73*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.15381/anales.v73i0.2213>.
- (18) Jung, M. K.; Mun, J. Y. Sample Preparation and Imaging of Exosomes by Transmission Electron Microscopy. *J. Vis. Exp.* **2018**, *2018* (131), 5–9.
<https://doi.org/10.3791/56482>.
- (19) Malatesta, M. Transmission Electron Microscopy for Nanomedicine: Novel Applications for Long-Established Techniques. *Eur. J. Histochem.* **2016**, *60* (4), 8–12. <https://doi.org/10.4081/ejh.2016.2751>.
- (20) Watteau, F.; Villemin, G. Soil Microstructures Examined through Transmission Electron Microscopy Reveal Soil-Microorganisms Interactions. *Front. Environ. Sci.* **2018**, *6*, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00106>.

5 ANEXOS

Anexo N°1. Partes del microscopio electrónico de transmisión

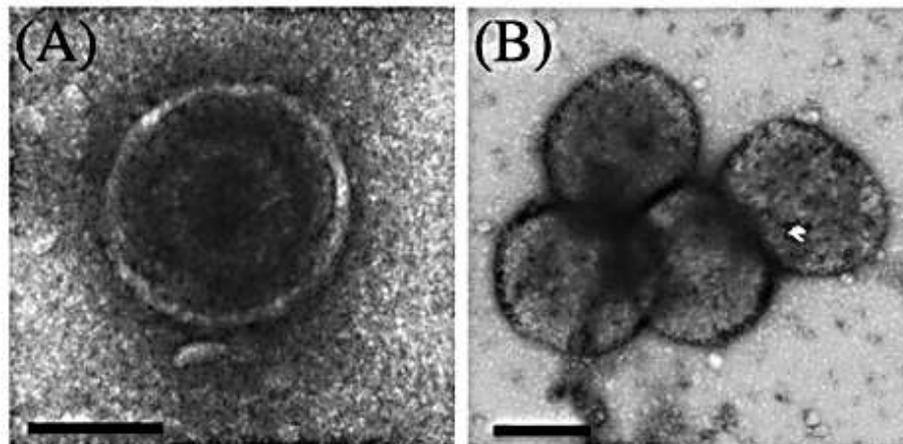


Anexo N°2. Aplicaciones de la microscopia electrónica de transmisión en microbiología.

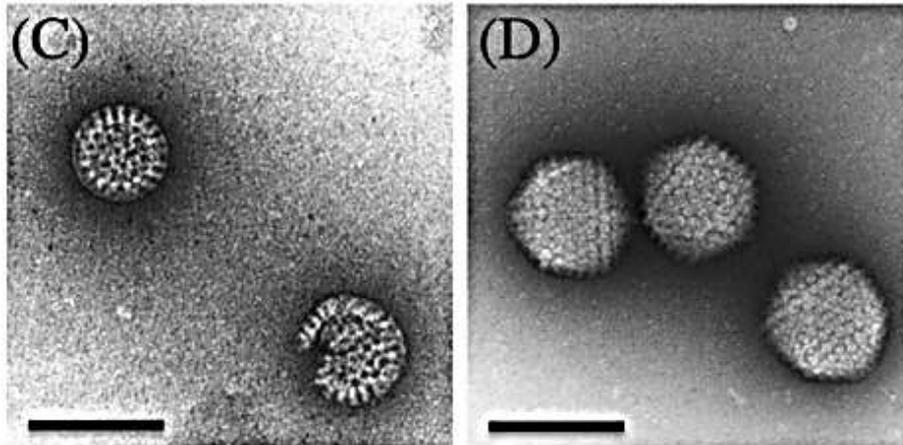
| AUTOR | APLICACIÓN |
|-----------------------------------|---|
| Woods y Stirling (2019) | <ul style="list-style-type: none"> • Búsqueda de glomerulopatía de trasplante. • Identificación y especiación de microsporidios. |
| Curry, Appleton, & Dowsett (2006) | <ul style="list-style-type: none"> • Bacteriología: identificar estructuras y localizar antígenos. • Virología. • Diagnóstico rápido de viruela. • Gastroenteritis viral. |

| | |
|----------------------------|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Investigación de lesiones cutáneas y liberación deliberada de patógenos peligrosos. • Investigación de proteínas recombinantes, antígenos y cápsides virales. |
| Jurado (2005) | <ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico rápido de enfermedades víricas. • Determinación de los procesos fagocíticos. • Identificación de ciertos protozoarios. |
| Jalil y Fraig (2019) | <ul style="list-style-type: none"> • Detección rápida de organismos. |
| Rojas, Mayo y Neira (2012) | <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la existencia de nefropatía por virus BK |
| Menéndez (2016) | <ul style="list-style-type: none"> • Caracterización de antígenos recombinantes que pasarán a formar parte de vacunas. |
| Hopfer (2021) | <ul style="list-style-type: none"> • Estudio de muestras de tejidos en pacientes COVID-19 (estructura, genoma, diámetro y morfología) |

Anexo N°3. Diagnóstico de infecciones virales mediante microscopía electrónica de transmisión



Los paneles A y B ilustran un diagnóstico morfológico diferencial rápido que compara un herpesvirus (A) y un parapoxvirus (B) en el líquido recuperado de las vesículas cutáneas.



Los paneles C y D ilustran un diagnóstico morfológico diferencial rápido para un rotavirus (C) y un adenovirus (D) en las heces.

Anexo N°4. Esquema de procesamiento de muestra para análisis.



Anexo N°5. Visualización de estructura de SARS-CoV-2

