



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

Implementación de pruebas de PCR en Tiempo Real y clínicas en el Laboratorio de Diagnóstico, Administración e implementación del Sistema de Gestión de Calidad

INFORME FINAL DE TRABAJO PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A :

TORRES HERNÁNDEZ ELIZABETH

JURADO DE EXÁMEN

DIRECTOR: DR. MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL

ASESOR: DR. RODRÍGUEZ MERCADO JUAN JOSE

ASESORA: DRA ÁLVAREZ BARRERA LUCILA

SINODAL: MTRO. ALCÁNTARA MEJÍA VICTOR ALAN

SINODAL: M.E.S ALVARADO DOMÍNGUEZ MARIA CRISTINA



CIUDAD DE MEXICO A 3 DE MAYO 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi hijo, Lucca...

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Mateos Nava Rodrigo Aníbal, que nunca dudó de mi persona para concluir esta etapa de mi vida, por ser guía en mi formación e inspirarme a confiar en mis capacidades.

A los miembros de este jurado, el Dr. Rodríguez Mercado Juan José, la Dra. Álvarez Barrera Lucila, el Mtro. Alcántara Mejía Víctor Alan y la M.E.S Alvarado Domínguez María Cristina por tomarse su tiempo para guiarme en este proceso con sus siempre puntuales comentarios al tomarse el tiempo de leer este trabajo.

A mi singular y apreciada UNAM y a mi carrera de Biología, porque encontré el sentido de mi vida al pertenecer a esta casa.

A mi mejor amiga Georgina, porque no sabe las incontables veces que me inspiró a seguir en este camino, que perdí alguna vez y lo volví a reencontrar.

A Carlos, porque sin su confianza y apoyo no hubiera tenido el valor para salir de mi zona de confort, porque dispersó miedos y el día de hoy soy más profesional gracias a su ayuda.

A mis hermanos Karina y Fernando, que siempre tuve apoyo de ellos incondicional, sin juzgar ni demeritar mis pensamientos.

A mis padres Esther y Javier, porque como fuese siempre estuvieron apoyándome y no dudaron de mis capacidades para lograr mis objetivos, las primeras personas que siempre confiaron en mí.

A mi familia que incontables veces sin darse cuenta fueron imprescindibles en este camino forjado.

Y a ti, Lucca, porque fuiste, eres y serás siempre mi motor para ser una mejor persona hoy y siempre, porque espero llegar a ser inspiración tuya en este camino que comienzas.

1. Resumen	4
2. Nemiliz Diagnostics	5
3. Fundamentación del tema	7
4. Objetivos	16
5. Descripción de las actividades realizadas	16
6. Contribuciones	20
7. Visión	33
8. Referencias bibliográficas	35

1. Resumen

Dentro de la empresa me he desempeñado como directora del laboratorio para las áreas de Diagnóstico Molecular y Diagnóstico Clínico en el último año brindando servicios especializados para la comunidad en general, con el fin de apoyar al sector salud y en conjunto con problemáticas actuales dar una posible solución.

Dentro de mis funciones generales se encuentra el procesamiento, interpretación y estandarización de muestras y protocolos relacionadas con enfermedades respiratorias, de transmisión sexual y análisis clínicos. Adicionalmente, con el objetivo de contar con una administración de riesgos adecuada para el manejo de estas pruebas, apoyamos a la compañía con la creación de diferentes manuales establecidos para mitigar los riesgos de cualquier índole, montaje de nuevos laboratorios en otras sedes y nuevas líneas de investigación que están en desarrollo dentro del mismo proyecto.

En el transcurso de este tiempo he tenido la posibilidad de aplicar en diferentes áreas de conocimiento en términos de proceso, administración, planeación, construcción de manuales, desarrollo e introducción de personal, capacitaciones, estandarización e implementación de protocolos y sistemas de gestión de calidad.

En el presente trabajo se establecen las actividades realizadas para poder desempeñar la efectividad de los deberes encomendados por la empresa, con la finalidad de brindar los diagnósticos a la población que los requiere en su momento.

2. Nemiliz Diagnostics

Breve historia de la empresa

Nemiliz Diagnostics es una empresa 100 % mexicana comprometida con el significado de su nombre a saber, con la “vida” (nemiliz-diagnostics.com). Su finalidad es brindar una experiencia de calidad mediante el servicio profesional en el diagnóstico clínico y se rige bajo su misión y visión de empresa:

Misión. Contribuir en el mejoramiento de la calidad de vida de la población brindando un servicio de análisis confiables y oportunos para auxiliar en el diagnóstico clínico y molecular, proporcionando resultados eficientes, veraces y confiables con el más alto desarrollo tecnológico, profesional y de servicio empleando estándares de calidad reconocidos a nivel mundial.

Visión. Ser una empresa reconocida a nivel mundial por proporcionar los servicios más especializados y de alta calidad a la población y a otras entidades de salud empleando un alto nivel tecnológico y de diagnóstico en constante crecimiento, convirtiéndonos en líderes del campo clínico y molecular brindando servicio a nivel local y nacional.

Al inicio de la pandemia ocasionada por el virus del SARS-CoV-2 que surgió en el año 2019 (COVID-19), la mayoría de los laboratorios de diagnóstico no estaban preparados para la magnitud que implicaba procesar tantas muestras a nivel mundial y específicamente en México no existían muchas instituciones públicas o privadas que permitieran la detección puntual de este virus, además de que el personal del sector salud no estaba capacitado para ello, mostrando deficiencia no solo en infraestructura sino en conocimiento a nivel país (Medel *et al.*, 2020; Sánchez *et al.*, 2021).

A raíz de esta problemática, el CEO me contactó con el fin de poder colaborar de manera inmediata con ellos en el área de biología molecular específicamente en este tipo de pruebas respiratorias debido a que era la problemática del momento y la técnica de estos protocolos ya estaban montadas y listas a fin de iniciar el proceso.

Sin embargo, dado que toda la población estaba enfocada en el tema de SARS-CoV-2, otras problemáticas empezaron de manera indirecta a tomar relevancia y no eran atendidas con

la misma prioridad (Wiggins *et al.*, 2020). Entre estas destacaban las pruebas de detección de VPH y ETS, las cuales no estaban estandarizadas en el laboratorio de manera adecuada. He aquí donde comienza mi labor en la estandarización y elaboración de protocolos de enfermedades de este tipo (Bouvard *et al.*, 2009; Burd, 2003). Asimismo, se llevó la capacitación del personal a mi cargo referente al laboratorio en temas y mejora de obtención de los ácidos nucleicos (Chun, 2012; Farfán, 2015), revisión de los criterios de aceptación y rechazo de muestras y control de calidad en las misma (NOM-005-STPS-1998, 2003), con lo que se pudo reducir de forma importante los falsos positivos y negativos que se presentaban.

Actividad de la empresa

La organización de los servicios que proporciona la empresa en general se divide en los siguientes:

- ✓ **Nemiliz Diagnostics:** Empresa especializada en análisis general de muestras en apoyo al diagnóstico clínico.
- ✓ **Stem Cells:** Desarrollo, cultivo y comercialización de células troncales mesenquimales, la intención es mejorar la calidad de vida de las personas por medio de la medicina regenerativa.
- ✓ **Idea:** Diseño y construcción de espacios arquitectónicos o inmobiliarios enfocados al sector salud como laboratorios, clínicas, consultorios, farmacias y construcción en general.

Organigrama

El giro de la empresa, como se mencionó anteriormente, es el apoyo al diagnóstico clínico y comercialización de laboratorios, en sus diferentes ramas. Debido a que la compañía es

grande, esta se encuentra dividida en diferentes organismos de acuerdo a los productos que ofrece, los cuales se describen en la Figura 1.

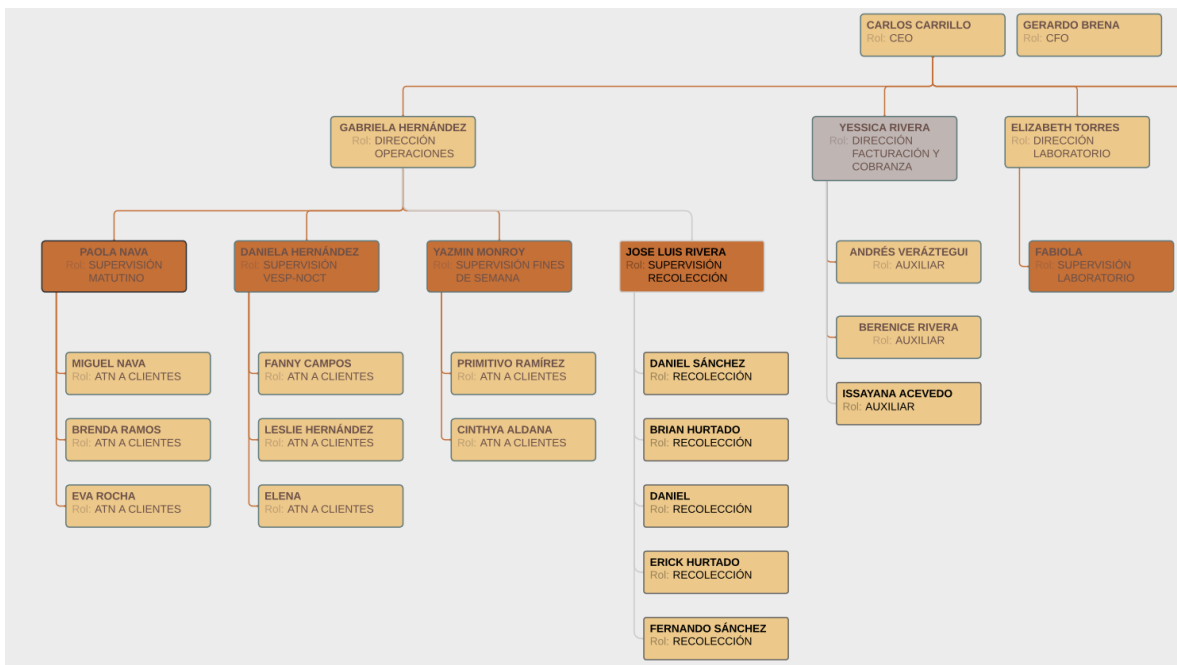


Figura 1. Organigrama general de Nemiliz Diagnostics.

3. Fundamentación del Tema

El presente trabajo se fundamenta en la implementación de técnicas estandarizadas para laboratorio de diagnóstico clínico y molecular acorde a las normas oficiales nacionales e internacionales para patógenos infecto-contagiosos (NOM-017-SSA2-2012).

Con la formación como bióloga en el área de biología del desarrollo (biología molecular) se ha logrado dar un enfoque primordial hacia el diagnóstico clínico con el fin de procurar la salud y bienestar de los pacientes.

Una de mis contribuciones para con la empresa, fue establecer las bases de la PCR en el laboratorio de biología molecular, con el fin de partir de una manera correcta de ellas y poder seguir un fundamento adecuado, logrando así cumplir nuevos estándares en el área, montando diferentes protocolos que nos ayudasen a expandirnos en el mercado.

En el año 2019 la pandemia originada por COVID-19 creó un área de oportunidad para desarrollar la formación que adquirí en el área molecular, esto debido a que la sociedad se

centró en esta pandemia dejando a un lado enfermedades que eran importantes en el diagnóstico y no estaban siendo abordadas de manera puntual. A raíz de esta situación, se implementaron nuevos procesos de manera que se fue ampliando el catálogo de pruebas ofrecidas por la empresa hacia el público en general.

Todo este proceso se pudo conseguir apoyándose en las diferentes asignaturas de la Licenciatura de Biología al aplicar el conocimiento y experiencia adquirida hasta ahora; con beneficios para el futuro desempeño laboral y social.

De manera puntual se comenzó con el análisis y correcto empleo de la extracción de ácidos nucleicos, esto debido a que la cantidad obtenida de estos no era la adecuada o la suficiente entre cada proceso que se empleaba. Esta obtención se realizó a través del uso de perlas magnéticas, la cual consiste en el aislamiento y purificación de moléculas, ADN o ARN (Tang *et al.*, 2013). Los ácidos nucleicos están formados por grupos fosfato, los cuales están cargados negativamente y son polares, dándole de esta forma a la molécula una carga negativa (altamente polar). Debido a dicha característica los grupos fosfato tienen una fuerte tendencia a repelerse, lo que permite disolver a la molécula en soluciones acuosas y formar una capa hidratante alrededor de ella misma. En presencia de etanol, se rompe la capa hidratante y quedan expuestos los grupos fosfato que, bajo estas condiciones favorecen la unión con cationes como el sodio (Na^+), reduciendo las fuerzas repulsivas entre cadenas de nucleótidos y permiten que el ácido nucleico precipite. Esta carga negativa de la molécula le permite unirse fácilmente a matrices inorgánicas cargadas positivamente (Velázquez *et al.*, 2014).

En la actualidad, en el mercado existen combos o kits de extracción que utilizan matrices inorgánicas cargadas positivamente capaces de retener varios microgramos de material genético y separarlos del resto de las biomoléculas, logrando así un extracto libre de inhibidores (Dundass *et al.*, 2008). Entre estos se encuentran las perlas magnéticas, las cuales consisten de un centro de hierro recubierto por resina y suspendidas en una solución amortiguadora. De esta forma, el ácido nucleico cargado de forma negativa se une a la matriz que tiene carga positiva de forma reversible, manteniéndose unida a ella durante la remoción de lípidos, proteínas y metabolitos secundarios, liberándose posteriormente de

la matriz mediante el empleo de un imán (separador magnético). En primera instancia, se emplean condiciones hipersalinas que permiten que la célula que contiene el material genético se lise y sea liberado este para adherirse a las perlas magnéticas. Las impurezas residuales y posibles inhibidores se eliminan con soluciones de lavado para finalmente eludir la molécula de interés de las perlas magnéticas cambiando las condiciones de la fase líquida, separando de esta forma el material genético de las perlas, Figura 2, (Zybio, 2022).



Figura 2. Representación gráfica de la extracción mediante uso de perlas magnéticas. Obtenido de www.zybio.com

Ante este método de extracción también se evaluaron la relación costo-beneficio de las pruebas. Una de las ventajas de utilizar protocolos tradicionales es su bajo costo vs. su alto rendimiento. Sin embargo, con las primeras muchas veces el material está fragmentado o susceptible de contaminación, variación y errores por la constante manipulación del mismo, los cuales se ha comprobado que disminuyen en los kits comerciales como el que se maneja dentro de la empresa, al capturarse selectivamente la molécula diana de interés obteniendo alta pureza, reduciendo a su vez la posibilidad de contaminaciones (Störmer *et al.*, 2007). Estos tipos de kits comerciales permiten aumentar la sensibilidad y reproducibilidad de

técnicas, en este caso las empleadas por nosotros, garantizando la obtención de resultados confiables. Aunado a esto son empleados extractores automáticos en la que intervienen en lo más mínimo el personal, mejorando así la precisión, la reproducibilidad y reduciendo el tiempo de extracción, último punto que es importante cuando se trata de manejar grandes cantidades de muestras.

Si bien, las condiciones en las que se realizaron las extracciones son de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, este no menciona los tiempos específicos entre cada etapa del protocolo. En esta parte se logró estandarizar tiempos para obtener una mejor cantidad de material genético, mismo que se comprobó mediante curvas de amplificación que corroboraron la integridad de la extracción al evaluarse el control interno de diferentes tipos de muestras (www.thermofisher.com) (Figura 3).

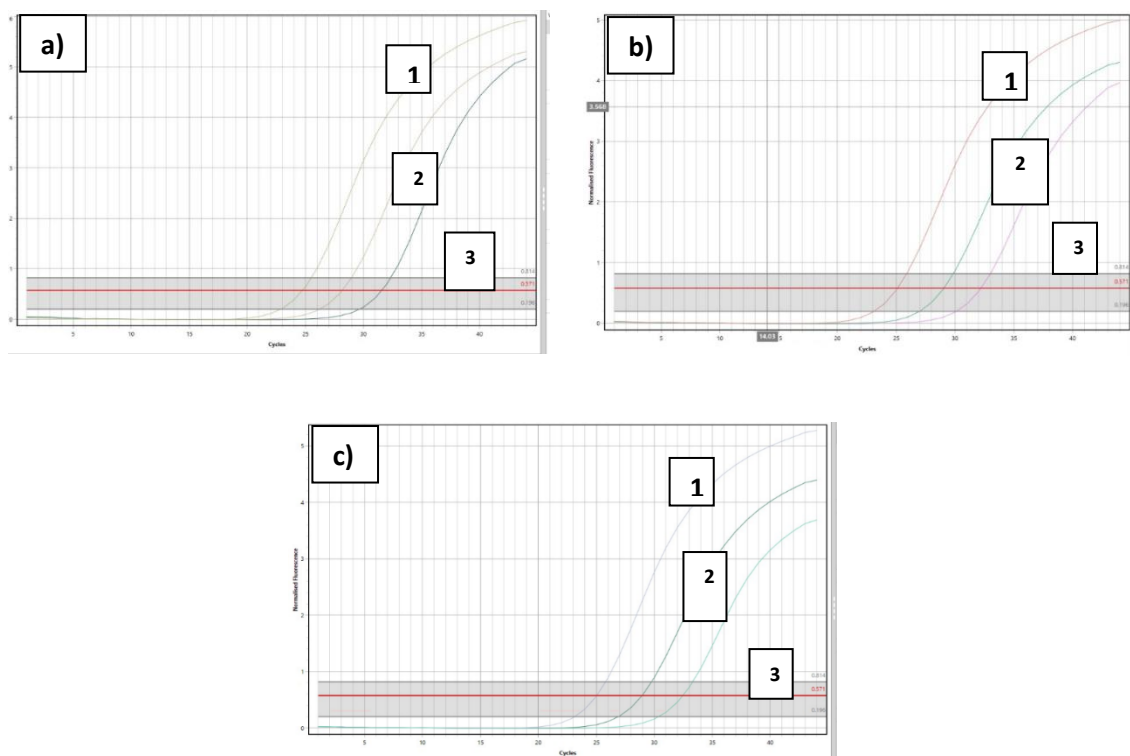


Figura 3. Curvas de amplificación de diferentes tiempos de proceso para extracción de material genético para muestras de tipo a) exudado nasofaríngeo, b) exudado cervical c) exudado uretral. Se evaluaron 3 tiempos de lavados entre extracción que correspondieron a 8s (1), 6s (2) y 4s (2). Se comprobó la mejor cantidad de material genético obtenido con estos tiempos mediante curvas de IC (control interno).

Los ácidos nucleicos en biología molecular, son altamente empleados desde antes de la introducción de la PCR en tiempo real, la cual ha llevado a un progreso considerable en la automatización de los pasos de amplificación y detección (Kleines *et al.*, 2003). Con la llegada del SARS-CoV-2 en nuestro país, de igual forma se trabajó en el correcto empleo de diferentes kits en el laboratorio con el fin de obtener resultados viables y confiables empleando la PCR en nuestras instalaciones.

Cabe mencionar que el coronavirus es un virus de ARN que contiene aproximadamente de 27-32 kb de ARN monocatenario, tiene seis marcos abiertos de lectura (ORF) y muchos otros genes específicos. En el extremo terminal 5', dos tercios de su genoma consisten en dos marcos de lectura (ORF1 y ORF2). A su vez, estos ORF codifican dos poliproteínas (pp1a y pp1ab) y se escinden en 11 y 16 poliproteínas respectivamente. En la terminal 3' se ubican las diversas proteínas estructurales como la nucleocápsida (N), la proteína de membrana (M), una proteína de la cubierta (E) y la espiga (S) (Malik *et al.*, 2020).

La PCR en general maneja marcadores especiales (colorantes fluorescentes) con el fin de detectar materiales genéticos específicos; por ejemplo, los del virus de SARS-CoV-2. Esta metodología se usa de forma rutinaria para detectar virus causantes de secreciones respiratorias. La PCR con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR en tiempo real) es uno de los mejores y más precisos métodos de laboratorio para estudiar este virus (Mathuria *et al.*, 2020). Este tipo de técnicas facilita el análisis del resultado en tiempo real, aunque el proceso aún esté en curso, ayudando a que se realice una detección fiable y rápida para la detección de patógenos como es el del coronavirus.

En la RT-PCR se mide el ARN viral por el umbral de ciclo (Ct) que se define en el número de ciclos necesarios para que la señal fluorescente cruce el umbral y se vuelva detectable. Arrojada esta información, la interpretación del resultado en la PCR se basa en los valores de Ct para la muestra, y dependiendo del kit empleado, un valor inferior a 40 se informa clínicamente como positivo. De manera normal la PCR arroja valores de especificidad del 95-100 %, aunque pueden producirse valores falsos negativos que están relacionados a un error o manejo inadecuado del muestreo (Sethuraman *et al.*, 2020), debido a esto, la OMS recomienda que se utilicen ensayos en los que se detecten dos regiones del virus para

evitarlos, al mismo tiempo evitar la posible deriva genética del SARS y una reacción cruzada con otros coronavirus endémicos (Corman *et al.*, 2020).

El virus SARS-CoV-2 es un miembro del género coronavirus β . Cuenta con una envoltura redonda que van de los 60-140 nm de diámetro y sus síntomas son la neumonía viral y la disnea. Uno de los kits empleados en nuestra sede detecta de forma cualitativa el ARN de SARS-CoV-2 en muestras de exudado nasal, de garganta, muestras de fluidos de lavado alveolar y esputo, en pacientes sospechosos portadores de este virus. Detecta específicamente los genes objetivo (ORF 1ab y N) del SARS-CoV-2, no obstante, los resultados de esta prueba son únicamente de referencia clínica. Siempre se recomienda un análisis exhaustivo de las condiciones de los pacientes en combinación con su historial clínico y otros resultados de diagnóstico de laboratorio (Zybio, 2020).

Para este protocolo cabe mencionar que se detecta específicamente de forma cualitativa el ARN del SARS-CoV-2 y el proceso consta principalmente de dos pasos: aislamiento y preparación que se puede realizar de manera manual como anteriormente se describió, o de forma semiautomatizada y de transcripción inversa y amplificación por PCR donde la molécula diana a estudiar se transcribe de forma inversa para generar ADN complementario (ADNc) y se combina con cebadores y sondas específicas para la amplificación de PCR. Esta detección cualitativa de SARS-CoV-2 se realiza mediante el monitoreo del cambio de la intensidad de la señal de fluorescencia durante la amplificación (Zybio, 2020).

Por otra parte, en el laboratorio a fin de corroborar diferentes regiones de detección del virus correspondiente a SARS-CoV-2 y disminuir los resultados falsos negativos o positivos, se emplearon diferentes kits en los que simultáneamente podíamos detectar otros virus, el de Influenza A y B. Estas pruebas múltiples de RT-PCR están destinadas a la detección simultánea cualitativa de ácidos nucleicos virales (RNA) de Influenza A, Influenza B y SARS-CoV-2 en exudados similares (nasofaríngeos y orofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, aspirados nasales, lavados bronco-alveolares, esputo traqueal y saliva en individuos sospechosos) basado en una tecnología patentada (Poritz Ririe, 2014; Satterfield, 2014) que utiliza un CoPrimer para la detección de genes diferentes por medio de la RT-PCR en tiempo real: Influenza A (gen Matriz (M)), Influenza B (gen No Estructural (NS)) Y SARS-CoV-2 (gen

RdRP y Gen E). Además, se realiza la detección de un Control Interno RNaseP Humano, el cual verifica la calidad de la muestra y la extracción (Co-Diagnostics, 2020).

Dada la preocupación por abordar la pandemia por la que estábamos pasando, se les dieron menos importancia a otros tipos de pruebas que, actualmente, están retomando importancia médica en México. La pandemia nos trajo consigo el ver la importancia de los virus y la forma en que estos se expresan en la vida cotidiana, como lo es el Virus de Papiloma Humano, VPH (Cruz *et al.*, 2023).

Con el coronavirus se ha popularizado la palabra asintomático para referirnos a los casos en que alguien se contagia, pero no desarrolla síntomas de la infección y si no se aísla sigue contagiando a otras personas. En las infecciones por papiloma también hay un altísimo número de casos asintomáticos que contribuyen a que se siga transmitiendo el virus. Lo mismo llega a ocurrir con aquellas enfermedades de transmisión sexual (ETS) que conocemos derivadas por bacterias y en las que se observaron casos importantes de incidencia entre el 2020 y el 2021 como fue el caso de clamidia, gonorrea y sífilis (Casanova *et al.*, 2022) entre otros.

El VPH está relacionado con el cáncer cervical, que mundialmente esta es la tercera causa de muerte entre las mujeres, sólo superada por el cáncer de mama en términos de muertes por cáncer en ellas. Más de 500 000 mujeres cada año lo desarrollan, el 80 % se da en países en desarrollo, y aproximadamente 275 000 mujeres fallecen por la enfermedad anualmente (Punt *et al.*, 2020).

En México, para el año 2020 el cáncer cervical fue el segundo más diagnosticado y la segunda causa de muerte en mujeres, con 9 mil 439 nuevos casos y 4 mil 335 muertes. Este tipo de cáncer tiene una tasa de incidencia de 12.6 y de mortalidad de 5.7 por 100 000, aunque con respecto a 2012 hubo disminución importante en su incidencia. En 2021 el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) detectó 1 155 casos nuevos y 1 059 defunciones con tasa de incidencia de 2.26 por 100 000 y una tasa de mortalidad de 5.23 por 100 000 (Medrano, 2022).

En el laboratorio se emplearon kits de biología molecular de acuerdo a las instrucciones del fabricante, los cuales también constan del uso de sondas para detectar los patógenos de interés. En el caso del VPH, se trata de un ensayo multiplex que permite la detección de 19 genotipos de papiloma humano de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) y 9 de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70) en dos reacciones de PCR, y su control interno, el cual a su vez se incorpora en el producto como un proceso endógeno con el fin de controlar el aislamiento de ácido nucleico, y para verificar la posible inhibición de la PCR (Seegene HPV28).

Este protocolo tiene empleado el sistema uracil-ADN glicosilasa (UDG) con el fin de evitar la mutagénesis por eliminación de uracilo de moléculas de ADN mediante la escisión del enlace N-glicosídico e iniciando la vía de reparación de base por escisión (BER) por lo tanto, el sistema UDG se utiliza para el control de la contaminación cruzada de las muestras con posibles amplicones (Hsieh *et al.*, 2014).

En el caso de las enfermedades de transmisión sexual o mejor conocida como ETS, cada día más de un millón de personas contraen una infección de este tipo y la mayoría son asintomáticos. Las ETS tienen un efecto directo en la salud sexual y reproductiva por la estigmatización, la infecundidad y las complicaciones del embarazo y puedes a su vez aumentar el riesgo de contraer VIH, siendo la farmacorresistencia un obstáculo importante para reducir la carga de estas enfermedades en el mundo. Se estima que, en el 2022, hubo 375 millones de nuevas infecciones siendo las más comunes la clamidiosis (129 millones) gonorrea (82 millones), sífilis (7.1 millones) y tricomoniasis 156 millones (OMS, 2023).

En el caso de México, se notó incremento de las ETS para el año 2021, como fue el caso de la gonorrea. El boletín de la Dirección General de Epidemiología reportó en la semana 47 de dicho año que se habían reportado 9 mil 45 casos de esta ETS. En la misma semana, pero del 2022 se registró que ya se rebasan los 10 mil casos. Mismo caso se presenta con la sífilis, que de haberse reportado en el 2021 arriba de 9 mil casos, para mediados del 2022 se tuvieron más de 14 mil casos. El herpes en los mismos años se registró de 6 mil 609 casos a poco más de 8 mil. En nuestro país este aumento afecta principalmente a adolescentes y

adultos jóvenes de entre 18 y 45 años de edad, rango donde se encuentra la etapa reproductiva y sexualmente activa de las personas (Huerta, 2022).

El kit empleado en el laboratorio para la detección de ETS utiliza la tecnología TOCE (Tagging Oligonucleotide Cleavage & Extension) implementada por Seegene que consta de pares de cebadores, lanzadores y receptores que en conjunto proporcionan una amplificación altamente específica de la región objetivo. Se utilizan dos complementos denominados “Pitcher” (oligonucleótido marcador que se hibrida específicamente con la región objetivo) y “Catcher” (plantilla artificial de doble etiqueta). En este proceso la actividad de la nucleasa 5’ escinde específicamente un lanzador unido al objetivo y luego se libera la porción de etiquetado diseñada. La parte de etiquetado liberada se hibrida con la parte de captura del catcher y la formación del receptor dúplex induce la extensión del receptor, lo que da como resultado la generación de una señal de fluorescencia. Esta señal se puede analizar mediante análisis en tiempo real y permite detectar múltiples patógenos en un solo canal de fluorescencia, (Figura 4) (Lee, 2012).

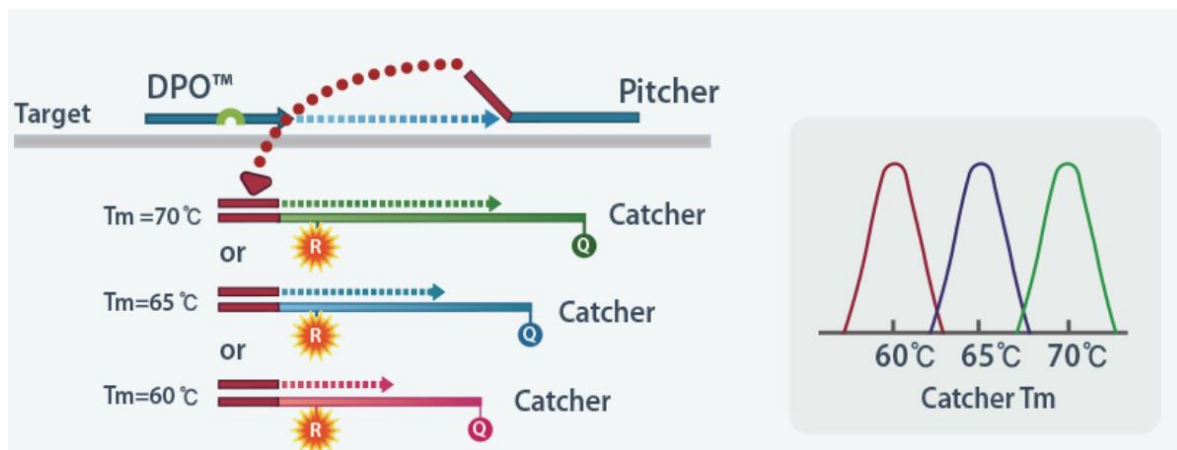


Figura 4. Tecnología TOCE (etiquetado de escisión y extensión de oligonucleótidos) implementada por Seegene.

DPO: Pares de cebadores (oligonucleótidos), Pitcher: Lanzador, Catcher: Receptor, Tm: Temperatura de fusión, Target: Secuencia objetivo.

El kit conocido como Anyplex™ II STI-7 permite la detección simultánea de ácidos nucleicos correspondientes a *Clamidia trachomatis* (TC), *Micoplasma genitalum* (MG), *Micoplasma hominis* (MH), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Tricomona vaginalis* (TV), *Ureaplasma parvum* (UP) y *Ureaplasma urealyticum* (UU). De la misma forma que con el caso del VPH, este protocolo tiene empleado el sistema uracil-ADN glicosilasa (UDG), sin embargo, en este kit se emplea un IC exógeno a fin de controlar el aislamiento de ácidos nucleicos y comprobar la posible inhibición de la PCR. Este IC amplifica conjuntamente con el ADN diana dentro de las muestras clínicas (Seegene STI-7).

4. Objetivos

Mi aspiración con este trabajo es poder poner a prueba mis habilidades y comprensiones adquiridas en la carrera y de la mano con las adquiridas en esta empresa, con el fin de poder obtener el título de Biólogo implementando el conocimiento de técnicas de biología molecular como es la PCR en tiempo real y de la mano con lo aprendido sobre cuestiones administrativas implementando protocolos y documentación a base de normas, lo cual nos llevará a manejar un sistema de gestión de calidad adecuados con el laboratorio y ante dependencias gubernamentales como COFEPRIS.

Todo esto se llevó a través del registro de procedimientos realizados dentro de las instalaciones tanto física como administrativamente al diseñar protocolos y documentación adecuada para las inspecciones que se realizan de forma rutinaria por parte de dependencias como la ya mencionada.

5. Descripción de las actividades realizadas

El propósito del presente trabajo consiste en dar a conocer las labores que he desarrollado a lo largo de este tiempo bajo la tutela de Carillo Moreno Carlos Alberto, empleando los diferentes rubros clínicos de los que damos servicios.

Las empresas que son clientes de Nemiliz Diagnostics solicitan normalmente estos servicios a través del área de ventas con la finalidad de que se les pueda dar solución a sus peticiones y, al redireccionarlos a mi área, apoyar al diagnóstico clínico que buscan.

La combinación de habilidades que adquirí en mi formación académica con las adquiridas en el ámbito profesional me ha permitido llevar a cabo y gestionar a lo largo de este periodo las siguientes actividades:

- Sistema de Gestión de Calidad de la empresa.
- Administración de recursos.
- Finanzas.
- Cálculo de costos.
- Gestión de proveedores.
- Administración de talento.
- Asesoría a clientes y pacientes.
- Orientación a los médicos para interpretación de resultados.
- Revisión de resultados.
- Toma de muestra de enfermedades respiratorias nasofaríngeas y orofaríngeas.
- Estructura y elaboración de manuales, protocolos y lineamientos.
- Estandarización de protocolos.
- Implementación de procesos.
- Extracción de ácidos nucleicos de forma manual y automatizada.
- Procesamiento de los siguientes estudios: pruebas virales respiratorias como SARS-CoV-2, Influenza A y B, tamizaje de influencias, virus sincitiales, detección bacteriana de *Bordetella parapertussis* (BPP), *Bordetella pertussis* (BP), *Chlamydia pneumoniae* (CP), *Haemophilus influenzae* (HI), *Legionella pneumophila* (LP), *Mycoplasma pneumoniae* (MP), *Streptococcus pneumoniae* (SP), Virus del papiloma humano (VPH), enfermedades de transmisión sexual (ETS) inducidas por *Chlamydia trachomatis* (CT), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* (MH), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV), *Ureaplasma parvum* (UP), *Ureaplasma urealyticum* (UU); química clínica de estudios, glucosa, creatinina, ácido

úrico, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta, gamma glutamil transferasa (GGT), deshidrogenada láctica (DHL), proteínas totales, albúmina, globulinas, creatina fosfocinasa (CK), calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cloro, amilasa y lipasa; pruebas de hematología: microhematocrito, velocidad de sedimentación globular, recuento leucocitario, diferencial leucocitaria, uroanálisis (examen de orina general EGO), prueba rápida para la detección de Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y sífilis, antidoping de anfetamina (ANF), barbitúricos (BAR), benzodiazepina (BZO), cocaína (COC), metanfetamina (MET), opiáceo (OPI) y marihuana (THC).

Para el correcto proceso de estas muestras se sigue un recorrido que parte desde la recepción de la muestra a analizar hasta su análisis con el fin de asegurar una trazabilidad de la misma, Figura 5.

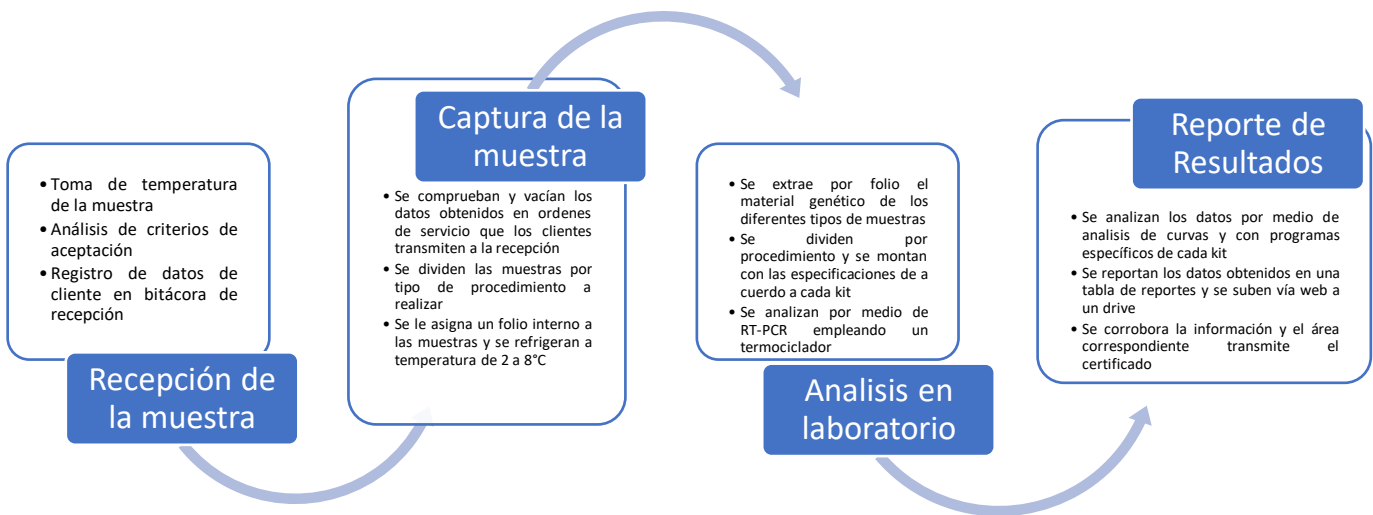


Figura 5. Proceso de recepción, captura, análisis y reporte de muestras.

El beneficio que se obtiene es transmitir resultados clínicamente relevantes, oportunos y verídicos hacia quienes lo solicitan.

Equipos empleados

Dentro de los equipos y aparatos con los que se cuenta para el desarrollo de las actividades están:

- Analizador químico zybio EXC 200
- Analizador de Hematología zybio Z3CRP
- Equipo de urianalisis SIEMENS Cinitek Status
- Centrífuga HWLAB
- Sistema de aislamiento de ácidos nucleicos zybio EXM3000
- Microcentrífuga DLAB
- Gabinetes de bioseguridad Thermo Scientific 1300
- Vórtex DLAB
- Termobloque Four E'S Scientific
- Rack magnético Borhee
- Termociclador Biorad CFX96™ Optics Module C1000 Touch™
- Termociclador Biorad CFX Opus 96
- Mic PCR bio molecular systems
- Micropipetas de diferentes capacidades, 0.5-10, 20-200 y 100-1000 µL

Cursos y capacitaciones

Dentro de la estancia realizada en este tiempo, se dio la oportunidad de realizar cursos y capacitaciones con valor curricular que sirvieron de apoyo para el crecimiento profesional obtenido, entre estos se encuentran los siguientes:

- Operación del equipo de quimioluminiscencia MAGLUMMI 800.
- Analizador de Química Clínica EXC-200 ZYBIO.
- Características y aplicaciones de las células madre.
- Identificación de fuentes de error en el protocolo de SARS-CoV-2.
- Proceso de toma de muestra para enfermedades respiratorias.
- Lineamientos generales de Higiene y Seguridad.

- Criterios generales, clasificación y bases aplicadas de Bioseguridad en laboratorios de Biología Molecular.
- Curso Básico de primeros auxilios.
- Manejo de extintores.

Aunado a esto estoy por iniciar un diplomado en Microbiología y Parasitología por parte del Tech School of Medicine con el fin de poder expandir en un futuro las áreas de oportunidad que el laboratorio ofrece.

Personal a cargo

Debo mencionar que para el desempeño de las actividades tengo a cargo cuatro recepcionistas y cinco técnicos laboratoristas, en conjunto forman parte de mi equipo de trabajo.

6. Contribuciones

Como se mencionó anteriormente, las actividades desarrolladas en el trabajo profesional son las propias de un sistema de laboratorios, la orientación va a la función técnica de docencia e incluye manejos administrativos que dan soporte y evidencia del desarrollo operativo de este. A continuación, se explican las acciones en las que se tuvo intervención de manera rutinaria y que como en cualquier laboratorio abarcan aspectos básicos importantes, por ejemplo: gestión, organización, implementación, manejo de equipos e instalaciones en general.

Proceso de revisión del laboratorio

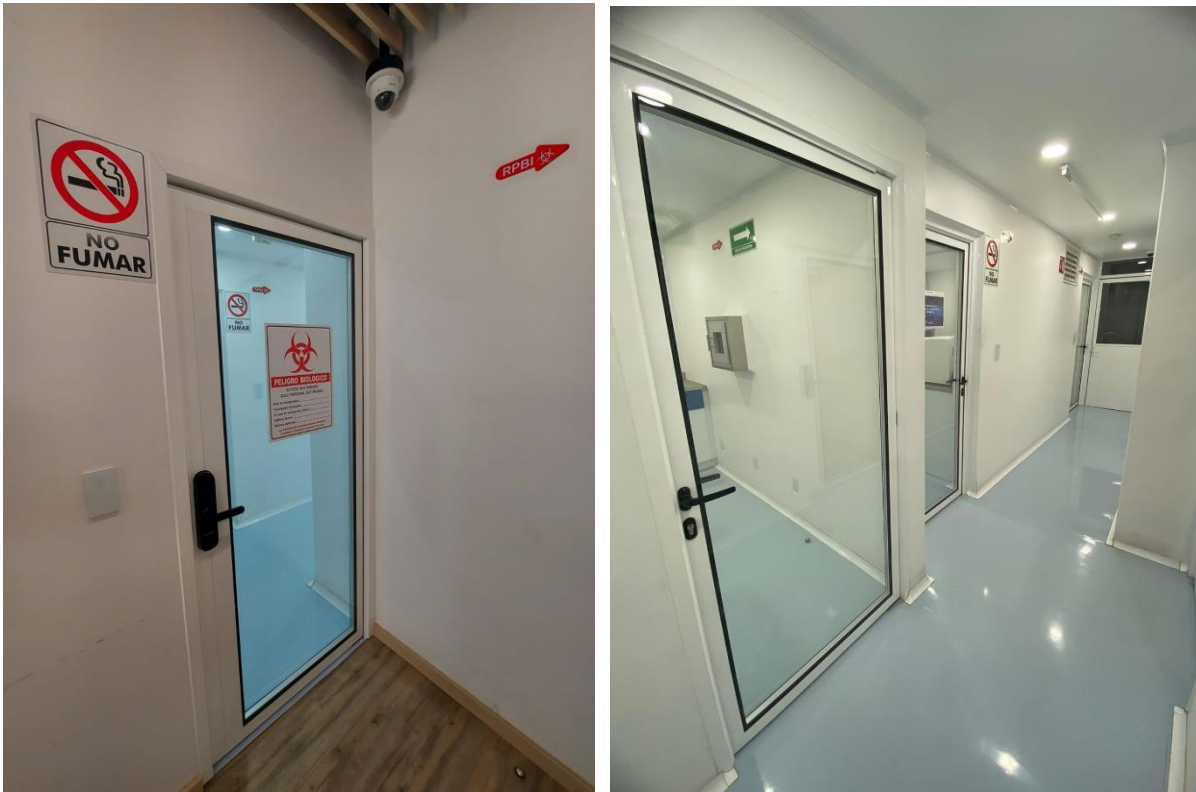


Figura 6. Laboratorio de procesamiento Nemiliz Diagnostics.

Al llegar al laboratorio la rutina implica un recorrido rápido y completo para revisar las instalaciones y los equipos, así como reactivos y muestras recibidas ese día. El objetivo es detectar situaciones normales y anormales, tomar las acciones debidas según el caso; por ejemplo, alteraciones en temperaturas y humedad, fallos eléctricos, caducidad de reactivos, funcionamiento correcto de equipos, sistemas de ventilación, entre otros (figura 6).

Inventario de equipos, mobiliarios e insumos

Esta actividad es diaria, debe tenerse el conocimiento del número de muestras y el panorama general de mobiliario, equipo, herramienta, infraestructura e insumos creándose la habilidad de detectar en todo momento cualquier situación fuera de lo habitual. El inventario es visual, documental y en constante actualización, sea por controles

programados o contingencias; éste último caso, donde se procede a informar de manera inmediata al responsable del módulo, quién puede saber el paradero o tomar las medidas de reportes pertinentes. También fue importante aprender a realizar inventarios muy detallados, como los de reactivos biológicos, material de procesamiento y equipo (figura 7); pero, además, mantener dichos inventarios en completo resguardo y orden, pues el objetivo es que el total de los integrantes del equipo del área tengan conocimiento de cada procedimiento, lo que agiliza y permite el trabajo del laboratorio. Para inventariar todo esto descrito se crearon formatos con la descripción detallada del concepto; por ejemplo, reactivos que contempla: nombre comercial, principio activo, presentación, cantidad, unidad, caducidad, valor, laboratorio, permiso COFEPRIS, lote, área, entre otros; y así esta rutina permite recopilar datos y establecer procesos.

En cuanto a los equipos, se identificaron con números de serie asignados de acuerdo a cada área del laboratorio y de la misma manera, se realizaron formatos para cada uno en el que se registra su mantenimiento diario, voltaje, humedad, forma de limpieza y reactivos empleados para esta, anomalías, etc. La realización de estos expedientes es de gran importancia, ya que permite dar el seguimiento adecuado a cada equipo empleado; constituyéndose en una herramienta necesaria para el correcto funcionamiento del laboratorio de forma indirecta en: compra-venta de insumos y equipos, análisis de competencias, mejoramiento de procesos.



CONTROL DE REACTIVOS DE AMPLIFICACIÓN

Área: BIOLOGÍA MOLECULAR Reactivo: SARS-COV-2 Presentación: _____
 Marca: _____ Temperatura: _____ No de catálogo: _____

Nº DE LOTE	FECHA DE CADUCIDAD	FECHA DE RECIBIDO	Nº DE CAJA	FECHA DE INICIO	FECHA DE TERMINO	VERIFICACIÓN DEL REACTIVO	
20201102	2021503	13-10-2021	1			Cumple	No cumple
20201102	2021503	23-10-2021	2			Cumple	No cumple
20201102	2021503	25-10-2021	3			Cumple	No cumple
			4			Cumple	No cumple
			5			Cumple	No cumple
			6			Cumple	No cumple
			7			Cumple	No cumple
			8			Cumple	No cumple
			9			Cumple	No cumple
			10			Cumple	No cumple
			11			Cumple	No cumple
			12			Cumple	No cumple
			13			Cumple	No cumple
			14			Cumple	No cumple
			15			Cumple	No cumple
			16			Cumple	No cumple

Nombre y firma de responsable

Supervisó

LT-C-02
2021-03-10



REGISTRO DE TEMPERATURA AMBIENTE

Área: _____ Turno: _____ Año/mes: _____ ID del equipo: _____

ID del termómetro: _____ Corrección: 0 Intervalo óptimo de temperatura: 15°C-30°C

ACTIVIDAD TEMPERATURA (°C)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31			
13																																		
14																																		
15																																		
16																																		
17																																		
18																																		
19																																		
20																																		
21																																		
22																																		
23																																		
24																																		
25																																		
26																																		
27																																		
28																																		
29																																		
30																																		
31																																		
32																																		
Humedad 55-75%																																		
Realizó																																		
Supervisó																																		

Indicaciones: Registrar la temperatura con número y utilizando la corrección correspondiente a cada termómetro.

Observaciones:

Realizado No realizado / No aplica *No utilizar corrector

VoBo: _____ Gerente Técnico

LT-RT-01



MANTENIMIENTO DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS Zybto EXM300

Nemiliz Diagnostics

Área: _____ ID del equipo: _____ Año/mes: _____

Actividad	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
Mantenimiento Diario (Inicio del día)																																	
Limpeza exterior del equipo																																	
Limpeza del interior con sales cuaternarias																																	
Mantenimiento semanal																																	
Humedad 0-80 %																																	
Voltaje 100-240 V																																	
Realizó																																	
Supervisó																																	

Observaciones:

Realizado No realizado / No aplica *No utilizar corrector

VoBo: _____ Gerente Técnico

LT-MT-02

Indicaciones: Para humedad anotar el % que indica el higrómetro.

Figura 7. Ejemplo de Bitácoras empleadas para el registro correcto de acontecimientos en laboratorio.

Respecto a las instalaciones en general se tiene un control de temperatura y humedad diaria registrada en bitácoras que nos permiten dar el seguimiento adecuado, asimismo, su sanitización diaria con periodos de luz UV asegurando la correcta desinfección de las áreas. Todas las áreas cuentan con características especiales que ayudan a disminuir el riesgo de contaminaciones y/o plagas entre ellas curvas sanitarias, piso epóxico, cámaras de transferencia con luz UV, constante filtración de aire a través de filtros HEPA, entre otros (Figura 8).

Manejo de personal

El manejo del personal como toda preparación se lleva a cabo con constantes evaluaciones prácticas y teóricas que nos ayudarán a cubrir el perfil de puesto designado para la cobertura del laboratorio. Este perfil se describe a continuación:

Técnico laboratorista

- Toma y análisis de muestras

Analizar muestras que nos permitan determinar el estado de salud de cualquier individuo que recibamos en las instalaciones. Identificar e interpretar si un resultado es positivo o negativo con el fin de dar el mejor diagnóstico para la salud.

- Capacidad de análisis e implementación de protocolos

Con ayuda de la teoría y apoyándose en círculos de discusión con el equipo, se implementarán protocolos nuevos, se modificarán los ya establecidos si se requieren y se tendrá la capacidad para utilizar las diferentes tecnologías utilizadas en el laboratorio.

- Interpretación y comunicación de resultados al responsable en turno

Reportar en tiempo y forma los resultados al responsable de turno con el fin de que lo pueda apoyar en alguna muestra problema o resultados complicados a la hora de analizar. Por mínima que sea la consulta debe haber comunicación.



Figura 8. Condiciones de laboratorio para evitar posibles contaminaciones y/o plagas como son luz UV (1), filtros de extracción (2) y campanas de bioseguridad nivel II (3).

- Inventarios

Gestionar el material para que no exista escases de reactivos o productos que generen limitaciones al momento del procesamiento y funcionamiento del laboratorio.

- Manejo y eliminación de RPBI

Tras la generación de material de riesgo biológico en laboratorio se debe gestionar de forma adecuada su desecho, así como tener calendarizado su retiro de las instalaciones de acuerdo a las medidas establecidas en diferentes manuales basados en la NOM-005-STPS-1998 (NOM-005, 1998) y en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (NOM-087, 2002). El orden y la organización serán prioridad para llevar a cabo estas actividades.

- Organización y limpieza

El orden y la limpieza son una de las prioridades de todos, por lo cual se deberá mantener en todo momento las instalaciones en las mejores condiciones. Si llegara a perjudicar algo deberá notificarse al instante.

- Mantenimiento de equipos

El personal deberá preparar todo el material necesario para el día a día de todas y cada una de las pruebas, además estará pendiente de las fechas de mantenimiento, así como de las fechas próximas a este. De igual manera, estar al pendiente de los equipos y notificar en todo momento desperfecto o alteración de los mismos a su responsable en turno.

- Identificación de riesgos en laboratorio

Se realiza la evaluación de riesgos del entorno en el que permanecemos, identificando posibles factores que puedan perjudicar como derrames, desechos o cualquier riesgo que se considere peligroso para el bienestar del personal y notificarlo de forma oportuna al responsable en turno.

- Realizar y revisar controles de calidad

Se realizan revisiones periódicas que nos hagan supervisar otras áreas, por ejemplo, monitorear la calidad del aire, conteo de partículas, condiciones de humedad y temperatura, entre otras. Toda alteración se reportará de forma inmediata al responsable en turno.

El fin de este proceso es, al igual que otros laboratorios, tener al personal capacitado constantemente para que las instalaciones funcionen de manera correcta, ética y profesional, posicionándonos como uno de los laboratorios de mayor competencia ante el mercado por los servicios de excelencia ofrecidos en todos los aspectos.

Sistema de gestión de calidad de la empresa

Actualmente y con los cambios que se han realizado constantemente ante las autoridades de gestión y calidad, así como las metodologías empleadas, los laboratorios de diagnóstico clínico han trabajado para el mismo fin: garantizar la calidad de los resultados que son emitidos.

Los conceptos y la aplicación del Sistema de Gestión de Calidad se establecen en la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011 para la organización y funcionamiento de laboratorios clínicos, y corresponde a la COFEPRIS vigilar que se lleve a cabo con el fin de proteger la Salud y calidad de la población (NOM, 2011).

La implementación de un Sistema de Gestión de Calidad efectivo se basa primero en la elaboración de los documentos maestros necesarios que estructuren los planes de la empresa con el fin de garantizar la correcta aplicación del Sistema en apego a lo establecido en la norma.

Los manuales empleados en este sistema constituyen el documento en los cuales se establecen las directrices que conforman el Sistema de Calidad y en el cual se sumarán las políticas de la empresa basadas en la intención del Director General en la cual asume el compromiso al frente de la empresa que garantiza la correcta dirección, recursos y apoyos al resto de la organización, por lo tanto, es imprescindible establecer los documentos, procedimientos y elementos necesarios para cumplir con éstas bases que garanticen su correcta aplicación y funcionamiento.

La implementación del Sistema de Gestión de Calidad se basará en la divulgación, capacitación y calificación de todos los elementos que participen directamente en el establecimiento del Sistema de Gestión de Calidad, de tal forma que se cumpla la manera como la organización dirige y controla las actividades asociadas con la calidad. Entre los elementos de un sistema de gestión se encuentran una estructura organizacional, una planificación, recursos, procesos y procedimientos, los cuales se realizaron a través de este tiempo en las instalaciones y desde que ingresé al laboratorio.

Los formatos que desarrollé y revisé se encuentran los siguientes: Manual de Bioseguridad (Meechan *et al.*, 2020), Manual de Procedimiento de Derrames de Sustancias Químicas y Biológicas, Manual de Procedimiento para la toma de muestra, Manual de Transporte (Martínez *et al.*, 2020), Manejo, Recepción y Conservación de muestras (Collection, 2021), Manual de Seguridad e Higiene, Manual de Manejo del RPBI, Guía de Visitas, Formato de Evaluación de Habilidades, Formato de Evaluación del desempeño, Formato de evaluación de proveedores, Formato de Solicitud de Capacitación, Formato de Solicitud de Pruebas y Exámenes, Manual de Procedimiento para la extracción de Ácidos Nucleicos, Manual de Procedimiento de Detección de Ácido Nucleico de SARS-CoV-2 Logix SMART ABC (Codiagnosics INC, 2020), Manual de Procedimiento de Detección de Ácido Nucleico de SARS-CoV-2 Zybio, Manual de Procedimiento para las Observaciones para la Realización de la Prueba SARS-CoV-2, Manual de Procedimiento para el Análisis de Antidoping, Manual de Procedimiento para el Protocolo de VPH (Virus del papiloma humano), Manual de Procedimiento para el Protocolo de STI (infecciones de transmisión sexual), Manual de procedimiento para el Análisis de Orina (Campuzano *et al.*, 2012).

Así mismo, desarrollé distintos formatos para la gestión interna del laboratorio (figura 6) como fueron: Formato de Registro de Temperatura Ambiente, Formato de Registro de Temperatura de Congeladores y Refrigeradores, Formato de Mantenimiento de Vórtex, Formato de Mantenimiento del Equipo de Extracción de Ácido Nucleicos Zybio EXM300, Formato de Mantenimiento del Equipo MIC qPCR, Formato de Mantenimiento del Equipo BIORAD CFX 96 TOUCH, Formato de Mantenimiento del Equipo BIORAD CFX OPUS 96, Formato de Mantenimiento de Termobloque, Formato de Mantenimiento de MAGLUMI

800, Formato de Mantenimiento de EXC 200, Formato de Mantenimiento de Analizador de Hematología, Formato de Mantenimiento de Gabinetes de Bioseguridad, Formato de Mantenimiento de Equipo de Uroanálisis, Formato de Mantenimiento de Microscopio.

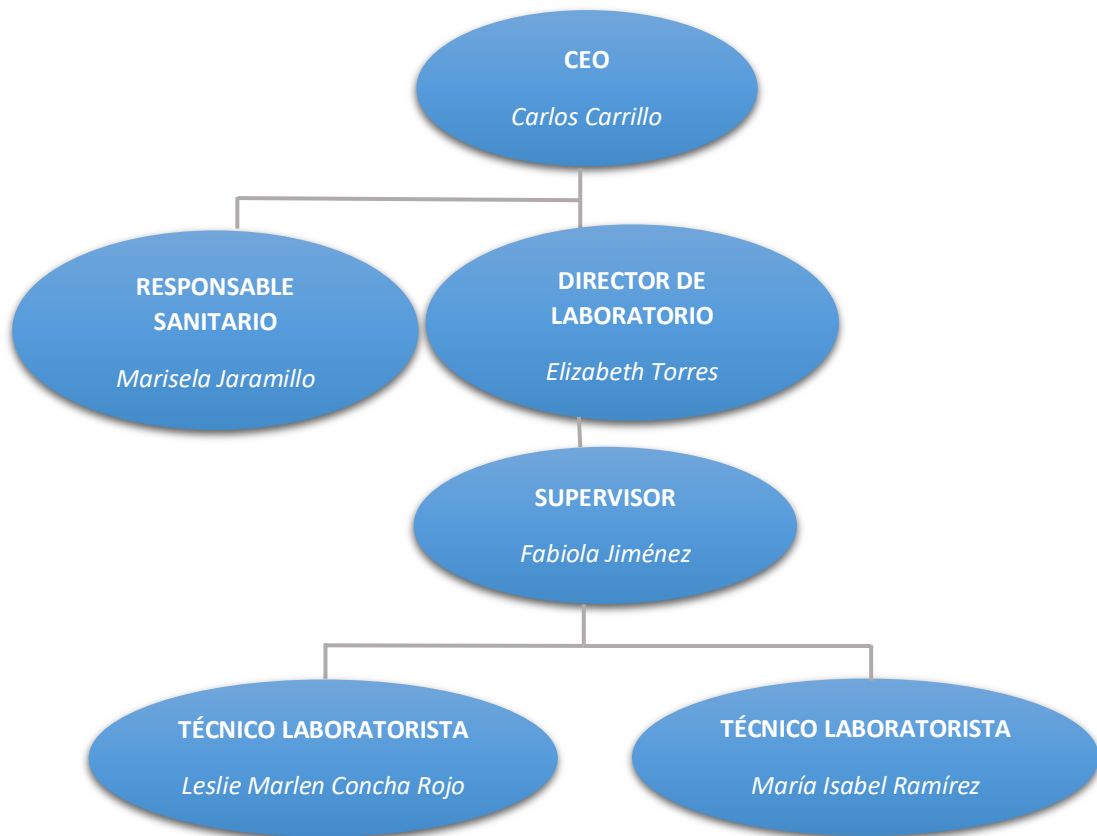
Se realizó el registro e inventario de todos y cada uno de los equipos, mobiliario, materiales e insumos con el fin de gestionar adecuadamente sus mantenimientos, calibraciones (en caso de aplicar), caducidades y suministro adecuado.

Toda esta implementación fue importante para mejorar o asegurar la efectividad del sistema, aplicándose a todos los sectores de la organización involucrados en la calidad, de tal forma que los beneficios de la minimización del riesgo eviten de manera directa la ocurrencia de desviaciones que a menudo resultan incomprensibles, pero ocurren ocasionando múltiples problemas.

Cabe mencionar que todo esto se llevó de la mano bajo la supervisión y revisión de nuestra responsable sanitario, con el fin de asegurar la calidad de manera conjunta del sistema de gestión de calidad, reducir los riesgos en las condiciones del material garantizando los mismos, cumplir con las regulaciones sanitarias vigentes, cumplir con los objetivos fijados por la empresa, estar siempre actualizados, contar con personal capacitado y comprometido hacia la salud, ser competitivo frente a otras empresas del mismo sector y lograr una mejoría constante, productiva y en constante crecimiento.

Administración de recursos

En el laboratorio, todos tienen organizada una función y desempeño dentro y fuera de este en las que se debe contar con una estructura jerárquica con reglas en las que se dispongan y coordinen los diferentes recursos, ya sean materiales financieros o humanos, teniendo como objetivo producir bienes. Por ello, el organigrama específico de laboratorio es de la siguiente manera:



Dentro de las funciones están, el registro e inventario de todo el material considerado como insumos, reactivos, equipos del laboratorio para los cuales también existe un registro en físico y digital de todo, mismo que realicé en mi incorporación a la empresa.

Aunado a esto existe la parte de administración del personal, donde se realiza la función de Recursos Humanos específicamente para mi área, en la que se dan capacitaciones constantes entre el personal, al mismo tiempo evaluaciones tanto prácticas y escritas, estas últimas son supervisadas a su vez por una doctora externa a la empresa que me asesora en el área.

Cálculo de costos

En el ámbito relacionado con el costeo de laboratorio, se desarrolló el área de contabilidad que, de la mano con nuestros análisis, pudo analizar precios, costos y llevar a cabo mejores finanzas para obtener una ganancia real de las pruebas empleadas en las instalaciones, sin

lucrar con la sociedad y dar un precio accesible a nuestros clientes. Ante todo esto se analizan diversos puntos:

- Fijar precios, la cual no es posible sin conocer costes unitarios.
- Detectar pruebas de coste excesivamente alto para el valor del mercado.
- Identificar Secciones eficientes e ineficientes dentro del Laboratorio.
- Evaluar posteriormente decisiones sobre cambio de tecnología o modificaciones de protocolos de petición a nivel de costos.

Con objeto de mejorar la gestión de la empresa, se decidió tener en cuenta básicamente los costes generados por el propio laboratorio, por ser aquellos que puedo gestionar y sobre los que incido. Se manejaron dos partes: costos directos e indirectos, entre los que distinguimos directos a los propiamente generados por el laboratorio como son la contratación del personal, reactivos, consumibles, tecnología y equipos empleados, reparación y mantenimiento propio, recolección de RPBI, cursos, capacitaciones e insumos; y como costos indirectos se consideraron gastos como el pago de luz, agua e internet.

Con el análisis de estos costes se pudo realizar el desglose de los gastos generados de forma mensual y poder definir de forma eficiente los montos a gastar para las requisiciones de laboratorio y fijar costos reales de las pruebas que se emplean en la empresa.

Gestión de proveedores

En cuanto a la selección de proveedores nos guiamos bajo la Norma ISO 9001:2015 en la que se determinan y aplican criterios de evaluación, supervisión del rendimiento y reevaluación de aquellos que son externos en función de su capacidad para proporcionar procesos o productos y servicios de acuerdo a las necesidades. Se debe realizar un análisis a fondo debido a que ellos generan diversos impactos en la organización ya que el producto o servicios prestados, puede involucrar un alto componente de procesos externalizados, que tienen una influencia directa en la calidad del servicio brindado.

De manera general a los proveedores se les solicita toda la documentación requerida que nos garantice una buena práctica de sus actividades como pueden ser datos de registro, permiso de operaciones, de forma que se compruebe que se trabaja con aquellos organismos certificados en normas de Sistemas de Gestión y Calidad y así evitar sanciones laborales que puedan generar un impacto negativo de la empresa.

Administración de talento

La importancia de seleccionar al personal con las aptitudes y habilidades correctas para cubrir las necesidades del laboratorio son esenciales para mi puesto de trabajo, ya que se llevan a cabo no solo entrevistas teóricas sino también de forma práctica para poder observar a detalle las capacidades de cada personal.

El proceso de evaluación consta de tres fases: la primera corresponde a la entrevista verbal del posible candidato en las oficinas de la empresa. Posterior a ello se cita más adelante al candidato a realizar una serie de pruebas teórico-prácticas con el fin de corroborar la primera fase. Para finalizar se da un periodo de prueba de tres meses para ver el desarrollo, la evolución de los candidatos al puesto y poder avanzar a la parte de la contratación.

Asesoría a clientes y pacientes

Dentro de las tareas asignadas es dar una asesoría adecuada a pacientes y clientes que en su momento lo requieran, de forma ética y profesional sin dejar a un lado que nuestro servicio es únicamente de referencia y no como diagnóstico. Para esto tenemos activas las líneas las 24 horas los 7 días de la semana durante los 365 días del año, mismas que se atienden por personal de atención a clientes como primera instancia y posteriormente me canalizan las necesidades de cada uno de ellos. Sin embargo, de la misma forma se da una orientación de interpretación de resultados a los médicos que así lo soliciten para dar un diagnóstico más certero y tener una visión más general del panorama de alguna enfermedad.

Revisión de resultados

Para la revisión y publicación de resultados, aunque manejamos softwares de interpretación, nosotros procedemos de forma manual para poder interpretar de ambas formas un resultado y no dejar a la deriva posibles falsas interpretaciones que pudieran dar lugar a falsos positivos o negativos de cualquier procedimiento a interpretar. Todo resultado antes de ser publicado se revisa con el historial clínico del paciente que previamente se entrega con el fin de estudiar más a fondo el caso y lograr comprender el origen de lo que se obtiene como prediagnóstico.

Estandarización de protocolos

Desde mi ingreso al laboratorio trabajé con la estandarización de protocolos empleados en el mismo, los cuales son: pruebas virales respiratorias, SARS-CoV-2, Influenza A y B, tamizaje de influencias, virus sincitiales, detección bacteriana de *Bordetella parapertussis* (BPP), *Bordetella pertussis* (BP), *Chlamydomphila pneumoniae* (CP), *Haemophilus influenzae* (HI), *Legionella pneumophila* (LP), *Mycoplasma pneumoniae* (MP), *Streptococcus pneumoniae* (SP), Virus del papiloma humano (VPH) con la detección de 28 genotipos (19 de alto riesgo y 9 de bajo) y enfermedades de transmisión sexual (ETS) descritos anteriormente.

7. Visión

Actualmente mi meta en laboratorio es crecer en el área y seguir poniendo en práctica todo lo aprendido durante mi formación académica en combinación con la experiencia profesional y personal que estoy forjando en esta empresa. Tengo el compromiso de seguir guiando a las personas directa e indirectamente con el fin de conseguir que estén capacitadas en el área, comprometidas con una sociedad de la que todos somos partícipes, con el fin de lograr una empatía y diagnóstico de calidad.

Como meta a corto y mediano plazo otro de mis propósitos en esta empresa es lograr una próxima certificación del laboratorio y de este modo, posicionarnos como uno de los mejores en el ámbito de la biología molecular

Sin duda alguna hemos observado que en general, México necesita más programas, planes y estrategias para mantener una adecuada vigilancia epidemiológica. Entre ellas ha destacado la disciplina molecular que hoy en día a dado un paso bastante grande para afrontar enfermedades de todo tipo, respiratorias y de transmisión sexual. Hoy en día estamos a escaso tiempo de poder gestionar de manera diferente futuras pandemias con el fin de mitigar efectos a nivel de salud, sociedad, economía, educación y cultura.

Se considera preciso crear redes nacionales de laboratorios públicos y privados que mediante técnicas de biología molecular puedan hacer tanto diagnóstico clínico y vigilancia epidemiológica, razón por la cual nuestro objetivo como laboratorio se vuelve apoyar desde este punto a la población de todo tipo, incluso subiendo a la red de epidemiología la información obtenida en tiempo real.

Abordar factores con esquemas más completos de vacunación también serán de gran ayuda para el futuro de salud de nuestro país. Aunque esta situación se ha agravado en los últimos años debido a crecimiento de movimientos antivacunas, entre otros, concientizar a la población con programas masivos de educación y divulgación para la salud, permitirán que la población esté mejor informada sobre estos temas. La empresa busca crecer en el sentido de la aplicación de vacunas para lograr atacar por este lado los patógenos ya existentes y los que están por venir en las nuevas épocas de pandemia.

Es importante mantenernos alerta, cada uno de nosotros estamos en la posibilidad de evitar que futuras enfermedades progresen, asimismo, sus consecuencias. Si bien, estamos mejor preparados para recibir lo que está por venir, aún queda mucho terreno por explorar en el sentido científico, pero estamos trabajando constantemente para mejorar este aspecto y contribuir de una manera más concreta a la población y al país.

8. Referencias bibliográficas

- Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Freeman, C., Galichet, L., Cogliano, V. (2009). WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens. Part B: biological agents. *Lancet. Oncol.* 10(4):321–322.
- Burd, EM. (2003). Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin. Microbiol. Rev.* 16(1):1-17.
- Campuzano-Maya, G., Arbeláez-Gómez, M. (2006). Uroanálisis: más que un examen de rutina. *Med. Lab.* 12:511-556.
- Casanova, E. A., Fuster, E. B., Lorca, S. J., Labrandero, H. C., Peñuelas, L. R., Gimeno, C. C., Pérez, F. A., Hernández, B. P. (2023). Epidemiologic Profile of the Main Bacterial Sexually Transmitted Infections During the SARS-CoV-2 Pandemic. *Act. Derm.* 114 (2): 108-113.
- Chun, J. Y. (2014). [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin 1: 1-4.
- Co-diagnostics INC. (2020). Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2). Manual de Usuario.
- Collection, Specimen (2021). *Covid-19 Centers for Disease Control and Prevention.* www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV-) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance.* 25:3.
- Cruz, V. A., Palacio, M. L., Quezada, S. A., Hernandez, A. J., Galicia, C. T., Cetina, P. L., Arango, B. E., Isla, O. D., Aranda, F. C., Uscanga, S. S., Madrid, M. V., Poveda, T. K. (2023). Cervical cancer prevention program in Mexico disrupted due to COVID-19 pandemic: Challenges and opportunities. *Front. Oncol.* 9:13.
- Dundass, N., Leos, N. K., Mitui, M., Revell, P., Rogers, B. B. (2008). Comparison of automated nucleic acid extraction methods with manual extraction. *J. Mol. Diagn.* 10:311-316.
- Essentials of Real-Time PCR. *Applied Biosystems.* www.thermofisher.com
- Farfán, B. M. J. (2015). Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. *Revista Médica Clínica Las Condes,* 26(6), 788-793.

- Huerta, M. L. (2022). ¿Por qué hay un repunte de las enfermedades de transmisión sexual? UNAM Global Revista. https://unamglobal.unam.mx/global_revista/por-que-hay-un-repunte-de-las-enfermedades-de-transmision-sexual/
- Lee, D. H. (2012). The science and business of molecular diagnostics. Seegene Bulletin Volumen 1.
- Hsieh, K., Mage, L. P., Cordas, A. T., Eisenstein, M., Soh, H. T. (2014). Simultaneous elimination of carryover contamination and detection of DNA with uracil-DNA-glycosylase-supplemented loop-mediated isothermal amplification (UDG-LAMP). *Chem Commun.* 11;50 (28): 3747-9.
- Kleines, M., Schellenberg, K., Ritter, K. (2003). Efficient extraction of viral DNA and viral RNA by the Chemagic viral DNA/RNA kit allows sensitive detection of citomegalovirus, hepatitis B virus, and hepatitis G virus by PCR. *J Clin Microbiol.* 41:5273-5276.
- Malik, Y. S., Sircar, S., Bhat, S., Sharun, K., Dhama, K., Dadar, M., Tiwari, R., Chaicumpa, W. (2020). Emerging novel coronavirus (2019-nCoV)- current scenario, evolutionary perspective based on genoma análisis and recent developments. *Veterinary Quaterly.* 40:1 68-76.
- Martínez, B. (2020). Protocolo de bioseguridad y biocustodia para el manejo de pacientes durante la toma de muestras de casos probables por enfermedad por 2019-nCoV. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
- Mathuria, J. P., Yadav, R., Rajkumar, C. (2020). Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 – A review of current methods. *J. Infect Public Health.* 13:901-905.
- Meehan, P. J., Potts, J. (2020). CDC, Centers for Disease Control and Prevention. *BMBL.* 6, Atlanta: s.n., 06.
- Medel, P. C., Rodríguez, N.A., Jimenez, B. G. R., Martínez, R. R. R. (2020). México ante el Covid 19: Acciones y retos.
- Medrano, G. R. Epidemiología del cancer cervicouterino. El Herald de México. <https://www.gob.mx/imss/articulos/epidemiologia-del-cancer-cervicouterino?idiom=es#:~:text=En%20M%C3%A9xico%2C%20para%202020%20e,l,y%204%20mil%20335%20muertes.>

- Naegele, K., Weissbach, F. H., Leuzinger, K., Gosert, R., Bubendorf, L., Hirsch H. H. (2023). Impact of nucleic acid extraction procedures on human papillomavirus (HPV) detection and genotyping. *J Med Virol.* 1-9.
- Nemiliz Diagnostics <https://www.nemiliz-diagnostics.com/>
- NOM-005-STPS-1998. (1998). Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.
- NOM-007-SSA3-2011. (2011). Norma Oficial Mexicana Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- NOM-017-SSA2-2012. (2012). Norma Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica.
- NOM-051-SCT2/2003. (2005). Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCT2/2003, Especificaciones especiales y adicionales para los envases y embalajes de las sustancias peligrosas de la división 6.2 agentes infecciosos.
- NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. (2002). Manejo Integral de los RPBI. 2022.
- Organización Mundial de la Salud. (11 de diciembre de 2018). Un reporte sobre la salud. Recuperado de: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=14873:sti-human-papilloma-virus-hpv&Itemid=3670&lang=es#gsc.tab=0
- Organización Mundial de la Salud. (10 de julio de 2023) Infecciones de transmisión sexual. Recuperado de: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)?gclid=CjwKCAjw38SoBhB6EiwA8EQVLvs4uMlyl - aeG904C2q30YwPNAQpHznzEDXGzFZi-m1nspCBFlhoCjvoQAvD_BwE](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)?gclid=CjwKCAjw38SoBhB6EiwA8EQVLvs4uMlyl - aeG904C2q30YwPNAQpHznzEDXGzFZi-m1nspCBFlhoCjvoQAvD_BwE)
- Poritz, M. A., Ririe, K. M. (2014). Getting things backwards to prevent primer dimers. *J Mol Diagn.* 16(2): 159-162.
- Punt, J., Stranford, S. A., Jones, P. P. Owen, J. A. Kuby, J. (2020). Inmunología. Octava edición. Editorial Mc Graw Hill.
- Sánchez, T. M., González, P. E., Sepúlveda, J., Abascal, M. L., Fieldhouse, J., Del Río, C., Gallalee, S. (2021). La respuesta de México al COVID-19: Estudio de caso. *Institute For Global Health Sciences.*

- Sattergiel, B. C. (2014). Cooperative primers: 2.5 million-fold improvement in the reduction of nonspecific amplification. *J Mol Diagn.* 16(2): 163-173.
- Seegene. ANYPLEX™ II Detección de HPV28.
- Seegene. ANYPLEX™ II. STI-7 Detection (V1. 1).
- Sethuraman, N., Jeremiah, A., Ryo A. (2020). Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* www.jamanetwork.com
- Störmer, M., Kleesiek, K., Dreier, J. (2007). High-volume Extraction of Nucleic Acids by Magnetic Bead Technology for Ultrasensitive Detection of Bacteria in Blood Components. *Clin. Chem.* 53:104-110.
- Tang, Y. J., Zou, J., Ma, C., Ali, M., Li, Z., Li, X., Ma, N., Mou, X., Deng, Y., Zhang, L., Li, K., Lu, G., Yang, H., He, N. (2013). Highly sensitive and rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* based on magnetic enrichment and magnetic separation. *Theranostics.* 3(2):85-92.
- Velázquez, L. P. A., Martínez, A. MC., Romero, C. A. (2014). Extracción y purificación de ADN. 1-14.
- Wiggins, C. J., Rosen, T. (2020). Sexually Transmitted Diseases in the COVID-19 Era. 1;18(4):210-212.
- Zybio. (2020). Kit de detección de ácido nucleico de SARS-CoV-1 (Método de sonda fluorescente de PCR). <https://dikysa.com.mx/producto/sars-cov-2-nucleic-acid-detection-kit-zybio/>
- Zybio. (2022). Nucleic Acid Extraction Kit (Magnetic Bead Method). <https://dikysa.com.mx/producto/viral-nucleic-acid-kit-zybio/>