

Detección de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en mujeres entre 18 a 50 años del Centro de Salud Básico de Wichub Huala en Guna Yala, en los meses de junio a octubre del año 2019

Detection of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women between 18 and 50 years of age from the Wichub Huala Basic Health Center in Guna Yala, from June to October 2019

Yanilka M. Iglesias¹, Yulianna I. Ramos², Norayda L. Gonzalez³, Carmen I. Espino⁴, Nora de Moreno⁵

¹Universidad de Panamá, Facultad de Medicina, Panamá; yiglesias22.yi@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1284-9701>

²Universidad de Panamá, Facultad de Medicina, Panamá; yulianna123@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6243-5876>

³Universidad de La Habana, Escuela Latinoamericana de Medicina, Cuba; noraydag@yahoo.es; <https://orcid.org/0009-0003-5367-7875>

⁴Universidad de Panamá, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología Humana, Panamá; ciespino75@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0002-9046-4081>

⁵Universidad de Panamá, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología Humana, Panamá; nortizmor@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6619-5494>

DOI: <https://doi.org/10.48204/j.vian.v7n1.a3924>

Fecha de recepción: 22 de marzo de 2023

Fecha de aceptación: 10 de mayo de 2023

Resumen: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* colonizan, principalmente, el tracto genital y se han asociado a diversas enfermedades como: endometritis, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas, muerte fetal, entre otras. Este estudio descriptivo de corte transversal tuvo como objetivo la detección de *C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum* en muestras endocervicales de mujeres entre 18 a 50 años atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala de Guna Yala. Este centro también recibe pacientes de áreas aledañas de las islas de Nalunega, Corbisky y Mamitupu. Para la detección, se utilizaron los métodos de cultivo en Agar A8 y caldo B10, y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). A las participantes se les aplicó una encuesta para obtener información sobre factores de riesgo asociados a estas infecciones. Como resultado, se obtuvo un 10% de casos positivos distribuidos de la siguiente manera: 6% de *U. urealyticum*, 2% de *M. hominis* y 2% de *C. trachomatis*. Entre los casos positivos se observó que ninguna utilizaba métodos anticonceptivos de barrera, tienen bajo nivel de escolaridad, iniciaron su vida sexual a temprana edad y se encuentran entre los 30 y 45 años de edad.

Palabras Clave: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, muestra endocervical.

Abstract: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* mainly colonize the genital tract and have been associated with various diseases, such as endometritis, chorioamnionitis, premature rupture of membranes, fetal death, among others. This descriptive cross-sectional study aimed to detect *C. trachomatis*, *M. hominis* and *U. urealyticum* in endocervical samples from women between 18 and 50 years of age, attended at the Wichub Huala Basic Health Center in Guna Yala. This center also receives

patients from the surrounding areas of the islands of Nalunega, Corbisky, and Mamitupu. For detection, the methods of culture in Agar A8 and B10 broth, and polymerase chain reaction (PCR) were used. A survey was applied to the participants to obtain information on risk factors associated with these infections. As a result, 10% positive cases were obtained, distributed as follows: 6% for *U. urealyticum*, 2% for *M. hominis*, and 2% for *C. trachomatis*. Among the positive cases, it was observed that none used barrier contraceptive methods, had a low level of education, began their sexual life at an early age, and were between 30 and 45 years of age.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, endocervical swab.

1. Introducción

Chlamydia trachomatis, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* colonizan, principalmente, el tracto genital y se han asociado con endometritis, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas, muerte fetal, parto prematuro, bajo peso al nacer, infecciones posparto y esterilidad. La más preocupante es la relación entre *U. urealyticum* y las infecciones del sistema nervioso central (SNC) en los niños prematuros (Capoccia et al., 2013).

En general, se adquieren por contacto sexual y es posible contraer las mismas, de personas que parecen sanas y que, probablemente desconozcan que tienen la infección. Las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) no siempre presentan síntomas; por esta razón, los expertos prefieren este término, en vez de enfermedades de transmisión sexual. Las graves complicaciones de las infecciones asociadas con estos microorganismos han llevado a un aumento en la demanda de su identificación en laboratorio, lo cual no se hace con la frecuencia que se requiere (Martínez, 2001).

C. trachomatis, *M. hominis* y *U. urealyticum* son algunas de las causas más importantes de trastornos reproductivos en los últimos años (López-Ávila et al., 2014). En Panamá, la población también se ve afectada por estas infecciones; sin embargo, no se cuenta con suficientes datos estadísticos, sobre todo de aquellas zonas donde las tradiciones tienen una fuerte influencia en el comportamiento y los controles de salud no son frecuentes. Pues bien, algunas de estas ITS son fáciles de erradicar con antibióticos de uso frecuente y son prevenibles con educación sexual y promoción del sexo seguro. El médico tratante puede sospechar la causa de la infección pero, difícilmente, se confirma en los laboratorios clínicos; sobre todo cuando nos referimos a *C. trachomatis*, *M.hominis* y *U.urealyticum*.

2. Materiales y métodos

La investigación se realizó con la participación de 50 mujeres entre 18 a 50 años en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala de Guna Yala. Fue de tipo descriptivo de corte transversal. Todas las muestras estaban acompañadas de un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Santander el 19 de junio de 2019 (protocolo con N° de Registro 1049). A cada paciente se le explicó los detalles de la investigación y el compromiso de las investigadoras de mantener la confidencialidad.

A las mujeres incluidas en el estudio se les aplicó una encuesta, que permitió recolectar información necesaria para el análisis de los resultados. Esta contemplaba aspectos como: la edad, isla de la que provenían, último año de escolaridad cursado, edad de inicio de vida sexual, presencia de síntomas, si tenían antecedentes de aborto, alguna ITS y si utilizaban algún método anticonceptivo.

La muestra tomada fue endocervical utilizando tres hisopos; uno para hacer un frotis y teñirlo con Gram, el segundo para los cultivos en agar A8 y Caldo B10 y el tercero para extracción de ADN.

▪ **Tinción de Gram**

Técnica de laboratorio empleada para la observación y cuantificación de los morfotipos bacterianos según los criterios de Nugent. Los criterios de Nugent clasifican la microbiota vaginal en normal, intermedia y vaginosis bacteriana (disbiosis) cuantificando los distintos morfotipos (Navarrete et al., 2000). Para el diagnóstico de Vaginosis bacteriana se cuantifican los *Lactobacillus spp.* (bacilos Gram positivos), *Mobiluncus spp.* (bacilos curvos Gram negativos) y *Gardnerella vaginalis* (bacilos Gram variables) (Medina et al., 1999). Según el puntaje se clasifica: de 0-3 de Nugent es el resultado de una microbiota normal, de 4-6 una condición intermedia y de 7-10 vaginosis bacteriana (figura 7).

▪ **Cultivo en agar A8 y caldo B10**

La identificación de estos microorganismos en el laboratorio requiere de caldos y cultivos especiales debido a sus características microbiológicas particulares (Reyna et al.,

2009). El agar A8 y el caldo B10 fueron los medios enriquecidos, selectivos y nutritivos que empleamos para la detección y aislamiento de los *U. urealyticum* y *M. hominis*. En el agar, luego de sembrar la muestra e incubar a 35°C por 48 horas, se observa en el microscopio colonias incoloras semejantes a “huevo fritos” que describen a *M. hominis* y *U. urealyticum* con colonias de color marrón oscuro similar a un “erizo de mar” (figura 8). El caldo B10 es de color amarillo con pH ácido de 5.5, y en caso de la presencia de estos microorganismos en la muestra, el medio se torna alcalino observándose de color rosa (Castellano-González et al., 2007).

- **Extracción de ADN y PCR**

El tercer hisopo congelado a -20°C fue empleado para la extracción del ADN. La extracción se realizó siguiendo las instrucciones específicas del reactivo de QIAGEN DNeasy tissue kit, cat. No. 69506, CA, USA para, posteriormente, amplificar los fragmentos de ADN obtenidos. La amplificación se realizó bajo las siguientes condiciones: para *C. trachomatis* utilizamos los cebadores 3'TCC GGA GCG AGT TAC GAA GA 5' y 5'AAT CAA TGC CCG GGA TTG GT 3' con la desnaturalización de 1 minuto a 94°C y, posteriormente, el anidamiento con 35 ciclos de 1 minuto a 93°C, 1 minuto a 54°C y 32 segundos a 72 °C con una elongación de 5 minutos a 72°C.

Para *M. hominis* utilizamos los cebadores 3'GGT ACC GTC AGT CTG CAA T 5' y 5'CAA TGG CTA ATG CCG GAT ACG C 3' desnaturalización de 4 minuto a 95°C y, posteriormente, el anidamiento con 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 55°C y 1 minuto a 72 °C con una elongación de 5 minutos a 72°C.

Para *U. urealyticum* los cebadores fueron 3'TCC GGA GCG AGT TAC GAA GA 5' 5'AAT CAA TGC CCG GGA TTG GT 3' con la desnaturalización de 4 minuto a 94°C y, posteriormente, el anidamiento con 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 1 minuto a 53°C y 30 segundos a 72 °C con una elongación de 10 minutos a 72°C.

En todas las PCR se incluyeron controles positivos y negativos para cada una de las bacterias (Rojas, 2016).

Los productos amplificados se observaron en un gel de agarosa. El fragmento de amplificación de 201 pb corresponde a *C. trachomatis*, el de 374 pb corresponde a *M. hominis*, el fragmento de 418 pb corresponde a *U. urealyticum*.

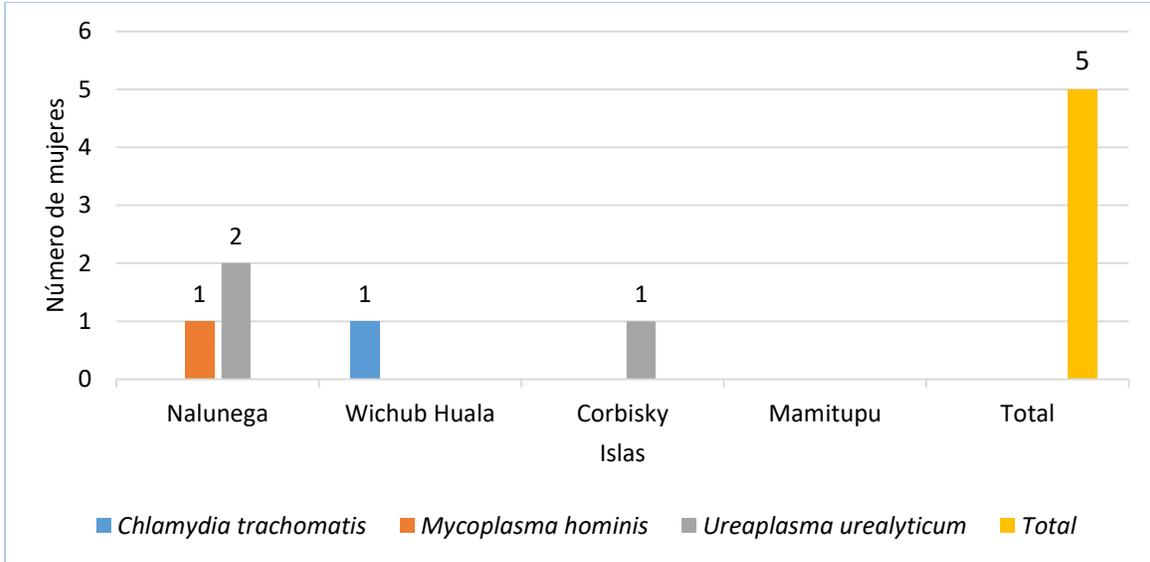
3. Resultados y discusión

De las 50 muestras analizadas, cinco (5) fueron positivas; una positiva por *C. trachomatis*, tres (3) por *U. urealyticum* y una (1) por *M. hominis*. La bacteria más detectada fue *U. urealyticum*. Debido a la poca accesibilidad a instalaciones para la atención de salud que hay en el área, en el centro de Salud Básico de Wichub Huala no, solamente, se atiende a mujeres de esa isla, sino que también se reciben pacientes de las islas más cercanas. De las 50 mujeres participantes 13 pertenecían a la Isla de Wichub Huala, 12 provenían de Corbisky, dos (2) de la Isla Mamitupu y 23 eran de Nalunega. La comunidad de la isla de Nalunega fue donde se presentaron más casos positivos (figura 1).

Los resultados obtenidos demuestran que los casos positivos fueron en mujeres mayores de 25 años que, solamente, cursaron la primera etapa de escolaridad o no tenían ningún tipo de educación y la primera experiencia sexual ocurrió cuando aún eran menores de edad (figura 2 y 4). Entre las mujeres que resultaron negativas algunas habían culminado sus estudios secundarios y otras estudiaban en la universidad. En cuanto a las edades de las mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala, los casos positivos fueron en mujeres mayores de 25 años (figura 3).

Figura 1

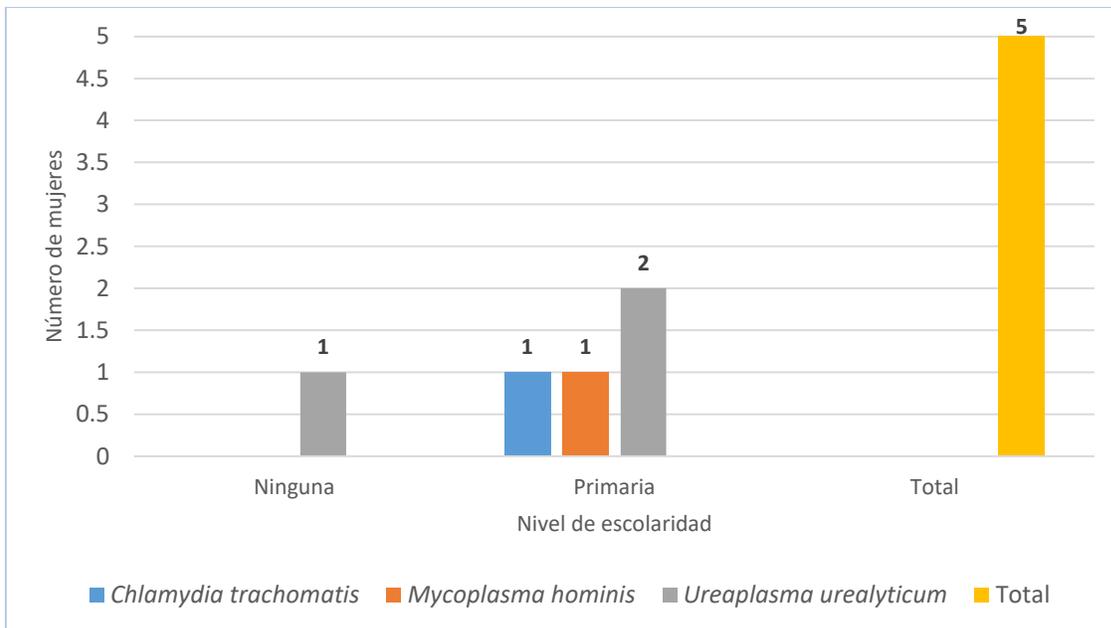
Número de mujeres positivas para C. trachomatis, M. hominis, y U. urealyticum según procedencia atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019



Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

Figura 2

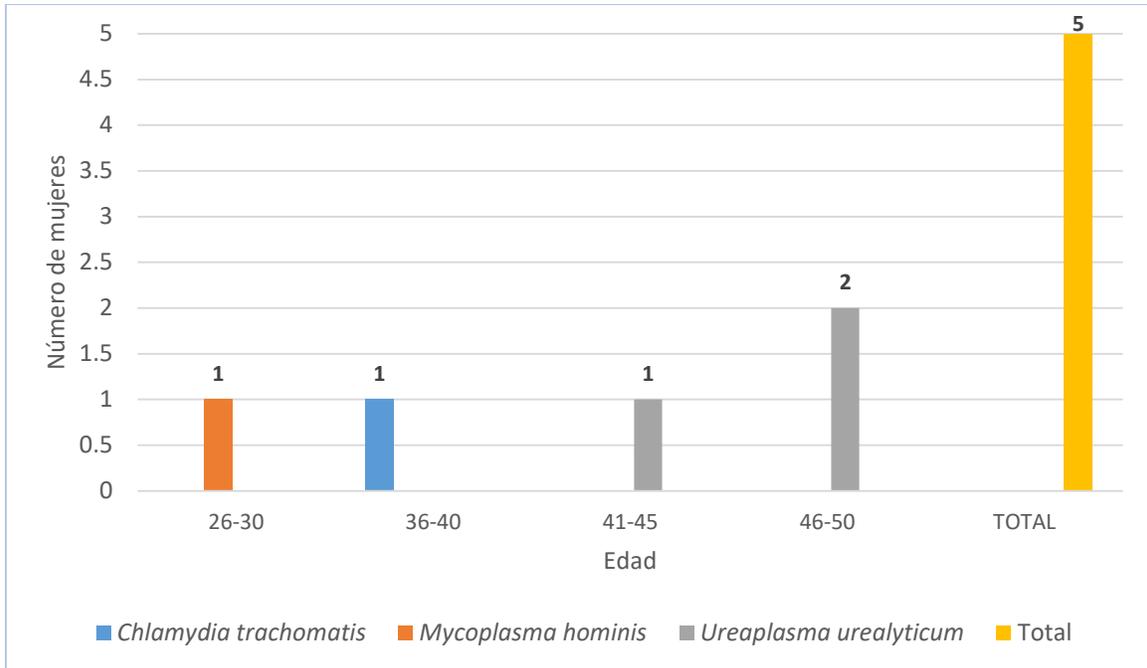
Infección por C. trachomatis, M. hominis, y U. urealyticum según el nivel de escolaridad en mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019



Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

Figura 3

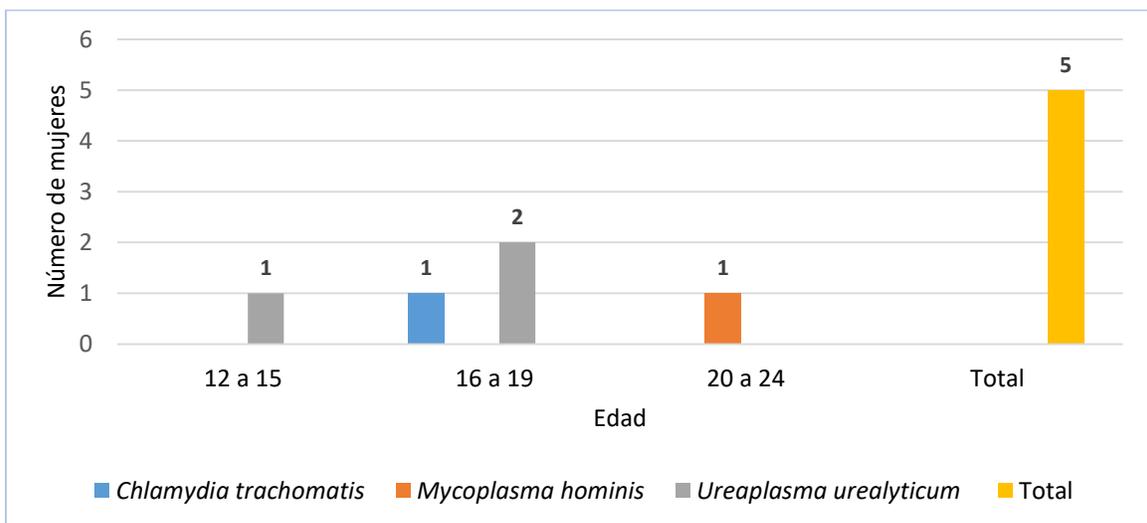
Infección por C. trachomatis, M. hominis. y U. urealyticum según rango de edad en mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019



Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

Figura 4

Infección de C. trachomatis, M. hominis. y U. urealyticum y el inicio de vida sexual en mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019

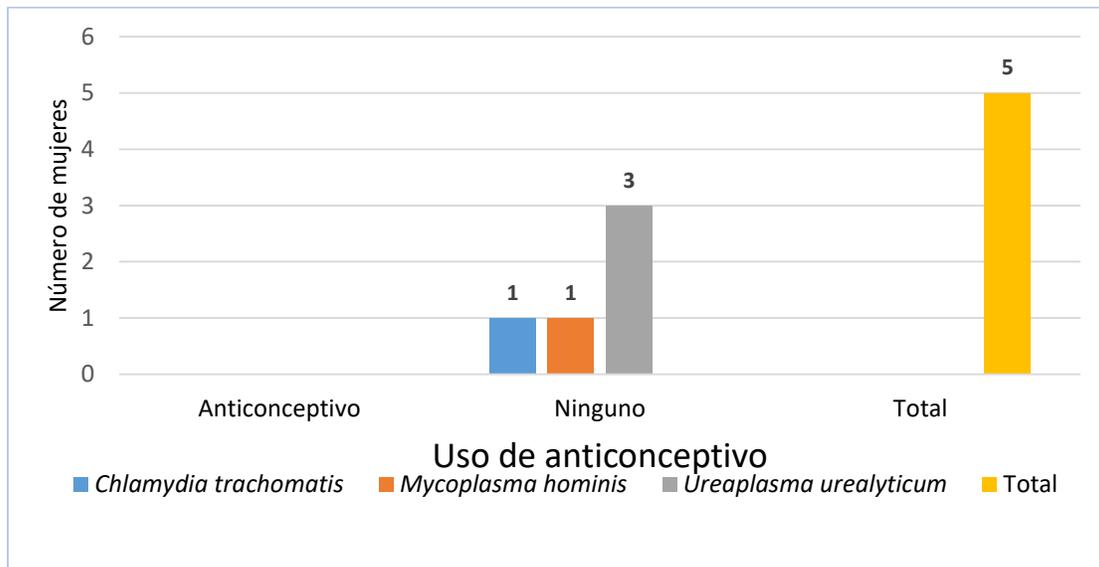


Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

En muchas mujeres Gunas, la primera experiencia sexual ocurre cuando aún son menores de edad. Está confirmado, que las personas que inician vida sexual a temprana edad tienen mayor riesgo de contraer alguna ITS. Esto coincide con estudios anteriores realizados por Gabster sobre la correlación de infecciones de transmisión sexual entre adolescentes que asisten a escuelas secundarias públicas de Panamá en 2015, en el cual se obtuvo resultados positivos para *C. trachomatis* de 21.7% en población adolescente entre edades de 14-18 años (Gabster et al., 2016). En nuestro estudio, la mayoría de las muestras que resultaron positivas pertenecían a participantes que iniciaron su vida sexual a temprana edad (figura 4).

Figura 5

Correlación de C. trachomatis, M. hominis, y U. urealyticum y el uso de métodos anticonceptivos en mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019



Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

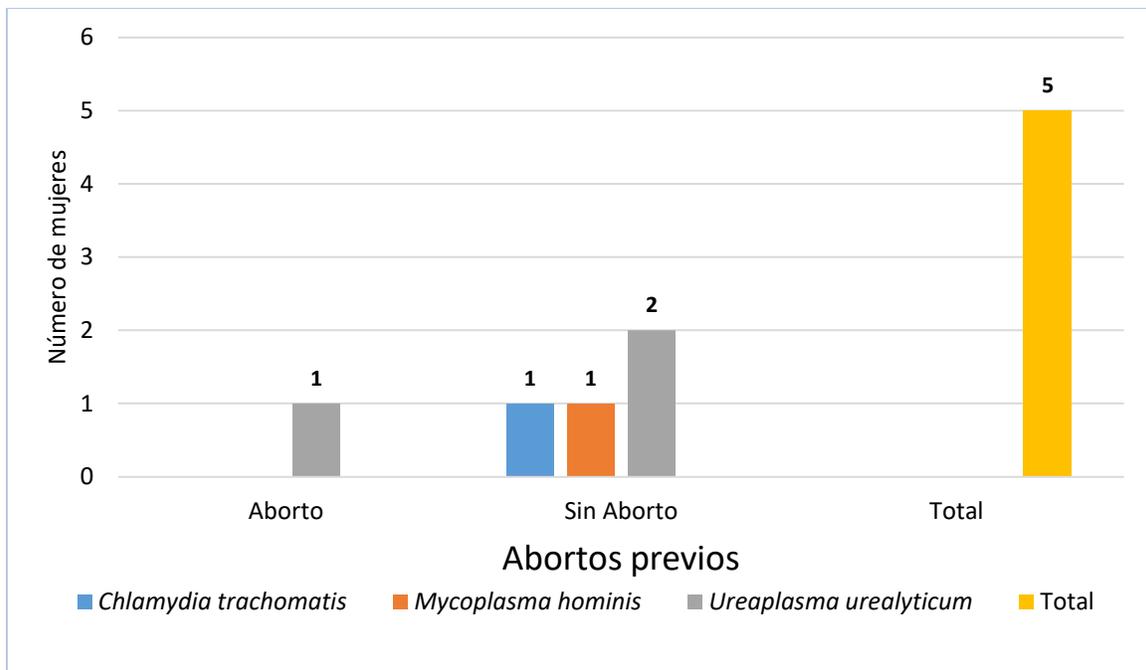
Las cinco (5) muestras positivas se encontraban en el grupo de participantes que no utilizaban anticonceptivos. De las siete (7) participantes que sí utilizaban métodos anticonceptivos de cualquier tipo, ninguna resultó positiva para *C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum*. Los métodos anticonceptivos de barrera, como el uso de preservativos, previenen el contagio de ITS. En nuestro estudio solo dos (2) participantes respondieron

que utilizan preservativos, con lo que queda demostrado que no es habitual el uso de estos en esta población.

Los abortos pueden estar asociados algunas veces a ITS. En este estudio, solo una participante con aborto previo presentó *U. urealyticum*, el resto de las muestras positivas no reportaron abortos (figura 6).

Figura 6

Correlación de la infección por C. trachomatis, M. hominis. y U. urealyticum y su distribución según la presencia de abortos previos en mujeres atendidas en el Centro de Salud Básico de Wichub Huala en los meses de junio a octubre del 2019



Fuente: Elaborada con base en datos obtenidos de la encuesta y resultados de las muestras procesadas.

Muchas ITS se pueden presentar sin síntomas clínicos evidentes, tal es el caso de *C. trachomatis*. Sin embargo, en la encuesta aplicada algunas participantes manifestaron síntomas tales como escozor, dolor de cintura, dolor o ardor al orinar y molestias durante el coito. De los casos positivos, cuatro reportaron alguno de los síntomas descritos y una de ellas positiva por *M. hominis* no reportó ningún síntoma (López-Ávila et al., 2014).

La vaginosis bacteriana, así como cervicitis ha sido asociada con flujo y secreción vaginal, enfermedad inflamatoria pélvica, infertilidad y efectos adversos en el embarazo.

Los criterios de Nugent son sencillos y de bajo costo para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, existen variaciones del mismo y en este estudio utilizamos el método descrito por (Medina et al., 1999). De las 50 participantes, 34 mujeres presentaron criterio de Nugent normal, seis (6) con Nugent intermedio y 10 con vaginosis bacteriana. De las cinco (5) pacientes que resultaron positivas, solo tres (3) tenían vaginosis bacteriana de las cuales dos resultaron positivas para *U. urealyticum* y una con *C. trachomatis*.

Estos resultados coinciden con un estudio realizado en Panamá, en adolescentes de 10 a 19 años del Centro de Atención Integral del Adolescente de Colón, en los meses de julio a septiembre del año 2018, donde hubo casos positivos que tuvieron un criterio de Nugent normal y las participantes no presentaron sintomatología y pacientes con vaginosis bacteriana que dieron resultados negativos (Cedeño et al., 2020). La vaginosis bacteriana y la cervicitis se asocian con flujo y secreción vaginal, en este sentido *M. hominis* y *U. urealyticum* podrían estar asociados a esta disbiosis (Fernández-Huerta et al., 2022).

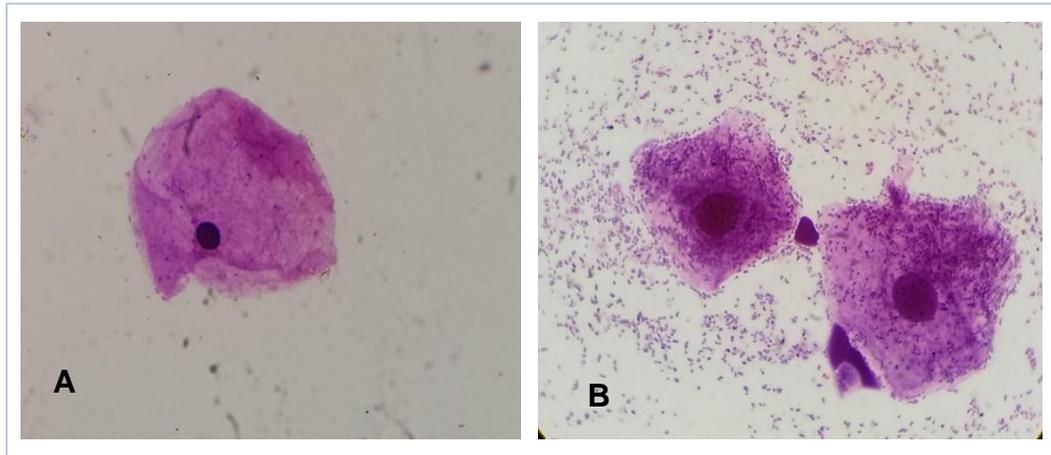
De 50 muestras hubo crecimiento en el medio A8 de 15 muestras. En este medio se observaron colonias con características compatibles con *M. hominis* en 13 de éstas, sin embargo esta morfología colonial coincide con la de otros Mycoplasmas que se pueden encontrar como comensales de la vagina, por lo que se confirmó posteriormente con PCR. Con características compatibles con las colonias de *U. urealyticum* hubo tres (3) que luego se confirmaron y coincidieron con el resultado de la PCR. Las colonias de Ureaplasma son diferentes ya que presentan una coloración marrón oscuro como se muestra en la Figura 8B. En cuanto al cultivo en caldo B10, 11 muestras resultaron positivas, pero hay otras especies de Ureaplasma que pueden crecer en este medio, por lo cual es importante la confirmación con métodos moleculares.

Estas mismas muestras fueron, posteriormente, confirmadas por PCR y obtuvimos un total de cinco (5) muestras que coincidieron con lo observado en el cultivo; tres (3) fueron positivas para *Ureaplasma urealyticum*; una (1) para *Mycoplasma hominis*; una (1) para *Chlamydia trachomatis* y 44 muestras resultaron negativas.

La técnica de PCR es más específica que el cultivo microbiológico convencional para muestras biológicas analizadas, inmediatamente, después de su recolección (Pinna et al., 2006).

Figura 7

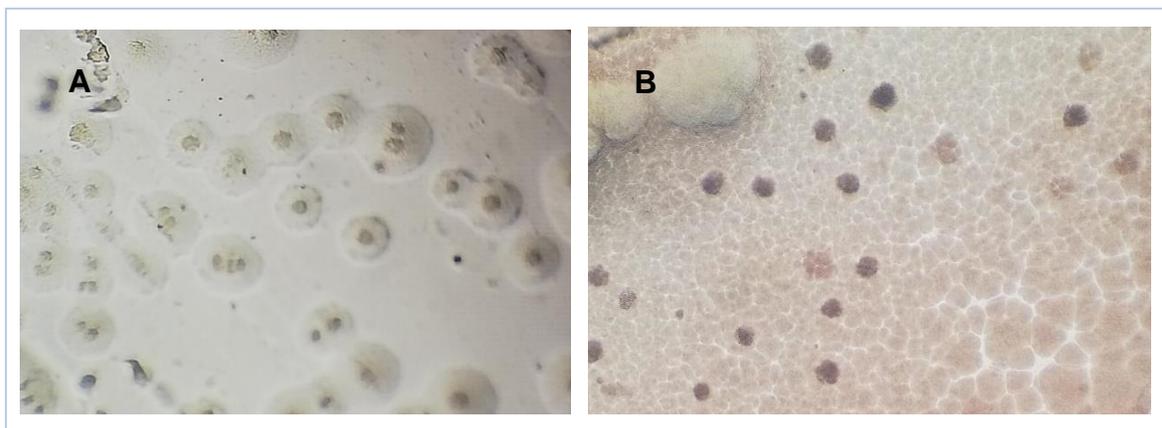
Frotis Gram de secreción vaginal normal y vaginosis bacteriana según el criterio de Nugent



Fuente: Fotografía tomada por los autores.
Observación al microscopio 1000x. (A) Frotis vaginal normal. (B) Vaginosis bacteriana según el criterio de Nugent.

Figura 8

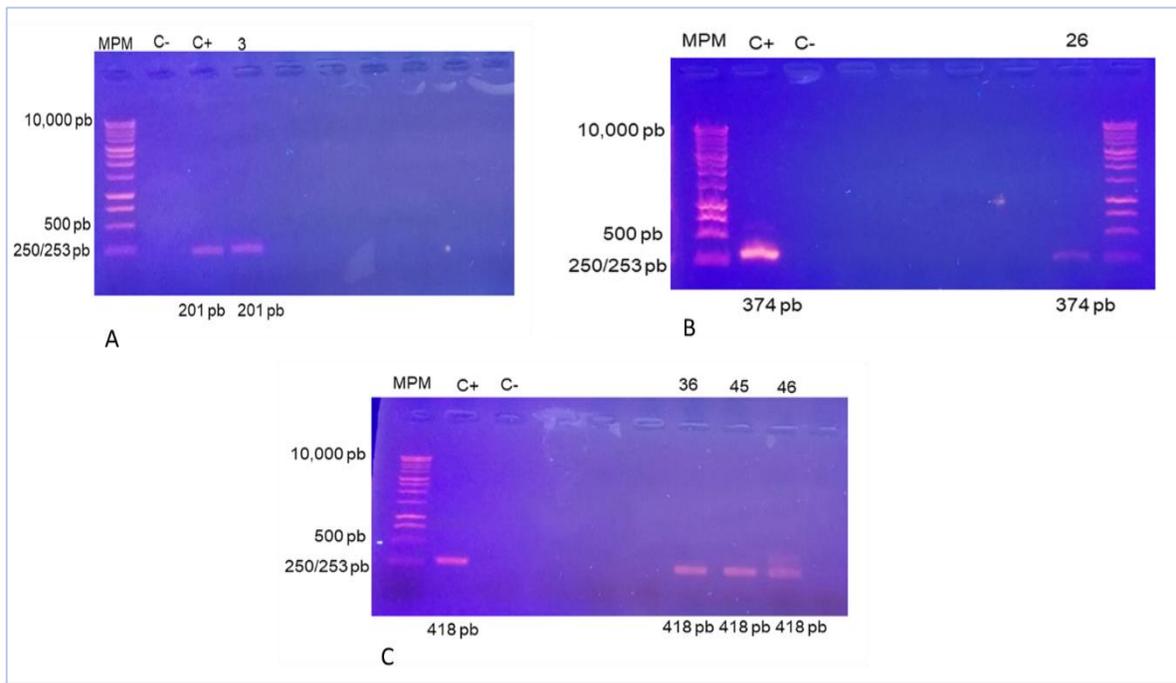
Cultivo en Agar A8 de C. trachomatis, M. hominis. y U. urealyticum en Agar A8



Fuente: Fotografía tomada por los autores.
(A) Se observa por microscopía en 4x colonias incoloras en forma de “huevo frito”.
(B) *Mycoplasma hominis* (B) en 10x de *U. urealyticum* colonias de color marrón oscuro con forma de “erizo de mar” típica en Agar A8.

Figura 9

Electroforesis en gel de agarosa de productos amplificados mediante PCR para C. trachomatis, M. hominis y U. urealyticum



Fuente: Fotografías tomadas por los autores.

- A. Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados para *C. trachomatis*. Posición 1 Marcador de Peso molecular, posición 2 control negativo, posición 3 control positivo, posición 4 muestra positiva 201pb.
- B. Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados para *M. hominis*. Posición 1, marcador de peso molecular, posición 2 control positivo, posición 3 control negativo, posición 6 muestra #36 positiva 374pb.
- C. Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados para *U. urealyticum*. Posición 1 marcador de peso molecular, posición 2 control positivo, posición 3 control negativo, posiciones 7, 8 y 9 muestras positivas 418pb.

Nuestros resultados tienen relevancia, ya que, en poblaciones apartadas, en donde la atención en centros de salud es escasa, no se cuenta con los recursos de diagnóstico para este tipo de ITS. Estos resultados nos afirman que la educación sexual es la base para la prevención de todas estas infecciones y que es importante el diagnóstico oportuno de las mismas.

4. Conclusiones

Se detectó *C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum* en el tracto genital de mujeres que acuden a el Centro de Salud de Wichub Huala en Guna Yala, donde el agente infeccioso con mayor presencia fue *U. urealyticum*. Los casos positivos se encontraban entre las edades de 25 a 45 años. Los principales factores asociados a estas infecciones involucran la ausencia de métodos de barrera, la falta de educación sexual y el nivel de escolaridad alcanzado.

Referencias bibliográficas

- Capoccia, R., Greub, G., y Baud, D. (2013). *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Infectious Diseases*, 26(3), 231–240. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328360db58>
- Castellano-González, M., Ginestre-Pérez, M., Perozo-Mena, A., Alaña, F., Fernández-Bravo, M. y Rincón-Villalobos, G. (2007). Colonización vaginal por micoplasmas genitales en mujeres embarazadas y no embarazadas. *Investigación clínica*, 48(4), 419–429. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332007000400003
- Cedeño, M., Marín, J., Espino, C. y de Moreno, N. (2020). Incidencia de *Chlamydia trachomatis* y micoplasmas genitales en adolescentes de 10 a 19 años del Centro de Atención Integral del Adolescente de Colón, en los meses de julio a septiembre del año 2018. *Visión Antataura*, 4(1), 25–35. <https://doi.org/10.48204/j.vian.v4n1a2>
- Fernández-Huerta, M., Pich, O., y Espasa, M. (2022). *Mycoplasma* y *Ureaplasma spp.* en la práctica clínica de las infecciones ano-genitales. *Revista española de quimioterapia :publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*, 35(3), 301–303. <https://doi.org/10.37201/req/005.2022>
- Gabster, A., Mohammed, D., Arteaga, G., Castellero, O., Mojica, N., Dyamond, J. y Pascale, J. (2016). Correlates of Sexually Transmitted Infections among Adolescents Attending Public High Schools, Panama, 2015. *PLOS ONE*, 11(9), e0163391. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163391>
- López-Ávila, K. B., Zavala-Castro, J., Arias-León, J. J., Puerto, F. I., y Dzul-Rosado, K. R. (2014). Infertilidad humana causada por *Mycoplasma spp.* *Revista Biomédica*, 25(2), 74–90. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=51064>

- Martínez T., M. A. (2001). Diagnóstico microbiológico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. *Revista Chilena de Infectología*, 18(4), 275–284. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182001000400006>
- Medina, R., Rechkemmer, A., y García-Hjarles, M. (1999). Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana en pacientes con flujo vaginal anormal en el Hospital Nacional arzobispo Loayza. *Revista Médica Herediana*, 10(4), 144–150. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X1999000400005
- Navarrete W, Paola, Domínguez Y, Mariana, Castro I, Erica, y Zemelman Z, Raúl. (2000). Evaluación de los criterios de Nugent y Amsel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Revista Médica de Chile*, 128(7), 767-771. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872000000700009>
- Pinna, G. S., Skevaki, C. L., y Kafetzis, D. A. (2006). The significance of *Ureaplasma urealyticum* as a pathogenic agent in the paediatric population. *Infectious Diseases*, 19(3), 283–289. <https://doi.org/10.1097/01.qco.0000224824.73223.e7>
- Reyna, F. J, Villeda, G. F, Ortiz, IFJ, Morales, M. I y Flores, M.S. (2009). Detección de micoplasmas genitales y su sensibilidad antimicrobiana mediante una prueba rápida en muestras clínicas de parejas mexicanas con infertilidad. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 29(2), 54-58. <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2009/ei092b.pdf>
- Rojas, A. C. (2016). *Extracción de ADN*. Bioquímica y biología molecular, Genética Genómica. <https://conogasi.org/articulos/extraccion-de-adn/>