



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), noviembre-diciembre 2024,
Volumen 8, Número 6.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6

**TÉCNICAS CONVENCIONALES Y MOLECULARES
EN LA IDENTIFICACIÓN DE HONGOS
MICROSCÓPICOS DE IMPORTANCIA MÉDICA.
REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**CONVENTIONAL AND MOLECULAR TECHNIQUES FOR
THE IDENTIFICATION OF MICROSCOPIC FUNGI OF
MEDICAL IMPORTANCE. A SYSTEMATIC REVIEW**

Maria del Sagrario Juárez Hernández
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

Candelario Rodríguez Pérez
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

Santa Dolores Carreño Ruiz
Universidad Autónoma de Chiapas, México

Luis Daniel Jiménez Martínez
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

Rosa Felicita Ortiz Ojeda
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15362

Técnicas Convencionales y Moleculares en la Identificación de Hongos Microscópicos de Importancia Médica. Revisión Sistemática

Maria del Sagrario Juárez Hernández¹
sagrariojuarezhernandez@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-8312-5743>
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Santa Dolores Carreño Ruiz
lasanta456@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5782-193X>
Universidad Autónoma de Chiapas
México

Rosa Felicita Ortiz Ojeda
rosaf_oo@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9137-7118>
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Candelario Rodríguez Pérez
potencia_riguez@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8233-0577>
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Luis Daniel Jiménez Martínez
luisd1984@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6304-5669>
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

RESUMEN

Esta revisión tuvo como objetivo analizar las diferentes técnicas en la identificación de hongos microscópicos con importancia médica. El estudio se llevó a cabo bajo la metodología PRISMA, lo que aseguró una búsqueda de artículos científicos de forma sistemática y exhaustiva. Los resultados muestran que los cultivos y las tinciones son métodos de identificación que se utilizan de primera instancia, pero presentan limitaciones como el tiempo y la precisión en el reporte lo cual es importante y más cuando se presenta en pacientes con estado crítico. Sin embargo, las técnicas moleculares en particular las PCR y sus variantes como tiempo real y multiplex permiten un diagnóstico más oportuno y certero debido a que son más precisos y sensibles, además de que acortan el tiempo de respuesta. Por otro lado, se encontró que la combinación de los métodos de identificación muestra resultados adecuados en el diagnóstico de enfermedades como la aspergilosis y la candidiasis dando mayor atención en el tratamiento. En conclusión, las herramientas moleculares deben incorporarse a los laboratorios clínicos para mejorar la eficacia en la identificación de infecciones por agentes fúngicos.

Palabras claves: hongos microscópicos, diagnósticos, técnicas moleculares, técnica convencional

¹ Autor principal.
Correspondencia: potencia_riguez@hotmail.com

Conventional and Molecular Techniques for the Identification of Microscopic Fungi of Medical Importance. A Systematic Review

ABSTRACT

This review aimed to analyze the different techniques for identifying microscopic fungi with medical importance. The study was carried out using the PRISMA methodology, which ensured a systematic and exhaustive search for scientific articles. The results show that cultures and stains are identification methods that are used as a first-line method, but they have limitations such as time and accuracy in reporting, which is important and even more so when it occurs in patients in critical condition. However, molecular techniques, particularly PCR and its variants such as real-time and multiplex, allow for a more timely and accurate diagnosis because they are more precise and sensitive, and also shorten the response time. On the other hand, it was found that the combination of identification methods shows adequate results in the diagnosis of diseases such as aspergillosis and candidiasis, giving greater attention to treatment. In conclusion, molecular tools should be incorporated into clinical laboratories to improve the effectiveness of identifying fungal infections.

Keywords: microscopic fungi, diagnostics, molecular techniques, conventional technique

Artículo recibido 28 noviembre 2024
Aceptado para publicación: 20 diciembre 2024



INTRODUCCIÓN

La identificación de hongos microscópicos es una base fundamental que cobra importancia en la micología médica, debido a que permite diagnosticar de manera precisa y oportuna las infecciones fúngicas y de esta manera establecer tratamientos efectivos (Jillwin et al., 2021). Las afecciones provocadas por los agentes fúngicos pueden ir variando de diferentes formas, ya sean superficiales como las infecciones de la piel y de mucosas así como aquellas infecciones invasivas, que provocan porcentajes de mortalidad que van de 40 % a 90 % en pacientes inmunocomprometidos (Sabino et al., 2020). Debido a que de forma global existe un aumento de infecciones por hongos microscópicos que se relacionan con diferentes enfermedades como el cáncer, la diabetes y la inmunosupresión asociada a trasplantes o tratamientos con quimioterapia, se hace crítico la necesidad de realizar un diagnóstico temprano y efectivo.

Históricamente los métodos fenotípicos tradicionales, se han considerado el estándar de oro (Kung et al., 2018) en las pruebas de identificación de agentes fúngicos. Dentro de estos métodos están incluidos las técnicas como cultivos, tinciones y pruebas bioquímicas, que proporcionan características como la morfología, el metabolismo y crecimiento de los microorganismo (Marin et al., 2023). Aunque, estos métodos parecen tener relevancia presentan ciertas limitaciones que son significativas, por ejemplo, el tiempo de respuestas, que en ocasiones pueden ser prolongados debido a que los cultivos oscilan entre 3 y 14 días en poder brindar información definitiva y al ser tardado su desarrollo incrementa el costo para su identificación (Chuku, 2018). Por otro lado, se encuentra la falsa negatividad, que se presenta cuando las muestras contienen una baja viabilidad del microorganismo y se requiere de muestras clínicas representativas y abundantes para poder observar las estructuras características de los agentes infecciosos (Fernández et al., 2023) y si no se obtiene puede resultar como negativo, incluso en presencia de una infección activa (Kung et al., 2018). De igual forma, otra limitante es la falta de especificidad, esto ocurre cuando son varias las especies fúngicas (Mellado, 2020) y dentro de ellas comparten morfologías similares, por lo tanto se hace difícil la identificación a nivel de género o especie (Hafirassou et al., 2017). La rinosinusitis fúngica, es un ejemplo claro de que se tiene que diferenciar la especie entre *Aspergillus* y *Mucorales* puesto que sus comportamientos patológicos son distintos, y por lo tanto es crucial en sus tratamientos.



Sin embargo, en las primeras etapas de la infección se hace difícil detectar la especie, usando métodos tradicionales (Zhao et al., 2011). Otras infecciones como la aspergilosis invasiva y la candidemia, son ejemplos particulares del desafío que presentan estos métodos en el diagnóstico de la enfermedad. Por su parte, en la identificación del agente causante de la aspergilosis, en los cultivos tradicionales se ha observado que tienen una sensibilidad del 25% al 50%, en tanto, con el uso de técnicas moleculares como la PCR en la identificación ha demostrado porcentajes superiores al 90% (Sabino et al., 2020). De igual forma, la candidemia, que es una de las infecciones por hongos y comunes en los espacios hospitalarios, se ha detectado con la PCR por tiempos menores a 24 horas, a diferencia de los 2 a 7 días que los hemocultivos tardan en arrojar los resultados (Taira et al., 2014).

Los avances en el uso de las técnicas moleculares han venido desarrollándose desde la década de 1990, y se han utilizado en el diagnóstico de las enfermedades causado por hongos microscópicos. Dentro de estas técnicas se encuentra la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, por sus siglas en inglés), que ha sido una de las más utilizadas porque presenta una alta sensibilidad y tiene la capacidad de amplificar grandes cantidades de ADN fúngico con mayor precisión y sensibilidad (Kordalewska & Perlin, 2019) en muestras clínicas (Arvanitis et al., 2014).

Con el paso del tiempo esta técnica fue evolucionando, en otras variantes avanzadas como la PCR en tiempo real (qPCR) (Ílhan et al., 2023), la PCR multiplex y la PCR panfungal, cada una con aplicaciones específicas para la detección y cuantificación de hongos en diferentes contextos clínicos (Fuchs et al., 2019). Reduciendo el tiempo de respuesta, tal es caso de estudios realizados en Argentina, donde el tiempo de respuesta fue de cuatro días en comparación a los 19 días con el cultivo sanguíneo (Marin et al., 2023), así como en la obtención de resultados de cuatro semanas a siete horas (Álvarez-Mosquera et al., 2018), y otras en tres horas, demostrando con ello su eficacia en la identificación de especies fúngicas microscópicas (Y et al., 2010) que otros medios convencionales hacen difícil la diferenciación de las especies (Zaidan & Hadeel, 2014).

Otro de los avances, en esta técnica y que ha ampliado las posibilidades de la identificación de hongos, es la secuenciación de nueva generación (NGS) con esta se ha podido diagnosticar enfermedades a través del análisis completo del genoma de las especies (Wijendra et al., 2024) que se encuentran en las muestras de los pacientes; esta tecnología no solo identifica especies raras o emergentes, también



detecta mutaciones que se encuentran asociadas con resistencia fúngica. Tal es el caso de mutaciones como las del gen CYP51A del *Aspergillus fumigatus*, que se ha documentado que se encuentra asociado con la resistencia a fármacos como los azoles (Faria-Gonçalves et al., 2021) que tiene propiedades de inhibición e impiden que algunas enzimas se unan al ergosterol y por lo tanto alteran la estructura y el funcionamiento de la pared celular de los hongos (Sabino et al., 2020). Con esta técnica, se optimiza el tiempo del diagnóstico, además, de que se focaliza el tratamiento personalizado de infecciones críticas, mejorado el estado de los pacientes.

Dentro de las aplicaciones clínicas, las técnicas moleculares, se han visto que particularmente tienen utilidad en la diagnosis de las infecciones por agentes fúngicos. Por ejemplo, en el diagnóstico de la candidemia en pacientes pediátricos, se observó que, la PCR multiplex detectó infecciones en el 24% de los casos, en comparación de los 14,8% que fue identificado utilizando medios de cultivos tradicionales (Taira et al., 2014). Estos porcentajes marcan la diferencia y son cruciales cuando se requiere un diagnóstico temprano para reducir de manera significativa la mortalidad asociada, por lo que, identificar las especies causantes puede mejorar potencialmente la calidad de la atención y disminuir la mortalidad humana (Busser et al., 2020).

Hablando de las infecciones cutáneas y ungueales, como la onicomicosis, se ha observado que la PCR en tiempo real, presenta superioridad ante métodos tradicionales como la microscopía y los cultivos, llegando a obtener porcentajes de sensibilidad de 87 % frente a los 47 % que presentan los métodos de cultivos (Gong et al., 2016). Esta técnica es esencial para el diagnóstico temprano, debido a que proporcionan resultados rápidos y específicos, además, de demostrar ser efectiva inclusive cuando la carga fúngica es baja (Hafirassou et al., 2017). Por otro lado, se ha encontrado estudios que usan la combinación de los métodos moleculares y tradicionales (Zhao et al., 2011) para ofrecer un enfoque más completo en el diagnóstico de las enfermedades; encontrándose coincidencia en la identificación de ambos métodos (Asadzadeh et al., 2019). Por ejemplo, el uso en conjunto de la PCR con los cultivos selectivos como CHROMagar mejoran la sensibilidad y especificidad al diagnosticar infecciones causada por *Candida albicans* (Ali et al., 2015) y otras especies (Estrada-Barraza et al., 2011).

La adopción de las herramientas moleculares en los estudios de identificación de patógenos fúngicos, presenta desafíos que tiene que ver con los costos del equipo y los reactivos que se necesitan para poder



implementar las técnicas de PCR y NGS, debido a que son significativamente más elevados los precios que los métodos tradicionales (Mahmoudi Rad et al., 2012). Por otro lado, el grado de complejidad en las técnicas, hace que se requiera personal que cuente con conocimiento en biología molecular, para la interpretación de los resultados (Morales Restrepo et al., 2018), por lo que los laboratorios con recursos restringidos se ven limitados. Es por ello, que todavía se encuentran regiones que siguen diagnosticando las infecciones fúngicas, utilizando los métodos tradicionales como su única opción viable.

A pesar, del uso de las técnicas moleculares en la micología clínica, se espera que se vayan integrando más herramientas que permitan una integración de estos en los laboratorios clínicos, con equipos más accesibles y automatizados, pero con costos reducidos que permitan una adopción más amplia, como la combinación de herramientas de NGS y la inteligencia artificial para mejorar la capacidad de los laboratorios en la identificación de patógenos emergentes y poder predecir patrones de resistencia antifúngica (Lockhart et al., 2017). Es por ello que el objetivo de esta investigación es mostrar las diferentes técnicas que se utilizan en la identificación de hongos microscópicos con importancia médica.

METODOLOGÍA

Para la realización del estudio se llevó a cabo una búsqueda de artículos científicos de forma sistemática y exhaustiva bajo el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) con la finalidad de precisar las técnicas convencionales y moleculares que están determinadas en las literaturas y que se utilizan para diagnosticar enfermedades relacionadas con los hongos microscópicos. Para la identificación de la literatura se utilizó motores de búsqueda tales como Ebsco, Google Académico y PubMed, debido a que estas bases de datos contienen información con artículos publicados de interés.

Las palabras claves que se utilizaron para búsqueda fueron “hongos microscópicos”, “diagnóstico”, “técnicas moleculares”, “técnica convencional”. Para filtrar la información se tomó en cuenta el idioma por lo que se trabajó con documentos publicados en español e inglés.

Criterios de selección

Todos los artículos que identificaban hongos microscópicos a través de técnicas y herramientas moleculares fueron seleccionados. La selección se centró en la relación con los siguientes: (1) el estudio investigó las técnica y herramientas en la identificación de hongos microscópicos de importancia



médica; (2) estudios con pacientes diagnosticados con alguna enfermedades por hongos microscópicos; (3) todos aquellos documentos que implementaron técnicas moleculares para identificar el agente causante de la enfermedad; (4) y que además, fueron publicados dentro del periodo de años 2010 al 2023. Los criterios de exclusión fueron: (1) artículos cuyo análisis no correspondieron a la búsqueda de interés; (2) publicados en fecha anterior al año 2010; (3) artículos duplicados; (4) artículos de revisión, meta-análisis, o artículos con solamente resumen.

Extracción de datos

Para asegurar la exactitud de la información, la extracción de los datos fue realizada de forma independiente por dos autores (CRP y MSJH) sobre la base de un protocolo estándar que incluye los siguientes elementos: apellido del primer autor, el año de publicación del artículo, la ubicación geográfica, el diagnóstico, diseño de estudio, el número total de la muestra, género, promedio de edad, y método de identificación.

RESULTADOS

Al realizar la búsqueda en las tres bases de datos se encontró un total de 571 artículos que estaban relacionados con la investigación. En PubMed se registró 262, en Google Académico 100 y en EBSCO 209 artículos. En cada motor de búsqueda se aplicaron los criterios de selección previamente descritos, obteniendo de esta manera un total de 218 artículos.

Al revisar todos los artículos se consideraron 43 documentos duplicados en las diferentes bases por lo cual fueron eliminados, quedando un total de 175. Posteriormente, se les aplicó los criterios necesarios de inclusión donde se analizó, si los estudios trataban de investigaciones que tenían que ver con diagnóstico de enfermedades por hongos microscópicos, descartando de esta manera 27 investigaciones por tratarse de meta-análisis y revisiones, quedando 148 documentos, de ello 130 fueron excluidos por no presentar en su metodología técnicas y herramientas moleculares en la identificación, además de estar fuera del rango de años previamente descrito para el análisis. Por lo que la revisión del estudio comprendió un total de 18 artículos que fueron validados para extraer la información. (Figura 1).

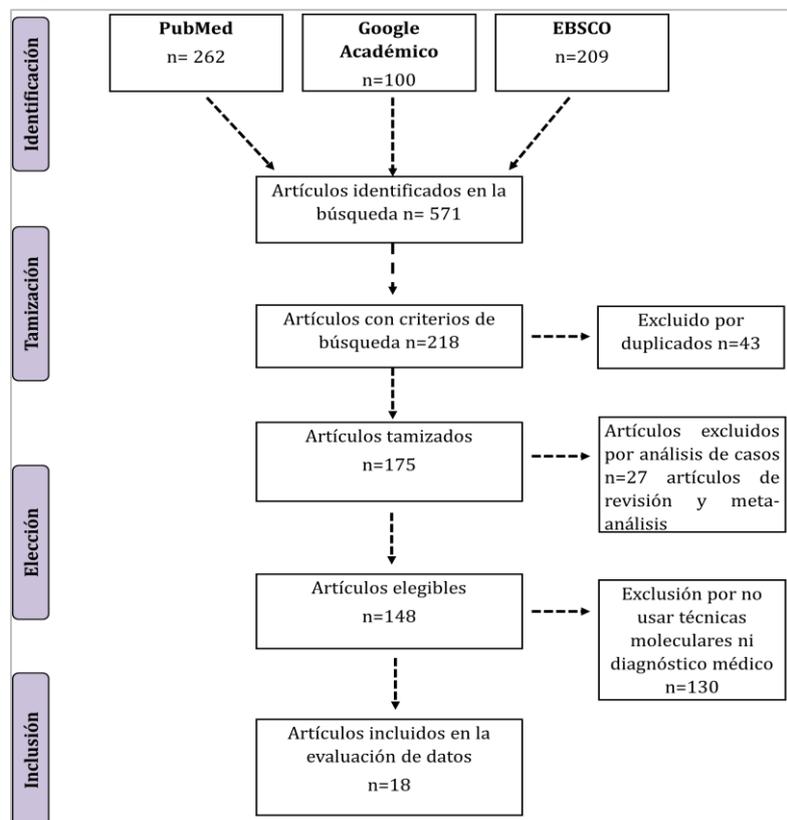
Del total de artículos seleccionados el 40% correspondió a la base de datos PubMed; el 33,3% a EBSCO y el 26,7% a Google Académico. En cuanto a la distribución de los estudios analizados se encontraron trabajos de cuatro continentes, uno Africano, tres Asiáticos, cinco Europeos y seis del continente



Americano. Por otro lado, se observó que por año hubo un reporte de estudio y solo en los años 2013 y 2022 no se encontró estudio alguno. Se observó diferentes patologías asociado con la presencia de hongos microscópicos y dentro de estas enfermedades, la candidiasis vaginal y vulvovaginal se investigaron en Irak, Irán y Portugal utilizando variantes de la PCR así como métodos convencionales en la identificación.

En Perú y Portugal la Aspergilosis invasiva fue estudiada en el 2019 y 2020 respectivamente, el primer estudio con PCR en tiempo real y el segundo combinó los métodos convencional y molecular para la tipificación. Tabla 1. En la misma tabla se encontró que en la población del estudio predominó el grupo de las mujeres con el 65,5% (856) con respecto a los hombres con el 34,5% (451).

Figura 1. Flujograma de la selección de los artículos en el estudio



En la gráfica 1, se puede observar los porcentajes de las diferentes técnicas y herramientas moleculares utilizadas en la identificación de hongos microscópicos de los diferentes estudios. El 55 % de los trabajos, utilizaron métodos moleculares en sus diferentes variantes, mientras que los métodos convencionales se presentaron en el 45 %. De forma particular, tanto el cultivo como la PCR convencional se utilizaron en el 15 % de los estudios.

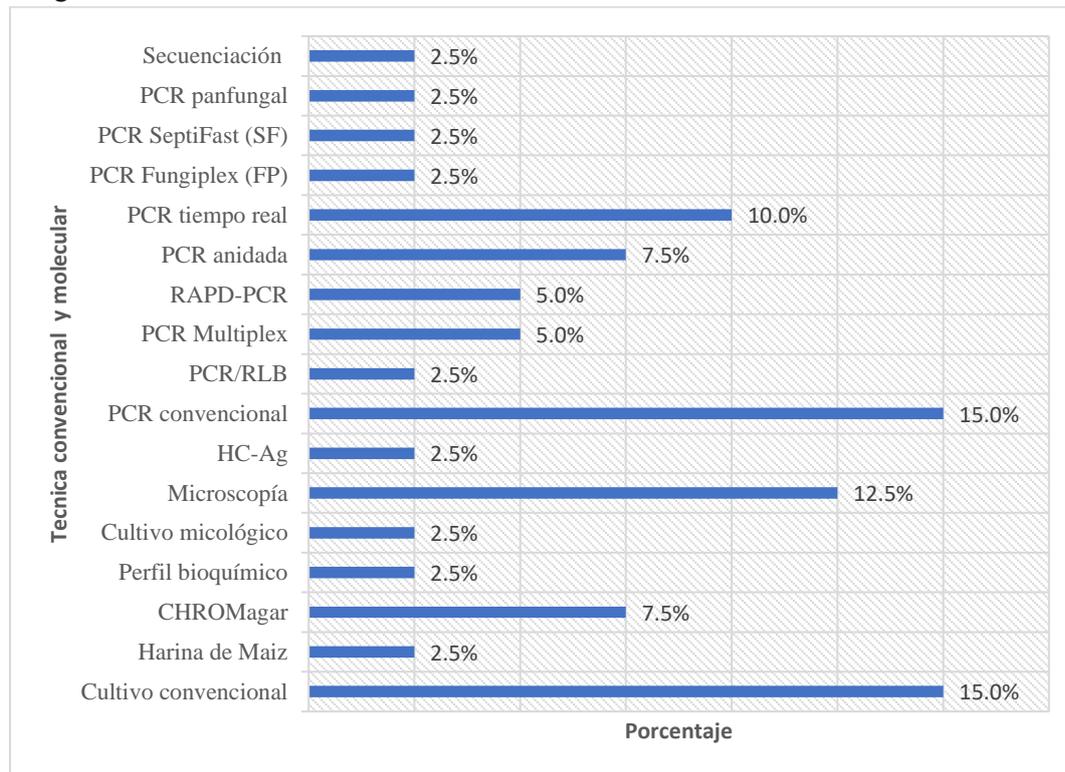
Tabla 1. Características individuales de los estudios incluidos en la revisión

Autor	Año	País	Diagnóstico	Material biológico	Método de identificación	n	Género	\bar{x} Edad	n° de especie
							H/M		
Y, N.	2010	Irlanda	Fibrosis quística	Espuito	Cultivo convencional, Cultivo micológico, PCR, secuenciación	77	37/40	28,5	107
Zhao, Z.	2011	China	Rinosinusitis fúngica	Tejido	PCR/RLB	60	/	/	98
Estrada, B. D.	2011	México	Candidiasis, Diabetes	Mucosa oral, Expectoraciones	CHROMagar, Agar harina de maíz, PCR	/	/	/	79
Mahmoudi, Rad	2012	Irán	Candidiasis vulvovaginal	Muestra vaginal	PCR Multiplex	175	0/175	32,4	191
Zaidan, K. I	2014	Irak	Candidiasis vaginal	Muestra vaginal	PCR, RAPD-PCR, CHROMagar	105	0/105	30,5	122
Taira, C. L.	2014	Brasil	Candidemia nosocomial	Sangre	Hemocultivo, PCR anidada múltiple	54	33/22	18 meses	/
Ali, A.	2015	Irak	Leucemia, Embarazo, Diabetes	Oral, Vaginal, Orina, Cutánea, Uñas	CHROMagar, PCR	108	/	/	57
Gong, J.	2016	China	Tiña ungueal (micosis)	Uñas	Microscopía, Cultivo, PCR convencional, PCR tiempo real	165	/	/	49
Kung, V. L.	2017	EUA	Diversas infecciones	Quirúrgicas y citológicas	Microscopía	3164	/	/	333
Hafirassou, A. Z.	2017	Argelia	Onicomosis	Uñas	RT-PCR, Microscopía	70	/	/	51
Álvarez, M. I.	2018	España	Micosis Superficiales	Escamas de pies, uñas, cabello	Cultivo, Microscopía, PCR	626	200/426	51,33	211
Béjar, V.	2019	Perú	Aspergilosis invasiva	Tejido pulmonar, Espuito, Aspirado bronquial	PCR tiempo real	20	/	/	10
Fuchs, S	2019	Austria	Candidemia	Sangre	Hemocultivo, PCR Fungiplex (FP) y PCR SeptiFast (SF)	54	32/22	61,8	18
Sabino, R.	2020	Portugal	Aspergilosis invasiva	Nariz, Tejido óseo, Tejido de cerebro	PCR multiplex, PCR panfungal, cultivo	4	3/1	45,75	5
Faria, G. P.	2021	Portugal	Candidiasis vulvovaginal	Muestra vaginal	Perfil bioquímico, RAPD/PCR	15	0/17	/	62
Marín, E.	2023	Argentina	Histoplasmosis	Orina y Sangre	PCR anidada HC-Ag	116	83/33	42,0	/
Ílhan, B.	2023	Turquía	Displasia, Cáncer	Biopsia oral	PCR tiempo real	80	46/34	61,07	130
Fernández, N. B.	2023	Argentina, Paraguay, Bolivia y Perú	Paracoccidiosis	Mucosa oral, nasal, Laringe, Piel	Microscopía, PCR anidada	19	17/2	53,0	14

Fuente directa



Grafica 1. Técnicas convencionales y moleculares utilizadas en el diagnóstico de enfermedades por hongos



Fuente directa

En la tabla 2, se reporta que de 102 muestras analizadas en el estudio se identificó un total de 25 géneros con 52 especies fúngicas de relevancia clínica. El género que mayormente se presentó fue *Candida* con el 51,05%, dentro de ello, la especie *albicans* fue la más prevalente, con 10,87 % del total de las especies, subrayando su importancia particularmente en infecciones fúngicas. Por otro lado, especies de como *glabrata*, *krusei*, *parapsilosis* y *tropicalis*, también mostraron una prevalencia notable, del 6,86 % cada una evidenciándose en el contexto clínico, la diversidad de especies dentro de este género. Por otra parte, también se destaca la presencia de otros géneros como el *Aspergillus*, que mostró prevalencia del 12,74 %, siendo la especie *fumigatus* la que más presencia tuvo con un 6,86 %; mientras que los géneros como *Trichophyton* y *Mucor* tienen una presencia menos frecuente pero relevante, indicando su participación en infecciones específicas o en pacientes con condiciones subyacentes.

Tabla 2. Especies de hongos microscópicos identificados en los estudios

id	Cantidad	Especie	% Especie	% Género	id	Cantidad	Especie	% Especie	% Género
1	1	<i>Absidia corymbifera</i>	0,98	0,96	28	1	<i>Geotrichum capitatum</i>	0,98	0,96
2	1	<i>Acremonium strictum</i>	0,98	0,96	29	1	<i>Histoplasma spp</i>	0,98	1,96
3	1	<i>Aspergillus niger</i>	0,98		30	1	<i>Histoplasma capsulatum</i>	0,98	
4	1	<i>Aspergillus terreus</i>	0,98		31	1	<i>Malassezia spp</i>	0,98	0,96
5	1	<i>Aspergillus flavus</i>	0,98		32	1	<i>Mucor cercinelloidea</i>	0,98	
6	7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	6,86	12,74	33	1	<i>Mucor heimalis</i>	0,98	3,92
7	1	<i>Aspergillus nidulans</i>	0,98		34	1	<i>Mucor racemosus</i>	0,98	
8	1	<i>Aspergillus spp</i>	0,98		35	1	Mucorales	0,98	
9	1	<i>Aspergillus versicolor</i>	0,98		36	1	<i>Penicillium spp</i>	0,98	0,96
10	11	<i>Candida albicans</i>	10,87		37	1	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	0,98	0,96
11	3	<i>Candida dubliniensis</i>	2,94		38	1	<i>Rhi-zomucor pusillus</i>	0,98	0,96
12	7	<i>Candida glabrata</i>	6,86		39	1	<i>Rhizopus arrhizus</i>	0,98	1,96
13	3	<i>Candida guillier-mondii</i>	2,94		40	1	<i>Rhizopus microsporus</i>	0,98	
14	1	<i>Candida kefyri</i>	0,98		41	1	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,98	0,96
15	7	<i>Candida krusei</i>	6,86	51,05	42	2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,96	1,92
16	2	<i>Candida lusitanae</i>	1,96		43	1	<i>Scedosporium apiospermum</i>	0,98	0,96
17	7	<i>Candida parapsilosis</i>	6,86		44	1	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0,98	0,96
18	1	<i>Candida pelliculosa</i>	0,98		45	1	<i>Paracoccidioides spp</i>	0,98	0,96
19	1	<i>Candida pulcherrima</i>	0,98		46	1	<i>Thanatephorus cucumeris,</i>	0,98	0,96
20	2	<i>Candida spp</i>	1,96		47	3	<i>Trichophyton rubrom</i>	2,94	
21	7	<i>Candida tropicalis</i>	6,86		48	1	<i>Trichophyton interdigitale</i>	0,98	
22	1	<i>Cladosporium spp.</i>	0,98	0,96	49	1	<i>Trichophyton interdigitale</i>	0,98	7,84
23	1	<i>Criptococo neoformans</i>	0,98	0,96	50	1	<i>Trichophyton spp</i>	0,98	
24	1	Dermatofitos	0,98	0,96	51	1	<i>Trichophyton tonsurans</i>	0,98	
25	1	<i>Exophiala (Wangiella) dermatitidis</i>	0,98	0,96	52	1	<i>Trichophyton violanceum</i>	0,98	
26	2	<i>Fusarium culmorum</i>	1,96	1,92	Total			100	
27	1	<i>Fuscoporia ferrea</i>	0,98	0,96	102				

Fuente directa



DISCUSIÓN

En la identificación de organismos como los hongos microscópicos que tienen importancia médica se han presentado desafíos que tienen que ver con la limitación de los métodos convencionales. En esta investigación se vio reflejado la adopción paralela del uso de las técnicas moleculares y métodos convencionales para la identificación de especies fúngicas. Aunque las herramientas moleculares han demostrado ser más rápidas y precisas que los métodos fenotípicos tradicionales (Mahmoudi Rad et al., 2012); (Lockhart et al., 2017);(Fuchs et al., 2019). La PCR y sus variantes, como la qPCR en tiempo real, han reducido los tiempos de diagnóstico de semanas a horas, optimizando de esta manera el tratamiento oportuno y favoreciendo los resultados en pacientes críticos (Álvarez-Mosquera et al., 2018); (Marin et al., 2023).

La detección de los microorganismos patógenos en sus etapas tempranas es favorecida con la precisión de las técnicas moleculares a diferencia de los métodos convencionales, que se ven limitados por que requieren de periodos prolongados para el crecimiento, además de abundante muestras clínicas del agente fúngico (Morales Restrepo et al., 2018); (Fernández et al., 2023). Una identificación rápida y específica si hablamos en el contexto de las infecciones invasivas es particularmente relevante porque pueden ser determinante para reducir la mortalidad asociada (Arvanitis et al., 2014)

En este trabajo de revisión sistemática se mostró que hubo un predominio en el uso de las herramientas moleculares en estudios como la candidiasis y la aspergilosis, en los diferentes países como Irak, Irán, Perú y Portugal, empleándose la combinación de la PCR con métodos tradicionales mejorando así, la especificidad en el diagnóstico (Béjar et al., 2019); (Zaidan & Hadeel, 2014). Ahora bien, en cuanto a prevalencias en las especies, se identificó que *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus* son las que mayormente se presentaron en los estudios, confirmándose de esta manera la importancia clínica de estos y la necesidad de técnicas y/o herramientas que permitan la rápida identificación y oportuna diferenciación dentro de los géneros (Marin et al., 2023);(Estrada-Barraza et al., 2011). Por otra parte, cultivos selectivos como CHROMagar, son básicos y útiles en la identificación preliminar, pero las técnicas moleculares son necesarias para reafirmar el diagnóstico en los pacientes con infecciones graves o comorbilidades que pueden afectar el sistema inmune (Guzmán D, 2004); (Hafirassou et al., 2017).



Con los resultados encontrados, se sugiere que a pesar de que los métodos convencionales siguen teniendo una participación importante en la identificación de hongos patógenos, la combinación con herramientas moleculares prometen un diagnóstico mucho más completo y efectivo (Chuku, 2018). De igual forma, en esta investigación se destaca que aunque los costos son altos para adoptar las técnicas moleculares, esto se traduce en mayor precisión y rapidez en el diagnóstico, lo que es crucial en el tratamiento de infecciones fúngicas invasiva. Al integrar estas herramientas en los laboratorios clínicos va a permitir afrontar mejor la diversidad hongos patógenos emergentes (Faria-Gonçalves et al., 2021)

CONCLUSION

En esta revisión sistemática se puede apreciar que la identificación de hongos de importancia médica a través de herramientas moleculares presenta avances significativos en contraste con los métodos tradicionales. Las técnicas convencionales como los cultivos y las tinciones en primera instancia son esenciales en la identificación del patógeno, sin embargo, presentan limitaciones como la rapidez y la precisión. Las técnicas de PCR en sus diferentes variantes, son las más rápidas y precisas. Además la combinación de estos métodos de identificación representa una estrategia más certera al diagnosticar las enfermedades causados por hongos. Por ello es necesario integrar estos métodos en el diagnóstico micológico en la identificación de infecciones fúngicas invasivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ali, A., Al-Attaqchi, A., & Alahmer, S. (2015). Molecular detection of ALS1 virulence gene of *Candida albicans* isolated from groups of Iraqi patients. *Journal of the Faculty of Medicine-Baghdad*, 57, 79-83. <https://doi.org/10.32007/med.1936/jfacmedbagdad.v57i1.18>
- Álvarez-Mosquera, I., Hernández, S., Sánchez, J., Suárez, M., & Cisterna Cancer, R. (2018). Diagnosis of Superficial Mycoses by a Rapid and Effective PCR Method from Samples of Scales, Nails and Hair. *Mycopathologia*, 183, 1-7. <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0290-5>
- Arvanitis, M., Anagnostou, T., Fuchs, B. B., Caliendo, A. M., & Mylonakis, E. (2014). Molecular and Nonmolecular Diagnostic Methods for Invasive Fungal Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3), 490-526. <https://doi.org/10.1128/cmr.00091-13>



- Asadzadeh, M., Alanazi, A. F., Ahmad, S., Al-Sweih, N., & Khan, Z. (2019). Lack of detection of *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis* among 440 clinical *Candida glabrata* sensu lato isolates in Kuwait. *PloS One*, *14*(10), e0223920. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223920>
- Béjar, V., Villanueva, F., León, S. R., Guevara-Granados, J. M., Uribe, A., Vergaray, G., Cuadra, A., & Sabogal, I. (2019). Identificación molecular de *Aspergillus fumigatus* aislados de pacientes con aspergilosis invasiva. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *36*(1), 81. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3403>
- Busser, F. D., Coelho, V. C., Fonseca, C. de A., Del Negro, G. M. B., Shikanai-Yasuda, M. A., Lopes, M. H., Magri, M. M. C., & Freitas, V. L. T. de. (2020). A Real Time PCR strategy for the detection and quantification of *Candida albicans* in human blood. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*, *62*, e9. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062009>
- Chuku, A. (2018). Effective Diagnostic Techniques in the Identification of Medically Important Fungi: A Developing World Perspective. *Annual Research & Review in Biology*, *28*(4), 1-9. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/43123>
- Estrada-Barraza, D., Dávalos Martínez, A., Flores-Padilla, L., Mendoza-De Elias, R., & Sánchez-Vargas, L. O. (2011). Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar Candida® y el método de la PCR para la identificación de especies de *Candida* en aislamientos clínicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, *28*(1), 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.11.003>
- Faria-Gonçalves, P., Gaspar, C., Oliveira, A. S., Palmeira-de-Oliveira, R., Gonçalves, T., Martinez-de-Oliveira, J., Palmeira-de-Oliveira, A., & Rolo, J. (2021). Evaluation of overtime phenotypic variation of yeasts in chronic vulvovaginal candidosis cases. *Medical Mycology*, *59*(12), 1166-1173. <https://doi.org/10.1093/mmy/myab048>
- Fernández, N. B., Toranzo, A., Farias, L., & Canteros, C. E. (2023). Diagnóstico micológico de paracoccidioidomycosis en un hospital de área no endémica: Metodología clásica y molecular. *Biomédica*, *43*(Sp. 1), 132-143. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6888>



- Fuchs, S., Lass-Flörl, C., & Posch, W. (2019). Diagnostic Performance of a Novel Multiplex PCR Assay for Candidemia among ICU Patients. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 5(3), 86. <https://doi.org/10.3390/jof5030086>
- Gong, J., Ran, M., Wang, X., Wan, Z., & Li, R. (2016). Development and Evaluation of a Novel Real-Time PCR for Pan-Dermatophyte Detection in Nail Specimens. *Mycopathologia*, 1-2(181), 51-57. <https://doi.org/10.1007/s11046-015-9915-0>
- Guzmán D, A. M. (2004). Importancia del laboratorio en el diagnóstico de las micosis invasoras. *Revista chilena de infectología*, 21(1). <https://doi.org/10.4067/S0716-10182004000100005>
- Hafirassou, A. Z., Valero, C., Gassem, N., Mihoubi, I., & Buitrago, M. J. (2017). Usefulness of techniques based on real time PCR for the identification of onychomycosis-causing species. *Mycoses*, 60(10), 638-644. <https://doi.org/10.1111/myc.12629>
- İlhan, B., Vural, C., Gürhan, C., Vural, C., Veral, A., Wilder-Smith, P., Özdemir, G., & Güneri, P. (2023). Real-Time PCR Detection of Candida Species in Biopsy Samples from Non-Smokers with Oral Dysplasia and Oral Squamous Cell Cancer: A Retrospective Archive Study. *Cancers*, 15(21), 5251. <https://doi.org/10.3390/cancers15215251>
- Jillwin, J., Rudramurthy, S. M., Singh, S., Bal, A., Das, A., Radotra, B., Prakash, H., Dhaliwal, M., Kaur, H., Ghosh, A. K., & Chakrabarti, A. (2021). Molecular identification of pathogenic fungi in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *Journal of Medical Microbiology*, 70(2), 001282. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001282>
- Kordalewska, M., & Perlin, D. S. (2019). Identification of Drug Resistant Candida auris. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01918>
- Kung, V. L., Chernock, R. D., & Burnham, C. -a. D. (2018). Diagnostic accuracy of fungal identification in histopathology and cytopathology specimens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 37(1), 157-165. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3116-3>
- Lockhart, S. R., Etienne, K. A., Vallabhaneni, S., Farooqi, J., Chowdhary, A., Govender, N. P., Colombo, A. L., Calvo, B., Cuomo, C. A., Desjardins, C. A., Berkow, E. L., Castanheira, M., Magobo, R. E., Jabeen, K., Asghar, R. J., Meis, J. F., Jackson, B., Chiller, T., & Litvintseva, A. P. (2017).



- Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 64(2), 134-140. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw691>
- Mahmoudi Rad, M., Zafarghandi, A. S., Amel Zabihi, M., Tavallae, M., & Mirdamadi, Y. (2012). Identification of *Candida* Species Associated with Vulvovaginal Candidiasis by Multiplex PCR. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2012(1), 872169. <https://doi.org/10.1155/2012/872169>
- Marin, E., Messina, F. A., Romero, M., Arechavala, A., Negroni, R., Depardo, R., & Santiso, G. (2023). Evaluation of an enzyme immunoassay technique on detecting urinary *Histoplasma capsulatum* antigen in the diagnosis of disseminated histoplasmosis in Argentina. *Medicina*, 83(6), 863-874.
- Mellado, O. M. D. (2020). 5. *Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas*.
- Morales Restrepo, N., Cardona-Castro, N., & Universidad CES. (2018). Métodos de diagnóstico en micología. *Ces Medicina*, 32(1), 41-52. <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.32.1.5>
- Sabino, R., Simões, H., & Veríssimo, C. (2020). Molecular Detection of *Aspergillus*: Application of a Real-Time PCR Multiplex Assay in Tissue Samples. *Journal of Fungi*, 6(1), 11. <https://doi.org/10.3390/jof6010011>
- Taira, C. L., Okay, T. S., Delgado, A. F., Ceccon, M. E. J. R., Almeida, M. T. G. de, & Negro, G. M. B. D. (2014). A multiplex nested PCR for the detection and identification of *Candida* species in blood samples of critically ill paediatric patients. *BMC Infectious Diseases*, 14, 406. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-406>
- Wijendra, W. A. S., Samarappulige, C. G., Dasanayaka, N., Kaushalya, G., Ramesh, R., & Gunasekara, S. (2024). Molecular identification and antifungal susceptibility of *Candida tropicalis* and *Candida parapsilosis* isolated from cancer patients. *Journal of Experimental and Molecular Biology*, 25(1), Article 1. <https://doi.org/10.47743/jemb-2024-108>



- Y, N., Js, E., Bc, M., Jm, W., Ce, G., J, R., & Je, M. (2010). Comparison of techniques to examine the diversity of fungi in adult patients with cystic fibrosis. *Medical Mycology*, 48(1).
<https://doi.org/10.3109/13693780903127506>
- Zaidan, K. I., & Hadeel, N. A.-S. (2014). Molecular diagnosis of vaginal candidiasis by polymerase chain reaction (PCR) and random amplification polymorphism DNA (RAPD-PCR) in Babylon Province, Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 8(6), 496-502.
<https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5945>
- Zhao, Z., Li, L., Wan, Z., Chen, W., Liu, H., & Li, R. (2011). Simultaneous Detection and Identification of Aspergillus and Mucorales Species in Tissues Collected from Patients with Fungal Rhinosinusitis ▽. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4), 1501-1507.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02262-10>

