



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETECCIÓN DE MICOSIS MEDIANTE TÉCNICAS PCR Y MALDI-TOF

LOJAN ENCARNACION ERIKA MARIA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETECCIÓN DE MICOSIS MEDIANTE TÉCNICAS PCR Y MALDI-TOF

LOJAN ENCARNACION ERIKA MARIA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

DETECCIÓN DE MICOSIS MEDIANTE TÉCNICAS PCR Y MALDI-TOF

LOJAN ENCARNACION ERIKA MARIA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

ROMERO FERNANDEZ DAYSE MARGOT

MACHALA, 16 DE FEBRERO DE 2022

MACHALA  
16 de febrero de 2022

# DETECCIÓN DE MICOSIS MEDIANTE TÉCNICAS PCR Y MALDI-TOF

*por* Erika Maria Lojan Encarnacion

---

**Fecha de entrega:** 04-feb-2022 09:26p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1755261096

**Nombre del archivo:** DETECCION\_DE\_MICOSIS\_MEDIANTE\_TECNICAS\_PCR\_Y\_MALDI-TOF\_1.docx (47.73K)

**Total de palabras:** 1806

**Total de caracteres:** 9773

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

La que suscribe, LOJAN ENCARNACION ERIKA MARIA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado DETECCIÓN DE MICOSIS MEDIANTE TÉCNICAS PCR Y MALDI-TOF, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

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

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

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

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

Machala, 16 de febrero de 2022



LOJAN ENCARNACION ERIKA MARIA  
0706517786

## RESUMEN

Los hongos son cuerpos eucarióticos, estos microorganismos requieren de un agente externo para poder obtener sus propios alimentos son denominados heterótrofos. Se dividen en diferentes especies una de ellas la micosis o comúnmente llamada infección fúngica suelen afectar tejido, piel, huesos, cabello, uñas y hasta los órganos. La micosis se clasifica: micosis superficial, micosis subcutánea y micosis profunda o sistémica. Estas enfermedades han invadido alrededor de 1.200 millones de habitantes.

Para llegar a la detección fúngica nos hemos planteado como objetivo analizar mediante revisión bibliográfica las técnicas PCR y MALDI-TOF para la determinación de micosis.

Para cumplir con el objetivo se utilizó técnicas y métodos de diferentes fuentes bibliográficas. La técnica PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se encarga de amplificar una secuencia corta de la cadena madre realizando simultáneas copias de la hebra de ADN con ayuda de la temperatura reproduciéndose en pocas horas. La técnica MALDI-TOF (desorción/ionización láser asistida por una matriz con detección de masas por tiempo de vuelo) para poder determinar primero debemos realizar un 5hemocultivo, el método se realizar preparando la lámina de identificación para obtener el perfil proteico comparándolo con los patrones que se encuentran ya en la base de datos.

Como resultado se logró identificar su alta especificidad y sensibilidad en las dos técnicas. Se puede concluir que tanto la técnica PCR y MALDI-TOF son precisas y confiables al momento de dar un diagnóstico, pero a diferencia de la PCR la MALDI-TOF es más compleja en su proceso.

**Palabras claves:** Técnicas moleculares; PCR; MALDI-TOF; Hongos; Micosis.

## **ABSTRACT**

Fungi are eukaryotic bodies, these microorganisms require an external agent to obtain their own food, they are called heterotrophs. They are divided into different species, one of them the mycosis or commonly called fungal infection, they usually affect tissue, skin, bones, hair, nails and even organs. Mycosis is classified: superficial mycosis, subcutaneous mycosis and deep or systemic mycosis. These diseases have invaded around 1,200 million inhabitants.

In order to reach fungal detection, we have set ourselves the objective of analyzing the PCR and MALDI-TOF techniques for the determination of mycosis by means of a bibliographic review.

To meet the objective, techniques and methods from different bibliographic sources were used. The PCR technique (polymerase chain reaction) is responsible for amplifying a short sequence of the mother chain by making simultaneous copies of the DNA strand with the help of temperature, reproducing in a few hours. The MALDI-TOF technique (matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass detection) in order to determine we must first perform a blood culture; the method is performed by preparing the identification sheet to obtain the protein profile compared to the patterns that are already in the database.

As a result, it was possible to identify its high specificity and sensitivity in both techniques. It can be concluded that both the PCR and MALDI-TOF techniques are accurate and reliable when making a diagnosis, but unlike PCR, MALDI-TOF is more complex in its process.

**Keywords:** Molecular techniques; PCR; MALDI-TOF; Mushrooms; Mycosis.

# ÍNDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>2.OBJETIVOS</b>	<b>7</b>
2.1 Objetivo General	7
2.2 Objetivo Específico	7
<b>3.DESARROLLO</b>	<b>8</b>
<b>3.1 MARCO TEÓRICO</b>	<b>8</b>
<b>3.2 HONGO</b>	<b>8</b>
<b>3.3 MICOSIS</b>	<b>8</b>
<b>3.4 CLASIFICACIÓN</b>	<b>8</b>
3.4.1 Micosis superficial:	8
3.4.2 Micosis subcutánea:	8
3.4.3 Micosis profunda o sistémicas:	8
<b>3.5 MÉTODOS MOLECULARES</b>	<b>8</b>
<b>3.6 PROTOCOLO PARA EL DESARROLLO DE LAS TÉCNICA</b>	<b>9</b>
<b>3.7 IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS</b>	<b>10</b>
<b>3.8 METODOLOGÍA</b>	<b>11</b>
<b>3.8.1 ANÁLISIS DE CASO PRÁCTICO</b>	<b>11</b>
<b>3.8.2 Pregunta problema</b>	<b>11</b>
<b>4. CONCLUSIÓN</b>	<b>13</b>
<b>5. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>14</b>
<b>6. ANEXOS</b>	<b>17</b>



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- PCR, reacción en cadena de la polimerasa
- MALDI-TOF, desorción/ionización láser asistida por una matriz con detección de masa por tiempo de vuelo.
- NGS, secuenciación de nueva generación.
- RAPD, polimorfismo amplificado aleatorio ADN
- RFLP, polimorfismo de longitud de fragmento de restricción.
- ADN, ácido desoxirribonucleico.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucarióticos que tienen núcleos organizados, son heterótrofos esto nos indica que no puede llegar a producir sus propios nutrientes. Tiene una amplia distribución en el medio ambiente que se puede llegar a encontrar en el suelo, agua, aire, objetos, hogares y centro de salud. Tiene la capacidad para adaptarse al medio ambiente que los rodea<sup>1</sup>.

Alrededor de 1,200 millones de habitantes en todo el mundo sufren una enfermedad fúngica, la mayor parte de estas infecciones se dan en la mucosa y piel. La micosis puede llegar a ser superficiales o sistémicas esto dependerá del sistema inmune de la persona<sup>2 3</sup>.

En el transcurso de los tiempos se ha logrado importantes avances para la identificación de hongos, en la actualidad aún se tiene dificultad para el apropiado reconocimiento de ciertos géneros y especies, esto se debe al no ocasionar su estructura de fructificación en el cultivo. Por esta razón, están utilizando los métodos moleculares para la identificación oportuna, rápida y sensible. La caracterización se realiza mediante la comparación de un fragmento de ADN del microorganismo con secuencias ingresadas en la base de datos<sup>4</sup>.

Ambas técnicas son de gran importancia para la detección de micosis debido a su alto grado de especificidad y sensibilidad al momento de dar un diagnóstico evitando así falsos negativos. Entre los métodos moleculares tenemos PCR tiene una tipificación rápida y precisa, la cual realiza diversas copias idénticas de la cadena madre de ADN<sup>5</sup> y la técnica MALDI-TOF ayuda a obtener proteínas mediante un espectro de masas, analiza células fúngicas inactivas, que van a crear perfiles de masa moleculares que son utilizadas como una huella peptídica dando resultados de ionización<sup>6</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Analizar mediante revisión bibliográfica las técnicas PCR y MALDI-TOF para la determinación de micosis.

### **2.2 Objetivo Específico**

**2.2.1** Identificar las características particulares de las técnicas moleculares PCR y MALDI-TOF para determinar micosis.

**2.2.2** Establecer la importancia de los ensayos moleculares en las detecciones fúngicas.

## **3. DESARROLLO**

### **3.1 MARCO TEÓRICO**

### **3.2 HONGO**

Los hongos son cuerpos eucarióticos especializados en la formación de las, que dan estructuras filamentosas formadas por un proceso de células interconectadas, que se encargan de crear el micelio<sup>7</sup>.

### **3.3 MICOSIS**

La micosis es una epidemia que es producida por hongos que estos llegan a afectar al tejido y causan enfermedades a la piel o se extienden a los huesos o órganos y pueden llegar a invadir hasta todo el cuerpo humano<sup>8</sup>.

### **3.4 CLASIFICACIÓN**

La micosis se da dependiendo el lugar en el que ha ocurrido la infección, en la que existen 3 grupos:

#### **3.4.1 Micosis superficial:**

Esta infección es causada por hongos que atacan al tejido superficial como la piel, uñas y pelo. Pero no es causante de atacar a los tejidos profundos<sup>9</sup>.

#### **3.4.2 Micosis subcutánea:**

Esta infección ataca a los tejidos de la piel y tejidos celular subcutáneos<sup>10</sup>.

#### **3.4.3 Micosis profunda o sistémicas:**

Esta infección es causante de atacar a los órganos internos<sup>11</sup>.

### **3.5 MÉTODOS MOLECULARES**

En la actualidad existen diferentes métodos moleculares que ayudan a determinar los diferentes tipos de enfermedades infecciosas, en la cual se encuentra PCR, MALDI-TOF, NGS, RAPD y RFLP<sup>12</sup>.

## PCR

El método o técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa es una reacción a través de enzimas que ayuda a facilitar y multiplicar al ADN de una determinada muestra biológica, pudiendo así duplicar las dos hebras de la cadena madre para formar una sola hebra idéntica<sup>13</sup>.

## MALDI-TOF

El método o técnica MALDI-TOF ayuda a determinar microorganismos con el estudio de proteínas, especialmente ribosomales, por medio de un espectrómetro de masa específica para cada género<sup>14</sup>.

Mediante el transcurso, el agente a identificar se compara automáticamente con la base de datos de referencia y el resultado se expresa por medio de un puntaje de igualdad entre ambos. Esta técnica es confiable, rápida y precisa que ayuda a la identificación de especies fúngicas. Identifica de forma correcta el 27, 5% más aislados filamentosos hasta 50 veces más rápidos; esta ventaja aplica aún más al emplear directamente muestras de hemocultivo. Lo que va ayudar a seleccionar el tratamiento antifúngico de una manera más apropiada<sup>4</sup>.

### 3.6 PROTOCOLO PARA EL DESARROLLO DE LAS TÉCNICA

#### PCR

El protocolo dependerá de la empresa que ha elaborado los estuches, independientemente del fabricante todos deberán obtener tres puntos específicos:

- **Desnaturalización de la cadena** : ayuda a la ruptura en la hélice del ADN con la temperatura entre 90 a 96 ° C en un tiempo de 25 a 90 segundos<sup>15</sup>.
- **Alimentación:** Debe bajar la temperatura de 50 a 60 ° C, así ayuda a reproducir los fragmentos oligonucleótidos iniciadores y la cadena de ADN, este proceso se da de 30 a 60 segundos<sup>15</sup>.
- **Extensión:** Extiende la cadena de ADN polimerasa en los fragmentos indicadores que están enlazados al ADN blanco así se obtendrá nuevas cadenas procedente de la muestra original<sup>15</sup>.

Se utilizan equipos termocicladores, que ayudan al proceso de los ciclos completos con el efecto Peltier, encargado de producir variación de temperatura en el bloque mediante la corriente eléctrica, los tubos muestran particularidades crónicas de 0,2 – 0,5 ml, con

pared fina, este equipo se encarga que no se origine la condensación mediante el calentamiento de las tapas que poseen los tubos<sup>5</sup>.

De esta forma se logra obtener millones de cadenas totalmente únicas de una muestra, consiguiendo ser de un virus, hongo, bacteria e inclusive anticuerpos y antígenos de esta manera se convierte en un método o técnica de alta especificidad y sensibilidad para determinar distintos diagnósticos<sup>5</sup>.

### **MALDI-TOF**

Identifica al microorganismo a partir de proteínas intracelulares, en la cual poseen una gran estructura ribosomal, así se va a realizar el perfil proteico exclusivo para cada organismo. Las infecciones fúngicas tienen una pared celular gruesa y es preciso realizar una extracción de proteínas a identificar. De la extracción realizada se escoge una pequeña muestra que se mezclará con la matriz de naturaleza ácida sobre la placa metálica que inserta en el espectrómetro y se llevará a ionización leve con rayo láser ultravioleta (ondas de 337 nm). Los iones pasan por un campo eléctrico separando las proteínas de acuerdo a su peso y carga de esta forma se irá estructurando un espectro propio que viene siendo una huella proteica, que ayudará a identificar a los microorganismos al ser comparados con la estadística de la base comercial<sup>16</sup>.

## **3.7 IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS**

### **PCR**

La aplicación de la técnica PCR es un instrumento de suma importancia que beneficia a la determinación del ADN de bacterias y hongos promotor de patologías infecciosas. Permite extender el material hereditario del agente etiológico y provee a la observación, logrando obtener resultados con una alta sensibilidad y especificidad<sup>1718</sup>.

### **MALDI-TOF**

La técnica MALDI-TOF es importante para la identificación de forma rápida y fiable en la aplicación de microorganismos con la ayuda del estudio de proteínas<sup>19</sup>.

## **3.8 METODOLOGÍA**

### **3.8.1 ANÁLISIS DE CASO PRÁCTICO**

#### **Caso práctico**

Aunque se han logrado importantes avances en la identificación de muchos de los hongos de importancia médica, aún existen dificultades para el adecuado reconocimiento de ciertos géneros y especies de este grupo de organismos. La identificación basada en la morfología presenta en ocasiones un importante grado de dificultad, sobre todo para distinguir especies cercanas, en las que las características fenotípicas son muy similares<sup>20</sup>.

Estas circunstancias plantean la necesidad de desarrollar métodos alternativos, que ofrezcan mayor rapidez en la obtención de resultados y un mayor rango de microorganismos identificables de forma fiable. Las técnicas moleculares son un número de opciones que mejor podrían cumplir estos requisitos<sup>20</sup>.

#### **3.8.2 Pregunta problema**

¿Qué técnicas pueden emplearse en el laboratorio clínico para determinar hongos de forma fiable?

#### **Análisis del caso**

Para poder llegar a una detección fúngica se puede aplicar diversas técnicas moleculares entre ellas tenemos PCR, MALDI-TOF, NGS, RAPD y RFLP <sup>12</sup>.

En este trabajo de revisión bibliográfica se analizara el método o técnica PCR utilizada para la replicación de la cadena modelo ácido desoxirribonucleico realizando billones de copias, mediante equipos termocicladores, primero se desnaturaliza la cadena con la ayuda de la temperatura de los puentes de H que se mantiene unidos a la doble hélice se rompen, luego se produce la alimentación, bajando la temperatura de así formar los fragmentos oligonucleótidos iniciadores y por último tenemos la extensión de la cadena ADN polimerasa que está enlazados al ADN blanco obteniendo nuevas cadenas procedente de la muestra original este proceso tiene una duración aproximadamente de

4 a 6 horas según lo indican diferentes autores. Esta técnica tiene un gran potencial para la detección de infecciones fúngicas justificándose por sus resultados confirmatorios y fidedignos en el diagnóstico clínico<sup>2122</sup>.

En cuanto al método o técnica MALDI-TOF permite la caracterización de microorganismos mediante proteínas en su mayoría contiene ribosomales, primero se realiza un cultivo sólido, una pequeña cantidad del hemocultivo es colocado en la placa metálica conductora con una cierta cantidad de muestra celular de 10.000 a 100.000 unidades complementarias de colonias. Seguidamente a la placa se le añade la matriz que representa un compuesto orgánico en estado saturado. Luego de la desecación de la muestra y la matriz se cristaliza para formar una muestra incrustada proveniente de patrones para la ionización. Después la placa metálica se la coloca en el espectrómetro de masa llevándolo a ionización por medio del rayo láser ultravioleta con ondas de 337nm. Al ionizar, las proteínas son lanzadas a un recipiente al vacío donde llegan hacer separadas, llegando finalmente al espectrómetro de masa proporcionando como resultado un espectro de picos, llamada también huella digital, teniendo el perfil del microorganismo es comparado con la base de datos del programa informático dando la identificación del microorganismo. Este ciclo tiene una duración entre 5 a 7 días, es una técnica que presenta un alto grado de validez en el diagnóstico micológico<sup>14</sup>.

Ambas técnicas son de gran importancia al momento de determinar un tipo de hongos obteniendo óptimos resultados confirmando y evitando resultados falsos negativos en la identidad de los microorganismos. A diferencia de que cada una tiene sus características como la PCR es rápida, depende de una hebra de ADN modelo, su identificación es simple obteniendo los resultados en un lapso de 4 a 6 horas. MALDI-TOF su proceso es complejo tiene una duración de 5 a 7 días para entregar un resultado, siempre considerando primero la realización de un hemocultivo.



#### **4. CONCLUSIÓN**

La detección de micosis mediante las técnicas PCR y MALDI-TOF se consideran por ser precisas, fiables, con un alto grado confirmatorio en el diagnóstico del microorganismo fúngicos de esta manera identificando las características particulares de las técnicas antes mencionadas y estableciendo la importancia de estas técnicas moleculares en el diagnóstico de la micología.

Mediante el análisis de las diferentes fuentes bibliográficas se pudo encontrar diversos métodos a utilizar en un laboratorio clínico en la cual se escogió la técnica PCR y MALDI-TOF para la identificación de micosis.

La técnica PCR se puede indicar que es un proceso de gran importancia para la identificación de infecciones fúngicas es muy utilizado en los laboratorios por su rapidez y facilidad al momento de dar un diagnóstico, es necesario un fragmento de la hebra modelo de ADN para multiplicar billones de copia entre 4 a 6 horas. En cuanto a la técnica MALDI-TOF su procedimiento es complejo primero se realizar un hemocultivo, el método que se utiliza es una ionización en el espectrómetro de masa, mediante el estudio de proteínas para la identificación de microorganismos la entrega de resultados requiere de 5 a 7 días.

Cabe recalcar que ambas técnicas tienen características muy similares al momento de identificar infecciones fúngicas por su especificidad y sensibilidad, identificando levaduras, hongos, moho, bacterias y virus.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Infecciones, M.; Micosis, M. *Asociación Panamericana de Infectología Infecciones Fúngicas Sistémicas: Manual Práctico; Compilado Por Fernando Riera . - 3a Edición Bilingüe - Córdoba : Recfot , 2019.*; 2019.
- (2) Aguilera, R.; Antonio, M.; Morales, R.; Rogelio, C.; Alvarado, S.; Leticia, C.; Macias, M.; Betancourt, A. Las Micosis Su Tratamiento Terapéutico y Fenómenos de Resistencia. *Univ. Guanajuato* **2021**.
- (3) Silva, J. T.; Ruiz-Camps, I.; Aguado, J. M. Evolución de La Infección Fúngica Invasora En Los Últimos 30 Años José. *Rev. Iberoam. Micol.* **2021**, *38* (2), 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2021.03.003>.
- (4) Fera, E. F. Diagnóstico Micológico Por Técnicas No Convencionales En El Siglo XXI Mycological Diagnosis by Non-Conventional Techniques in the 21 St Century. **2020**, *72* (3), 1–24.
- (5) Mera Cumbicus, K. Interpretación de La Técnica de PCR-TR Para La Determinación de Su Reproducibilidad, Especificidad y Sensibilidad Con El Histoplasma Capsulatum. **2020**.
- (6) Maldonado, I.; Ramírez, D. G.; Striebeck, P.; Lafage, M. Espectrometría de Masas MALDI-TOF: Evaluación de La Etapa Preanalítica Para La Identificación de Hongos Miceliales. **2017**, *49* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.10.001>.
- (7) María Siller-Ruiz. Establecimiento de Protocolos Operativos Estándar (POE) Para La Identificación de Hongos Filamentosos Patógenos Para El Humano Relacionados Con Los Filos Ascomycota y Mucoromycota Por La Tecnología MALDI-TOF /MS. **2018**, 1–71. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016>.
- (8) F., M. N. & C. Métodos de Diagnóstico En Micología Diagnostic Methods in Mycology. *Rev. CES Med.* **2018**, *33* (1), 41–52. <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.32.1.5>.
- (9) Yáñez Domínguez, D. D. SITUACIÓN DE LA MICOSIS SUPERFICIAL EN ECUADOR. **2019**.
- (10) Hernández Chacón, J. R.; Torres Morales, S. A.; Hernández Chacón, E. M. Esporotricosis: La Micosis Subcutánea Más Distribuida En El Mundo. *Rev. Medica Sinerg.* **2021**, *6* (9), e714. <https://doi.org/10.31434/rms.v6i9.714>.
- (11) Aldama, A.; Aldama, J. G.; Pereira, J. Valor de Las Técnicas Moleculares y de Los Factores de Riesgo En El Diagnóstico y Evolución de La Esporotricosis. A Propósito de 2 Casos Por Sporothrix Brasiliensis y S. Globosa. *An. la Fac. Ciencias Médicas* **2020**, *53* (3), 177–184. <https://doi.org/10.18004/anales/2020.053.03.177>.

- (12) Angarita, M.; Torres, M. I.; Díaz, A. Técnicas de Biología Molecular En El Desarrollo de La Investigación. Revisión de La Literatura. *Rev. Habanera Ciencias Médicas* **2017**, *16* (5), 796–807.
- (13) Zardoya, R. *35 Años de La PCR, La Técnica Que Revolucionó La Biología Molecular*, **2019**.  
[https://doi.org/10.18567/sebbmdiv\\_RPC.2019.03.1](https://doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2019.03.1).
- (14) Maldonado, N.; Robledo, C.; Robledo, J. La Espectrometría de Masas MALDI-TOF En El Laboratorio de Microbiología Clínica. *Infectio* **2018**, *22* (1), 35–45. <https://doi.org/10.22354/in.v0i0.703>.
- (15) Eddy Machaca Arancibia. “VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL PARA CUANTIFICACIÓN DEL PROMOTOR CAMV P-35S Y DEL TERMINADOR T-NOS EN GRANOS DE SOYA.” *Estadística 1* **2020**, *5* (48), 01–75.
- (16) Gómez, J. Identificación Fenotípica, Por Espectrometría de Masas MALDI-TOF y Secuenciación de Hongos Filamentosos Que Causan Onicomicosis o Dermatofitosis Recolectados En Un Laboratorio Clínico de La Ciudad Medellín, Colombia. **2019**.
- (17) DOMÍNGUEZ, D. D. Y. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS ESPECIES DE CANDIDA ALMACENADAS EN EL LABORATORIO DE MICOLOGÍA CLÍNICA DE LA CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA, FACULTAD DE MEDICINA DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR EN LA CIUDAD DE QUITO CORRESPONDIENTES AL P. 2020.
- (18) Camacaro, L.; Arbeloa, M. De; Cavallera, E. PCR Multiplex En La Detección de Tinea Unguium En Pacientes de Caracas –. **2019**, *60* (2), 160–170. <https://doi.org/10.22209/IC.v60n2a05>.
- (19) Siller-Ruiz, M.; Hernández-Egido, S.; Sánchez-Juanes, F.; González-Buitrago, J. M.; Muñoz-Bellido, J. L. Métodos Rápidos de Identificación de Bacterias y Hongos. Espectrometría de Masas MALDI-TOF, Medios Cromogénicos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2017**, *35* (5), 303–313.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.010>.
- (20) Guarro, J. Taxonomía y Biología de Los Hongos Causantes de Infección En Humanos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2012**, *30* (1), 33–39.  
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.006>.
- (21) Estenio, F.; Santacruz, M.; Aurora, J.; Villegas, C. La PCR Como Prueba Para Confirmar Casos Vigentes de COVID-19. **2020**, *4* (2).  
[https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(2\).mayo.2020.64-74](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(2).mayo.2020.64-74).

- (22) Moreno-Velázquez, M.; Hernández-Ramos, L.; Preuss-Angeles, A. K.; Ronces-Frutos, L. E.; Morales-González, I.; Carrillo-Ortiz, N.; Cárcamo-Rodríguez, A. Detección Por PCR de *Guignardia Bidwellii*, Agente Causal de La Pudrición Negra de La Vid. *Rev. Mex. Fitopatol. Mex. J. Phytopathol.* **2019**, *37* (3), 383–398. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1905-5>.

## 6. ANEXOS

<b>MICOSIS SUPERFICIALES</b>	<b>MICOSIS SUBCUTÁNEAS</b>	<b>MICOSIS PROFUNDAS</b>
Piedra negra	Maduromicosis	Bastomicosis
Tiña negra	Cromoblastomicosis	Coccidioidomicosis
Tiña versicolor	Faeohifomicosis	Criptococosis
Dermatomicosis	esporotricosis	Histoplasmosis
Queratitis micotica		Paracoccidioido
Onicomicosis		Esporotricosis
Tiña ungueal		

*Ilustración 1. Tabla de la clasificación y taxonomía de la micosis.*

<b>PCR</b>	<b>MALDI-TOF</b>
La identificación es simple	La identificación es complicada
Se utiliza solo un fragmento del ADN	Se realiza un cultivo sólido
Obtención de resultados en 4 a 6 horas	Obtención de resultados aproximado de 5 a 7 días
Depende de una ADN polimerasa	Se identifica a partir de un hemocultivo
No es costoso el examen	Es costoso el examen por su complejidad

*Ilustración 2. Tabla de las diferencias entre la técnica PCR y MALDI- TOF.*

<b>PCR y MALDI-TOF</b>
Alta especificidad y sensibilidad
Fiable y precisa
Identifican levaduras, hongos, moho, bacterias y virus.

*Ilustración 3. Tabla de semejanzas entre la técnica PCR y MALDI- TOF.*