



TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

MOLECULAR TECHNIQUES APPLIED TO CLINICAL DIAGNOSIS

Jennifer López Sánchez^{1*}

¹ Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Ambato-Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3966-0476>. Correo: jlopez4595@uta.edu.ec

Gabriela Valenzuela Sánchez²

² Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Ambato-Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2691-44477>. Correo: gp.valenzuela@uta.edu.ec

* Autor para correspondencia: jlopez4595@uta.edu.ec

Resumen

Las técnicas de biología molecular permiten realizar diagnósticos de forma más rápida, posibilitan monitorear la progresión de alguna enfermedad, mejorar la calidad de los pronósticos. Existen muchas variantes para amplificar, detectar y secuenciar ácidos nucleicos como el ADN o ARN, dependiendo de las sospechas clínicas. La técnica más común es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), sobre la cual se han desarrollado distintas modificaciones para mejorar el proceso de diagnóstico e interpretación, como son: la PCR multiplex, RT-PCR, los microarrays y la secuenciación de próxima generación. Los objetivos del estudio se enfocan principalmente en reconocer las técnicas de biología molecular aplicadas en el diagnóstico clínico, analizar las técnicas más comunes usadas para identificar alteraciones en el genoma e identificar las distintas técnicas que podrían llegar a implementarse para un mejor diagnóstico. La técnica de PCR-multiplex permite la detección simultánea de múltiples patógenos en una sola reacción, lo que resulta útil para el diagnóstico temprano, mostrando mayor sensibilidad que los hemocultivos convencionales, la secuenciación de próxima generación es una alternativa para el análisis de muestras citológicas, permitiendo predecir la respuesta al tratamiento y el riesgo de malignidad en cáncer de cuello uterino, donde se han identificado mutaciones frecuentes; RT-PCR/tiempo real es la técnica molecular principal para la detección del SARS-CoV-2, amplificando los genes E, RdRP y N, con alta sensibilidad y especificidad para el mismo. La hibridación genómica comparada mediante microarrays es una herramienta prometedora para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas fetales y enfermedades genéticas, evitando la necesidad de técnicas invasivas.

Palabras clave: diagnóstico genético, array-CGH, secuenciación de próxima generación, PCR.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons* de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com



Abstract

Molecular biology techniques make it possible to get a diagnoses so quickly, make it possible to monitor the progression of a disease, and improve the quality of prognoses. There are many variants to amplify, detect and sequence nucleic acids such as DNA or RNA, depending on clinical suspicions. The most common technique is the polymerase chain reaction (PCR), on which different modifications have been developed to improve the diagnosis and interpretation process, such as: multiplex PCR, RT-PCR, microarrays and sequencing. Next Generation. The objectives of the study focus mainly on recognizing the molecular biology techniques applied in clinical diagnosis, analyzing the most common techniques used to identify alterations in the genome and identifying the different techniques that could be implemented for a better diagnosis. The multiplex PCR technique allows the simultaneous detection of multiple pathogens in a single reaction, which is useful for early diagnosis, showing greater sensitivity than conventional blood cultures. Next generation sequencing is an alternative for the analysis of cytological samples. Allowing to predict the response to treatment and the risk of malignancy in cervical cancer, where frequent mutations have been identified; RT-PCR is the main molecular technique for the detection of SARS-CoV-2, amplifying the E, RdRP and N genes, with high sensitivity and specificity for the same. Comparative genomic hybridization using microarrays is a promising tool for prenatal diagnosis of fetal chromosomal anomalies and genetic diseases, avoiding the need for invasive techniques.

Keywords: *genetic diagnosis, next generation sequencing, genomics, PCR.*

Fecha de recibido: 18/04/2024

Fecha de aceptado: 21/06/2024

Fecha de publicado: 25/06/2024

Introducción

La biología molecular es un estudio centrado en la estructura, función y composición de moléculas esenciales como el ADN, el ARN y proteínas, se emplea varios métodos para entender las interacciones entre estas, la expresión genética y la regulación celular (1). Las técnicas de biología molecular se han convertido en herramientas indispensables en el diagnóstico clínico y la medicina.

La biología molecular ha revolucionado el diagnóstico clínico a través de tecnologías de detección más rápidas y precisas para el reconocimiento de diversas patologías. Técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permiten detectar patógenos como virus, bacterias o parásitos, realizando copias de una determinada región de ADN que se desea amplificar (2). Ante la pandemia mundial enfrentada hace pocos años, se ha considerado la relevancia de las técnicas moleculares y su uso en el laboratorio clínico, a partir de ello la PCR en tiempo real (RT-PCR) ha sido considerada el estándar de oro para la identificación del SARS-CoV-2 mediante un proceso de amplificación de los genes blancos de la estructura del virus (3).

Otro desafío importante que enfrenta la población es la detección temprana de VPH para la prevención de cáncer de cuello uterino, para ello el análisis de muestras citológicas mediante técnicas de secuenciación de



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons* de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com



nueva generación (NGS) en comparación con el uso de muestras histológicas convencionales, permiten, por un lado, predecir de manera más precisa la respuesta del paciente a los diferentes tratamientos y, por otro lado, refinar la evaluación del riesgo de malignidad de la enfermedad (4). En el estudio realizado por (5) aporta que, la combinación de PAP test y los métodos moleculares de identificación de infección con VPH han demostrado ser herramientas útiles para disminuir la prevalencia de esta patología a nivel de Latinoamérica.

El objetivo de la presente revisión bibliográfica es describir las técnicas moleculares empleadas para el diagnóstico clínico, ya que, permiten realizar diagnósticos de forma más temprana y confiable, al tiempo que posibilitan el monitoreo de la enfermedad, establecer su pronóstico y aumentar la supervivencia.

Materiales y métodos

Para esta revisión bibliográfica, se realizó una investigación de tipo descriptivo, se empleó las siguientes bases de datos: Pubmed, Repositorios Universitarios, WileyOnline Library, Scielo y Google académico. Se utilizaron palabras clave como: “diagnóstico genético, técnicas moleculares, genómica, PCR”. Se realizó una revisión de literatura en inglés y español con de los artículos disponibles dentro de los últimos 5 años de publicación. Además, se descartaron los duplicados, los artículos no originales y las publicaciones que no cumplieran con los objetivos de la revisión.

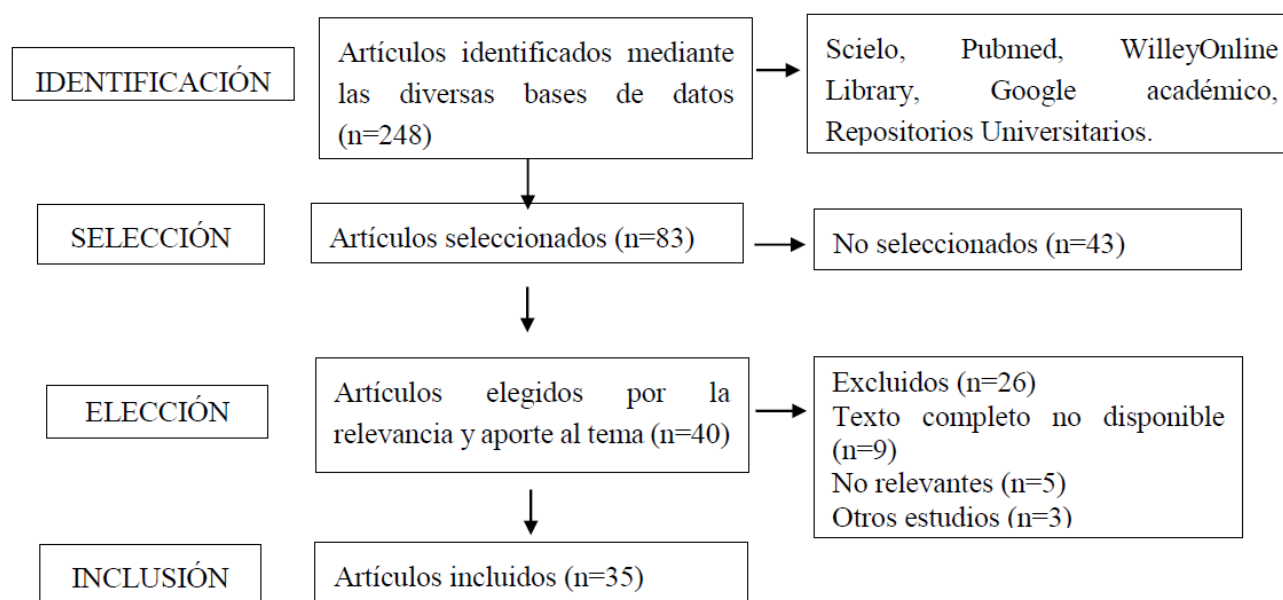


Figura 1. Flujograma utilizado para la recopilación bibliográfica.





Resultados y discusión

PCR-multiplex

Los ensayos moleculares aplicados para el diagnóstico temprano de sepsis en recién nacidos cobran relevancia en cuanto a los resultados emitidos en comparación con los hemocultivos (6). El estudio realizado por (7) establece que, el 15% de las muestras analizadas presentan resultados positivos para múltiples bacterias a partir del panel de PCR-multiplex dirigida a *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* (GBS), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Mycoplasma genitalium*.

Actualmente, el hemocultivo es el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis neonatal, sin embargo, esta prueba suele arrojar resultados positivos en la minoría de muestras de individuos sospechosos de esta patología, en tanto, existen varias causas que pueden generar falsos negativos como por ejemplo la insuficiencia de volumen de sangre, muestras con bajos niveles de bacteriemia, pacientes que reciben tratamiento de antibióticos si saber su resultado previamente o cuando el cultivo se ve afectado por bacterias, hongos o virus oportunistas (8) es importante destacar que, *Ureaplasma spp.* y *Mycoplasma spp.*, rara vez se detectan en cultivos por sus rigurosos requisitos de crecimiento, sin embargo, mediante el uso de PCR multiplex se puede identificar estos microorganismos mediante el reconocimiento de cinco genes expresados diferencialmente: *PROS1*, *TDRD9*, *RETN*, *LOC728401* y *METTL7B* y el de genes relacionados con el sistema inmunitario: *NSUN7*, cuyo análisis podría favorecer el tratamiento (9).

Otros estudios que emplean esta técnica identifican que, las infecciones por equinocosis son ocasionadas por helmintos pertenecientes al género *Echinococcus*, existen especies estrechamente relacionadas involucradas en lesiones parasitarias que afectan a animales y ocasionalmente a los seres humanos. La prueba de PCR múltiplex posibilita la identificación de cuatro especies de *Echinococcus*, basada en una secuencia de 880 pb del gen parcial de la subunidad I (*cox1*) del citocromo c oxidasa como lo demuestra el estudio de (Shang et al. 2019) para identificar la presencia de equinocosis alveolar (EA) y equinocosis quística (CE) causadas por *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus sensu stricto*, *E. orteppi* y *E. canadensis* (10).

La detección de la infección causada por *E. granulosus* o *E. multilocularis*, de forma preferencial en los lugares con bajos recursos económicos se realiza por medio de ecografías y radiografías, esto permite evidenciar la existencia de quistes de estas especies alojados en el hígado y los riñones, para retirar los quistes el tratamiento a elegir es retirarlos de manera quirúrgica, lo cual, es un riesgo para los pacientes (11). Sin embargo, la técnica molecular favorece un diagnóstico más preciso y temprano, esto disminuiría considerablemente el índice de mortalidad post quirúrgica por hidatidosis que como reporta la Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente es del 2,2%, además, se podría disminuir el 6,5% de los casos de recidivas que retrasan la recuperación.

PCR de transcripción inversa/tiempo real

En el caso de la enfermedad producida por SARS-CoV-2 los objetivos moleculares principales para la detección de virus son dos genes específicos: el gen (E) que codifica la proteína de envoltura viral y el gen RdRP que codifica la ARN polimerasa ARN-dependiente, los coronavirus típicos tienen al menos diez marcos de lectura abierta (ORF) en su genoma (12); los primeros ORF se traducen en dos grandes poliproteínas, otros





ORF del SARS-CoV-2 codifican cuatro proteínas estructurales vitales: la proteína spike (S) de la envoltura, la proteína de envoltura (E), la nucleocápside (N) y la proteína de membrana (M) (13).

Estudios recientes han demostrado que los cebadores N, ORF y RdRp tienen mayor sensibilidad, especificidad, con el 96,6% y 100,0% y, 95,7% y 88,9% respectivamente (14). Por otro lado, se sabe que la aparición de nuevas mutaciones en el genoma de este virus dificulta potencialmente la detección y el diagnóstico de COVID-19 debido a cambios en las regiones diana y la secuenciación genética se vuelve más diversa (15).

La amplificación del ARN viral mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) se lleva a cabo utilizando muestras obtenidas del tracto respiratorio superior. En este proceso, se establece un umbral de ciclo (Ct), que se define como el número de ciclos de amplificación requeridos para que el gen específico alcance el límite de positividad (3). El uso del umbral de ciclo (Ct) proporciona una medida semicuantitativa de la carga viral presente en la muestra, un valor de Ct bajo indica una mayor carga viral, lo cual puede estar relacionado con una mayor transmisibilidad y gravedad de la enfermedad; durante los primeros meses de la pandemia, cuando las pruebas serológicas aún no estaban ampliamente disponibles, la RT-PCR fue la única prueba confiable para el diagnóstico de COVID-19. Esto fue fundamental para comprender la propagación del virus y tomar medidas de salud pública adecuadas.

De acuerdo con la actualización de casos por coronavirus en Ecuador, el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) ha recibido 2'470.170 muestras para RT-PCR COVID-19 de las cuales 732.038 son casos confirmados con esta prueba, en los laboratorios autorizados por la Agencia de Aseguramiento de la Calidad de los Servicios de Salud y Medicina Prepagada– ACCESS hasta el corte abril 2023 (Ministerio de Salud Pública de Ecuador 2024; Ministerio de Salud Pública de Ecuador 2023). A partir, del 2019 la técnica de PCR en tiempo real se convirtió en la técnica más común usada en laboratorio clínico, varios laboratorios implementaron áreas de biología molecular debido a que la única forma de diagnosticar una infección por COVID-19.

GeneXpert MTB/RIF

Un estudio comparativo entre la técnica molecular GeneXpert MTB/RIF y las técnicas convencionales de diagnóstico de tuberculosis (BK y cultivo en Löwenstein-Jensen) (16) en pacientes sintomáticos, con un enfoque particular en aquellos con coinfección VIH, destaca la importancia de implementar nuevas herramientas diagnósticas para lograr un pronóstico rápido y correcto de la tuberculosis, especialmente en poblaciones vulnerables. El estudio concluye que GeneXpert MTB/RIF demostró ser una herramienta diagnóstica efectiva, permitiendo la detección rápida de *Mycobacterium tuberculosis* y la identificación de resistencia a la Rifampicina, lo que facilita el inicio temprano del tratamiento específico y contribuye a evitar la diseminación de la infección (17).

La incidencia de resistencia a la rifampicina en *Mycobacterium tuberculosis* en muestras pulmonares indican una baja tasa de resistencia (18), hasta finales de 2022, países desarrollados y subdesarrollados habían adquirido módulos GeneXpert a través de la iniciativa de acceso negociado por precios con preferencia de la OMS, así mismo un informe de esta institución en el año 2021 indica que al menos 3,5 millones de personas con presunta tuberculosis habían sido evaluadas anualmente con esta técnica en años recientes (11). Se resalta





el potencial de la prueba molecular en la mejora del diagnóstico temprano y el tratamiento adecuado de la tuberculosis multidrogoresistente (19).

El rendimiento de GeneXpert MTB/RIF para detectar resistencia a la rifampicina en mutaciones menos comunes en el gen *rpoB*, un estudio demostró que Xpert identificó correctamente la mayoría de las mutaciones subyacentes de *rpoB*, pero también generó resultados imprecisos en un número significativo de casos. Esto destaca la importancia de interpretar cuidadosamente los resultados de la prueba, ya que podrían indicar resistencia a la rifampicina en un grado desconocido. Aunque Xpert es una herramienta valiosa para detectar resistencia a la rifampicina, su capacidad para identificar mutaciones menos comunes puede ser limitada en algunos casos (20).

Los autores indican la precisión diagnóstica de GeneXpert MTB/RIF realizado en una muestra combinada de esputo, en donde, la sensibilidad y el valor predictivo negativo de Xpert, son superiores a los de baciloscopia alcohol ácido resistentes (21). Esto respalda el uso de Xpert como un enfoque rápido y efectivo para descartar la tuberculosis en entornos de baja incidencia, lo que puede llevar a un aislamiento más rápido de los pacientes y una mejor gestión de los recursos de salud (22). Además, los resultados del estudio de (23) muestran la sensibilidad de la prueba en saliva es comparable a la de la muestra de esputo, lo que sugiere que la saliva podría ser una alternativa viable para el diagnóstico de tuberculosis en entornos con una alta carga de la enfermedad y cuando la recogida de esputo puede ser difícil.

En la mayoría de los casos se emplea el cultivo bacteriológico estándar para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de tuberculosis extrapulmonar (EPTB), si bien, el estudio de (24) muestra una alta concordancia entre GeneXpert y el cultivo en la mayoría de las muestras, también revela una sensibilidad relativamente baja del 69,4% en comparación con el cultivo. Esto sugiere que GeneXpert podría perder algunos casos de EPTB, especialmente en muestras de líquidos ascítico y pleural, aunque ofrece un tiempo de respuesta rápido, sus resultados negativos deben interpretarse con precaución, especialmente en entornos endémicos donde la tuberculosis es común. Esta es una de las técnicas comúnmente integradas en áreas de laboratorio clínico, principalmente asociadas a zonas de hospitales, es por tanto que se tiene mucha y relevante información sobre la técnica y sus usos en el diagnóstico de tuberculosis, además, que nos permite interpretar la posible resistencia a diversos antibióticos.

Técnicas innovadoras para el diagnóstico clínico

Secuenciación de próxima generación

En las muestras citológicas analizadas por secuenciación de próxima generación (NGS) son una alternativa valiosa a las muestras histológicas convencionales, para predecir la respuesta al tratamiento y determinar el riesgo de malignidad, estas son una fuente de ADN de alta calidad para el análisis, siendo útil para predecir la evolución de los pacientes (4). Estudios realizados en tejidos cancerígenos han permitido detectar que una de las mutaciones más frecuentes, es en el gen TP53, la inactivación de la vía de P53 está estrechamente asociada con un peor pronóstico de cáncer de cuello uterino en un 22,45% en fase temprana (25).

En el caso de la adenomiosis, que afecta los tejidos endometriales y el miometrio, estudios recientes demuestran mutaciones somáticas de *KRAS* de entre 24% a 33%, las dos mutaciones somáticas de este gen identificadas en tejido adenomiótico: p. Gly12Asp y p. Gly12Ala se determinan como patógenas más comunes





en tejidos cancerosos (26). De forma actual se han logrado pocos avances en el tratamiento de esta neoplasia maligna, puesto que se intenta identificar perfiles genéticos que delimiten mutaciones que favorezcan resoluciones terapéuticas, es importante mencionar que, se necesitan estudios posteriores que ahonden la importancia pronóstica del cáncer de cuello uterino.

Según datos del Ministerio de Salud Pública de Ecuador, a nivel mundial el cáncer de cuello uterino es la cuarta causa más frecuente como enfermedad maligna en la mujer, con una incidencia del 13.3 por cada 100 mil habitantes y una tasa de mortalidad de 7.3 por cada 100 mil habitantes. En el país, según los datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, la tasa de mortalidad de CCU es de 11,9 por cada 100 mil habitantes (27).

Estos avances en la genómica impulsarán una atención más precisa y eficiente, mejorando los resultados clínicos y la calidad de vida de las mujeres afectadas por esta enfermedad.

Microarrays

El uso de la hibridación genómica comparada mediante microarray (array-CGH) como herramienta de primera línea a nivel de diagnóstico prenatal está siendo actualmente discutido por la comunidad científica. Permite detectar mutaciones genéticas asociadas a enfermedades como la discapacidad intelectual; mediante análisis de ADN fetal en líquido amniótico, se pueden detectar anomalías genéticas aún en el embarazo (28). Se basa en la detección de microdeleciones en todo el genoma mediante la hibridación de ADN sobre un molde de nucleótidos sintéticos con múltiples secuencias ubicadas en el genoma y asociadas a patologías (29).

Un estudio realizado en la Universidad de México demuestra en su resultado, el caso de un paciente con síndrome de Sotos, enfermedad hereditaria que se caracteriza por retraso del desarrollo cognitivo prevalentemente; la duplicación de un gen y la delección de 43 genes, entre los que se encuentran NSD1 en el cromosoma 5, asociado a dicho síndrome (30).

En este sentido, resulta una técnica muy eficiente para la detección de anomalías cromosómicas fetales, en las que se ha llegado a conocer además que las aneuploidías a nivel cromosómico son la principal causa de abortos espontáneos, alrededor de un 50%, durante el primer trimestre prevalentemente en parejas consanguíneas como lo destacan los autores (31). El diagnóstico con la técnica mencionada evita la obligación de emplear técnicas invasivas y la posibilidad de concientizar a las parejas sobre el riesgo de consanguinidad. Como consideración principal esta técnica debería implementarse como protocolo de diagnóstico prenatal por las ventajas que se han reportado en esta redacción.

Tanto la NGS como los microarrays han demostrado ser herramientas poderosas en la medicina genómica, brindando información valiosa para el diagnóstico, el pronóstico y el desarrollo de terapias personalizadas. Su importancia radica en su capacidad para identificar mutaciones y anomalías genéticas con mayor precisión y eficiencia, lo que contribuye a mejorar la atención médica y la calidad de vida de los pacientes.





Conclusiones

Una vez realizada esta revisión bibliográfica se concluye que: la implementación de la técnica de PCR-multiplex ha mejorado significativamente el diagnóstico temprano de sepsis neonatal y otras infecciones, permitiendo la identificación de múltiples patógenos simultáneamente con mayor precisión que los métodos convencionales como los hemocultivos, es, por tanto que esta técnica representa una ventaja considerable en cuanto a acortar el tiempo para obtener un resultado.

En el contexto de la enfermedad por SARS-CoV-2, la PCR de transcripción inversa/ tiempo real sigue siendo fundamental para la detección del virus, aunque la aparición de nuevas mutaciones puede plantear desafíos en la sensibilidad de la prueba. Sin embargo, el desarrollo y optimización de cebadores específicos han mejorado significativamente la sensibilidad y especificidad de la RT-PCR en la detección del virus.

Los resultados de GeneXpert se deben interpretar en conjunto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio, y considerar sus limitaciones en ciertos casos; representa un avance significativo en el diagnóstico de tuberculosis y su utilidad en la lucha contra esta enfermedad a nivel global. Sin embargo, es necesario seguir investigando y mejorando esta técnica para maximizar su impacto y garantizar un diagnóstico y tratamiento más efectivos para todos los pacientes.

Las técnicas de secuenciación de próxima generación (NGS) y microarrays han demostrado ser herramientas valiosas en el diagnóstico clínico, permitiendo la detección precisa de mutaciones genéticas y anomalías cromosómicas asociadas con diversas enfermedades, incluyendo varios tipos de cáncer y trastornos congénitos. Estos avances brindan información crucial para el pronóstico y el desarrollo de terapias personalizadas, sin embargo, el costo de implementación puede ser la principal desventaja para el uso cotidiano de estas técnicas.

Finalmente, la hibridación genómica comparada mediante microarray (array-CGH) muestra un potencial significativo en el diagnóstico prenatal de anomalías genéticas, permitiendo la detección temprana de mutaciones asociadas a enfermedades, lo que puede tener un impacto importante en la salud fetal y la toma de decisiones clínicas. La técnica ofrece la ventaja de evitar procedimientos invasivos, lo que reduce el riesgo para la madre y el feto.

Referencias

1. de Sousa Pinto M, da Rosa Borges I, Fontoura LGO, Carneiro LC, de Moraes Filho AV. Molecular biology-Some techniques and applications: Literature review. Seven Editora. 2023.
2. Zhang H, Yan Z, Wang X, Ganova M, Chang H, Lassakova S, et al. Determination of advantages and limitations of qPCR duplexing in a single fluorescent channel. ACS omega. 2021;6(34):22292-300.
3. Shoaib N, Noureen N, Faisal A, Zaheer M, Imran M, Ahsan A, et al. Factors associated with cycle threshold values (Ct-values) of SARS-CoV2-rRT-PCR. Molecular Biology Reports. 2022;49(5):4101-6.
4. Pisapia P, Pepe F, Sgariglia R, Nacchio M, Russo G, Conticelli F, et al. Next generation sequencing in cytology. Cytopathology. 2021;32(5):588-95.





5. Bravo Crespo DI, Román Collazo CA. Métodos diagnósticos de VPH para la prevención del cáncer cérvico uterino en Ecuador. *Vive Revista de Salud*. 2021;4(11):176-92.
6. Kosmeri C, Giapros V, Serbis A, Baltogianni M. Application of Advanced Molecular Methods to Study Early-Onset Neonatal Sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(4):2258.
7. Oeser C, Pond M, Butcher P, Bedford Russell A, Henneke P, Laing K, et al. PCR for the detection of pathogens in neonatal early onset sepsis. *PLoS One*. 2020;15(1):e0226817.
8. Fatmi A, Chabni N, Cernada M, Vento M, González-López M, Aribi M, et al. Clinical and immunological aspects of microRNAs in neonatal sepsis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;145:112444.
9. Liao W, Xiao H, He J, Huang L, Liao Y, Qin J, et al. Identification and verification of feature biomarkers associated with immune cells in neonatal sepsis. *European Journal of Medical Research*. 2023;28(1):105.
10. Knapp J, Lallemand S, Monnien F, Felix S, Courquet S, Umhang G, et al. Real-time multiplex PCR for human echinococcosis and differential diagnosis. *Parasite*. 2023;30.
11. OMS. Echinococcosis 2020 [Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>. .
12. Pastian-Soto G. Bases genéticas y moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de patogénesis y de respuesta inmune. *International journal of odontostomatology*. 2020;14(3):331-7.
13. Pinilla G, Cruz CA, Navarrete J. Diagnóstico molecular de SARS-CoV-2. *Nova*. 2020;18(SPE35):35-41.
14. Rahbari R, Moradi N, Abdi M. rRT-PCR for SARS-CoV-2: Analytical considerations. *Clinica Chimica Acta*. 2021;516:1-7.
15. Melián-Rivas A, Calcumil-Herrera P, Boin-Bakit C, Carrasco-Soto R. Detección de COVID-19 (SARS-CoV-2) mediante la saliva: Una alternativa diagnóstica poco invasiva. *International journal of odontostomatology*. 2020;14(3):316-20.
16. Hernández-Solis A, Quintana-Martínez A, Quintanar-Ramírez MI, Álvarez-Maldonado P, Reding-Bernal A. Tuberculosis extrapulmonar: un problema de salud pública. *Cirugía y cirujanos*. 2023;91(1):131-8.
17. Mederos Cuervo LM, Martínez Romero MR, Sardiñas Aragón M, García León G, Pereira Gross EG, Díaz Rodríguez R. Aplicabilidad de la herramienta molecular GeneXpert MTB/RIF en el diagnóstico de la Tuberculosis. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2020;51(3):173-80.
18. Selfegna S, Alealign A. Detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance using GeneXpert MTB/RIF assay at enat hospital, Central Ethiopia. *Tuberculosis Research and Treatment*. 2022;2022(1):1250404.





19. Sah SK, Bhattarai PR, Shrestha A, Dhami D, Guruwacharya D, Shrestha R. Rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by GeneXpert MTB/RIF and associated factors among presumptive pulmonary tuberculosis patients in Nepal. *Infection and Drug Resistance*. 2020;2911-9.
20. Rigouts L, Keyzers J, Rabab R, Fissette K, van Deun A, de Jong BC. GeneXpert MTB/RIF Ultra performance to detect uncommon *rpoB* mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Research Notes*. 2023;16(1):146.
21. Yeong C, Byrne AL, Cho J-G, Sintchenko V, Crighton T, Marais BJ. Use of GeneXpert MTB/RIF on a single pooled sputum specimen to exclude pulmonary tuberculosis among hospital inpatients placed in respiratory isolation. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;92:175-80.
22. Song Y-H, Li Q, Ma L-P, Liu R-M, Jiang G-L, Li Q, et al. Performance of the Xpert® MTB/RIF assay in the rapid diagnosis of tracheobronchial tuberculosis using bronchial washing fluid. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(10):0300060520921640.
23. Byanyima P, Kaswabuli S, Musisi E, Nabakiibi C, Zawedde J, Sanyu I, et al. Feasibility and sensitivity of saliva GeneXpert MTB/RIF Ultra for tuberculosis diagnosis in adults in Uganda. *Microbiology spectrum*. 2022;10(5):e00860-22.
24. Mukhida S, Vyawahare CR, Mirza SB, Gandham NR, Khan S, Kannuri S, et al. Role of GeneXpert MTB/RIF assay for the diagnosis of cervical lymph node tuberculosis and rifampicin resistance. *Tzu Chi Medical Journal*. 2022;34(4):418-22.
25. Pei X, Xiang L, Chen W, Jiang W, Yin L, Shen X, et al. The next generation sequencing of cancer-related genes in small cell neuroendocrine carcinoma of the cervix. *Gynecologic Oncology*. 2021;161(3):779-86.
26. Chao A, Wu R-C, Lin C-Y, Lee L-Y, Tsai C-L, Lee Y-S, et al. Targeted next-generation sequencing for the detection of cancer-associated somatic mutations in adenomyosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2023;43(1):2161352.
27. MSPE. MSP aplicó más de 98 mil pruebas moleculares contra el cáncer de cuello uterino en los últimos cuatro meses 2024 [Available from: <https://www.salud.gob.ec/msp-aplico-mas-de-98-mil-pruebas-moleculares-contra-el-cancer-de-cuello-uterino-en-los-ultimos-cuatro-meses/>].
28. Pinheiro M, Silva C, Lourenco L, Goncalves D, Doria S, Guardiano M, et al. Array-CGH: importance in the study of developmental delays in pediatrics. *Revista de Neurologia*. 2020;71(5):171-6.
29. Prior-de Castro C, Gómez-González C, Rodríguez-López R, Macher HC, Laboratorio ICdDPylCdGdlSEdMd. Diagnóstico genético prenatal de enfermedades monogénicas. *Advances in Laboratory Medicine/Avances en Medicina de Laboratorio*. 2023;4(1):40-51.
30. Loeza-Sierra HA, López-Santos HA, Castro-Coyotl DM. Fenotipo clínico mixto de delección y duplicación de la región del síndrome de Sotos: microdelección 5q35. 2-q35. 3 detectada por microarreglo de hibridación genómica comparativa. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*. 2021;78(5):489-94.





31. Najafi K, Gholami S, Moshtagh A, Bazrgar M, Sadatian N, Abbasi G, et al. Chromosomal aberrations in pregnancy and fetal loss: Insight on the effect of consanguinity, review of 1625 cases. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2019;7(8):e820.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons* de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com