



Artículo Valorado Críticamente

El uso de micromatrices de DNA para la detección de virus en infecciones del tracto respiratorio es una técnica prometedora, aunque debe depurarse, abarataarse y simplificarse antes de su introducción en la práctica clínica

Jesús Andrés de Llano. Servicio de Pediatría. Hospital General del Río Carrión. Palencia (España).

Correo electrónico: jmandres@ono.com

Carlos Ochoa Sangrador. Servicio de Pediatría. Hospital Virgen de la Concha. Zamora (España).

Correo electrónico: cochoas@meditex.es

Términos clave en inglés: Paramyxoviridae; Picornaviridae; Orthomyxoviridae; respiratory tract infections; sensitivity and specificity; oligonucleotide array sequence analysis

Términos clave en español: Paramyxoviridae; Picornaviridae; Orthomyxoviridae; infecciones del tracto respiratorio; sensibilidad y especificidad; análisis de secuencia en orden de oligonucleótidos

Fecha de recepción: 21 de octubre de 2008

Fecha de aceptación: 26 de octubre de 2008

Fecha de publicación: 1 de diciembre de 2008

Evid Pediatr. 2008; 4: 75

doi: vol4/2008_numero_4/2008_vol4_numero4.8.htm

Cómo citar este artículo

Andrés de Llano J, Ochoa Sangrador C. El uso de micromatrices de DNA para la detección de virus en infecciones del tracto respiratorio es una técnica prometedora, aunque debe depurarse, abarataarse y simplificarse antes de su introducción en la práctica clínica. Evid Pediatr. 2008; 4: 75

Para recibir Evidencias en Pediatría en su correo electrónico debe darse de alta en nuestro boletín por medio del ETOC en <http://www.aepap.org/EvidPediatr/etoc.htm>

Este artículo está disponible en: http://www.aepap.org/EvidPediatr/numeros/vol4/2008_numero_4/2008_vol4_numero4.8.htm

EVIDENCIAS EN PEDIATRIA es la revista oficial del Grupo de Pediatría Basada en la Evidencia de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. © 2005-08. Todos los derechos reservados. ISSN : 1885-7388

El uso de micromatrices de DNA para la detección de virus en infecciones del tracto respiratorio es una técnica prometedora, aunque debe depurarse, abaratare y simplificarse antes de su introducción en la práctica clínica

Jesús Andrés de Llano. Servicio de Pediatría. Hospital General del Río Carrión. Palencia (España).

Correo electrónico: jmandres@ono.com

Carlos Ochoa Sangrador. Servicio de Pediatría. Hospital Virgen de la Concha. Zamora (España).

Correo electrónico: cochoas@meditex.es

Referencia bibliográfica: Chiu CY, Urisman A, Greenhow TL, Rouskin S, Yagi S, Schnurr D, et al. Utility of DNA microarrays for detection of viruses in acute respiratory tract infections in children. *J Pediatr.* 2008;153:76-83.

RESUMEN

Conclusiones de los autores del estudio: dado su favorable perfil respecto a sensibilidad, especificidad y amplio espectro, los test virales basados en micromatrices (microarrays) prometen una importante ayuda diagnóstica para el pediatra clínico en la detección de infecciones del tracto respiratorio.

Comentario de los revisores: a pesar de las ventajas de estas nuevas técnicas, en el momento actual no parecen aplicables en la práctica asistencial, dado su alto coste y complejidad. Será necesario su abaratamiento, simplificación y automatización antes de que sustituyan las actualmente empleadas. Asimismo deberá reducirse el tiempo de retraso para la obtención de resultados y demostrarse en nuevos estudios su consistencia, reproducibilidad y rentabilidad clínica.

Palabras clave: Paramyxoviridae; Picornaviridae; Orthomyxoviridae; infecciones del tracto respiratorio; sensibilidad y especificidad; análisis de secuencia en orden de oligonucleótidos

ABSTRACT

Authors' conclusions: considering his favorable profile with regard to sensibility, specificity and wide spectrum, the viral test based on microarrays promise an important diagnostic help for the clinical pediatrician in the detection of infections of the respiratory tract.

Reviewers' commentary: in spite of the advantages of these new technologies, they do not currently seem to be applicable in the welfare practice, in view of his high cost and complexity. Lowering the price, simplification and automatization are necessary before they replace the technique nowadays in use. Likewise the time of delay for obtaining result will have to be shorter and the consistency, reproducibility and clinical profitability must be proved in new studies.

Keywords: Paramyxoviridae; Picornaviridae; Orthomyxoviridae; respiratory tract infections; sensitivity and specificity; oligonucleotide array sequence analysis

Resumen estructurado:

Objetivo: evaluar la validez de una micromatriz panviral (microarray Virochip) en la detección de virus asociados con infecciones del tracto respiratorio (ITR) en pediatría, comparado con la técnica convencional de inmunofluorescencia directa (IFD) y la considerada patrón de referencia, reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Diseño: estudio transversal de evaluación de pruebas diagnósticas.

Emplazamiento: laboratorio clínico de la Universidad de San Francisco California.

Población de estudio: se recogieron 278 muestras consecutivas de aspirado nasofaríngeo correspondientes a 222 niños atendidos durante dos meses en la Universidad de San Francisco (diciembre de 2003 y enero de 2004) para estudio de infección respiratoria mediante técnica IFD. La información clínica fue recogida de forma retrospectiva. El 71% de los pacientes estaban ingresados y su espectro clínico era variado (enfermedad respiratoria

no definida, infección respiratoria del tracto superior, bronquiolitis/crup, neumonía, exacerbación de asma, y un grupo de pacientes con fiebre sin enfermedad respiratoria, fundamentalmente inmunodeprimidos). No se describió el método utilizado para calcular el tamaño de la muestra.

Prueba diagnóstica: las muestras recibidas fueron analizadas mediante un equipo de IFD (Light Diagnostics Respiratory DFA Viral Screening an Identification Kit; Chemicon Internacional) que identifica siete virus: virus respiratorio sincitial (VRS), influenza A y B, parainfluenza 1, 2, 3, y adenovirus. La muestra restante fue congelada y almacenada a -80°C y posteriormente utilizada de forma ciega (no se indica el periodo) para el resto de las pruebas. Se empleó una micromatriz (Virochip) diseñada por el propio laboratorio para la identificación de las secuencias de oligonucleótidos de todos los virus conocidos, realizando los procedimientos de extracción de ARN, amplificación, hibridación, escaneado, análisis automático y manual. En un laboratorio de referencia se realizaron distintas técnicas de PCR para la detección

de RNA de VRS, influenza A, rinovirus y enterovirus. Tres muestras Virochip positivas / PCR negativas fueron reevaluadas mediante técnicas alternativas de PCR, mostrando resultados positivos.

Medición del resultado: se valoró la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de IFD y Virochip con respecto a la PCR para VRS, influenza A y rinovirus/enterovirus. También se estimó el número de virus detectados por Virochip no detectados con la IFD.

Resultados principales: Virochip fue superior a IFD en sensibilidad relativa, mostrando un incremento del 19% en la detección de siete virus respiratorios incluidos en el panel estándar de IFD. Asimismo, Virochip presentó una mayor sensibilidad que IFD para la detección de VRS e influenza A, detectada mediante PCR. En la tabla 1 se muestran los resultados comparados de ambas técnicas. La sensibilidad y especificidad de Virochip para rinovirus/enterovirus en conjunto con respecto a la PCR (virus no incluidos en la IFD) fue de 90% y 99%. Virochip también detectó virus no detectados rutinariamente o perdidos por IFD y PCR, así como coinfecciones e infecciones en pacientes críticamente enfermos en los que falló la IFD.

Conclusión: dado su favorable perfil respecto a sensibilidad, especificidad y amplio espectro, los test virales basados en micromatrices prometen una importante ayuda diagnóstica para el pediatra clínico en la detección de infecciones del tracto respiratorio.

Conflicto de intereses: no consta.

Fuente de financiación: beca Genentech Graduate y subvenciones Glaser Pediatric Network, Sandler Program for Asthma Research, Howard Hughes Medical Institute y Doris Duke Charitable Foundation.

Comentario crítico:

Justificación: en el momento actual estamos asistiendo a la aparición de nuevas técnicas diagnósticas aplicadas a la detección de agentes patógenos implicados en distintas enfermedades infecciosas. Estas nuevas técnicas resultan especialmente útiles en la identificación de virus y otros microorganismos de difícil identificación en los cultivos convencionales. Las micromatrices de ADN (microarrays) se definen como matrices bidimensionales de material genético, que permiten la automatización simultánea de miles de ensayos encaminados a conocer en profundidad la estructura de una dotación genética. La principal ventaja de esta novedosa tecnología frente a los métodos tradicionales (Northern, Southern, etc.), es la alta densidad de integración de material biológico que permite analizar simultáneamente miles de genes¹. El desarrollo de micromatrices adaptadas a la identificación de virus puede resultar especialmente útil en el estudio etiológico de la infecciones respiratorias en la infancia. Sin embargo, la validez de dichas técnicas sobre muestras clínicas no ha sido suficientemente evaluada ni comparada con las de otras pruebas ya introducidas en la práctica clínica.

Validez o rigor científico: las pruebas analizadas en este estudio (IFD y Virochip) son valoradas con un adecuado patrón de referencia (PCR)², aunque dicho patrón es incompleto en cuanto a los virus analizados, ya que sólo permite comparar la validez de las pruebas para dos virus (VRS e influenza A). Asimismo, la validez con respecto a otros virus, frecuentemente implicados en infecciones respiratorias (rinovirus/enterovirus), sólo puede ser estimada de forma agrupada. El espectro de pacientes es heterogéneo por lo que las estimaciones de probabilidad preprueba pueden no ser aplicables. Sería de interés evaluar el comportamiento en otros escenarios clínicos, fundamentalmente en diversos períodos estacionales y distintas latitudes. La descripción de las pruebas es adecuada, siendo su interpretación independiente. Aunque no se especifican, los datos disponibles permiten calcular los cocientes de probabilidades (likelihood ratio) y los intervalos de confianza.

Interés o pertinencia clínica: en el presente trabajo, la comparación entre la técnica convencional de IFD y el microarray panviral (Virochip) para la detección de los siete virus que componen el panel de IFD (VRS, influenza A y B, virus parainfluenza 1, 2, y 3 y adenovirus) arroja valores similares, destacando un aumento de sensibilidad cercano al 15% para VRS e influenza A. Es en la detección de otros virus que no incluidos en la IFD (coronavirus, enterovirus, metapneumovirus, rinovirus) donde la técnica de Virochip se muestra superior. Sin embargo la información clínica aportada en el estudio no permite evaluar el impacto del aumento de sensibilidad encontrado.

Aplicabilidad en la práctica clínica: a pesar de las ventajas de estas nuevas técnicas, en el momento actual no parecen aplicables en la práctica asistencial, dado su alto coste y complejidad. Será necesario su abaratamiento, simplificación y automatización antes de que sustituyan las actualmente empleadas. Asimismo deberá reducirse el tiempo de retraso para la obtención de resultados (actualmente en unas 24 horas) y demostrarse en nuevos estudios su consistencia, reproducibilidad y, lo que es más importante, su rentabilidad clínica^{2,3}. Por el momento, estas pruebas podrían ser más un complemento que un sustituto de las técnicas actualmente empleadas, que permitieran detectar agentes víricos implicados en infecciones graves, que han escapado a otras técnicas.

Bibliografía:

- 1.- Genoma España. Microarrays y Biochips de ADN. Informe de Vigilancia Tecnológica. Madrid: Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid; 2002. Fecha de consulta: 1 de octubre de 2008. Disponible en: http://www.gen-es.org/12_public/docs/Microarrays.pdf
- 2.- Syrmis MW, Whiley DM, Thomas M, Mackay IM, Williamson J, Siebert DJ, et al. A sensitive, specific, and cost-effective multiplex reverse transcriptase-PCR assay for the detection of seven common respiratory viruses in respiratory samples. *J Mol Diagn.* 2004;6:125-31.
- 3.- Noyola DE, Demmler GJ. Effect of rapid diagnosis on management of influenza A infections. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:303-7.

Tabla 1: Validez de la IFD y Virochip como pruebas diagnósticas en la detección de VRS e influenza A en aspirado nasofaríngeo con respecto la PCR

	VRS		Influenza A	
	DFA	Virochip	DFA	Virochip
Sensibilidad (%) (IC 95%)	72 (58-82)	87 (75-94)	70 (52-84)	85 (68-84)
Especificidad (%) (IC 95%)	99 (97-100)	99 (97-100)	100 (99-100)	100 (98-100)
VPP (%) (IC 95%)	95 (84-99)	96 (86-99)	100 (83-100)	96 (80-99)
VPN (%) (IC 95%)	94 (90-96)	97 (94-99)	97 (94-98)	98 (96-99)
CP Positivo (IC 95%)	81 (20-324)	98 (24-390)	N/A	214 (30-1521)
CP Negativo (IC 95%)	0,3 (0,2-0,4)	0,1 (0,1-0,3)	0,3 (0,2-0,5)	0,2 (0-0,4)

CP Cociente de probabilidad. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. %: Porcentaje. IC 95%: Intervalo de confianza al 95%; VRS: virus respiratorio sincitial; N/A no disponible.