



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**DIAGNÓSTICO DE METAPNEUMOVIRUS HUMANO,
REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

RAÚL ROMERO FEREGRINO

TUTORES

DR. NAPOLEÓN GONZÁLEZ SALDAÑA

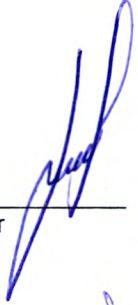
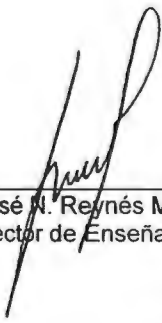
DR. IGNACIO MORA MAGAÑA





México, D.F.

MMX

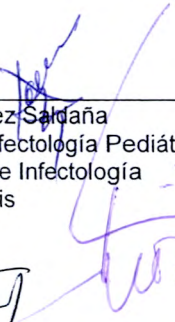
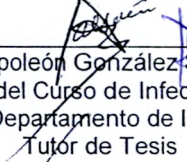
DIAGNÓSTICO DE METAPNEUMOVIRUS HUMANO. REVISIÓN
SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA.



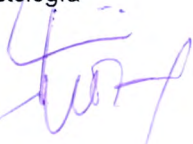
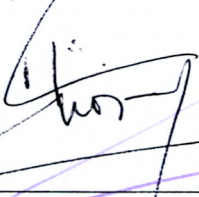
Dr. José N. Reynés Manzur
Director de Enseñanza



Dra. Mirella Vázquez Rivera
Jefe del Departamento de Pre y Posgrado



Dr. Napoleón González Saldaña
Profesor Titular del Curso de Infectología Pediátrica
Jefe del Departamento de Infectología
Tutor de Tesis



Dr. Ignacio Mora Magaña
Jefe del Departamento de Metodología de la Investigación
Tutor de Tesis

ÍNDICE

	Pág.
Antecedentes	5
Planteamiento del problema	8
Pregunta de investigación	9
Justificación	9
Objetivos	10
Tipos de estudios que se incluirán	10
Medidas de resultado primarias	11
Estrategias de búsqueda	11
Variables	11
Determinación de la inclusión	12
Evaluación de la calidad	14
Definiciones operacionales	19
Medidas de impacto	19
Análisis estadístico	20
Resultados	21
Discusión	26
Conclusión	28
Consideraciones éticas	28
Implicaciones para la práctica clínica	28
Implicaciones para la investigación	29
Bibliografía	30
Gráficas	48
Anexos	52

Diagnóstico de Metapneumovirus humano. Revisión sistemática de la literatura.

Resumen:

Las infecciones por virus respiratorios son las principales causas de enfermedad. La etiología de éstas permanece indeterminada en más del 50% de los casos. El Metapneumovirus humano (MPVh) fue descubierto en el año 2001, es un agente importante en la patología de la vía respiratoria baja en niños. Existen 4 diferentes tipos de métodos diagnósticos para el MPVh: estudios serológicos, aislamiento del virus por cultivo (estándar de referencia para el diagnóstico), detección del RNA por RT-PCR y detección de antígenos. No existe tratamiento específico para MPVh. Planteamiento del problema: En el mundo existe poca información acerca de la prevalencia de los virus respiratorios. Pregunta de investigación: ¿En pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias por Metapneumovirus humano, cuál es la utilidad diagnóstica de la PCR, del cultivo, de la inmunofluorescencia y de la serología? Justificación: No existe ningún estudio que evalúe el peso individual y en conjunto de las pruebas diagnósticas para búsqueda de virus respiratorios. Este estudio permitirá construir el apartado de antecedentes de un protocolo de investigación sobre diagnóstico de Metapneumovirus humano en niños en el INP de naturaleza prospectiva. Objetivos: Comparar la utilidad diagnóstica de la PCR, la inmunofluorescencia y la serología contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias. Tipos de estudios que se incluirán: Prueba diagnóstica. Resultados: Se obtuvieron 169 artículos, de los cuales se descartaron 125 ya que no eran estudios de prueba diagnóstica. De los 44 restantes al leer el resumen se descartaron 13, de los restantes 5 fueron excluidos por no tener datos suficientes, se realizó análisis para determinación de la heterogeneidad. Se encontraron artículos que comparaban cultivo contra cultivo (un artículo), inmunofluorescencia contra cultivo (un artículo), PCR contra cultivo (cuatro artículos), inmunofluorescencia contra PCR (14 artículos) y PCR contra PCR (2 artículos). Conclusión: La prueba que tiene una mejor utilidad diagnóstica es el cultivo viral, la PCR es una prueba útil ya que muestra adecuada utilidad diagnóstica, pero se requieren más estudios para tener más evidencia.

Antecedentes:

Las infecciones por virus respiratorios están entre las principales causas de enfermedad en humanos ¹⁻⁴. Los niños y los ancianos, los pacientes cardiopatas, neumópatas o inmunodeprimidos tienen mayor riesgo de complicaciones por estos agentes ⁵⁻⁹. Los virus respiratorios que se han reconocido incluyen los virus influenza A y B, virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, Metapneumovirus humano (MPVh), virus sincitial respiratorio (VSR), rinovirus y enterovirus, los cuales causan un gran espectro de manifestaciones clínicas, como son infecciones respiratorias altas y bajas, otitis media, encefalitis, etc ¹⁰⁻¹². Desafortunadamente la etiología permanece indeterminada en más del 50% de los casos ¹⁶⁻²⁰.

Las infecciones respiratorias causadas por estos virus presentan usualmente signos y síntomas muy similares, prácticamente indistinguibles clínicamente ²³⁻²⁸. El diagnóstico etiológico rápido de éstos patógenos es muy importante para iniciar una terapia antiviral (cuando ésta existe), evitar el uso de antibióticos innecesarios, disminuir la estancia hospitalaria, prevenir brotes nosocomiales y disminuir los costos ³⁰⁻³³.

El metapneumovirus humano es un nuevo virus respiratorio descubierto en el año 2001, por Van den Hoogen, en Holanda ³⁵⁻³⁷. El género Metapneumovirus pertenece a la familia Paramixoviridae y la subfamilia Pneumovirinae, a la que también pertenece el virus sincitial respiratorio (VSR) ³⁸⁻⁴⁵.

Existen dos linajes genéticos diferentes, y dentro de ellos, dos subtipos de cada uno. MPVh es un virus ARN, de cadena simple y polaridad negativa. Afecta exclusivamente a humanos y de ahí su denominación como Metapneumovirus humano ⁴⁵⁻⁴⁷. La evidencia acumulada desde su descubrimiento sugiere que MPVh es uno de los agentes etiológicos más importantes en la patología de la vía respiratoria baja en niños ⁴⁶⁻⁵⁰. Está presente alrededor del mundo, estudios han demostrado que la mayoría de las personas han estado expuestas a éstos virus a la edad de 5 años ⁵¹⁻⁵⁵.

Tiene una distribución temporal similar al VRS, presentándose principalmente en invierno, pero hay trabajos que lo demuestran también

durante toda la primavera. Los estudios realizados han mostrado una distribución estacional con predominio al final del invierno y en primavera ⁵⁵⁻⁶⁰. Desde su descubrimiento se ha detectado en todos los continentes. Según distintos estudios se ha logrado determinar que MPVh produce entre 5-20% de los cuadros respiratorios en niños donde otro agente viral no ha podido ser reconocido. Su período de incubación es de aproximadamente 5-6 días. No hay reportes que hayan estudiado su forma de transmisión, pero lo más probable es que sea a través de gotitas de secreción respiratoria ⁶⁰⁻⁶². Se ha descrito transmisión nosocomial, lo que sugiere que sea necesario el aislamiento de contacto y el lavado de manos, para prevenir su diseminación ⁶³⁻⁶⁵.

Las manifestaciones clínicas son de espectro amplio y muy similares a las del VRS, con alteraciones a nivel de vía respiratoria alta y baja, produciendo desde cuadros leves a severos, en algunos casos requiriendo manejo intrahospitalario ⁶⁶⁻⁶⁹. Es probable que exista infección asintomática, se sabe que existe reinfección y que puede ser frecuente, afectando a todas las edades. Los grupos de mayor riesgo de infección por MPVh son los menores de 5 años, especialmente de 2 años, los ancianos y los inmunodeprimidos, donde puede presentarse de forma más severa ⁷⁰⁻⁷⁵. El espectro clínico va desde cuadros de infección respiratoria superior, bronquiolitis, síndrome bronquial obstructivo y neumonía, entre otras. Mucho menos frecuente es su presentación en cuadros como laringitis ⁷⁶⁻⁷⁹. Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre, tos, polipnea, dificultad respiratoria, sibilancias ⁸⁰. La radiografía de tórax muestra infiltrados parahiliares, engrosamiento peribronquial, atrapamiento aéreo, atelectasias y con menor frecuencia imágenes de condensación ⁸¹⁻⁸³.

Las pruebas diagnósticas para los virus respiratorios han tenido límites al tener que elegir entre pruebas que utilicen antígenos virales, las cuales ofrecen pobre sensibilidad y especificidad, y los cultivos celulares, los cuales requieren mayor tiempo para determinar al agente ⁸⁴. Las pruebas moleculares tienen alta sensibilidad, y requieren poco tiempo (algunas horas) para su realización. La superioridad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y

la PCR de transcripción reversa (RT-PCR) sobre los métodos convencionales de diagnóstico para las infecciones por virus respiratorios se debe a la alta especificidad y sensibilidad (98 y 99% respectivamente) ⁸⁵, que tienen, así como el relativo poco tiempo que requieren para su realización. Sin embargo estas pruebas organismo-específicas, que requieren la amplificación por separado de cada virus, y requieren de recursos económicos y materiales ⁸⁶⁻⁹⁰.

Existen 4 diferentes tipos de métodos diagnósticos para el MPVh: estudios serológicos, aislamiento del virus por cultivo, detección del RNA por RT-PCR y detección de antígenos. Los estudios serológicos son importantes para la diferenciación retrospectiva entre infección primaria y reinfección ⁹¹, sin embargo, la inmunoglobulina G (IgG) y la inmunoglobulina M (IgM) que responden al MPVh en la fase aguda de la infección no son útiles para el diagnóstico ⁹²⁻⁹³. El aislamiento en cultivos celulares es considerado el estándar de referencia para el diagnóstico, sin embargo, en el caso de MPVh, éste es difícil, ya que el MPVh no crece en los medios de cultivo de virus respiratorios habituales y requiere condiciones especiales y mayor tiempo para su crecimiento ⁹³.

Dentro de los métodos disponibles para su diagnóstico está la Reacción en Cadena de la Polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR), que ha demostrado la mayor sensibilidad y especificidad para la identificación del virus a partir de muestras respiratorias, sin embargo ésta solo se puede realizar en laboratorios especiales y toma más de seis horas para obtener resultados ⁹⁴⁻⁹⁵. La inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoclonales de ratón ha permitido la detección de antígenos de MPVh en células infectadas de la nasofaringe, sin embargo la IFD requiere entrenamiento para interpretar los resultados ^{96, 97}.

Se encuentran disponibles 2 métodos de detección rápida de antígenos: Una prueba de inmunofluorescencia-anticuerpo y una prueba de ELISA. El método ELISA con anticuerpos policlonales de ratón ha reportado permitir la detección de antígenos de células infectadas por MPVh en cultivos, pero no se han realizado estudios de detección de antígenos de MPVh en muestras

clínicas ⁹⁸⁻⁹⁹. La prueba de anticuerpos con inmunofluorescencia para células epiteliales respiratorias ha mostrado ser una buena opción para detectar otros virus respiratorios como VCR, Adenovirus, Parainfluenza y virus de la influenza ¹⁰⁰.

No existe tratamiento específico para MPVh, sólo las medidas de soporte, como aporte de oxígeno, hidratación adecuada, manejo de la fiebre, manejo de las secreciones y de la obstrucción bronquial ¹⁰¹⁻¹⁰².

No se han establecido medidas para la prevención, pero probablemente sean válidas las mismas que para VRS. En el caso de los pacientes hospitalizados se recomienda aislamiento de contacto (principalmente lavado de manos). No existe vacuna para MPVh ¹⁰⁴⁻¹⁰⁵.

Planteamiento del problema:

En el mundo existe poca información acerca de la prevalencia de los virus respiratorios, en especial del Metapneumovirus humano ya que es un virus nuevo, apenas se están descubriendo sus características virológicas, clínicas y la manera de hacer el diagnóstico de estos virus, por lo tanto aún no hay un estudio que evalúe y compare los métodos diagnósticos que hasta el momento se utilizan. Si nos enfocamos especialmente en el área pediátrica tampoco se han realizado estudios para comparar los métodos diagnósticos que existen en la actualidad, ni la prevalencia de los diferentes virus respiratorios incluyendo los Metapneumovirus humanos.

En el caso de nuestro país aún no existe ningún estudio que demuestre la epidemiología de los virus respiratorios en niños, por lo que buscamos asentar un antecedente para que en un futuro se realice un estudio prospectivo para buscar la prevalencia de la infección por Metapneumovirus humano en la población pediátrica.

Es importante el conocer la epidemiología de los diferentes virus respiratorios incluyendo el Metapneumovirus humano ya que se conocería cuál

de estos virus es el más frecuente en la población, cuál de éstos tiene mayor número de complicaciones, en qué casos se puede utilizar tratamiento antiviral, en el caso de los Metapneumovirus humanos al hacer el diagnóstico sabríamos su prevalencia y la incidencia de complicaciones.

Pregunta de investigación:

¿En pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias por Metapneumovirus humano, cuál es la utilidad diagnóstica de la PCR?

¿En pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias por Metapneumovirus humano, cuál es la utilidad diagnóstica del cultivo?

¿En pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias por Metapneumovirus humano, cuál es la utilidad diagnóstica de la inmunofluorescencia?

¿En pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias por Metapneumovirus humano, cuál es la utilidad diagnóstica de la serología?

Justificación:

No existe ningún estudio que evalúe el peso individual y en conjunto de las pruebas diagnósticas para búsqueda de virus respiratorios en especial para Metapneumovirus humano, por lo tanto no se conoce la prevalencia de este virus en la población.

Este estudio se realizará con la finalidad de conocer los métodos diagnósticos que existen para Metapneumovirus humano y saber cual de éstos métodos sería posible utilizar en estudios subsecuentes.

Este estudio permitirá construir en el futuro inmediato, el apartado de antecedentes de un protocolo de investigación sobre diagnóstico de Metapneumovirus humano en niños en el INP de naturaleza prospectiva.

Los resultados de este estudio ayudarán a elegir el mejor método diagnóstico en un protocolo de investigación que se realizará para buscar la prevalencia de Metapneumovirus humano en niños del INP.

Objetivos:

Comparar la utilidad diagnóstica de la PCR contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias.

Comparar la utilidad diagnóstica de la inmunofluorescencia contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias.

Comparar la utilidad diagnóstica de la serología contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias.

Tipos de estudios que se incluirán:

Prueba diagnóstica. Se buscaron artículos con los diseños metodológicos anteriormente mencionados que incluyeran los resultados de utilidad diagnóstica de la identificación del agente causal (Metapneumovirus humano), realizados en población pediátrica.

Tipo de participantes en los estudios que se incluyeron:

Niños, humanos, 0-18 años de edad, sin restricciones de idioma, ni de tiempo.

Medidas de resultado primarias:

Utilidad diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo) obtenidos de la comparación de una prueba contra un estándar de referencia.

Estrategia de búsqueda:

Con las palabras clave (Metapneumovirus humano, PCR, cultivo, inmunofluorescencia, serología, anticuerpos, pruebas diagnósticas, diagnóstico, utilidad diagnóstica) buscamos en: Lilacs, Artemisa.

Con las palabras mesh (Human Metapneumovirus, PCR, culture, immunofluorescence, serology, antibodies, diagnostic test, diagnostic accuracy) buscamos en: Scielo, Pubmed, Embase.

Variables:

Variable	Definición	Tipo de variable	Unidad
Autores.	Grupo de investigadores que realizaron el estudio.	Cualitativa, nominal, politémica.	
Población.	Grupo de personas con características especiales en quienes se realizó el estudio.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	Niños. Adultos.
Tamaño de la n.	Total de sujetos incluidos en el estudio.	Cuantitativa, numérica, discreta.	
Estándar de	Prueba que se utilizó como referencia en el	Cualitativa, nominal,	

referencia.	estudio.	politómica.
Prueba de estudio.	Maniobra que se compara con la prueba de referencia.	Cualitativa, nominal, politómica.
Análisis estadístico.	Que pruebas se usaron para considerar el valor de p.	Cualitativa, nominal, politómica.
Sensibilidad.	Probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo.	Cuantitativa, numérica, continua.
Especificidad.	Probabilidad de clasificar de forma correcta a un individuo sano.	Cuantitativa, numérica, continua.
Valor predictivo positivo.	Probabilidad de padecer la enfermedad dado que se obtiene un resultado positivo en el test.	Cuantitativa, numérica, continua.
Valor predictivo negativo.	Probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano.	Cuantitativa, numérica, continua.

Determinación de la inclusión:

Dos evaluadores (Dr. Napoleón González Saldaña y Dr. Raúl Romero Feregrino) determinaron con base en la herramienta CASPe para prueba diagnóstica la inclusión de cada artículo. Si pasaba de la pregunta 3 eran

incluidos, en caso de duda razonable, un tercer investigador (Dr. Ignacio Mora Magaña) fue encargado de resolver el desacuerdo.

Programa de Lectura Rápida CASPe ¹⁰⁶:

A) ¿Son válidos los resultados del estudio?

Preguntas “de eliminación”.

1. ¿Existió una comparación con una prueba de referencia adecuada?

Si
No se puede saber

2. ¿Incluyó la muestra un espectro adecuado de pacientes?

No
Si
No se puede saber

3. ¿Existe una adecuada descripción de la prueba?

No
Si
No se puede saber
No

Preguntas “de matiz”.

4. ¿Hubo evaluación “ciega” de los resultados?

Si
No se puede saber

5. ¿La decisión de realizar el patrón de oro fue independiente del resultado de la prueba problema?

No
Si
No se puede saber
No

B) ¿Cuáles son los resultados?

6. ¿Se pueden calcular los Cocientes de Probabilidad (Likelihood ratio)?

Si

No se puede saber

No

7. ¿Cuál es la precisión de los resultados?

Si

No se puede saber

No

C) ¿Son los resultados aplicables al escenario?

8. ¿Serán satisfactorios en el ámbito del escenario la reproductibilidad de la prueba y su interpretación?

Si

No se puede saber

No

9. ¿Es aceptable la prueba en este caso?

Si

No se puede saber

No

10. ¿Modificarán los resultados de la prueba la decisión sobre cómo actuar?

Si

No se puede saber

No

Evaluación de la calidad:

Dos evaluadores (Dr. Napoleón González Saldaña y Dr. Raúl Romero Feregrino) determinaron con base en la herramienta Stard para prueba diagnóstica la inclusión de cada artículo. Si pasaba de la pregunta 3 eran incluidos, en caso de duda razonable, un tercer investigador (Dr. Ignacio Mora Magaña) fue encargado de resolver el desacuerdo.

Escala Stard para la revisión de estudios de prueba diagnóstica ¹⁰⁷:

Sección y tema	Artículo	
Título / resumen / PALABRAS CLAVE	1	Identifique el artículo como un estudio de prueba diagnóstica (se recomienda en MeSH "sensibilidad y especificidad").
INTRODUCCIÓN	2	Estado de las preguntas de investigación o los objetivos de estudio, tales como la estimación de la precisión diagnóstica o la comparación entre las pruebas o la exactitud en todos los grupos participantes.
MÉTODOS		
<i>Participantes</i>	3	Describir la población de estudio: Los criterios de inclusión y exclusión, el establecimiento y los lugares donde se obtuvieron los datos.
	4	Describir el reclutamiento de los participantes: ¿Fue el reclutamiento basado en la presentación de los síntomas, los resultados de pruebas anteriores, o el hecho de que los participantes habían recibido las pruebas de índice, o del estándar de referencia?
	5	Describir el muestreo de los participantes: ¿La población de estudio, una serie consecutiva de los participantes, se define por los criterios de selección en los puntos 3 y 4? Si no, especificar cómo los participantes fueron seleccionados.
	6	Describir la recolección de datos: ¿Fue la obtención de datos realizada antes de la prueba del índice y/o patrón de referencia que se han realizado (estudio) o después (estudio retrospectivo)?
<i>Métodos de ensayo</i>	7	Describir el patrón de referencia y su razón de ser.
	8	Describir las especificaciones técnicas de materiales y métodos empleados, incluyendo cómo y cuando las mediciones fueron tomadas, y / o citar referencias para las

pruebas de índice y el patrón de referencia.

- 9 Describir la definición y justificación de las unidades, cortes y / o categorías de los resultados de las pruebas de índice y el patrón de referencia.
- 10 Describir el número, la formación y la experiencia de las personas que ejecutan y la lectura de las pruebas del índice y el patrón de referencia.
- 11 Describir si los lectores de las pruebas índice y patrón de referencia eran ciegos (enmascarado) a los resultados de la prueba de otros y describir cualquier otra información clínica disponible a los lectores.
- Métodos estadísticos*
- 12 Describir los métodos para calcular o comparar las medidas de precisión de diagnóstico, y los métodos estadísticos utilizados para cuantificar la incertidumbre (por ejemplo, intervalos de confianza 95%).
- 13 Describir los métodos para el cálculo de la reproducibilidad de prueba, si se hace.

RESULTADOS

- Participantes*
- 14 Informar cuando el estudio se llevó a cabo, incluyendo las fechas de inicio y fin de la contratación.
- 15 Informar de las características clínicas y demográficas de la población de estudio (edad, sexo, el espectro de presentar los síntomas, comorbilidad, los tratamientos actuales, los centros de reclutamiento).
- 16 Informar sobre el número de participantes que cumplan los criterios de inclusión que se produjeron o no someterse a las pruebas índice y / o la norma de referencia; describir por qué los participantes no lograron recibir la prueba (un diagrama de flujo es muy recomendable).
- Resultados de las pruebas*
- 17 Informar el intervalo de tiempo de las pruebas de índice de la norma de referencia, y cualquier tratamiento administrado entre

ellos.

- 18 Informar de la distribución de la gravedad de la enfermedad (definición de los criterios) en los que tienen la condición de destino, otros diagnósticos en los participantes sin la condición de destino.
- 19 Informar con una cruz de tabulación los resultados de las pruebas de índice (incluyendo los resultados indeterminados y desaparecidos) por los resultados de la norma de referencia; los resultados continuos, la distribución de los resultados de la prueba por los resultados de la norma de referencia.
- 20 Informar de los eventos adversos de la realización de las pruebas de índice o la norma de referencia.
- Estimaciones*
 - 21 Informar sobre las estimaciones de la exactitud de diagnóstico y las medidas de incertidumbre estadística (por ejemplo, intervalos de confianza 95%).
 - 22 Informar de resultados de forma indeterminada, se recibieron las respuestas que faltan y los valores extremos de las pruebas de índice.
 - 23 Informar sobre las estimaciones de la variabilidad de la exactitud de diagnóstico entre los subgrupos de participantes, lectores o de los centros, si se hace.
 - 24 Informar sobre las estimaciones de la reproducibilidad de la prueba, si se hace.
- DISCUSIÓN*
 - 25 Discutir la aplicabilidad clínica de los hallazgos del estudio.

Dos evaluadores (Dr. Napoleón González Saldaña y Dr. Raúl Romero Feregrino) determinaron con base en la herramienta Quadas para prueba diagnóstica la inclusión de cada artículo. Si pasaba de la pregunta 3 eran

incluidos, en caso de duda razonable, un tercer investigador (Dr. Ignacio Mora Magaña) fue encargado de resolver el desacuerdo.

Herramienta Quadas ¹⁰⁸:

Item

1. ¿El espectro de los pacientes es representativo de las personas en quien se aplicará la muestra?
2. ¿Los criterios de selección fueron claramente descritos?
3. ¿La prueba de referencia clasifica correctamente el objetivo?
4. ¿Es el período entre la referencia y la prueba suficientemente corto para ser razonablemente seguro que el objetivo no cambió entre las dos pruebas?
5. ¿La prueba recibió verificación de utilizar una referencia estándar para el diagnóstico?
6. ¿Los pacientes recibieron la misma prueba de referencia que los resultados de la prueba?
7. ¿La prueba de referencia se realizó independientemente de la prueba en estudio?
8. ¿La prueba en estudio se describió con suficiente detalle para permitir su replicación?
9. ¿La prueba de referencia fue descrita con suficiente detalle para permitir su replicación?
10. ¿Los resultados de la prueba en estudio fueron interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba de referencia?
11. ¿Los resultados de la prueba de referencia fueron interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba en estudio?
12. ¿Los datos clínicos estaban disponibles cuando los resultados se interpretaron como cuando se realizaron las pruebas?

13. ¿El reporte de los resultados fueron sin interpretación/intermedio?

14. ¿Se explicaron los pacientes retirados del estudio?

Definiciones operacionales:

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): Es una técnica de biología molecular, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo. Su utilidad es que, tras la amplificación, resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad, virus o bacterias causantes de una enfermedad.

Inmunofluorescencia: Es una técnica que emplea anticuerpos conjugados a fluorocromos, que son moléculas que al ser excitadas con la energía de una determinada longitud de onda son capaces de emitir energía de una longitud de onda mayor.

Cultivo: Es una prueba de laboratorio en la cual las muestras se colocan en un medio celular para observar si existe multiplicación del virus a estudiar.

Serología: Es un examen de sangre utilizado para detectar la presencia de anticuerpos y/o antígenos. Este examen se realiza también para descartar sospechas sobre alguna infección.

Medidas de impacto:

Utilidad diagnóstica identificada como:

Sensibilidad: Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en una prueba diagnóstica un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.

Especificidad: Es la probabilidad de definir de forma correcta a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que un sujeto verdaderamente sano obtenga un resultado negativo en una prueba complementaria.

Valor Predictivo Positivo: Es la probabilidad de padecer la enfermedad dado que se obtiene un resultado positivo en el test.

Valor Predictivo Negativo: Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano.

Razón de verosimilitud positiva: Se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado positivo en los pacientes enfermos entre la probabilidad de un resultado positivo entre los sanos.

Razón de verosimilitud negativa: Se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado negativo en presencia de enfermedad entre la probabilidad de un resultado negativo en ausencia de la misma.

La razón de probabilidades ofrece la ventaja de que relaciona la sensibilidad y la especificidad de una prueba en un solo índice. Además, pueden obtenerse razones de probabilidad según varios niveles de una nueva medida y no es necesario expresar la información de forma dicotómica, como resultado de normal o anormal o bien positivo y negativo. Por último, al igual que sucede con la sensibilidad y la especificidad, no varía con la prevalencia. Esto permite utilizarlo como índice de comparación entre diferentes pruebas para un mismo diagnóstico.

Análisis estadístico:

a.- Inicialmente se presentan los resultados de cada estudio individualmente (año de publicación, región geográfica, total de enfermos y total de sanos, forma de selección de los pacientes y características metodológicas), con la determinación de DOR (razón de momios del diagnóstico).

b.- Probamos la presencia implícita o no del efecto del punto de corte con el coeficiente de Spearman para correlación entre la sensibilidad y la especificidad.

c.- Determinación de la distribución de la heterogeneidad. A través de la gráfica de DOR y sus intervalos de confianza al 95% que puede mostrar la presencia o no de estudios extremos.

d.- 1. En caso de que los estudios sean homogéneos y no hay evidencia de un efecto implícito del punto de corte, usamos un análisis basado en un modelo de efectos fijos y se graficó una curva de ROCs.

2. En los casos en que se evidenció heterogeneidad entre los estudios, el análisis se limitó a un aspecto cualitativo. Con los datos obtenidos se hizo un análisis del subgrupo homogéneo y finalmente usamos un análisis basado en un modelo de efectos aleatorios¹⁰⁹.

Resultados:

Se realizó la búsqueda de los artículos mediante las palabras clave (mesh) antes comentadas en las bases de datos ya descritas, obteniendo 169 artículos, de los cuales al leer los títulos se descartaron 125 ya que no eran estudios de prueba diagnóstica. De los 44 restantes se revisó el resumen y se descartaron 13 artículos ya que al realizarles las evaluaciones CASPe, Stard y Quadas, no tenían una adecuada metodología. Los 31 restantes se capturaron en una base de datos y finalmente 5 se excluyeron ya que no tenían suficientes datos para construir una tabla de 2x2 y analizar la utilidad diagnóstica de cada uno. Al final trabajamos con 26 artículos los cuales comparaban diferentes pruebas:

El artículo de Reina-2007¹¹⁰ comparaba cultivo en células LLC contra cultivo en células Vero.

Lee-2006¹¹¹ comparó una prueba de inmunofluorescencia contra cultivo celular.

Cuatro artículos comparaban la reacción en cadena de polimerasa (PCR) contra cultivo, los artículos eran los de Coté-2003¹¹², Gruteke-2004¹¹³, Hopkins-2008¹¹⁴ y Sarasini-2006¹¹⁵.

Los artículos de Bouscambert-Duchemp-2005¹¹⁶, Ishiguro-2005¹¹⁷ y Jun-2007¹¹⁸ compararon dos técnicas diferentes de inmunofluorescencia con anticuerpos distintos.

Catorce artículos hicieron la comparación entre inmunofluorescencia y PCR, los artículos fueron los escritos por Kikuta-2008, Ebihara-2005, Manoha.2008, Li-2007, Aslanzadeh-2008¹¹⁹, Dare-2007¹²⁰, Fenwik-2007¹²¹, Kuypers-2006¹²², Landry-2005 y Landry-2008¹²³⁻¹²⁴, Percivalle-2005¹²⁵, Robinson-2008¹²⁶, Van de pol-2006¹²⁷, Vinh-2008¹²⁸.

Los artículos escritos por Kaida-2008¹²⁹ y Pierangeli-2007¹³⁰ comparaban dos diferentes técnicas de PCR.

Al realizar el análisis individual de cada artículo se obtuvieron los siguientes resultados:

Artículos incluidos:

Reina J, 2007 utilizó 483 aspirados nasofaríngeos en los cuales se aisló un virus respiratorio por inmunofluorescencia, los cultivó en 2 diferentes medios celulares (LLC y Vero). Obtuvo una calificación de CASPe de 6, y Quadas de 6.

Vinh D, 2008 realizó pruebas en 453 aspirados respiratorios de pacientes que ingresaban con síntomas respiratorios. Obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 5.

Ishiguro N, 2005 realizó inmunofluorescencia con dos diferentes técnicas en 200 muestras nasofaríngeas de pacientes que al azar fueron elegidos. Obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 4.

Kuypers J, 2006 examinó 1138 muestras respiratorias que fueron enviadas al laboratorio de virología en Washington. Obtuvo una calificación de CASPe de 0, y Quadas de 5.

Landry M, 2005 en el que utilizó 159 aspirados nasofaríngeos, no tenía límite de edad; y Landry 2008 realizó comparación entre inmunofluorescencia y PCR de 202 muestras que fueron enviadas al laboratorio de virología clínica. El

primer artículo obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 2; y en el segundo se obtuvo un CASPe de 0 y un Quadas de 3.

Ebihara T, 2005 comparó inmunofluorescencia contra PCR en muestras nasofaríngeas de 48 niños en Sapporo, Japón. Obtuvo una calificación de CASPe de 3, y Quadas de 4.

Manoha C, 2008 comparó en 1386 muestras de secreciones respiratorias en Dijon la inmunofluorescencia contra la PCR. Obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 2.

Percivalle E, 2005 realizó pruebas de inmunofluorescencia y las comparó contra PCR en 40 aspirados nasofaríngeos en pacientes hospitalizados por afección respiratoria. Obtuvo una calificación de CASPe de 0, y Quadas de 6.

Robinson J, 2008 comparó la detección de virus por inmunofluorescencia en 137 muestras nasofaríngeas comparándolas contra PCR en niños menores de 17 años en Edmonton, Alberta, Canadá. Obtuvo una calificación de CASPe de 2, y Quadas de 6.

Van de Pol A, 2006 desarrolló pruebas virales con inmunofluorescencia y las comparó contra PCR en 23 niños menores de 5 años en Wilhemina. Obtuvo una calificación de CASPe de 3, y Quadas de 6.

Vinh D, 2008 desarrolló una prueba de inmunofluorescencia que comparó contra PCR en 454 aspirados nasofaríngeos en la Universidad de McGill. Obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 5.

Kaida A, 2008 comparó PCR en tiempo real contra PCR convencional en 146 muestras de pacientes con enfermedad respiratoria en Osaka, Japón. Obtuvo una calificación de CASPe de 2, y Quadas de 3.

Pierangeli A, 2007 comparó dos pruebas diferentes de PCR en 227 niños en Roma, Italia. Obtuvo una calificación de CASPe de 1, y Quadas de 8.

Artículos Excluidos:

Kyung, 2008¹³¹ evaluó una prueba de inmunofluorescencia en 20 aspirados nasofaríngeos, no daba datos suficientes para analizar su información en una tabla de 2x2.

Freyduth F, 2006¹³² comparó el funcionamiento y los costos de inmunofluorescencia contra PCR en 449 niños con síntomas respiratorios que requirieron manejo hospitalario en Caen, no se pudo incluir ya que sólo reportó los pacientes verdaderos positivos.

Schellinga S, 2005¹³³ comparó dos diferentes iniciadores de PCR (PCR contra PCR) en 358 muestras respiratorias, no se pudo analizar ya que solamente reportó a los verdaderos positivos y a los falsos negativos por lo que no se pudo obtener la utilidad diagnóstica.

Ginocchio C, 2008¹³⁴ comparó en 653 aspirados nasales una prueba de inmunofluorescencia contra PCR, las muestras las obtuvo de niños entre 0 y 5 años con sintomatología respiratoria, no se incluyó porque no reportó los datos necesarios para el análisis estadístico.

Lee W, 2007¹³⁵ comparó una prueba de inmunofluorescencia contra cultivo viral en 101 muestras de niños de 5 años con asma y síntomas respiratorios, no fue incluido porque sólo reporta los resultados de sensibilidad y especificidad, sin mostrar los datos necesarios para construir una tabla de 2x2.

Al tener los datos ordenados por grupos clasificados por la prueba de estudio contra la prueba de referencia (ej. PCR contra cultivo, etc.) se realizó análisis para determinación de la heterogeneidad mediante el programa Review Manager versión 5¹³⁶ (las gráficas y cuadros obtenidos de este análisis se encuentran en la sección del mismo nombre en las páginas siguientes). Los resultados obtenidos de éste análisis son los siguientes:

Del grupo de estudios que comparaban cultivo contra cultivo en diferentes líneas celulares (células LLC y células Vero) sólo hubo un artículo (Reina-2007) en el cual podemos observar que existe una excelente sensibilidad y especificidad (100%) para ambas pruebas (Gráfica 1 y 2).

De los estudios que compararon inmunofluorescencia contra cultivo se obtuvo un artículo, el cual muestra sensibilidad de 67% con intervalos de confianza (IC) entre 40 y 90% (Gráfica 3), y especificidad de 91% (Gráfica 4).

Se analizaron cuatro artículos que compararon el uso de la PCR contra cultivo, donde vemos que la PCR obtuvo sensibilidad de 100% en el estudio de Coté-2003 con IC de 80-100% y la especificidad no se determinó (Gráfica 5). El estudio de Gruteke-2004 mostró sensibilidad de 88% con IC 47-100% y sensibilidad de 55% con IC 48-63% (Gráfica 6). El estudio de Hopkins-2008 obtuvo sensibilidad de 80% con IC 44-97% (Gráfica 5) y sensibilidad de 69% con IC 41-89% (Gráfica 6). El estudio realizado por Sarasini-2006 nos evidenció sensibilidad de 92% con IC 64-100% (Gráfica 5) y especificidad de 36% con IC 13-95% (Gráfica 6).

Tres artículos compararon el uso de inmunofluorescencia contra inmunofluorescencia, observando en el estudio realizado por Bouscambert-Duchamp-2005 sensibilidad de 19% con IC 7-36% (Gráfica 7) y especificidad de 98% con IC 91-100% (Gráfica 8). El artículo escrito por Ishiguro-2005 obtuvo sensibilidad de 89% con IC de 83-93% y no se determinó la especificidad. El estudio realizado por Jun-2007 mostró sensibilidad de 41% con IC 33-50% (Gráfica 7) y sensibilidad de 90% con IC 79-97% (Gráfica 8).

El grupo de estudios que compararon inmunofluorescencia contra PCR tiene 14 artículos, donde observamos resultados diversos, en el realizado por Aslanzadeh-2008 se muestra sensibilidad de 95% con IC 76-100% (Gráfica 9) y sensibilidad de 98% con IC 96-99% (Gráfica 10). El artículo escrito por Dare-2007 obtuvo sensibilidad de 93% con IC 68-100% (Gráfica 9) y sensibilidad de 96% con IC 93-98% (Gráfica 10). Ebihara-2005 demostró en su estudio una sensibilidad de 73% con IC 45-92% (Gráfica 9) y sensibilidad de 97% con IC de 84-100% (Gráfica 10). Fenwick-2007 tiene resultado de sensibilidad de 100% con IC 94-100% (Gráfica 9) y sensibilidad de 100% IC 99-100% (Gráfica 10). Kikuta-2008 obtuvo sensibilidad de 71% con IC 58-81% (Gráfica 9) y sensibilidad de 96% con IC 91-98% (Gráfica 10). En el estudio que realizó Kuypers-2006 se muestra sensibilidad de 99% con IC 98-100% (Gráfica 9) y sensibilidad 74% de IC 71-78% (Gráfica 10). El artículo escrito por Landry-2008

muestra sensibilidad de 85% con IC 72-94% (Gráfica 9) y sensibilidad de 99% con IC 96-100% (Gráfica 10). Landry-2005 mostró sensibilidad de 80% IC 52-95% (Gráfica 9) y especificidad de 99% con IC 97-100% (Gráfica 10). El estudio que realizó Li-2007 se muestra sensibilidad de 80% con IC 52-96% (Gráfica 9) y especificidad de 100% con IC 98-100% (Gráfica 10). En el artículo de Manoha-2008 se observó la especificidad de 100% con IC 91-100% (Gráfica 9) y sensibilidad de 99% con IC 97-100% (Gráfica 10). Percivalle-2005 en su estudio tuvo los resultados de sensibilidad de 74% con IC 52-90% (Gráfica 9) y especificidad de 94% con IC 71-100% (Gráfica 10). Robinson-2008 en su artículo tiene sensibilidad de 93% con IC 85-97% (Gráfica 9) y especificidad de 58% con IC 42-73% (Gráfica 10). En el estudio de Van de Pol-2006 muestra sensibilidad de 100% IC 03-100% (Gráfica 9) y especificidad de 50% con IC 28-72% (Gráfica 10). Vinh-2008 mostró una sensibilidad de 95% con IC 76-100% (Gráfica 9) y especificidad de 100% IC 95-100 (Gráfica 10).

En el último grupo donde se comparan dos pruebas de PCR por tener diferentes primers se obtuvieron 2 estudios, los cuales se reportan con sensibilidad de 63% con IC 24-91% (Gráfica 11) y especificidad de 100% con IC 97-100% (Gráfica 12) en el estudio de Kaida-2008 y en el estudio realizado por Pierangeli-2007 se mostró sensibilidad de 8% con IC 4-15% (Gráfica 11) y especificidad de 96% con IC 91-98% (Gráfica 12).

Discusión:

Los resultados obtenidos en este estudio nos muestran que la mejor prueba es el cultivo viral, lo cual ya estaba descrito en la literatura. Ésta es la prueba de referencia para el aislamiento o detección de los virus respiratorios en específico para Metapneumovirus humano, lo vemos en el estudio de Reina-2007 donde ambas líneas celulares mostraron 100% tanto de sensibilidad como especificidad con intervalos de confianza muy estrechos lo que nos indica que tiene adecuado tamaño de muestra. Sin embargo, a pesar de que el cultivo es el mejor medio de aislamiento viral, éste no se realiza en

todos los ámbitos clínicos pues requiere tecnología especial y además es caro para su realización.

En cuanto a otras pruebas existen la reacción en cadena de polimerasa, la inmunofluorescencia y la serología, sin embargo de esta última no encontramos ningún artículo.

Tuvimos artículos donde se comparaban inmunofluorescencia contra cultivo (Lee-2006), con sensibilidad de 67% y especificidad de 91%, lo que lo hace un estudio muy útil para descartar el componente Metapneumovirus humano en un proceso respiratorio. PCR contra PCR (Kaida-2008 sensibilidad 63%, especificidad 100%; Pierangeli-2007 sensibilidad 8%, especificidad 96%), sin embargo sólo pudimos analizar uno de la primera comparación y dos de la segunda lo que hace muy difícil hacer un análisis estadístico de los resultados de ambos estudios, y, como en el caso anterior, solo son útiles para excluir al Metapneumovirus humano.

A pesar de que la PCR también requiere una tecnología especial, es más fácil realizar ésta que el cultivo, además que la PCR tarda mucho menos tiempo (6-8hrs) que el cultivo, y en la literatura se reporta una sensibilidad y especificidad muy altas (97-99% respectivamente), encontramos 4 artículos que comparaban la PCR contra el cultivo donde se observaron resultados diversos ya que hay artículos como el de Coté-2003 que muestra 100% de especificidad pero 0 % de sensibilidad, lo que puede ser por su poca muestra (20 pacientes). Lo que se concluye en este artículo es que la PCR se puede utilizar como prueba de exclusión y no confirmatoria, sin embargo en otros artículos tenemos igual una buena sensibilidad (80-92%) y especificidad que varía entre 36 y 69% lo que nos indica que efectivamente la PCR es una adecuada prueba para identificar pacientes.

Dado que la PCR es un estudio al que se tiene más fácil acceso y a que tiene adecuada utilidad diagnóstica se ha utilizado en diferentes artículos como prueba de referencia. En este trabajo encontramos 14 artículos que compararon la inmunofluorescencia contra la PCR, donde el 60% de los artículos (8 artículos) muestran sensibilidad arriba del 90% para la

inmunofluorescencia, sin embargo algunos como el de Van de Pol-2006 tienen intervalos de confianza muy amplios lo que se puede deber a una muestra pequeña (su muestra es de 12 pacientes), en este mismo artículo reportan especificidad de 50%. En cuanto a la especificidad, el 78% de éstos artículos la reporta por arriba del 90% lo que nos habla que la inmunofluorescencia nos puede servir como una prueba confirmatoria, sin embargo su realización es difícil ya que se necesitan equipos especiales y gente capacitada para leer las muestras.

Conclusión:

En este trabajo podemos concluir que la prueba que tiene una mejor utilidad diagnóstica es el cultivo viral pero es poco accesible. La PCR es una buena prueba ya que muestra adecuada utilidad diagnóstica, pero se requieren más estudios comparativos con la prueba de referencia (cultivo) para tener evidencia de mayor peso; y la inmunofluorescencia es una buena prueba si se cuenta con el personal capacitado para realizarla. Requiere que se hagan más estudios que la comparen contra el cultivo viral, que es la prueba de referencia para el diagnóstico de los Metapneumovirus humanos.

Consideraciones éticas:

Los investigadores a cargo no recibieron apoyo de ningún tipo por parte de los productores, distribuidores o empresas que comercializan con las pruebas diagnósticas aquí comentadas.

Implicaciones para la práctica clínica:

Existen diversos tipos de estudios que nos pueden servir para hacer el diagnóstico de Metapneumovirus humano y éstos se pueden complementar unos con otros.

La prueba que mostró mejor utilidad diagnóstica fue el cultivo viral, sin embargo, no contamos con el equipo necesario para realizar éste, por lo que la prueba que debemos utilizar es la PCR. Si contamos con la tecnología para realizarla, los materiales se consiguen más fácilmente que los requeridos para el cultivo viral, además que la PCR tiene menor costo y su tiempo de realización es más rápido (6-8hrs) por lo que se puede implementar la terapéutica específica y las precauciones necesarias en menos tiempo, lo que se traduce a mediano plazo en menos gasto de antibióticos, antivirales y riesgo para el paciente.

Implicaciones para la investigación:

En razón de lo investigado en este trabajo nos dimos cuenta que no hay en la literatura estudios suficientes que comparen la utilidad diagnóstica de la PCR contra el cultivo viral, así como inmunofluorescencia contra cultivo, ya que éste último es la prueba de referencia que reporta la literatura, así que se deberán hacer más protocolos de éste tipo de estudios para poder tener más evidencia de la utilidad diagnóstica de éstas pruebas.

Si vemos a futuro, éste trabajo puede dar la pauta para realizar estudios de tipo prospectivo utilizando la mejor prueba aquí evidenciada para conocer la incidencia de Metapneumovirus humano en nuestro medio y en nuestra población.

Bibliografia:

1. Manoha C, Bour JB, Pitoiset C, et al. Rapid and sensitive detection of Metapneumovirus in clinical specimens by indirect fluorescence assay using a monoclonal antibody. *Journal of medical virology* 2008; 80: 154-158.
2. Li H, McCormac M, Wray R, et al. Simultaneous detection and high-throughput identification of a panel of RNA viruses causing respiratory tract infections. *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45 (7): 2105-09.
3. Kikuta H, Sakata C, Gamo R, et al. Comparison of a lateral-flow immunochromatography assay with real-time reverse transcription-PCR for detection of human metapneumovirus. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46 (3): 928-32.
4. Ebihara T, Endo R, Ma X, et al. Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. *Journal of clinical microbiology*. 2005; 43 (3): 1138-41.
5. Reijans M, Dingemans G, Klaassen C, et al. RespiFinder: a new multiparameter test to differentially identify fifteen respiratory viruses. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46 (4): 1232-40.
6. Von Linstow M-L, Hogh M, Arne NS, et al. A community study of clinical traits and risk factors for human metapneumovirus and respiratory syncytial virus infection during the first year of life. *Eur J Pediatr*. 2008; 167: 1125–1133.
7. Louie J, Schnurr D, Pan C-Y, et al. A Summer Outbreak of Human Metapneumovirus Infection in a Long-Term-Care Facility *The Journal of Infectious Diseases*. 2007; 196: 705–8.

8. Hart CA, Cuevas L. Acute respiratory infections in children. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife*. 2007; 7 (1): 23-29.
9. Don M, Fasioli L, Paldanius M, et al. Aetiology of community-acquired pneumonia: Serological results of a paediatric survey. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2005; 37: 806-812.
10. Boivin G, De Seres G, Hamelin M-E, et al. An Outbreak of Severe Respiratory Tract Infection Due to Human Metapneumovirus in a Long-Term Care Facility. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44:1152-8.
11. Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, et al. Analysis of Monthly Isolation of Respiratory Viruses from Children by Cell Culture Using a Microplate Method: a Two-Year Study from 2004 to 2005 in Yamagata, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2008; 61: 196-201.
12. Jofré ML, Luchsinger FV, Zepeda FG. Apnea como forma de presentación de una infección por metapneumovirus humano. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (4): 313-318.
13. Williams JV, Tollefson SJ, Nair S, et al. Association of human metapneumovirus with acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006; 70 (7): 1189-1193.
14. Aberle SW, Aberle JH, Sandhofer MJ, et al. Biennial Spring Activity of Human Metapneumovirus in Austria. *Pediatr Infect Dis J.* 2008; 27: 1065-1068.
15. Reina J, Ferrés F, Mena A, et al. Características clínicas y epidemiológicas de las infecciones respiratorias causadas por el metapneumovirus humano en pacientes pediátricos. *Enferm Infecc Microbiol Clín.* 2008; 26 (2): 72-6.

16. Regev L, Hindiyeh M, Shulman LM. Characterization of Human Metapneumovirus Infections in Israel. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (4): 484–1489.
17. Peret TCT, Boivin G, Li Y, et al. Characterization of Human Metapneumoviruses Isolated from Patients in North America. *The Journal of Infectious Diseases* 2002; 185: 1660–3.
18. Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, et al. Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. *Antiviral Research*. 2003; 60: 51–59.
19. Wolf DG, Greenberg D, Kalkstein D, et al. Comparison of Human Metapneumovirus, Respiratory Syncytial Virus and Influenza A Virus Lower Respiratory Tract Infections in Hospitalized Young Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25: 320–324.
20. Lambert SB, Allen KM, Druce JD. Community Epidemiology of Human Metapneumovirus, Human Coronavirus NL63, and Other Respiratory Viruses in Healthy Preschool-Aged Children Using Parent-Collected Specimens. *Pediatrics*. 2007; 120 (4): e929-937.
21. Matsizaki Y, Itagaki T, Abiko C, et al. Clinical Impact of Human Metapneumovirus Genotypes and Genotype-Specific Seroprevalence in Yamagata, Japan. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 1084–1089.
22. Van Den Hoogen BG, Osterhaus DME, Fouchier R. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J*, 2004; 23 (1): S25–32.
23. Baer G, Schaad UB, Heininger U. Clinical findings and unusual epidemiologic characteristics of human metapneumovirus infections in

- children in the region of Basel, Switzerland. *Eur J Pediatr.* 2008; 167: 63–69.
24. Morrow BM, Hatherill M, Smuts HEM. Clinical course of hospitalized children infected with human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. *Journal of Paediatrics and Child Health.* 2006; 42: 174–178.
25. Malik PJS, Tang W-T, Chan K-H, et al. Children with Respiratory Disease Associated with Metapneumovirus in Hong Kong. *Emerging Infectious Diseases.* 2003; 9 (6): 628-633.
26. Herd KA, Mahalingam S, Mackay IM, et al. Cytotoxic T-Lymphocyte Epitope Vaccination Protects against Human Metapneumovirus Infection and Disease in Mice. *Journal of virology.* 2006; 80 (4): 2034–2044.
27. Ljubin SS, Santak M, Cepin BJ. Detection of Genetic Lineages of Human Metapneumovirus in Croatia During the Winter Season 2005/2006. *Journal of Medical Virology.* 2008; 80: 1282–1287.
28. Kuypers J, Wright N, Corey L, et al. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. *Journal of Clinical Virology.* 2005; 33: 299–305.
29. Klig JE. Current challenges in lower respiratory infections in children. *Current Opinion in Pediatrics* 2004; 16: 107–112.
30. Hamano HK, Moroumi M, Nakayama E, et al. Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.* 2008; 14: 424–432.
31. Vicente D, Montes M, Cilla G, et al. Differences in Clinical Severity between Genotype A and Genotype B Human Metapneumovirus Infection in Children. *Clinical Infectious Diseases.* 2006; 42: e111–3.

32. Pabbaraju K, Wong S, Mcmillan T, et al. Diagnosis and epidemiological studies of human metapneumovirus using real-time PCR. *Journal of Clinical Virology*. 2007; 40: 186–192.
33. Chung JY, Hee HT, Woo KS. Detection of Viruses Identified Recently in Children With Acute Wheezing. *Journal of Medical Virology*. 2007; 79: 1238–1243.
34. Fodha I, Legrand L, Vabret A, et al. Detection of human metapneumovirus in two Tunisian Children. *Annals of Tropical Paediatrics*. 2004; 24: 275–276.
35. Koetz A, Nilsson P, Lindé M, et al. Detection of human coronavirus NL63, human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in children with respiratory tract infections in south-west Sweden. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 1089–1096.
36. Tang RS, Schickli JH, Macphail M, et al. Effects of Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Antigen Insertion in Two 3- Proximal Genome Positions of Bovine/Human Parainfluenza Virus Type 3 on Virus Replication and Immunogenicity. *Journal of Virology*. 2003; 77 (20): 10819–10828.
37. Semple MG, Cowell A, Dove W, et al. Dual Infection of Infants by Human Metapneumovirus and Human Respiratory Syncytial Virus Is Strongly Associated with Severe Bronchiolitis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2005; 191: 382–6.
38. Chano F, Rousseau C, Laferrière C, et al. Epidemiological Survey of Human Metapneumovirus Infection in a Large Pediatric Tertiary Care Center. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (11): 5520–5525.

39. Galiano M, Videla C, Sanchez PS. Evidence of Human Metapneumovirus in Children in Argentina. *Journal of Medical Virology*. 2004; 72: 299–303.
40. Mejia A, Chavez BS, Ramilo O. Human metapneumovirus: a not so new virus. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23 (1): 1–10.
41. Qin Z, Xi-qiang Y, Yao Z, et al. High seroprevalence of human metapneumovirus infection in children in Chongqing, China. *Chin Med J* 2008; 121 (21): 2162-2166.
42. Chung JY, Hee HT, Woo KS, et al. Genotype Variability of Human Metapneumovirus, South Korea. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 902–905.
43. André DP, Cantarelli V. Human Metapneumovirus and Human Coronavirus NL63. *Pediatrics*. 2008; 121: 445–446.
44. Von Linstow ML, Henrik LH, Eugenolsen J, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus in Hospitalized Danish Children with Acute Respiratory Tract Infection. *Scand J Infect Dis*. 2004; 36: 578–584.
45. Teeratakulpisarn J, Ekalakasananan T, Pietong C, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Detection in Young Children with Acute Bronchiolitis. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 2007; 25: 139-145.
46. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ. Human Metapneumovirus and Lower Respiratory Tract Disease in Otherwise Healthy Infants and Children. *N Engl J Med*. 2004; 350: 443-50.
47. Crowe J. Human Metapneumovirus as a Major Cause of Human

Respiratory Tract Disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23: S215–S221.

48. Stockton J, Stephenson I, Fleming D, et al. Human Metapneumovirus as a Cause of Community-Acquired Respiratory Illness. *Emerging Infectious Diseases.* 2002; 8 (9): 897-901.
49. Garcia DF, Hiatt PW, Jewell A, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Infections in Older Children With Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology.* 2007; 42: 66–74.
50. Cane PA, Van den Hoogen BG, Chakrabarti S, et al. Human metapneumovirus in a haematopoietic stem cell transplant recipient with fatal lower respiratory tract disease. *Bone Marrow Transplantation.* 2003; 31: 309–310.
51. Principi N, Bosis S, Esposito S. Human metapneumovirus in paediatric patients. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12: 301–308.
52. Hopkins P, McNeil K, Kermeen F, et al. Human Metapneumovirus in Lung Transplant Recipients and Comparison to Respiratory Syncytial Virus. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 178: 876–881.
53. Werno AM, Anderson TP, Jennings LC. Human metapneumovirus in children with bronchiolitis or pneumonia in New Zealand. *J. Paediatr. Child Health.* 2004; 40: 549–551.
54. Falsey AR. Human Metapneumovirus Infection in Adults. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: S80–S83.
55. Larcher C, Geltner C, Fischer H, et al. Human Metapneumovirus Infection in Lung Transplant Recipients: Clinical Presentation and Epidemiology. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24: 1891–901.

56. Ijpmma F, Beekhuis D, Cotton MF, et al. Human Metapneumovirus Infection in Hospital Referred South African Children. *Journal of Medical Virology*. 2004; 73: 486–493.
57. Wang S-M, Liu C, Wang C, et al. Human metapneumovirus infection among children in Taiwan: a comparison of clinical manifestations with other virus-associated respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 1221–1224.
58. Thanasugarn W, Samransamruajkit R, Vanapongtipagorn P. Human Metapneumovirus Infection in Thai Children. *Scand J Infect Dis*. 2003; 35: 754-756.
59. Caracciolo S, minini C, Colombrita D. Human Metapneumovirus Infection in Young Children Hospitalized With Acute Respiratory Tract Disease: Virologic and Clinical Features. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27: 406–412.
60. Esper F, Boucher D, Weibel C. Human Metapneumovirus infection in the United States: Clinical Manifestations Associated With a Newly Emerging Respiratory Infection in Children. *Pediatrics*. 2003; 111: 1407–1410.
61. Boivin G, Derres G, Cote S. Human Metapneumovirus Infections in Hospitalized Children. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9 (6): 634-640.
62. Noyola DE, Alpuche-Solis AG, Herrera-diaz A, et al. Human metapneumovirus infections in Mexico: epidemiological and clinical characteristics. *Journal of Medical Microbiology*. 2005; 54: 969–974.
63. Wilkesmann A, Schildgen O, Eis-Hubinger A, et al. Human metapneumovirus infections cause similar symptoms and clinical severity as respiratory syncytial virus infections. *Eur J Pediatr*. 2006; 165: 467–475.

64. García-García ML, Calvo C, Matín F, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized infants in Spain. *Arch Dis Child*. 2006; 91: 290–295.
65. Derdowski, Peters TR, Glover N, et al. Human metapneumovirus nucleoprotein and phosphoprotein interact and provide the minimal requirements for inclusion body formation. *Journal of General Virology*. 2008; 89: 2698–2708.
66. Alvarez R, Harppd K, Shieh W, et al. Human Metapneumovirus Persists in BALB/c Mice despite the Presence of Neutralizing Antibodies. *Journal of Virology*. 2004; 78 (24): 14003–14011.
67. Ulloa GR. Human metapneumovirus: a new agent in the differential diagnosis of respiratory tract infection. *An Pediatr*. 2003; 59 (2): 1-2.
68. Don M, Korppi M, Valent F. Human metapneumovirus pneumonia in children: Results of an Italian study and mini-review. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2008; 40: 821-826.
69. Broor S, Bharaj P, Chahar HS. Human metapneumovirus: a new respiratory pathogen. *J. Biosci*. 2008; 33 (4): 483–493.
70. Prins JM, Wolthers KC. Human metapneumovirus: a new pathogen in children and adults. *The Netherland journal of medicine*. 2004; 62 (6): 177-179.
71. Gray G, Capuano A, Setterquist S, et al. Human Metapneumovirus, Peru. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12 (2): 347-350.
72. Ong BH, Gao Q, Phoon MC, et al. Identification of human metapneumovirus and *Chlamydia pneumoniae* in children with

asthma and wheeze in Singapore. *Singapore Med J.* 2007; 48 (4): 291-293.

73. Mallimaci M, Espul C, Sijvarger C, et al. Infección Respiratoria Aguda por metapneumovirus humano en Ushuaia, Argentina: descripción del primer caso. *Arch. argent. pediatr* 2006; 104 (2): 150-152.
74. Nicholson K, McNally T, Silverman M, et al. Influenza-related hospitalizations among young children in Leicestershire. *Pediatr Infect Dis J.* 2003; 22 (10): S228–30.
75. García GM, Calvo RC, Martín VF. Infecciones respiratorias por metapneumovirus en lactantes hospitalizados. *An Pediatr.* 2004; 61(3): 213-8.
76. Christensen A, Arne S, Jeansson S, et al. Lower Respiratory Tract Infection Caused by Human Metapneumovirus in Two Children: The First Report of Human Metapneumovirus Infection in Norway. *Scand J Infect Dis.* 2008; 35: 772-775.
77. Prado M, Perret C, Montecinos L, et al. Metapneumovirus humano como causa de hospitalización en niños bajo 3 años de edad, con infección respiratoria aguda, durante el año 2004. *Rev Chil Infect.* 2007; 24 (1): 19-26.
78. Jartti T, Van den Hoogen B, Garofalo R, et al. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 2002; 360: 1393–94.
79. Schildgen O, Geikowski T, Glatzela T. New variant of the human metapneumovirus (HMPV) associated with an acute and severe exacerbation of asthma bronchiale. *Journal of Clinical Virology.* 2004; 31: 283–288.

80. Maffey A. Nuevos virus asociados a infecciones respiratorias en niños. Arch Argent Pediatr. 2008; 106 (4): 341-350.
81. Semple M, Booth J, Ebrahimi B. Most human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus in infant nasal secretions is cell free. Journal of Clinical Virology. 2007; 40: 241–244.
82. Maffey A, Venialgo C, Barrero P, et al. Nuevos virus respiratorios en niños de 2 meses a 3 años con sibilancias recurrentes. Arch Argent Pediatr. 2008; 106(4): 302-309.
83. Vargas S, Kozakewich H, Pérez A. Pathology of Human Metapneumovirus Infection: Insights into the Pathogenesis of a Newly Identified Respiratory Virus. Pediatric and Developmental Pathology. 2004; 7: 478–486.
84. Kling J. Office pediatrics: current perspectives on the outpatient evaluation and management of lower respiratory infections in children. Current Opinion in Pediatrics. 2006; 18: 71–76.
85. Freymuth F, Vabret A, Legrand L. Presence of the New Human Metapneumovirus in French Children with Bronchiolitis. The Pediatric Infectious Disease Journal. 2003; 22 (1): 92-94.
86. Madhi S, Ludewick H, Kuwanda L, et al. Pneumococcal Coinfection with Human Metapneumovirus. The Journal of Infectious Diseases. 2006; 193:1236–43.
87. Mahalingam S, Schwarza J, Zaid A, et al. Perspective on the host response to human metapneumovirus infection: what can we learn from respiratory syncytial virus infections? Microbes and Infection. 2006; 8: 285–293.

88. Khetsuriani N, Neely N, Erdman D, et al. Prevalence of viral respiratory tract infections in children with asthma. *Allergy Clin Immunol.* 2007; 119: 314-21.
89. Barenfanger J, Mueller T, O'Brien J. Prevalence of Human Metapneumovirus in Central Illinois in Patients Thought To Have Respiratory Viral Infection. *Journal of Virology.* 2004; 78 (15): 8264–8270.
90. Bredius R, Templeton K, Schlynga. Prospective Study of Respiratory Viral Infections in Pediatric Hemopoietic Stem Cell Transplantation Patients. *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23: 518–522.
91. Gerna G, Sarasini A, Percivalle E, et al. Prospective study of human metapneumovirus infection: Diagnosis, typing and virus quantification in nasopharyngeal secretions from pediatric patients. *Journal of Clinical Virology.* 2007; 40: 236–240.
92. Bingen E, Cohen R, Jourenkova N. Epidemiologic study of Conjunctivitis-Otitis Syndrome. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 2005; 24 (8): 733-735.
93. Rohde G, Borg I, Arinir U, et al. Relevance of human metapneumovirus in exacerbations of COPD. *Respiratory Research.* 2005, 6:150.
94. Hayden F. Respiratory viral threats. *Curr Opin Infect Dis.* 2006; 19: 169–178.
95. Jarti T, Lehtinen P, Vuorinen T, et al. Respiratory Picornaviruses and Respiratory Syncytial Virus as Causative Agents of Acute Expiratory Wheezing in Children. *Emerging Infectious Diseases.* 2004; 10 (6): 1095-1101.

96. Smuts H, Workman L, Zar H. Role of Human Metapneumovirus, Human Coronavirus NL63 and Human Bocavirus in Infants and Young Children With Acute Wheezing. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 906–912.
97. Costa LF, Yokosawa J, Mantese OC, et al. Respiratory viruses in children younger than five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101 (3): 301-306.
98. Peck A, Englund J, Kuypers J, et al. Respiratory virus infection among hematopoietic cell transplant recipients: evidence for asymptomatic parainfluenza virus infection. *Blood*. 2007; 110: 1681-1688.
99. Alvarez R, Jones L, Seal B, et al. Serological cross-reactivity of members of the Metapneumovirus genus. *Virus Research*. 2004; 105: 67–73.
100. Madhi S, Ludewick H, Kuwanda L, et al. Seasonality, Incidence, and Repeat Human Metapneumovirus Lower Respiratory Tract Infections in an Area With a High Prevalence of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26: 693–699.
101. Kaida A, Iritani N, Kubo H, et al. Seasonal distribution and phylogenetic analysis of human metapneumovirus among children in Osaka City, Japan. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 35: 394–399.
102. Ordas J, Boga JA, Alvarez-Arguelles. Role of Metapneumovirus in Viral Respiratory Infections in Young Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (8): 2739–2742.
103. Thomazelli L, Vieira S, Leal A, et al. Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil. *J Pediatr*. 2007; 83 (5): 422-428.

104. Casas I, Pozo F. Síndrome respiratorio agudo grave, gripe aviar e infección por metapneumovirus humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23 (7): 438-48.
105. Estrada B, Carter M, Barik S, et al. Severe Human Metapneumovirus Infection in Hospitalized Children. *Clinical Pediatrics*. 2007; 46 (3): 258-262.
106. Lijmer JC, Moll BW, Heisterkamp S, et al. Empirical evidence of design related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999; 282: 1061-1066.
107. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Clin Chem Lab Med*. 2003; 41 (1): 68-73.
108. Whiting P, Rutjes A, Reitsma J, et al. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology*. 2003; 3: 25.
109. Deville W, Buntinx F, Bouter L, et al. Conducting systematic reviews of diagnostic studies: didactic guidelines. *BMC Medical Research Methodology*. 2002; 2: 9.
110. Reina J, Ferrer F, Alcoceba E, et al. Comparison of different cell lines and incubation times in the isolation by the shell vial culture of human metapneumovirus from pediatric respiratory samples. *Journal of Clinical Virology*, 2007; 40: 46-49.
111. Lee BE, Robinson JL, Khurana V, et al. Enhanced Identification of Viral and Atypical Bacterial Pathogens in Lower Respiratory Tract

Samples With Nucleic Acid Amplification Tests. *Journal of Medical Virology*. 2006; 78: 702–710.

112. Coté S, Abed Y, Boivin G, et al. Comparative Evaluation of Real-Time PCR Assays for Detection of the Human Metapneumovirus. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003; 41(8): 3631–3635.
113. Gruteke P, Glas A, Dierdorp M, et al. Practical Implementation of a Multiplex PCR for Acute Respiratory Tract Infections in Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (12): 5596–5603.
114. Hopkins M, Redmond C, Shaw J, et al. Detection and characterization of human metapneumovirus from children with acute respiratory symptoms in north-west England, UK. *Journal of Clinical Virology*. 2008; 42: 273–279.
115. Sarasini A, Percivalle E, Rovidla F, et al. Detection and pathogenicity of human metapneumovirus respiratory infection in pediatric Italian patients during a winter–spring season. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 35: 59–68.
116. Bouscambert-Duchamp M, Lina B, Trompette A, et al. Detection of Human Metapneumovirus RNA Sequences in Nasopharyngeal Aspirates of Young French Children with Acute Bronchiolitis by Real-Time Reverse Transcriptase PCR and Phylogenetic Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (3): 1411–1414.
117. Ishiguro N, Ebihara T, Endo R, et al. Immunofluorescence Assay for Detection of Human Metapneumovirus-Specific Antibodies by Use of Baculovirus-Expressed Fusion Protein. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2005; 12 (1): 202–205.
118. Jun KR, DaeWoo Y, Sung H, et al. Detection of human

metapneumovirus by direct antigen test and shell vial cultures using immunofluorescent antibody staining. *Journal of Virological Methods*. 2008; 152: 109–111.

119. Aslanzadeh J, Zheng X, Li H, et al. Prospective Evaluation of Rapid Antigen Tests for Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus and Human Metapneumovirus Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (5): 1682–1685.
120. Dare R, Sanghavi S, Bullotta A, et al. Diagnosis of Human Metapneumovirus Infection in Immunosuppressed Lung Transplant Recipients and Children Evaluated for Pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45 (2): 548–552.
121. Fenwick F, Young B, McGuckin R, et al. Diagnosis of human metapneumovirus by immunofluorescence staining with monoclonal antibodies in the North-East of England. *Journal of Clinical Virology*. 2007; 40: 193–196.
122. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J. Comparison of Real-Time PCR Assays with Fluorescent-Antibody Assays for Diagnosis of Respiratory Virus Infections in Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (7): 2382–2388.
123. Landry M, Ferguson D, Cohen S, et al. Detection of Human Metapneumovirus in Clinical Samples by Immunofluorescence Staining of Shell Vial Centrifugation Cultures Prepared from Three Different Cell Lines. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (4): 1950–1952.
124. Landry M, Cohen S, Ferguson D. Prospective Study of Human Metapneumovirus Detection in Clinical Samples by Use of Light Diagnostics Direct Immunofluorescence Reagent and Real-Time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (3): 1098–1100.

125. Percivalle E, Sarasini A, Visai L, et al. Rapid Detection of Human Metapneumovirus Strains in Nasopharyngeal Aspirates and Shell Vial Cultures by Monoclonal Antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (7): 3443–3446.
126. Robinson JL, Lee BE, Kothapalli S, et al. Use of Throat Swab or Saliva Specimens for Detection of Respiratory Viruses in Children. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46: e61–4.
127. Van de Pol A, Wolfs T, Jansen N, et al. Diagnostic value of real-time polymerase chain reaction to detect viruses in young children admitted to the paediatric intensive care unit with lower respiratory tract infection. *Critical Care*. 2006; 10 (2): 1-7.
128. Vinh D, Newby D, Charest H, et al. Evaluation of a Commercial Direct Fluorescent-Antibody Assay for Human Metapneumovirus in Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (5): 1840–1841.
129. Kaida A, Kubo H, Shiomi M, et al. Evaluation of Real-Time RT-PCR compared with conventional RT-PCR for detecting Human Metapneumovirus RNA from Clinical Specimens. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2008; 61: 41–464.
130. Pierangeli A, Gentile M, Di Marco P, et al. Detection and Typing by Molecular Techniques of Respiratory Viruses in Children Hospitalized for Acute Respiratory Infection in Rome, Italy. *Journal of Medical Virology*. 2007; 79: 463–468.
131. Kyung RJ, Young DW, Heungsup S, Mi-Na. Detection of human metapneumovirus by direct antigen test and shell vial cultures using immunofluorescent antibody staining. *Journal of Virological Methods*.

2008; 152: 109–111.

132. Freymuth F., Vabret A. , Cuvillon-Nimal D. Comparison of Multiplex PCR Assays and Conventional Techniques for the Diagnostic of Respiratory Virus Infections in Children Admitted to Hospital With an Acute Respiratory Illness. *Journal of Medical Virology*. 2006; 78: 1498–1504.
133. Scheltinga S., Templeton K., Beersma M. Diagnosis of human metapneumovirus and rhinovirus in patients with respiratory tract infections by an internally controlled multiplex real-time RNA PCR. *Journal of Clinical Virology*. 2005; 33: 306–311.
134. Ginocchio C., Ryhana Manji R., Lotlikar M. Clinical Evaluation of NucliSENS Magnetic Extraction and NucliSENS Analyte-Specific Reagents for Real-Time Detection of Human Metapneumovirus in Pediatric Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (4): 1274–1280.
135. Lee W., Grindle K., Pappas T. High-Throughput, Sensitive, and Accurate Multiplex PCR-Microsphere Flow Cytometry System for Large-Scale Comprehensive Detection of Respiratory Viruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45 (8): 2626–2634.
136. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.0. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2008.

Gráficas:

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (I de C 95%)
Reina 2007	483	400	0	1.00 (0.99, 1.00)

Gráfica 1. Sensibilidad de estudios que comparan cultivo vs cultivo.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (I de C 95%)
Reina 2007	483	0	83	1.00 (0.96, 1.00)

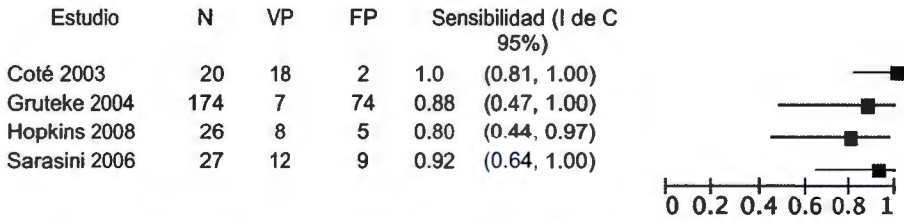
Gráfica 2. Especificidad de estudios que comparan cultivo vs cultivo.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (I de C 95%)
Lee 2006	439	8	40	0.67 (0.35, 0.90)

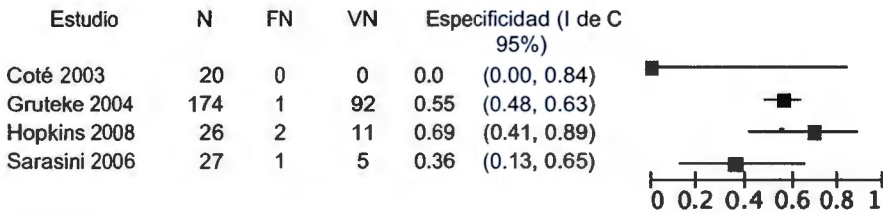
Gráfica 3. Sensibilidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs cultivo.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (I de C 95%)
Lee 2006	439	4	387	0.91 (0.87, 0.93)

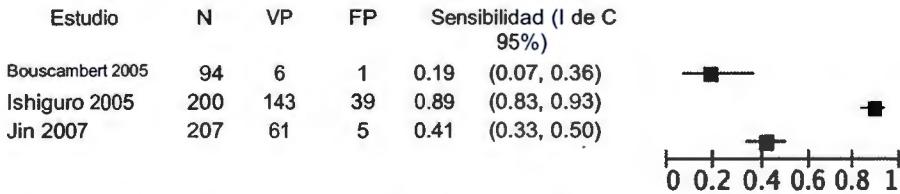
Gráfica 4. Especificidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs cultivo.



Gráfica 5. Sensibilidad de estudios que comparan PCR vs cultivo.

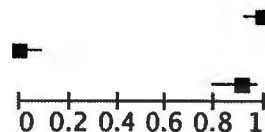


Gráfica 6. Especificidad de estudios que comparan PCR vs cultivo.



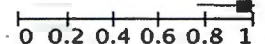
Gráfica 7. Sensibilidad de estudios que comparan inmunofluorescencia vs inmunofluorescencia.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (I de C 95%)
Bouscambert 2005	94	26	61	0.98 (0.91, 1.00)
Ishiguro 2005	200	18	0	0.00 (0.00, 0.09)
Jin 2007	207	87	47	0.90 (0.79, 0.97)



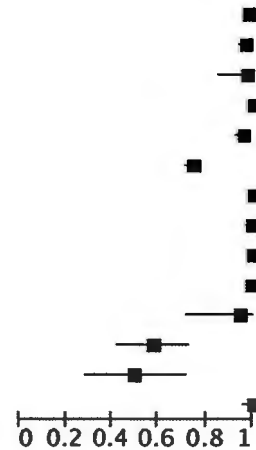
Gráfica 8. Especificidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs inmufluorescencia.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (I de C 95%)
Aslanzadeh 2008	515	20	12	0.95 (0.76, 1.0)
Dare 2007	232	14	8	0.93 (0.68, 1.00)
Ebihara 2005	48	11	1	0.73 (0.45, 0.92)
Fenwick 2007	857	58	2	1.00 (0.94, 1.00)
Kikuta 2008	247	48	8	0.71 (0.58, 0.81)
Kuypers 2006	1074	432	163	0.99 (0.98, 1.00)
Landry 2005	156	12	0	0.80 (0.52, 0.96)
Landry 2008	202	41	1	0.85 (0.72, 0.94)
Li 2007	360	12	1	0.80 (0.52, 0.96)
Manoha 2008	247	41	2	1.00 (0.91, 1.00)
Percivalle 2005	40	17	1	0.74 (0.52, 0.90)
Robinson 2008	137	87	18	0.93 (0.85, 0.97)
Van de Pol 2006	23	1	11	1.00 (0.03, 1.00)
Vinh 2008	95	20	0	0.95 (0.76, 1.00)



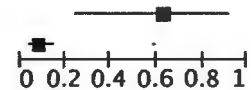
Gráfica 9. Sensibilidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs PCR.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (I de C 95%)
Aslanzadeh 2008	515	1	482	0.98 (0.96, 0.99)
Dare 2007	232	1	209	0.96 (0.93, 0.98)
Ebihara 2005	48	4	32	0.97 (0.84, 1.00)
Fenwick 2007	857	0	797	1.00 (0.99, 1.00)
Kikuta 2008	247	20	171	0.96 (0.91, 0.98)
Kuypers 2006	1074	3	476	0.74 (0.71, 0.78)
Landry 2005	156	3	141	1.00 (0.97, 1.00)
Landry 2008	202	7	153	0.99 (0.96, 1.00)
Li 2007	360	3	344	1.00 (0.98, 1.00)
Manoha 2008	247	0	204	0.99 (0.97, 1.00)
Percivalle 2005	40	6	16	0.94 (0.71, 1.00)
Robinson 2008	137	7	25	0.58 (0.42, 0.73)
Van de Pol 2006	23	0	11	0.50 (0.28, 0.72)
Vinh 2008	95	1	74	1.00 (0.95, 1.00)



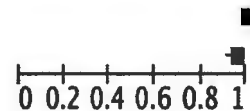
Gráfica 10. Especificidad de estudios que comparan inmunofluorescencia vs PCR.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (I de C 95%)
Kaida 2008	146	5	0	0.63 (0.24, 0.91)
Pierangeli 2007	235	8	6	0.08 (0.04, 0.15)



Gráfica 11. Sensibilidad de estudios que comparan PCR vs PCR.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (I de C 95%)
Kaida 2008	146	3	138	1.00 (0.97, 1.00)
Pierangeli 2007	235	91	130	0.96 (0.91, 0.98)



Gráfica 12. Especificidad de estudios que comparan PCR vs PCR.

Anexos:

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

Formato de recolección de datos

Dignóstico de Metapneumovirus humano. Revisión sistemática de la literatura.

Título del estudio: _____

Autores: _____

Objetivo del estudio: _____

Tamaño de la población del estudio (n): _____

Criterios de inclusión: _____

Criterios de exclusión: _____

Edades que incluyeron: _____

Criterios diagnósticos:

Prueba que se estudió: _____

Prueba de referencia: _____

Análisis estadístico: _____

Número de verdaderos positivos: _____

Número de verdaderos negativos: _____

Falsos positivos: _____

Falsos negativos: _____

Sensibilidad: _____

Especificidad: _____

Valor predictivo positivo: _____ Calculado: _____

Valor predictivo negativo: _____ Calculado: _____

Razón de verosimilitud positiva: _____ Calculado: _____

Razón de verosimilitud negativa: _____ Calculado: _____