

Boletín informativo

Número 63 Septiembre 2008

XIV CONGRESO



Sociedad Española de Fitopatología

LUGO 2008

El XIV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología se celebró en Lugo en el Auditorio de la Facultad de Veterinaria del 15 al 19 de septiembre, salvo la sesión del miércoles 17 por la tarde que se realizó en el Paraninfo de la Universidad de A Coruña. El Congreso fue organizado por los Departamentos de Producción Vegetal, Fisiología Vegetal y Botánica de la Universidad de Santiago de Compostela, por el Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de A Coruña y por la Estación Fitopatológica de Areiro (Diputación de Pontevedra), siendo Presidenta del Comité Organizador Cristina Cabaleiro Sobrino.

Asistieron 345 congresistas de toda España y de algunos puntos del extranjero (México y Portugal) que presentaron 325 comunicaciones distribuidas entre etiología-diagnóstico, control, patogénesis-resistencia y epidemiología. Las comunicaciones se distribuyeron por agente causal en hongos (165), virus (82), bacterias (50), nemátodos (23) y mixto (5). El perfil profesional de los asistentes, como en congresos anteriores, fue muy diverso, y consistió en científicos de Centros de Investigación o Universidades, técnicos de la Sanidad Vegetal de Administraciones autonómicas y del Estado, y empresas del sector agrícola y fitosanitario. También asistieron alumnos de la Escuela

Politécnica Superior de Lugo, en un primer contacto con la investigación profesional.

El Congreso se inició con un simposio sobre "Sanidad Forestal en la Península Ibérica" en el que intervinieron como ponentes Gerardo Sánchez Peña (Jefe del Servicio de Protección de Montes contra los Agentes Nocivos, Madrid), Eugenia Iturrutxa (Investigadora del Área Forestal de Neiker-Tecnalia, Vitoria) y Cristina Pires Moreira, (Investigadora del Departamento de Proteção das Plantas, Estação Agronómica Nacional, Oeiras-Portugal) seguido de Sesiones orales y de paneles. Se impartieron dos conferencias invitadas realizadas por especialistas internacionales en el campo de la Patología Vegetal: "*Current developments in the study of the epidemiology of grapevine phytoplasma diseases*" por el Dr. M. Maixner del Julius Kühn-Institute (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants-Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture, (Bernkastel-Kues, Alemania) y "*The profession of plant pathology - a U.S. perspective*" por el Dr. Ray D. Martyn, anterior Presidente de la American Phytopathological Society, Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University (Indiana, USA).



El magnífico comité organizador del congreso

El X premio SEF-PHYTOMA se otorgó al trabajo titulado "*Análisis de los mecanismos de tolerancia de las plantas a los virus*" por I. Pagán, C. Alonso-Blanco y F. García-Arenal, del Centro de

Biología y Genómica de Plantas y Departamento de Biotecnología-ETSIA de la Universidad Politécnica de Madrid. Los accésit correspondieron a los trabajos "*Identificación de huéspedes del fitoplasma Candidatus Phytoplasma prunorum y de su vector Cacopsylla pruna*" por A. Laviña, J. Sabaté y A. Batlle del IRTA, y "*Evaluación de la susceptibilidad de cultivares de olivo a la antracnosis causada por Colletotrichum spp.*" por J. Moral y A. Trapero del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba. Además se celebró el IV Concurso de Fotografía de la SEF quedando como ganadora la fotografía "*¡Qué Nervios!*" realizada por Miguel Angel Cambra del Centro de Protección Vegetal de Zaragoza.



"¡Qué Nervios!". Miguel Angel Cambra

Durante la clausura del congreso se entregaron premios y distinciones a la actividad científica, docente y de promoción de la Fitopatología y al esfuerzo de socios fundadores y miembros de la primera Junta Directiva. Los premios al "Mérito Fitopatológico" se concedieron a Antonio Gómez Barcina, Eloy Mateo-Sagasta y Ramona Beltrá Martínez. La "Distinción SEF" en reconocimiento a la labor como Miembro de la Comisión Promotora que redactó los Estatutos de la SEF que se constituyó el 24 de Septiembre de 1981, se entregó a Rafael Jiménez-Díaz, Javier Romero, Antonio Bello y Cristina Noval. También se entregó la Distinción SEF a los miembros de la primera Junta Directiva integrada por Rafael Jiménez Díaz, Antonio Bello, Javier Romero, Cristina Noval, Antonio Gomez Barcina, Jose M^a Melero, Ignacio Palazón, Adolfo Ruipérez y Juan José Tuset.

Finalmente destacar que se celebró la Asamblea Ordinaria de la SEF donde se aprobó la renovación de cargos de Presidente (M^a Milagros López que sustituye a Emilio Montesinos), tesorero (Alejandro Pérez García que sustituye a Carlos J. López Herrera) y dos vocales (Francisco Javier Legorburu y Juana Páez en sustitución de José Luis Palomo e Iñigo Zabalgogea). Además en la asamblea se aprobó la propuesta de sede para el XV Congreso, que se celebrará en Vitoria en el año 2010.

Emilio Montesinos Seguí
Rosa Ana Vázquez Ruiz de Ocenda

Actividades de los socios

El 15 de abril de 2008 **Ximena Besoain Canales** defendió en la Universidad Politécnica de Valencia la tesis titulada "*Incidencia, caracterización y epidemiología del virus de la tristeza de los cítricos en Chile*". La tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Mariano Cambra Álvarez del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en el Centro de Protección Vegetal y Biotecnología del IVIA y en la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. Tras una extensa

prospección de *Citrus tristeza virus* (CTV) en Chile por inmunopresión, se realizó una caracterización biológica, serológica y molecular de 100 aislados de CTV y se analizó su eficacia de transmisión en condiciones de campo, la distribución espacial y temporal del virus, así como las especies vectoras implicadas. En la tesis se emiten recomendaciones para reducir el impacto de CTV en Chile y para prevenir la dispersión de los aislados agresivos encontrados en el norte del país.

Israel Pagán Muñoz defendió el 23 de Mayo de 2008 en la Universidad Politécnica de Madrid la Tesis Doctoral titulada: “*Factores que determinan la virulencia del virus del mosaico de pepino (CMV) en Arabidopsis thaliana*” obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis fue realizada en el Laboratorio de Patología Vegetal de la E.T.S. Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid, y dirigida por el Dr. Fernando García-Arenal Rodríguez. Parte de los resultados de esta tesis se han publicado como:

Pagán I, Alonso-Blanco C, García-Arenal F (2007) *The Relationship of Within-Host Multiplication and Virulence in a Plant-Virus System*. *PLoS ONE*. 2: e786.

Pagán I, Alonso-Blanco C, García-Arenal F (2008) *Host Responses in Life-History Traits and Tolerance to Virus Infection in Arabidopsis thaliana*. *PLoS Pathogens*. *PLoS Pathogens*. 4: e1000124.

Elena García Cano defendió el 9 de julio de 2008 en la Universidad de Málaga su Tesis Doctoral titulada “*La resistencia como estrategia de control de virus causantes de amarillos en tomate*”, obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad del tribunal. El trabajo fue dirigido por los Drs. Enrique Moriones Alonso y Rafael Fernández Muñoz y realizado en la Estación Experimental “La Mayora” CSIC.

Alberto Martín Sanz defendió el 11 de julio en la Universidad de León la Tesis Doctoral titulada “*Bacteriosis en guisante (Pisum sativum L.): situación en Castilla y León, caracterización de los patógenos implicados y búsqueda de fuentes de resistencia*” obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis fue realizada en el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, y dirigida por el Dr. Constantino Caminero Saldaña y el Dr. Marcelino Pérez de la Vega.

Teresa Paula Cañamás Vidal defendió el 17 de Julio de 2008 en la Universidad de Lleida la Tesis Doctoral titulada “*Mejora de la resistencia de los agentes de biocontrol Candida sake CPA-1 y Pantoea agglomerans CPA-2 frente a condiciones de estrés ambiental*”, obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis fue realizada en el laboratorio de Patología del Area de Postcosecha del centro UdL-IRTA de Lleida (IRTA), y dirigida por la Dra. Inmaculada Viñas Almenar y la Dra. Neus Teixidó Espasa.”

La **International Society of Citrus Virologists** (IOCV) dispone de una página en internet que es de interés para todos debido a la información que contiene sobre enfermedades de cítricos. <http://www.ivia.es/iocv/>

Libros

Molecular biology in plant pathogenesis and disease management. Narayanasamy, P. 2008. 3 volúmenes. Springer. ISBN: 978-1-4020-8248-1. 399,00€.

Pseudomonas syringae pathovars and related pathogens - Identification, epidemiology and genomics. Fatmi, M., Collmer, A., Iacobellis, N.S., Mansfield, J., Murillo, J., Schaad, N.W., Ullrich, M. (Eds.) 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-6900-0. 249,00€

Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. Saharan, G.S., Mehta, N. 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8407-2. 200,00€.

Close-up photography for gardeners and nature lovers. A guide to digital macro techniques. Detrick, A.L. 2008. Timber Press. ISBN: 13-978-0-88192-890-7. 27,00 €.

The truth about organic gardening. Benefits, drawbacks, and the bottom line. Gillman, J. 2008. Timber Press. ISBN: 978-0-88192-862-4. 10,00€.

The downy mildews - Genetics, molecular biology and control. Lebeda, A., Spencer-Phillips, P., Cooke, B.M. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8972-5. 80,00€.

Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria. Integrated Management of Plant Pests and Diseases, Vol. 3. Ciancio, A., Mukerji, K.G. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8570-3. 145,00 €

Agricultural biotechnology in China. Origins and prospects. Karplus, V.J., Deng, X.W. 2008. Springer. ISBN: 978-0-387-71138-6. 80,00€.

Micronutrient deficiencies in global crop production. Alloway, B.J. (Ed.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-6859-1 140,00€

Plant-parasitic nematodes of coffee. Souza, R.M. (Ed.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8719-6. 150,00€

Sustainable disease management in a European context. Collinge, D.B., Munk, L., Cooke, B.M. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8779-0. 70,00 €.

Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry. Siddiqui, Z.A., Akhtar, M.S., Futai, K. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8769-1. 140,00 €.

Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence. Soil Biology Series, Vol. 15. Nautiyal, C.S., Dion, P. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-3-540-75574-6. 180,00 €.

Classical biological control of *Bemisia tabaci* in the United States - A review of interagency research and implementation. Gould, J., Hoelmer, K., Goolsby, J. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-6739-6. 120,00 €

Ecology and evolution of the grass-endophyte symbiosis. Cheplick, G.P., Faeth, S. 2008. Oxford University Press. ISBN: 978-0-19-530808-2. 57,00€.

Management of nematode and insect-borne diseases. Mukerji, K.G., Saxena G. 2008. CRC Press ISBN: 9781560221340. 60,00€.

Dictionary of the fungi, 10th edition. Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. (Eds.) 2008. CABI. 110,00 €.

Publicaciones de la Sociedad Española de Fitopatología

PATOLOGÍA VEGETAL (2 Volúmenes). G. Llácer, M.M. López, A. Trapero, A. Bello (Editores). 1996. Mundi Prensa Libros S.A. - Phytoma España. 58,90 €.

ENFERMEDADES DE LAS CUCURBITÁCEAS EN ESPAÑA Monografía N° 1. Sociedad Española de Fitopatología. J.R. Díaz Ruíz, J. García-Jiménez (Editores). 1994. Phytoma-España. 37,60 €.

ENFERMEDADES DE LOS CÍTRICOS Monografía N° 2. Sociedad Española de Fitopatología. N. Duran-Vila, P. Moreno (Editores). 2000. Mundi Prensa Libros S.A. 28,85 €.

ENFERMEDADES DE LOS FRUTALES DE PEPITA Y HUESO Monografía N° 3. Sociedad Española de Fitopatología. E. Montesinos, P. Melgarejo, M.A. Cambra, J. Pinochet (Editores). 2000. Mundi Prensa Libros S.A. 28,85 €.

HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EN FITOPATOLOGÍA. Pallás V., Escobar C., Rodríguez Palenzuela P., Marcos J.F. (Editores) 2007. Mundi Prensa Libros S.A. 49,00 €.

Más información en:

www.sef.es/sef/index.jsp?pag=publicaciones

Congresos

Patata 2008 - III Congreso Iberoamericano sobre Investigación y Desarrollo en Patata. Vitoria-Gasteiz. 5-9 Octubre 2008.
<http://www.patata2008.com>

Diversifying crop protection. Montpellier, Francia. 13-15 Octubre 2008.
http://www.endure-network.eu/international_conference_2008

30^{as} Jornadas de Productos Fitosanitarios. Barcelona. 20-21 Octubre 2008.
<http://fitos.iqs.edu/>

3rd European Whitefly Symposium. Aguadulce, Almería. 20-24 Octubre 2008.
<http://www.ews3.org/>

Euroblight workshop. Hamar, Noruega. 28-31 Octubre 2008.
<http://www.euroblight.net/EuroBlight.asp>

Asociación Latinoamericana de Fitopatología, ALF
y Sociedad Chilena de Fitopatología

Invitan a usted al

XV CONGRESO LATINOAMERICANO DE
y XVIII CONGRESO CHILENO DE

FITOPATOLOGIA

12-16 de Enero de 2009
www.congresoalf.puc.cl

Campus San Joaquín
Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile
Consultas e inscripciones: fitopatologia@uc.cl

2nd International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. Orlando, EE.UU. 4-7 Noviembre 2008.
JBJones@ufl.edu

VI Congreso Latinoamericano de Micología. Mar del Plata, Argentina. 10-13 Noviembre 2008.
<http://www.almic.org/congreso/principal.php>

10th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms. Wellington, Nueva Zelanda. 16-21 Noviembre 2008. <http://www.isbgmo.info>

Applied Aspects of Aerobiology. Rothamsted, UK. 19 Noviembre 2008.
<http://www.aab.org.uk>

International conference on genetic control of plant pathogenic viruses and their vectors: towards new resistance strategies. Puerto de Santa María, Cádiz. 23-27, Noviembre 2008.
<http://www.richalia.es/congreso/index.html>

International Conference on Grain Legumes Kanpur, India. 14-16 Febrero 2009.
<http://www.icar.org.in/internconference.pdf>

Seed Production and Treatment in a Changing Environment. Wishaw, Reino Unido. 24-25 Febrero 2009.
<http://www.bcp.org/seedtreatment/index.asp>

International Forest Biosecurity Conference, 6th International Forest Vegetation Management Conference. Rotorua, Nueva Zelanda. 16-20 Marzo 2009.
www.ensisjv.com/forestbiosecurity

International Conference - Advances in Plant Virology. Harrogate, Reino Unido. 1-3 Abril 2009.
<http://tinyurl.com/5ekoLx>

14th International Sclerotinia Workshop. North Carolina, EE.UU. 31 Mayo-4 Junio 2009.
http://www.cals.ncsu.edu/sclerotinia_conferenc_e/

5th Meeting IOBC/WPRS working group "Induced resistance in plants against insects and diseases". Granada, España. 12-16 Mayo 2009. <http://www.fvccee.uji.es>

3rd International DPG-BCPC Plant Protection and Plant Health in Europe Symposium "Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors: Current Potential and Future Demands". Berlín, Alemania. 14-16 Mayo 2009.

<http://dpg-bcpc-symposium.de>

8th International PGPR Workshop. Portland, EE.UU. 17-22 Mayo 2009.

<http://capps.wsu.edu/pgpr/default.asp>

4th European Meeting of the IOBC/WPRS Group "Integrated Protection of Olive Crops". Córdoba. 1-4 Junio 2009.

<http://www.proyectosycongresos.com/>

3rd Congress of European Microbiologists - FEMS 2009. Göteborg, Suecia. 28 Junio-2 Julio 2009.

<http://www2.kenes.com/fems-microbiology/Pages/home.aspx>

XXIth International Symposium on Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops and XIIth International Symposium on Small Fruit Virus Diseases. Neustadt/Weinstrasse, Alemania. 5-10 Julio 2009.

<http://www.phytomedizin.org/index.php?id=193>

International Banana Symposium: Global Perspectives on Asian Challenges Guang Dong, China, 14-18 Septiembre 2009.

http://www.promusa.org/symposium_2009/home.html

The 13th World Forestry Congress. Buenos Aires, Argentina. 18-25 Octubre 2009.

http://www.wfc2009.org/index_1024.html

10th International Congress of Plant Pathology (ICPP2013) "Bio-security, Food Safety and Plant Pathology: The Role of Plant Pathology in a Globalized Economy". Pekín, China. 25-31 Agosto 2013.

Validación de métodos de detección y diagnóstico de patógenos y costes de la especificidad y sensibilidad

Antonio Olmos Castelló, Edson Bertolini y Mariano Cambra Álvarez

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera km 5, 46113 Moncada, Valencia

La validación de métodos o protocolos de detección y diagnóstico de agentes fitopatógenos no es frecuente y en muchas ocasiones tampoco se realiza de un modo apropiado. En ellos se incluyen reactivos (anticuerpos, iniciadores y sondas) y técnicas que tampoco suelen ser validados antes de ser usados a gran escala o comercializados. Nos referimos a detección como la comprobación de la presencia de un agente patógeno o alguna de sus dianas o metabolitos, en plantas asintomáticas o en sus órganos y productos, en vectores, suelo o substrato, aire o agua. Cuando nos referimos a diagnóstico llevará implícita la presencia de síntomas. La falta de validación de técnicas de detección y diagnóstico en Fitopatología es una realidad que contrasta con la habitual exigencia de su realización en Patología Clínica y Veterinaria.

Validar una técnica significa compararla con otra ya establecida o de referencia (“gold standard technique”) para confirmar su validez mediante una

serie de parámetros y además, se debe disponer de una población similar de muestras positivas (que contengan el agente patógeno) y negativas. Los análisis se realizarán mediante la técnica bioquímica, física, biológica, serológica o molecular de interés. La presencia de síntomas típicos de la enfermedad a diagnosticar también es importante para la valoración final. La detección y el diagnóstico en Fitopatología, como ocurre en otros campos, manejan en general dos variables dicotómicas o binarias. Por un lado la variable enfermedad, que tiene dos posibles valores: presencia o ausencia, y por otro lado la variable prueba diagnóstica con dos posibles resultados: positivo o negativo. La combinación de estas variables da lugar a cuatro resultados con los que se pueden calcular los parámetros de la calidad de la detección o del diagnóstico que ofrece la técnica. La Tabla 1 representa las cuatro combinaciones posibles:

Tabla 1. Contingencia de las variables enfermedad y técnica de detección o de diagnóstico

		Enfermedad o presencia de síntomas típicos		
		Presencia	Ausencia	
Técnica de detección o diagnóstico	Positivo	VP	FP	VP+FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
Total		VP+FN	FP+VN	N

VP: verdaderos positivos identificados por la técnica; FP: falsos positivos identificados por la técnica; FN: falsos negativos identificados por la técnica; VN: verdaderos negativos identificados por la técnica; VP+FN: enfermos; VP+FP: total de resultados positivos; FP+VN: sanos; FN+VN: total de resultados negativos; N: tamaño de la muestra.

La prevalencia de la enfermedad es la frecuencia con la que aparece la enfermedad en el total de la población y coincide con la probabilidad de que una planta de la población esté infectada y/o enferma $(VP+FN)/N$. La sensibilidad de la prueba de detección o diagnóstica se define como la

probabilidad de que el resultado de la misma sea positivo en una planta infectada o enferma. Representa la proporción de verdaderos positivos detectados por la técnica entre las plantas enfermas $VP/(VP+FN)$ (Altman y Bland, 1994a). Por tanto, cuanto más sensible sea una prueba menor será la

probabilidad de obtener falsos negativos, por lo que un resultado negativo será bastante fiable y permitirá descartar la presencia de infección y/o enfermedad. La especificidad de la prueba diagnóstica se define como la probabilidad de que el resultado de la prueba sea negativo en una planta sana. Representa el porcentaje de resultados negativos respecto del total de plantas sanas $VN/(FP+VN)$ (Altman y Bland, 1994b). Por tanto, cuanto más específica sea una prueba menor será la probabilidad de obtener un falso positivo, por lo que un resultado positivo en la prueba es muy fiable y proporciona una fiabilidad elevada de que la planta esté infectada o enferma, confirmando la detección o el diagnóstico.

La sensibilidad no contempla los falsos positivos y la especificidad no contempla los falsos negativos que rinde la técnica. Y es precisamente ello lo que necesita conocer el técnico o lo que es lo mismo, ¿cuál es la probabilidad de que un resultado positivo por la técnica sea un verdadero positivo y no un falso positivo, independientemente de su sensibilidad? y ¿cuál es la probabilidad de que un resultado negativo por la técnica sea un verdadero negativo y no un falso negativo, independientemente de su especificidad? La respuesta la dan los valores predictivos positivo y negativo, que se calculan considerando las filas, al contrario que la sensibilidad y especificidad que se calculan en las columnas de la Tabla 1. El valor predictivo positivo de una prueba se define como la probabilidad de que la planta esté infectada y/o enferma habiendo dado positivo en la prueba. Así pues, el valor predictivo positivo representa el porcentaje de plantas realmente infectadas o enfermas respecto del total de plantas que han dado positivo $VP/(VP+FP)$. Un valor alto indica que la probabilidad de que la planta esté realmente infectada o enferma, habiendo dado positivo en la prueba, es muy alta. El valor predictivo negativo se define como la probabilidad de que una planta esté sana habiendo dado negativo. Representa el porcentaje de plantas sanas respecto del total de plantas que han dado negativo en la prueba $VN/(VN+FN)$.

Sin embargo, si se aplica el teorema de Bayes (Bayes, 1764), se puede concluir que los valores predictivos dependen de la prevalencia de la enfermedad según las siguientes relaciones: i) valor predictivo positivo = (sensibilidad de la prueba x prevalencia de la enfermedad) / ((sensibilidad x prevalencia) + [(1 - especificidad) x (1 - prevalencia)]). Como puede deducirse, cuanto mayor sea la prevalencia de la enfermedad en la población, mayor será el valor predictivo positivo de la prueba, aún manteniéndose constantes su

sensibilidad y especificidad; y ii) valor predictivo negativo = (especificidad x (1 - prevalencia de la enfermedad)) / (especificidad x (1 - prevalencia) + (1 - sensibilidad) x prevalencia). Esto significa que cuando disminuya la prevalencia de la enfermedad en la población de referencia, aumenta el valor predictivo negativo de la técnica, aún manteniéndose constantes su sensibilidad y especificidad.

Así pues, si sensibilidad y especificidad no dan una respuesta apropiada por no contemplar falsos positivos y falsos negativos, respectivamente, y los valores predictivos positivo y negativo varían con la prevalencia ¿qué parámetros son los apropiados para evaluar una técnica de detección o diagnóstica? La respuesta la dan la denominada razón de verosimilitud (“likelihood ratio”) de positivo y negativo (Deeks y Altman, 2004). Así, la razón de verosimilitud positiva es la proporción de verdaderos positivos correctamente identificados por la técnica, o sea, la sensibilidad dividida entre la proporción de falsos positivos, $FP/VP+FP$, o lo que es lo mismo: $1-\text{especificidad} = 1-(VN/(VN+FP))$. La razón de verosimilitud negativa es la proporción de falsos negativos (1-sensibilidad), dividido por la proporción de verdaderos negativos correctamente identificados por la técnica o lo que es lo mismo, la especificidad.

La ventaja de emplear las razones de verosimilitud es que pueden usarse para cuantificar la probabilidad de infección o enfermedad para una planta individual. El teorema de Bayes se usa para traducir la información suministrada por las razones de verosimilitud y probabilidad de enfermedad. El teorema establece que la razón de probabilidades o razón de momios pre-test (cociente de la probabilidad de enfermedad y la probabilidad de no enfermedad antes de realizar el test), multiplicado por la razón de verosimilitud da lugar a la razón de probabilidades post-test de la enfermedad (cociente de la probabilidad de la enfermedad y la probabilidad de no enfermedad después de realizar el análisis). La probabilidad post-test se puede calcular de la siguiente forma: probabilidad pre-test = prevalencia; razón de probabilidades pre-test = prevalencia/(1-prevalencia); razón de probabilidades post-test = razón de probabilidades pre-test x razón de verosimilitud; probabilidad post-test = razón de probabilidades post-test / (1+ razón de verosimilitud). Además, las razones de verosimilitud de diferentes técnicas pueden combinarse en la fórmula de modo que: razón de probabilidades post-test = razón de probabilidades pre-test x razón de verosimilitud de la técnica 1 x razón de verosimilitud de la 2 x razón de verosimilitud de la 3... Así pues, la probabilidad pre-

test de enfermedad puede compararse con la probabilidad post-test. La diferencia entre la previa y la posterior es una manera muy efectiva de analizar la eficiencia de una prueba, test o técnica de detección o diagnóstico.

Para facilitar su comprensión se suelen realizar gráficas de probabilidades post-test donde se ilustra el poder discriminatorio de las técnicas, pudiéndose comparar varias simultáneamente. En estas figuras, en las ordenadas se coloca la probabilidad post-test y en las abscisas la probabilidad pre-test o prevalencia (Lamb, 2007). El efecto del test se describe por dos curvas, una para los resultados positivos y otra para los resultados negativos. La distancia vertical entre los puntos obtenidos y la línea de equidad indica el tamaño de la diferencia entre la probabilidad pre-test y post-test, y ayuda a la toma de decisiones. Así, una vez la probabilidad post-test ha sido determinada se puede tomar una decisión sobre si la probabilidad es suficientemente alta para confirmar la detección o el diagnóstico, o baja para rechazarlos o intermedia requiriendo el empleo de una técnica adicional (preferentemente basada en un principio distinto o al menos, en el uso de reactivos: anticuerpos, sondas y/o iniciadores diferentes).

La fiabilidad de la prueba o precisión, es la probabilidad de que se obtenga un resultado correcto. Se calcula dividiendo la suma de los verdaderos positivos y los verdaderos negativos entre el total de la muestra, que debe tener un balance apropiado entre plantas enfermas y sanas, para que el resultado no esté sesgado hacia la sensibilidad o hacia la especificidad.

La validación de técnicas de detección o de diagnóstico, requiere que éstas sean reproducibles intra e inter laboratorios y operadores. La reproducibilidad de una prueba es la probabilidad de que se repita el mismo resultado cuando se aplica varias veces a la misma muestra, intra-laboratorio e inter-laboratorio. Para determinar la reproducibilidad se realizan “ring-tests” y se evalúan resultados utilizando el índice kappa (Cohen, 1960). Este índice se calcula dividiendo la resta de la coincidencia observada y coincidencia esperada entre la resta de 1 y la coincidencia esperada. Para la validación, los valores del índice kappa deberán ser al menos > 0.61 para que la concordancia sea considerada buena y > 0.80 para que sea considerada excelente (Landis y Koch, 1977).

La aplicación de esta metodología, para la validación de técnicas puede observarse con el siguiente ejemplo práctico para la detección del virus de la sharka (*Plum pox virus*-PPV) en invierno, utilizando las técnicas ELISA-DASI (con anticuerpos monoclonales 5B-IVIA, estuche comercial Real/Durviz-AMR Lab) y Spot RT-PCR a tiempo real (Capote *et al.*, 2008). Para ello, se analizaron un total de 405 *Prunus* adultos: 183 ciruelos japoneses (*Prunus salicina* Lindl), 113 albaricoqueros (*P. armeniaca* L.), 86 melocotoneros (*P. persicae* (L.) Batsch), 15 almendros (*P. dulcis* (Mill.) D.A. Webb.) y 8 GF676 híbridos de melocotonero x almendro. En la Tabla 2 se presentan los parámetros prácticos para evaluar ambas pruebas aplicadas durante el periodo de reposo invernal.

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad y razón de verosimilitud de ELISA-DASI y Spot RT-PCR a tiempo real en los análisis realizados durante el periodo de reposo invernal.

Técnica	Sensibilidad \pm ES ^a	Especificidad \pm ES	Razón de verosimilitud	
ELISA-DASI	0.866 \pm 0.017	0.990 \pm 0.005	LR ^{+b}	88.3
			LR ^{-c}	0.13
Spot RT-PCR a tiempo real	0.936 \pm 0.012	0.980 \pm 0.01	LR ⁺	47.7
			LR ⁻	0.07

^a Error estándar. ^b Razón de verosimilitud para un resultado positivo de la técnica.

^c Razón de verosimilitud para un resultado negativo de la técnica.

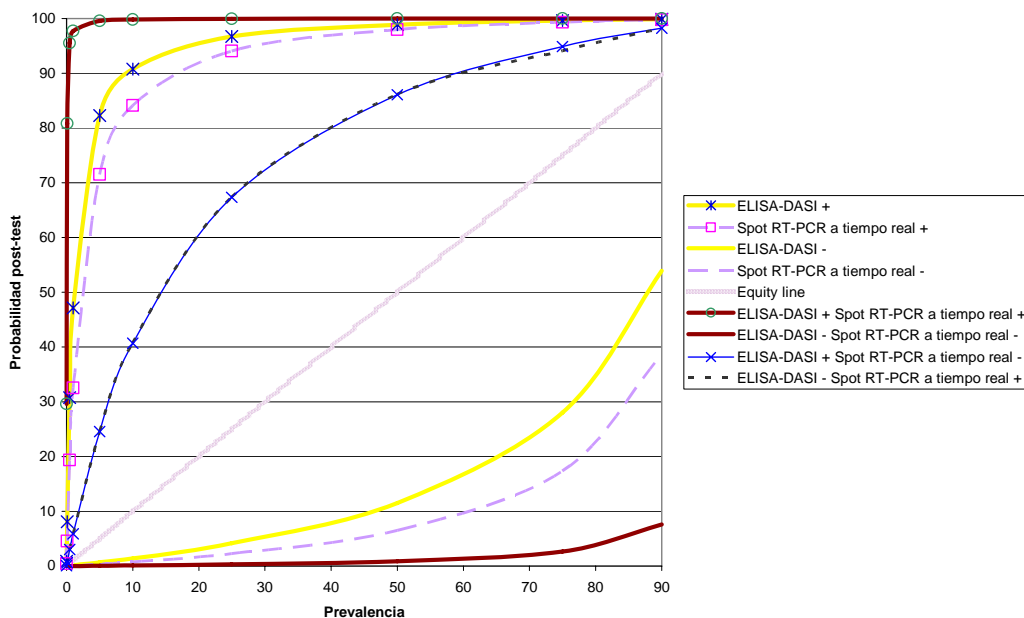
En un primer análisis de los resultados y contemplando sólo la sensibilidad y la especificidad, se observa como la técnica más sensible resulta ser Spot RT-PCR a tiempo real (0.936) siendo el resultado negativo bastante fiable lo que permite

descartar infección por PPV y por ello, sería la recomendada para un primer análisis (“screening”). La técnica más específica resulta ser ELISA-DASI (0.990) siendo por tanto, excelente para la confirmación de resultados en invierno. Pero una

aproximación basada en la evidencia de los parámetros adicionales muestra como esta decisión puede variar. El empleo de las razones de

verosimilitud permite la representación gráfica de la prevalencia frente a la probabilidad post-test (Figura 1).

Figura 1. Probabilidad post-test de ELISA-DASI y de Spot RT-PCR a tiempo real.



Así, si una técnica prueba o test de detección o diagnóstico se interpreta considerando en conjunto toda la información disponible, como razones de verosimilitud y prevalencia, se observa que a bajas prevalencias de la infección (1 ó 5%) el empleo de la técnica serológica ELISA-DASI sería el recomendable no sólo porque resulta más económico sino porque la curva post-test para el resultado positivo es mejor que la de Spot RT-PCR a tiempo real y además, la curva post-test para el resultado negativo es prácticamente idéntica a la de la técnica molecular. Caso contrario ocurre cuando se observan las curvas a prevalencias altas, a partir del 45%. En estos casos, las curvas post-test de los resultados positivos son prácticamente iguales pero no así las curvas post-test de los resultados negativos en donde claramente se observa como la relativa a Spot RT-PCR a tiempo real es mejor. Por tanto, si se debiera elegir una técnica para un primer análisis, con estas prevalencias, se recomendaría la técnica molecular. Nótese que habitualmente en Fitopatología se efectúa lo contrario, a baja prevalencia se suelen utilizar técnicas de alta sensibilidad y en situaciones de alta prevalencia técnicas menos sensibles.

La gráfica también evidencia que el empleo de las dos técnicas aumenta mucho la seguridad y la confianza del resultado y ambas son necesarias si se desea minimizar la incertidumbre. Como se observa

en el caso de ambas técnicas con resultado positivo, la curva post-test positiva alcanza prácticamente el 100% de probabilidad incluso a niveles de prevalencia muy bajos. Lo mismo sucede cuando ambas técnicas dan negativo, que en la práctica asegura la ausencia de infección y/o enfermedad. Por otra parte, cuando una de las dos técnicas da un resultado positivo y la otra negativo, la curva de probabilidad post-test indica un alto grado de posibilidades de que la planta esté infectada y/o enferma. Así pues, el uso de las dos técnicas sería muy recomendable en aquellos casos implicados en certificación, importación-exportación de material vegetal o cuarentena.

En este caso concreto el uso de técnicas serológicas basadas en anticuerpos monoclonales resulta muy conveniente, pero si se hubiera realizado con anticuerpos policlonales, muy posiblemente los resultados finales no serían de excelencia. De la misma forma, la técnica molecular aquí ensayada (amplificación molecular por PCR a tiempo real con unos iniciadores y sonda TaqMan concretos) ha resultado muy apropiada, hecho no extensivo a cualquier otra técnica molecular o incluso de PCR a tiempo real con otros iniciadores y sondas. El uso de reactivos concretos juega un importantísimo papel en la precisión final de una prueba de detección o de diagnóstico, por lo que también deben ser convenientemente validados.

Referencias bibliográficas

- Altman, D.G., Bland, J.M. (1994a). Diagnostic tests 1: Sensitivity and specificity. *British Medical Journal* 308, 1552.
- Altman, D.G., Bland, J.M. (1994b). Diagnostic tests 2: Predictive values. *British Medical Journal* 309, 102.
- Bayes, T. (1764). An essay toward solving a problem in the doctrine of chances. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 53, 370-418.
- Capote, N., Bertolini, E., Martínez, M.C., Olmos, A., Gorris, M.T., Cambra, M. (2008). Spot real-time RT-PCR: A method for direct detection of *Plum pox virus* avoiding RNA extraction. *Acta Horticulturae* 781, 215-220.
- Cohen, J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 20, 37-46.
- Deeks, J.J., Altman, D.G. (2004). Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *British Medical Journal* 329, 168-169.
- Lamb, C. R. (2007). Statistical briefing: estimating the probability of disease. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 48, 297-298.
- Landis, R., Koch, G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33, 159-174.

BOLETÍN DE LA SEF

Publicación trimestral ISSN: 1998-513X

Iñigo Zabalgogezcoa, IRNA-CSIC (Salamanca), izabalgo@usal.es

Jose Luis Palomo, C.R. Diagnóstico (Salamanca), jlpg@usal.es