

ESTUDIO BIOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

OLAIA RODRÍGUEZ-FRAGA, MARÍA TERESA GIL RUIZ, ANTONIO FERNÁNDEZ SUÁREZ,
ALEJANDRO GELLA CONCUSTELL, GOITZANE MARCADIA BENITO,
CARMEN VALDECABRES ORTIZ, CLARA PÉREZ BARRIOS, NATALIA GARCÍA SIMÓN,
JOSÉ LUIS GARCÍA DE VEAS SILVA, MARÍA BELÉN APARICIO HERNÁNDEZ,
ELENA MARTÍN GARCÍA, LUIS GARCÍA DE GUADIANA-ROMUALDO

Abreviaturas

ADA:	adenosindesaminasa
A β :	β -amiloide
ADN:	ácido desoxirribonucleico
AMPA:	receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
ANNA:	anticuerpo antinuclear neuronal
AQP4:	acuaporina 4
BHE:	barrera hematoencefálica
BHI:	<i>Brain Heart Infusion</i>
BOC:	bandas oligoclonales
CASPR2:	proteína asociada a contactina-2
CDC:	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CLEIA:	inmunoanálisis de quimioluminiscencia enzimática
CLL:	cadena ligera libre
CMV:	citomegalovirus
CNT:	recuento total de células nucleadas
CPCP:	carcinoma de pulmón de células pequeñas
CPCNP:	carcinoma de pulmón de células no pequeñas
CRMP-5:	<i>collapsin response-mediator protein 5</i>
DNER:	<i>delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor</i>

DPPX:	<i>dipeptidyl-peptidase-like protein 6</i>
ECLIA:	inmunoanálisis de electroquimioluminiscencia
ELA:	esclerosis lateral amiotrófica
ELISA:	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> (ensayo por inmuoadsorción ligado a enzimas [ELISA])
EM:	esclerosis múltiple
FDG:	2-Desoxi-2-fluoro-D-glucosa
GABA:	ácido g-aminobutírico
GABA (a/b)R:	receptor (A/B) del ácido gamma-aminobutírico
GAD65:	isoforma 65 de la glutamato descarboxilasa
GlyR:	receptor de glicina
HHV-6:	herpesvirus humano 6
IEF:	isoelectroenfoque
IFI:	inmunofluorescencia indirecta
Ig:	inmunoglobulina
IGRA:	<i>Interferon-gamma release assays</i>
IRIS:	síndrome inflamatorio de reconstitución inmune paradójico
IWG:	<i>International Working Group</i>
KLHL11:	<i>Kelch-like protein 11</i>
LAMP:	amplificación isotérmica mediada por bucle
LCR:	líquido cefalorraquídeo
LGI1:	proteína 1 inactivada del glioma rica en leucina
MALDITOF-MS:	<i>Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass</i>
MAP1B:	<i>microtubule-associated protein 1B</i>
MGIT:	sistema <i>Mycobacteria Growth Indicator</i>
mGluR1:	receptor metabotrópico del ácido glutámico subtipo 1
mGluR5:	receptor metabotrópico del ácido glutámico subtipo 5
mHTT:	proteína de huntingtina mutante
MOG:	glicoproteína del oligodendrocito asociado a la mielina
NfH:	cadena pesada de los neurofilamentos
NfL:	cadena ligera de los neurofilamentos
NfM:	cadena ligera de los neurofilamentos
NGS:	Secuenciación de nueva generación
NIA-AA:	<i>National Institute of Aging y la Alzheimer's Association</i>

NINCDS-ADRDA:	<i>National Institute for Communicative Disorders and Stroke, Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
NMDA:	N-metil-D-Aspartato
NMDAR:	receptor del N-metil-D-aspartato
NT:	neurotransmisor
OMS:	Organización Mundial de la Salud
ONF:	ovillos neurofibrilares
PCR:	reacción en cadena de la polimerasa
PCR-RT:	PCR de transcripción inversa
PMCA:	amplificación cíclica de proteínas mal plegadas
PMN:	polimorfonucleares
PPA:	proteína precursora del amiloide
PSEN:	presenilina
PROA:	Programas de Optimización de Uso de los Antibióticos
PrPC:	proteína priónica monomérica celular
PRPSc:	<i>proteína priónica scrapie</i>
Q _{alb} :	índice de albúmina LCR/suero
RT-QuIC:	conversión inducida por temblores en tiempo real
RUO:	<i>Research Use Only</i>
SAA:	<i>Seed amplification assays</i>
SCA:	síndrome clínico aislado
SDS-PAGE:	gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SEN:	Sociedad Española de Neurología
SEQC ^{ML} :	Sociedad Española de Medicina de Laboratorio
SIMOA:	<i>Single Molecule Array</i>
SNC:	sistema nervioso central
SNP:	síndrome neurológico paraneoplásico
TAAN:	técnicas de amplificación de ácidos nucleicos
PET:	tomografía por emisión de positrones
VHS:	virus herpes simplex
VIH:	virus de inmunodeficiencia humana
VZ:	virus varicela zoster
VDRL:	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VGCC:	canales de calcio dependientes de voltaje
VIP:	péptido vasoactivo intestinal

1 Fisiología del líquido cefalorraquídeo (LCR)

1.1 Formación, circulación y eliminación del LCR

El cerebro y la médula espinal están recubiertos por tres membranas meníngeas: duramadre, que es la más externa, aracnoides y piamadre, que es la más interna. El LCR es una solución de composición compleja contenida en el espacio subaracnoideo entre la membrana aracnoides y la piamadre, en los ventrículos del cerebro y en las cisternas que lo rodean. Se produce en su mayor parte en los plexos coroideos (70%), por ultrafiltración a través de la pared capilar coroidea y secreción por el epitelio coroideo y extracoroideo del cerebro, así como en el revestimiento ependimario de los ventrículos y en el espacio subaracnoideo (30%) (1, 2).

El líquido formado en los ventrículos cerebrales laterales pasa al tercer y cuarto ventrículo, sigue hasta la cisterna magna, atraviesa los agujeros de Luschka y Magendie y penetra dentro del espacio subaracnoideo, donde circula por los hemisferios cerebrales, mientras que una pequeña cantidad circula hacia abajo por la médula espinal (1, 2) (**Figura 1.A**).

El LCR se reabsorbe por las vellosidades aracnoideas, proyección de las células de la aracnoides sobre los senos vasculares que alberga la duramadre, que desembocan en el torrente sanguíneo. Cada plexo coroideo es el resultado de la invaginación del epéndimo (el recubrimiento de los ventrículos) por los vasos sanguíneos de la piamadre. El epitelio de los plexos coroideos y el endotelio de los capilares en contacto con el LCR constituyen una estructura denominada barrera hematoencefálica (BHE), barrera fisiológica que separa el sistema nervioso central (SNC) y el LCR de la sangre, y que determina la diferente composición de ambos fluidos (3) (**Figura 1.B**).

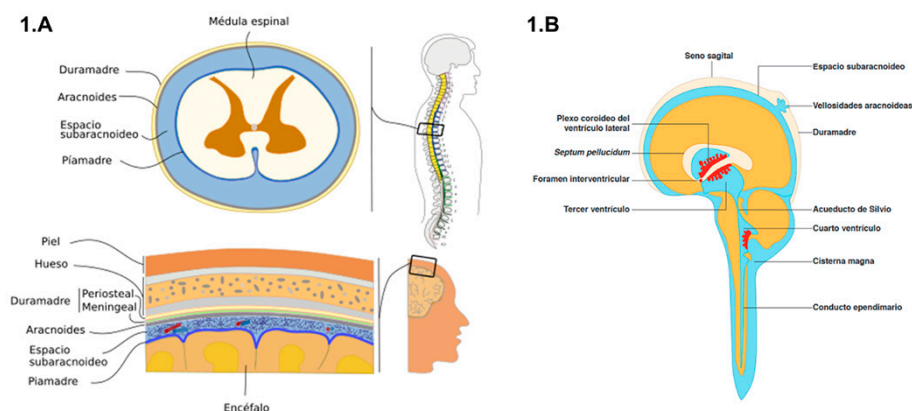
El volumen de LCR oscila entre 50 y 70 mL en el lactante, aumentando hasta aproximadamente 150 mL en el adulto, de los cuales 30 mL se encuentran en el interior de los ventrículos cerebrales y unos 120 mL en el espacio subaracnoideo. Su tasa de formación es de un 500 mL/día aproximadamente (1, 2), renovándose completamente cada 5-7 horas (4).

1.2 Funciones del LCR

Las funciones principales del LCR son actuar como mecanismo de soporte y protección del SNC, y regular las características químicas de su entorno, a través de la compartimentalización generada por la BHE (3), que regu-

la el aporte de nutrientes y el equilibrio iónico, así como la excreción de los productos de los productos metabólicos de desecho, procedentes de la actividad del metabolismo cerebral. Además, el LCR es un vehículo para el transporte de hormonas y neurotransmisores (NT).

Figura 1. A. Esquema de las membranas que recubren el SNC (descargado de https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada_o_a_01snc.php). **B.** Producción, circulación y aclaramiento del LCR. El LCR se produce en los plexos coroideos (rojo), circula por el espacio subaracnoideo (azul) en sentido caudal y se reabsorbe en las vellosidades aracnoideas de los senos venosos (disponible en Monografía Estudio de LCR en la enfermedad de Alzheimer. Autores: Lleó A, Alcolea D. 2020. Patrocinada por Fujirebio).



21

1.3 Composición del LCR

El agua constituye el 99% de la composición del LCR, correspondiendo el 1% restante a proteínas, glucosa, iones, vitaminas y neurotransmisores (5). Aunque el LCR presenta una osmolaridad similar a la del plasma, debido a la presencia de la BHE existen importantes diferencias en su composición (Tabla 1).

2 Indicaciones para la obtención del LCR

La obtención del LCR puede realizarse por punción lumbar o del reservorio de drenajes. En el primer caso, se realiza habitualmente entre los espacios intervertebrales 3°-4° o 4°-5° (3). En cualquiera de sus procedimientos, la

obtención del LCR es un procedimiento electivo que está indicada en las siguientes situaciones (3):

- Con finalidad diagnóstica, en caso de sospecha de meningitis, encefalitis, absceso cerebral, hemorragia subaracnoidea, leucemia con afectación del SNC, esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Alzheimer, diagnóstico diferencial de demencias, síndrome de Guillén-Barre y tumores medulares y para el diagnóstico diferencial del infarto cerebral con la hemorragia intracerebral.
- Con finalidad terapéutica, para la inyección intratecal de fármacos (antiinflamatorios, antibióticos, citostáticos, analgésicos).
- Con finalidad evacuadora, para el tratamiento y prevención de la fistula de LCR.

Tabla 1. Valores de referencia de los principales componentes del LCR. Adaptada de (4, 6, 7).

Magnitud	Concentración
Proteína	0,15-0,60 g/L
Según origen: Ventricular Cisternal Lumbar	0,05-0,15 g/dL 0,15-0,25 g/dL 0,15-0,45 g/dL
Glucosa	Adultos: 50-80mg/dL Recién nacidos prematuros: 24-63 mg/dL Recién nacidos a término: 34-119 mg/dL
Creatinina	0,6-1,2 mg/dL
Urea	6-16 mg/dL
Amonio	10-35 µg/dL
Lactato	1,1-2,4 mmol/L
Fosforo	1,2-2,0 mg/dL
Sodio	135-150 mEq/L
Potasio	2,6-3,0 mEq/L
Calcio	2,0-2,8 mEq/L
Magnesio	2,4-3,0 mEq/L
Cloro	115-130 mEq/L
pH	7,28-7,32

3 Análisis del LCR

Desde un punto de vista práctico, hemos clasificado la evaluación del LCR en dos tipos de análisis:

- Análisis “básico o urgente”, que incluiría aquellas magnitudes que deberían estar disponibles en cualquier laboratorio de urgencias, con disponibilidad para su medida 24/7 (8). Además, hemos incluido en este apartado el estudio microbiológico del LCR, ya que el diagnóstico y tratamiento precoz de la patología neurológica infecciosa es clave para el manejo de la enfermedad y mejorar el pronóstico del paciente (9).
- Estudio de otras magnitudes de laboratorio en LCR, incluyendo aquellas otras magnitudes útiles para el diagnóstico, evaluación de la actividad, valoración de la neurodegeneración y de la respuesta al tratamiento en determinadas enfermedades neurológicas, generalmente de carácter crónico. Este tipo de análisis puede requerir en algunos casos de determinados equipamientos de mayor complejidad y alta especialización.

23

3.1 Análisis “básico” del LCR

El análisis “básico” del LCR está orientado al diagnóstico de patologías agudas del SNC. Debe incluir las siguientes magnitudes: aspecto macroscópico del líquido, glucosa, proteína, lactato y recuento celular, con recuento diferencial de células nucleadas si procede. El estudio de la celularidad es objeto de estudio en el capítulo 11 de esta monografía. Además, otras magnitudes como el enzima adenosindesaminasa (ADA) (10) o los marcadores de fístula de LCR pueden ser útiles en el diagnóstico diferencial de algunas patologías (4).

3.1.1 Examen macroscópico: color y turbidez

El examen microscópico del aspecto del LCR incluye la inspección visual de su color y turbidez, y debe incluirse en el informe de laboratorio. En condiciones normales, el LCR es incoloro y cristalino (“agua de roca”), inodoro y con una viscosidad similar a la del agua (**Figura 2**) (1, 3). No obstante, este aspecto puede también observarse en procesos crónicos y agudos que cur-

sen con escaso contenido celular (poliomielitis, encefalitis, meningitis víricas y muchos casos de meningitis tuberculosa o sifilítica) (3). Variaciones en las características macroscópicas del LCR pueden proporcionar valiosa información que puede contribuir significativamente al diagnóstico de la patología sospechada (Tabla 2).

Figura 2. LCR de aspecto normal (“agua de roca”).

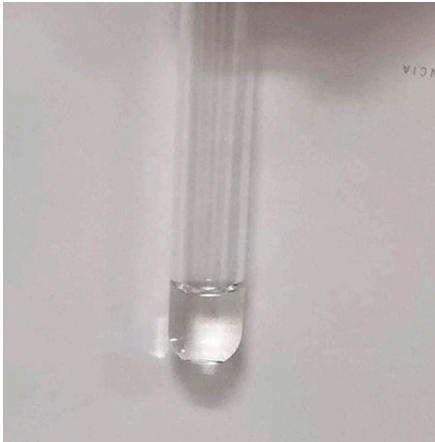


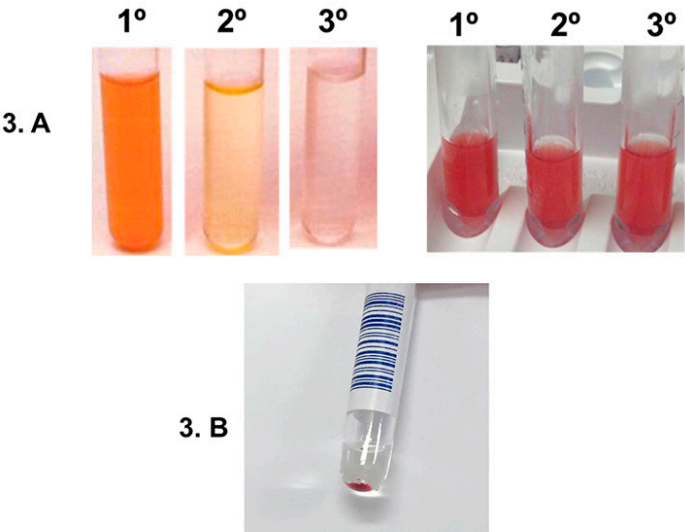
Tabla 2. Características macroscópicas del LCR. Adaptada de (3).

Turbidez	Color
Cristalino o transparente	Incoloro (“agua de roca”)
Turbio	Xantocrómico (amarilento/anaranjado/rosado)
Purulento	Hemático
Lechoso	Hemorrágico

La turbidez del LCR puede ser consecuencia de un recuento de células nucleadas $>200/\mu\text{L}$ o de eritrocitos $>400/\mu\text{L}$, de la presencia de microorganismos o de una concentración elevada de proteínas, así como por el uso de un medio de contraste radiológico. La presencia de glóbulos de grasa de diversos tamaños puede asociarse con un embolismo graso en el cerebro, entidad por lo general poco frecuente y secundaria a fracturas cerradas de huesos largos, particularmente cuando hay fracturas múltiples que ocurre en las primeras 12 a 72 horas después del trauma (11).

Respecto al color, uno de los problemas más frecuentes en el laboratorio es la interpretación de los LCR de aspecto hemático o hemorrágico, con una coloración rojiza, que indica generalmente la presencia de sangre en el líquido, y que obliga a diferenciar entre una **punción traumática** de los vasos sanguíneos durante la punción lumbar y un **sangrado patológico** debido a una hemorragia subaracnoidea, una hemorragia intracraneal o un infarto cerebral. El modo de establecer el origen de un aspecto hemático o hemorrágico de un LCR fue revisado por Valcárcel y cols. (4). Si dicho aspecto aparece de forma uniforme en los tres tubos de muestra de LCR sería indicativo de hemorragia, mientras que en la punción traumática la mayor concentración de sangre se observa en el primer tubo y disminuye de forma gradual en los tubos sucesivos ("prueba de los tres tubos") (**Figura 3.A**). Además, tras la centrifugación se observaría un precipitado hemático y un sobrenadante claro y transparente. También es característico en el líquido procedente de una punción traumática la formación de coágulos debido a la presencia de fibrinógeno, procedente de la sangre, en el propio LCR, mientras que el LCR de aspecto hemático por hemorragia, que no contiene suficiente fibrinógeno, no coagula *in vitro*. En ocasiones, por un efecto de una obstrucción, se genera un líquido de alto contenido proteico que coagula espontáneamente (síndrome de Froin).

Figura 3.A. "Prueba de los tres tubos" para establecer la causa del aspecto hemático de un LCR. **B.** Líquido hemático que tras centrifugación muestra un aspecto claro y transparente con botón hemático por punción traumática.



Ante una punción traumática (**Figura 3.B**) se recomienda la corrección del recuento de células nucleadas para informar del recuento real en ausencia de contaminación. Para dicha corrección, Valcárcel y cols. (4) recomiendan aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento CNT (corregido)} = \text{Recuento CNT (no corregido)} - \text{Corrección}$$

$$\text{Corrección} = \frac{\text{Recuento de leucocitos}_{\text{sangre periférica}} \times \text{Recuento de hematíes}_{\text{LCR}}}{\text{Recuento de hematíes}_{\text{sangre periférica}}}$$


Cuando no se disponga del recuento de leucocitos en sangre periférica, puede realizarse una corrección aproximada del recuento total de células nucleadas (CNT) en LCR restando un leucocito por cada 700 eritrocitos contados en el LCR, aunque este cálculo no tiene en cuenta posibles desviaciones por anemia, poliglobulia, leucopenia o leucocitosis.

26

La **xantocromía** hace referencia a la coloración rosada o anaranjada del sobrenadante del LCR después de su centrifugación (**Figura 4**). Aparece entre 2 y 4 horas después de producirse una hemorragia subaracnoidea. En un primer momento es de color rosado/rojizo, debido a la oxihemoglobina procedente de la lisis de los eritrocitos. Pasadas 12 horas tras la hemorragia se torna de un color amarillento (producto del catabolismo de la hemoglobina a bilirrubina), con la intensidad máxima entre las 24 y 36 horas, para desaparecer entre 4 y 8 días, pudiendo estar presente hasta 4 semanas. Se debe tener en cuenta que la xantocromía aparece cuando los eritrocitos se han lisado, es decir, que han estado presentes en el LCR entre 1 y 4 horas. La lisis de los hematíes está relacionada con la ausencia de proteínas y lípidos plasmáticos necesarios para estabilizar la membrana del eritrocito.

Se han descrito “falsas xantocromías” producidas por (4):

- Una concentración de proteína superior a 150 mg/dL.
- La presencia de bilirrubina procedente del plasma en el LCR, cuando la concentración plasmática es mayor de 5 mg/dL, cifra que algunos autores elevan a 10-15 mg/dL (7).

- En los neonatos, la xantocromía es consecuencia de la elevación fisiológica de la bilirrubina y proteína plasmática, así como de la inmadurez de la BHE.
- La contaminación sanguínea o la demora en la centrifugación de un LCR hemático por punción traumática.
- Otras causas menos frecuentes son la presencia de carotenoides por hipercarotenemia sistémica, la presencia de melanina por un melanosarcoma en las meninges, el consumo de rifampicina o la contaminación con mertiolato o desinfectantes yodados utilizados para la desinfección de la zona de punción.

Figura 4. Líquido de aspecto xantocrómico tras centrifugación.



3.1.2 Análisis bioquímico

3.1.2.1 Glucosa

La concentración de glucosa en LCR o glucorraquia es dependiente de la concentración sanguínea de glucosa, ya que deriva de ésta a través de su paso por la BHE mediante mecanismos de difusión pasiva y transporte activo (5). Por este motivo, para la correcta interpretación clínica de esta magnitud es importante determinar la concentración de glucosa en una muestra de plasma o suero obtenida de manera simultánea (4). Así, la concentración de glucosa en LCR corresponde aproximadamente a un 60% de la glucosa plasmática. Además, es importante destacar que el equilibrio entre la glucosa en sangre y en LCR no es inmediato, por lo que tras un

cambio en la glucemia se requieren de 2 a 4 horas para observar una variación en el LCR (3).

El descenso de la glucorraquia proporciona información útil para el diagnóstico de diversas patologías. Es un hallazgo característico de patologías infecciosas, como la meningitis de etiología bacteriana y fúngica, así como la meningitis tuberculosa y la toxoplasmosis (1). La disminución de la glucorraquia es menos frecuente en la meningitis vírica, por lo que esta magnitud resulta especialmente útil para discriminar entre meningitis de origen bacteriano y vírico (12). Además, también patologías no infecciosas, como la sarcoidosis, hemorragia subaracnoidea, tumores primarios y secundarios del cerebro y plexo coroideo, linfomas, leucemias, carcinomatosis meníngea y melanomatosis, pueden cursar con hipoglucorraquia (3).

En sentido contrario, el incremento de la concentración de glucosa en el LCR es el reflejo de una concentración de glucosa elevada en suero entre dos y cuatro horas antes de la obtención de la muestra de LCR, que puede estar relacionada con la existencia de diabetes, perfusión continua de suero glucosado, en algunos casos de encefalitis y en algunas situaciones asociadas con presión intracraneal aumentada (3). Aunque es un hallazgo que carece de significación diagnóstica, debe interpretarse con cautela porque no puede descartarse un consumo de la misma que puede quedar enmascarado por dicha elevación.

3.1.2.2 Proteínas

La composición proteica del LCR es compleja. Aproximadamente el 80% de las proteínas del LCR proceden del suero y el 20% son de síntesis intratecal. Las proteínas son transportadas desde el suero al LCR por pinocitosis o por transportadores específicos y su concentración depende del radio molecular, la carga, la concentración plasmática de la proteína y el estado funcional de la BHE. Las proteínas específicas del LCR como la proteína básica de la mielina, la proteína ácida fibrilar glial o la beta-2-transferrina constituyen solo el 1-2% de las proteínas totales en el LCR normal y la albúmina es la proteína que se encuentra en mayor concentración (4).

La concentración de proteína en LCR es una magnitud utilizada en el diagnóstico diferencial de enfermedades de etiología diversa. Aunque dicha concentración depende de diversos factores, lo que debería ser tenido en cuenta para su interpretación, es habitual que los laboratorios clínicos asuman valores de referencia "históricos", y prácticamente la totalidad de labo-

ratorios clínicos adoptan como límite superior del intervalo de referencia una concentración de 0,45 g/L (5). Dichos factores son:

- Distribución espacial: la concentración de proteína en el adulto sano presenta un gradiente a lo largo del neuro-eje, con una concentración más baja en los ventrículos, una concentración intermedia en la cisterna y una concentración de proteínas más alta en la zona lumbar (7) (**Tabla 1**). Esta variación es consecuencia del proceso de difusión de proteínas desde el plasma al LCR. Por ello, es recomendable que tanto en la petición de análisis de LCR como en el informe de laboratorio, que debería incluir intervalos de referencia en función de la localización del lugar de extracción, se indique el lugar de extracción para una correcta interpretación de la concentración de proteína.
- Edad y sexo: distintos estudios confirman que la concentración de proteínas en LCR varía con la edad (13, 14). En recién nacidos, la concentración de proteínas es elevada por la inmadurez de la BHE, pero desciende de forma gradual durante el primer año de vida, y se mantiene a concentraciones bajas durante la infancia, para empezar a elevarse gradualmente en la adolescencia y continuar incrementándose a lo largo de la vida adulta (**Tabla 3**). También se han descrito diferencias significativas relacionadas con el sexo (15) (**Tabla 3**), siendo mayor la concentración en hombres que en mujeres. Debido a la influencia de ambas variables demográficas en la concentración de proteínas en LCR, algunos autores recomiendan el uso de intervalos de referencia estratificados por sexo y edad (15, 16).
- La postura y la actividad física son factores a tener en cuenta y los pacientes encamados presentan una mayor concentración de proteínas en LCR (7).

Las alteraciones en la composición proteica se pueden desencadenar por distintas situaciones patológicas como procesos inflamatorios que producen un aumento de la permeabilidad de la BHE o de la barrera entre la sangre y el líquido, enfermedades donde se activa una respuesta inmune en el SNC y procesos en los que se produce la destrucción del SNC y la subsiguiente liberación de proteínas específicas (3).

El aumento de la concentración de proteína en LCR es más frecuente que su disminución y se ha relacionado con una amplia variedad de enfermedades, lo que limita su especificidad. Dicho incremento puede ser debido a:

- Contaminación por punción lumbar traumática.
- Aumento de la permeabilidad de la BHE y de la barrera entre la sangre y el líquido, por causas infecciosas, hemorrágicas, endocrinas, metabólicas y tóxicas.
- Obstrucción mecánica de la libre circulación del LCR: compresiones medulares por tumores, abscesos o hernias.
- Aumento de la síntesis proteica en SNC: EM, panencefalitis esclerosante subaguda, neurosífilis y ciertas neoplasias
- Degeneración tisular: enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), ataxia de Friedrich y otras enfermedades neurodegenerativas.

Tabla 3. Concentración de proteína (g/L) estratificada por edad y sexo en población adulta y pediátrica. Adaptado de (16).

Edad	Población general	Varón	Mujer
0-2 meses	0,20-1,10	–	–
2-4 meses	0,09-0,78	–	–
4 meses-14 años	0,09-0,33	–	–
14-18 años	0,17-0,36	–	–
18-25 años	0,14-0,47	0,17-0,50	0,13-0,46
>25-30 años	0,16-0,52	0,18-0,54	0,15-0,47
>30-35 años	0,17-0,54	0,19-0,57	0,17-0,49
>35-40 años	0,19-0,56	0,20-0,59	0,18-0,51
>40-45 años	0,19-0,57	0,20-0,60	0,19-0,54
>45-50 años	0,20-0,59	0,21-0,61	0,19-0,56
>50-55 años	0,20-0,60	0,21-0,62	0,19-0,58
>55-60 años	0,20-0,62	0,21-0,63	0,19-0,60
>60-65 años	0,19-0,63	0,22-0,64	0,18-0,61
>65-70 años	0,19-0,65	0,22-0,66	0,17-0,63
>70-75 años	0,19-0,67	0,23-0,68	0,17-0,64
>75-80 años	0,19-0,69	0,23-0,70	0,17-0,67
>80-85 años	0,20-0,71	0,25-0,72	0,19-0,68
>80 años	0,21-0,73	0,26-0,76	0,22-0,72

En el contexto de la urgencia médica, la utilidad más extendida de la determinación de la concentración de proteína radica en su aumento característico, por alteración de la permeabilidad de la BHE, como criterio, valorado conjuntamente con otros hallazgos analíticos en LCR, para el diagnóstico diferencial entre las meningitis bacterianas y no bacterianas (3) (Tabla 4). En estos casos, para la interpretación de esta magnitud debe tenerse en cuenta que la concentración de proteínas no suele estar elevada en las etapas iniciales y que puede encontrarse en hasta un 10% de las meningitis bacterianas dentro del intervalo de referencia. En las meningitis de origen vírico, aproximadamente un 1% puede cursar con elevación de la proteorraquia, porcentaje que se eleva hasta el 50% en el caso de la meningitis aguda bacteriana, con concentraciones habitualmente por encima de 1,5 g/L (150 mg/dL) (3, 17).

Tabla 4. Características del líquido cefalorraquídeo según la etiología. Adaptado de (18, 19).

Magnitud	Etiología			
	Bacteriana	Vírica	Tuberculosa	Fúngica
Leucocitos (/μL) ^h	> 1000 ^{a, b}	5-500	100-500	5-500
Predominio celular	Neutrófilos PMN (>85%)	Linfocitario ^c	Linfocitario ^c	Linfocitario
Proteína (g/L)	> 1-1,5	Normal o < 1	> 2-3	> 1-2
Glucosa (mg/dL)	< 40	Normal o ↓ ^d	< 40	< 40
Ratio LCR/suero	< 0,4	Normal	< 0,4	< 0,4
Lactato (mmol/L)	↑ ^e	Normal	↑ ^f	↑ ^g
ADA (UI/L)			10 UI/L	

PMN: polimorfonucleares.
ADA: adenosindesaminasa.

^a <500 en algunas infecciones por *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*
^b La meningitis por *Listeria monocytogenes* se caracteriza por un líquido claro o ligeramente opalescente, un recuento de leucocitos < 1000/μL y con un porcentaje significativo, a veces predominante, de linfocitos.
^c En infecciones por herpesvirus o virus de la parotiditis.
^d Predominio de neutrófilos si la muestra se toma en etapas tempranas de la infección.
^e Ver apartado 3.1.2.3.
^f En pacientes con sospecha de meningitis tuberculosa se ha descrito un incremento de la concentración de lactato en aquellos con un diagnóstico definitivo. Puede usarse como punto de corte orientativo 4 mmol/L (20).
^g En pacientes con meningitis fúngica se han descrito concentraciones de lactato aumentadas (21, 22)
^h Se recomienda la terminología CNT.
 En pacientes con antibioterapia previa pueden observarse variaciones en las magnitudes de laboratorio descritas en esta tabla.

El síndrome de Guillain-Barré incluye diferentes subtipos de polirradiculoneuropatía inmunomediada que constituyen la causa más frecuente de parálisis flácida aguda. El análisis del LCR es particularmente importante cuando el diagnóstico es incierto o cuando debe excluirse un diagnóstico alternativo. Un hallazgo analítico en LCR característico en pacientes con esta enfermedad es la disociación albumino-citológica, que se caracteriza por la elevación de la concentración de proteína con recuento celular normal (disociación albumino-citológica), aunque el rendimiento diagnóstico de estos hallazgos es desconocido. En los criterios diagnósticos recomendados por la *European Academy of Neurology/Peripheral Nerve Society Guideline* se consideran como "hallazgos de laboratorio que apoyan el diagnóstico" el incremento de la concentración de proteína ($>0,45$ g/L), aunque una concentración normal no excluye el diagnóstico, porque puede ser normal durante la primera semana de la enfermedad, y un recuento de leucocitos habitualmente $<5/\mu\text{L}$, y como "hallazgos que disminuyen la probabilidad de síndrome de Guillain-Barré" un recuento celular de leucocitos $>50/\mu\text{L}$ (23).

Por el contrario, la disminución de la concentración de proteína en LCR se produce como resultado del aumento de su flujo de salida, característico de condiciones como la hiperhidratación hipotónica, hipertiroidismo no tratado, hipertensión intracraneal idiopática (pseudotumor cerebral), ciertas formas de leucemia, fuga por desgarro dural o drenaje excesivo del LCR (iatrogenia) o por aumento de la presión intracraneal (3).

3.1.2.3 Lactato

La concentración de lactato en el LCR es independiente de la de lactato en sangre, dado que no atraviesa la BHE, siendo su valor de referencia de $1,13-3,23$ mmol/L (24). El lactato presente en el LCR es el producto final de la glucólisis anaerobia, tanto de los leucocitos como de las bacterias (20). Otras alteraciones relacionadas con una oxigenación deficitaria del cerebro o un aumento de la presión intracraneal pueden también incrementar la concentración de lactato en el LCR, como se ha descrito en el *status epiléptico*, donde el incremento de lactato es transitorio, durante las primeras 72 horas tras la convulsión (25) o en la asfixia peri- y neonatal, donde puede ser una herramienta útil para evaluar la gravedad de la hipoxia cerebral (26).

La principal utilidad de esta magnitud es el diagnóstico diferencial entre la meningitis bacteriana producida por patógenos habituales (*Neisseria menin-*

gitidis, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, etc.) y la meningitis vírica (27), mejorando el rendimiento de otros parámetros como la glucosa, proteína o recuento de leucocitos (12). Una concentración de 3,5 mmol/L ha sido recomendada como punto de corte óptimo para el diagnóstico de meningitis bacteriana y criterio para el inicio de terapia antibiótica (28, 29) y una concentración superior a 9 mmol/L es un criterio indicador de mal pronóstico (30). También se han descrito incrementos de la concentración de lactato en LCR en meningitis tuberculosa y micótica (20, 21), de ahí la importancia de valorar esta magnitud de forma conjunta con otras determinaciones en LCR (**Tabla 4**).

3.1.2.4 Adenosin desaminasa (ADA)

ADA es la enzima involucrada en la conversión de adenosina y desoxiadenosina en inosina y desoxiinosina, respectivamente, jugando un papel importante en la proliferación, maduración y diferenciación de los linfocitos T, por lo que el aumento de su concentración se relaciona con la actividad linfocítica. En la práctica clínica, la determinación de su actividad es útil para el diagnóstico de la meningitis de etiología tuberculosa (31), aunque también se han descrito aumentos de la actividad de ADA en meningitis de etiología infecciosa por *Listeria*, *Brucella*, *Cryptococcus*, *Toxoplasma*, virus herpes simplex (VHS), virus de la varicela zoster (VVZ) y *Plasmodium*, y no infecciosas como la meningitis linfomatosa (32).

Con respecto a su interpretación, no existe un consenso sobre el punto de corte óptimo para el diagnóstico de meningitis tuberculosa. De acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC^{ML}), una actividad >10 UI/L se relaciona con el diagnóstico de meningitis tuberculosa (3), punto de corte también recomendado por otros autores (10, 33).

3.1.2.5 Marcadores bioquímicos para el diagnóstico de la fístula de LCR

La fístula de LCR se define como la salida anormal de LCR desde el espacio subaracnoideo con drenaje en la nariz (rinorrea) o el oído (otorrea), pudiendo tener un origen traumático, secundario a cirugía o espontáneo. Aunque poco frecuente, es una patología grave por la posibilidad de complicaciones potencialmente fatales, dado que la fístula constituye una puerta

de entrada hacia el SNC para una serie de microorganismos que pueden alcanzar las cavidades vecinas a la base del cráneo y causar encefalitis o meningitis. Por ello, un diagnóstico y tratamiento rápido que prevenga dichas complicaciones es esencial (34, 35).

La sospecha de fístula de LCR se establece tras una anamnesis para la detección de hallazgos clínicos sucesivos, y su confirmación requiere de diferentes pruebas, incluyendo la demostración de la presencia de LCR en las muestras procedentes de las secreciones de nariz y oído mediante la medida de marcadores bioquímicos específicos (36). En la actualidad, no se recomienda la medida cuantitativa o semicuantitativa, mediante tiras reactivas, de glucosa, dado su pobre rendimiento para el diagnóstico de la fístula de LCR (37, 38), y se deben utilizar marcadores bioquímicos que se localicen exclusivamente en LCR o que se encuentren en elevadas concentraciones respecto a la alcanzada en otras matrices como la sangre.

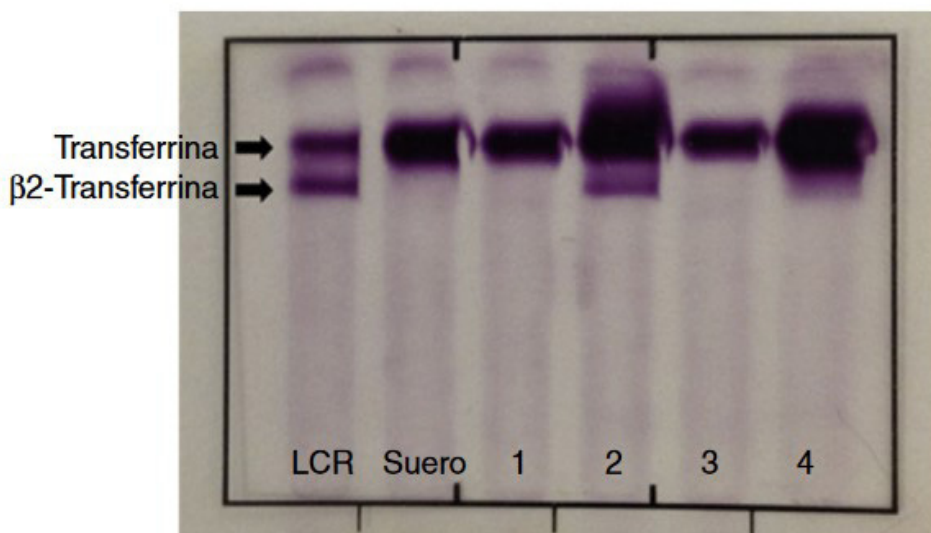
Los biomarcadores más utilizados para el diagnóstico de la fístula de LCR son las proteínas β 2-transferrina y proteína β -traza. Aunque para la medida de proteína β -traza se dispone de técnicas automatizadas y con un tiempo de respuesta adecuado para su implantación en un laboratorio de Urgencias, debido a la baja incidencia de la fístula de LCR la determinación de estas proteínas no se encuentra disponible de forma habitual en este tipo de laboratorio (4).

La β 2-transferrina o asialotransferrina es una variante de la transferrina específica del cerebro que carece de ácido neuramínico. Se encuentra principalmente en el LCR, aunque puede también detectarse en la perilinfa y en los humores acuoso y vítreo. No se detecta habitualmente en otras secreciones ni en suero, aunque si se puede encontrar en el suero de pacientes con un consumo crónico y elevado de alcohol y en ciertas variantes genéticas de la transferrina de baja incidencia (4, 36). Este biomarcador presenta una sensibilidad del 73-93% y especificidad del 97-100% para el diagnóstico de la fístula de LCR (36). Su principal limitación es que su detección requiere de un método electroforético laborioso (39) (**Figura 5**), lo que limita su posible incorporación a un catálogo de pruebas en un laboratorio de urgencias hospitalario. El desarrollo de técnicas de inmunoensayo de flujo lateral para uso a la cabecera del paciente pueden ser una alternativa a las técnicas tradicionales (40).

La proteína β -traza, que ha sido identificada como la prostaglandina D2 sintasa, es otra proteína específica del cerebro que se sintetiza principalmente en las leptomeninges y el plexo coroideo y se secreta en el LCR. Es la

segunda proteína más abundante del LCR después de la albúmina. Aunque a concentraciones mucho más bajas, esta proteína también está presente en otras matrices biológicas, incluida el suero. También se observan variaciones de la concentración en LCR de proteína β -traza en situaciones patológicas, como la insuficiencia renal y la meningitis bacteriana, que causan un aumento y disminución, respectivamente, lo que debe ser tenido en cuenta en la interpretación de esta magnitud (4, 36).

Figura 5. Inmunofijación para la detección cualitativa de la β 2-transferrina. En la figura se señalan las bandas correspondientes a la transferrina y a la β 2-transferrina. Tomada con autorización de (36).



LCR: muestra de líquido cefalorraquídeo (control positivo).

Suero: muestra de suero (control negativo).

1, 3, 4: muestras de 3 pacientes con resultado negativo.

2: muestra de un paciente con resultado positivo.

Una de las limitaciones en la interpretación de la concentración de proteína β -traza es la falta de consenso respecto al punto de corte óptimo para el diagnóstico de la fístula de LCR. En la **Tabla 5** se recogen algunos de los algoritmos propuestos para la utilización de proteína β -traza para dicha finalidad.

Tabla 5. Puntos de corte propuestos para la interpretación de proteína β -traza.

Referencia	Metodología	Punto de corte
(36)	Nefelometría. BN ProSpec. Ensayo β -TP (Siemens Healthineers)	1,14 mg/L • Sensibilidad: 92% • Especificidad: 95% • Valor predictivo positivo: 96% • Valor predictivo negativo: 91% (el valor predictivo negativo fue del 100% para una concentración $\leq 0,64$ mg/L)
(41)	Nefelometría. BN ProSpec. Ensayo β -TP (Siemens Healthineers)	1 mg/L • Sensibilidad: 96,5% • Especificidad: 97,1% • Valor predictivo positivo: 94,9% • Valor predictivo negativo: 98,6%
(42)	Nefelometría. BN ProSpec. Ensayo β -TP (Siemens Healthineers)	1,3 mg/L • Sensibilidad: 91,5% • Especificidad: 97,7% • Valor predictivo positivo: 93,1% • Valor predictivo negativo: 97,2% 0,7 mg/L • Sensibilidad: 98,3% • Especificidad: 80,2% • Valor predictivo positivo: 62,4% • Valor predictivo negativo: 99,3%

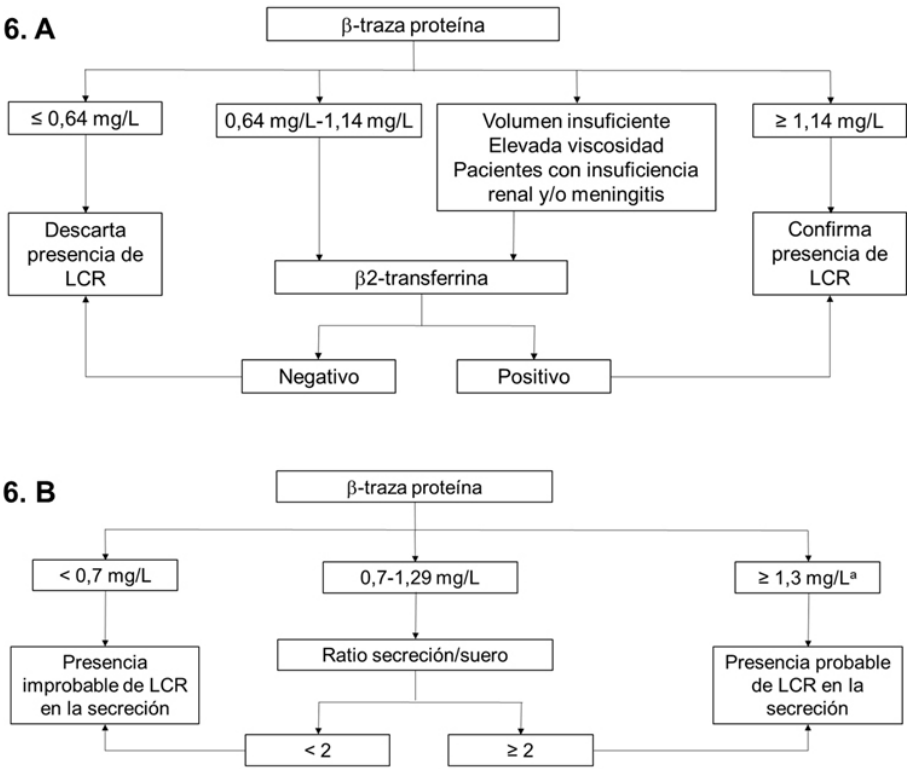
En la **Figura 6** se recogen los algoritmos propuestos por Cárdenas Fernández y cols. (36) y Bernasconi y cols. (42) para el uso de biomarcadores en el diagnóstico de la fístula de LCR.

3.1.3 Estudio microbiológico

La infección del SNC puede ser producida por diferentes tipos de microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos. La presentación clínica de estas infecciones puede ser aguda, subaguda o crónica dependiendo de la etiología, la virulencia del microorganismo y la localización del proceso infeccioso. En ocasiones se afecta un único órgano o compartimiento, como en el caso del absceso cerebral o la meningitis, y en otros se afectan varios de ellos como en las encefalomielitis o las menin-

goencefalitis. Los agentes infecciosos pueden invadir los órganos diana a partir de un foco infeccioso cercano como una otitis, por vía hematógica o por la existencia de sistemas de derivación del LCR colocados en intervenciones de neurocirugía (43).

Figura 6. Algoritmo de Cárdenas Fernández (36) (5.A) y Bernasconi y cols. (42) (5.B) para el diagnóstico de fístula del LCR.



ªEn muestras con β-traza proteína ≥ 1,3 mg/L y ratio < 1 la presencia de LCR es improbable

La meningitis, que es la forma de afectación más frecuente, se caracteriza por la inflamación de las leptomeninges y el tejido neural subyacente. Habitualmente el término de meningitis hace referencia a aquellas de causa infecciosa, entre las que se incluyen la meningitis bacteriana y la meningitis aséptica, concepto con el que se hace referencia a la ausencia de microorganismos en la tinción de Gram y negatividad de los cultivos habituales

para agentes bacterianos en el LCR, y que son producidas principalmente por virus (44). Sin embargo, otros autores utilizan el término de “meningitis aséptica” para definir la inflamación meníngea de origen no infeccioso, cuya etiología se clasifica en 3 grupos (45): a) enfermedades sistémicas con implicación meníngea (enfermedad de Behçet, síndrome de Sjögren, lupus eritematosos sistémico y granulomatosis de Wegener); b) meningitis aséptica inducida por fármacos, como los antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos como las sulfamidas, administración intravenosa de Ig o la administración de ciertos anticuerpos; y c) meningitis neoplásica, relacionada con metástasis de tumores sólidos o neoplasias hematológicas. El estudio microbiológico del LCR, en conjunto con el análisis bioquímico y celular, es clave para determinar la etiología de la meningitis (46).

3.1.3.1 Meningitis bacteriana (no tuberculosa)

La sospecha de meningitis bacteriana aguda es una emergencia médica y el diagnóstico y tratamiento deben establecerse sin retraso por su elevada morbimortalidad.

38

3.1.3.1.1 Etiopatogenia

La meningitis aguda es más frecuente en la población pediátrica que en adultos, principalmente en menores de cinco años. La etiología infecciosa es muy variada e incluye infecciones víricas, bacterianas, fúngicas y por micobacterias. Aunque la meningitis vírica es la responsable del 80% de los casos, principalmente por enterovirus, la meningitis bacteriana es la forma más grave, con alta morbimortalidad, de ahí la necesidad de una sospecha diagnóstica precoz para no retrasar el inicio del tratamiento.

En población infantil, los agentes más frecuentes de meningitis bacteriana aguda por grupos de edad se exponen en la **Tabla 6**. La epidemiología de esta enfermedad ha variado en los últimos años debido a la introducción de nuevas vacunas conjugadas contra *Haemophilus influenzae* tipo B, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*, que han disminuido su incidencia de forma progresiva en mayores de dos meses tras el inicio de la primovacunación.

Tabla 6. Etiología de meningitis bacteriana aguda según la edad en población infantil (18).

Edad	Microorganismo
< 1 mes	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
1-3 meses	<i>Streptococcus agalactiae</i> , bacilos Gram negativos (<i>Escherichia coli</i>), <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>
3 meses-3 años	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> y bacilos Gram negativos
3-10 años	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
10-19 años	<i>Neisseria meningitidis</i>

En pacientes adultos, las bacterias más frecuentemente implicadas en cuadros de meningitis aguda se recogen, en función de la edad y factores de riesgo, en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Etiología de meningitis bacteriana aguda según la edad y factores de riesgo en población adulta (47).

Edad	Microorganismo
<50 años	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
>50 años	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> y bacilos Gram negativo
Pacientes inmunodeprimidos	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp</i> y bacilos Gram negativo (incluyendo <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
Pacientes con meningitis recurrente	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Haemophilus influenzae</i>
Pacientes con fractura de la base del cráneo	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> y estreptococos β -hemolíticos grupo A

3.1.3.1.2 Diagnóstico microbiológico

a. **Tinciones.**La observación de microorganismos en la tinción de Gram del LCR permite un diagnóstico rápido y presuntivo del agente etiológico, aunque la confirmación definitiva se realiza siempre mediante la demostración de la presencia del microorganismo en el cultivo (60). La tinción

de Gram presenta como principales limitaciones su escasa sensibilidad (50-90%) (48), relacionada en gran medida con la carga bacteriana, y la necesidad de personal experimentado para su observación (43).

Los diferentes morfotipos observados en la tinción de Gram y la correspondiente identificación presuntiva del microorganismo responsable del proceso infeccioso son los siguientes:

- Diplococos Gram-negativos: *Neisseria meningitidis*.
- Cocobacilos Gram-negativos: *Haemophilus influenzae*.
- Diplococos Gram-positivos: *Streptococcus pneumoniae*.
- Cocos Gram-positivos en cadenas: *Streptococcus agalactiae*.
- Bacilos Gram-negativos: *Escherichia coli*.
- Bacilos Gram-positivos: *Listeria monocytogenes*.

b. **Cultivo:** el aislamiento de la bacteria, además del diagnóstico etiológico, permite la realización de pruebas complementarias, como el antibiograma y estudios de tipificación. Los agentes causales habituales suelen tener requerimientos nutricionales exigentes, por lo que siempre se ha de incluir un medio de agar chocolate. Los medios habituales incluyen placa de agar sangre, de agar chocolate y un caldo tioglicolato (o también medio *Brain Heart Infusion* [BHI]) como medio de enriquecimiento, que nos permite recuperar bacterias en muy baja concentración. No son necesarios medios selectivos al no existir ningún tipo de flora acompañante (líquido estéril) en el LCR. Las placas (previamente atemperadas) se inoculan por goteo y se incuban a 35-37 °C en atmósfera con 5-10% de CO₂ y el caldo en atmósfera aerobia a 35 °C. Éstas se revisan diariamente y se reincuban hasta 72 horas; el caldo se incuba durante 5 días.

c. **Métodos de aglutinación e inmunoensayos:** los métodos de aglutinación de látex y diferentes tipos de *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ensayo por inmuoadsorción ligado a enzimas [ELISA]) permiten una identificación rápida de las principales bacterias implicadas en la etiología de la meningitis bacteriana (estreptococos grupo B, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* A, B, C, Y, W135 y *Escherichia coli*).

d. **Técnicas serológicas,** que están enfocadas principalmente a la detección de casos activos de sífilis en el SNC. La prueba recomendada

por los *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) es la prueba no treponémica *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL), aunque es menos sensible que las pruebas fluorescentes con absorción de anticuerpos treponémicos (FTA-ABS); si se usa esta última, hay que evitar contaminaciones de LCR con sangre ya que los FTA-ABS son positivos durante un largo período de tiempo en pacientes tratados; es mejor utilizarla como prueba sérica adyuvante antes sospecha de neurosífilis. No se recomienda la realización del RPR en LCR.

- e. **Técnicas moleculares, basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (TAAN)**, tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus modificaciones, que pueden proporcionar un diagnóstico rápido, en tiempos adecuados para la toma de decisiones clínicas, y seguro de la meningitis bacteriana (46). Actualmente, se dispone de diversas TAAN que permiten la detección de múltiples patógenos, incluyendo bacterias, virus y hongos, y que presentan una sensibilidad y especificidad variable en función del patógeno, del ensayo y de la carga del microorganismo en la muestra. Este tipo de técnicas presentan limitaciones, ligadas a la no inclusión en los paneles de determinados microorganismos que pueden ser causantes de meningitis, diferencias en el rendimiento para la detección del agente causal en función de la etiología (49), el elevado coste de la técnica y la necesidad de equipos complejos, la facilidad de contaminación y la necesidad de personal experimentado. Además de la capacidad de estas técnicas para la identificación del patógeno en un corto período de tiempo, otra de sus ventajas es la posibilidad de detección del agente causal en pacientes previamente tratados, en los que el resultado del análisis bioquímico y celular del LCR no es concluyente (46). Un ejemplo de este tipo de técnica es el panel Meningitis/Encefalitis (ME) *Film Array®*, que utiliza la técnica de PCR multiplex para la identificación en LCR de 14 patógenos que con frecuencia son responsables de meningitis o encefalitis adquiridas en comunidad incluyendo virus (citomegalovirus [CMV], enterovirus, VHS-1 y VHS-2, herpesvirus humano 6 [HHV-6], Parechovirus humano, VVZ, bacterias (*Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*) y levaduras (*Cryptococcus neoformans/gattii*). El uso de este panel ha demostrado un fuerte impacto en el manejo del paciente, con una reducción del

tiempo hasta el diagnóstico, de los días con antibioterapia y del coste del manejo del paciente, por lo que sería una herramienta útil en los Programas de Optimización de Uso de los Antibióticos (PROA) (50, 51).

Otras TAAN para la detección de ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano son:

- La amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), con un menor coste y requerimiento de recursos de laboratorio que la PCR. Esta técnica presenta una sensibilidad superior al 90% y una especificidad cercana al 100%, permite obtener resultados en 20-60 minutos y el límite de detección es 100 más bajo que el de la PCR tradicional. Sin embargo, no se dispone de técnicas multiplex, aunque se ha desarrollado recientemente un ensayo para la detección de 3 bacterias, con potencial para su uso en formato *Point of Care Testing* (46).
- Secuenciación de nueva generación (NGS), técnica con capacidad para la detección de una amplia variedad de patógenos, aunque su valor en el diagnóstico de meningitis por análisis de LCR no es aún claro (46).

f. **Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDITOF-MS)**, técnica ampliamente utilizada para la detección de bacterias del hemocultivo, y que ha sido adaptada para su uso en LCR. Aunque su uso en el diagnóstico de meningitis es aún experimental, representa una herramienta prometedora para dicho objetivo (46).

3.1.3.2 Meningitis víricas

Es el tipo de meningitis más frecuente y la causa más frecuente de meningitis aséptica. Los virus pueden dar lugar a una presentación aguda, que cursa con un síndrome meníngeo y fiebre en grado variable o subaguda (aséptica o linfocitaria), en la que el curso de la infección es más insidioso, aunque suele ser autolimitada y de buen pronóstico. Un diagnóstico precoz desde el laboratorio permite la administración precoz de ciertos antivirales para algunos virus y se reduce el consumo innecesario de antibióticos, contribuyendo a un uso racional de los mismos (52).

3.1.3.2.1 Etiopatogenia

En un elevado porcentaje (40-60%) de casos, el agente causal de la meningitis vírica no es finalmente establecido. Los virus causantes de meningitis más frecuentes son los enterovirus, de la familia *Picornaviridae*, incluyendo los echovirus (30, 13, 6, 11 y 9) y virus coksackie (B5 y A9), según la nomenclatura tradicional (43). Otras causas de meningitis vírica son el VHS, principalmente tipo 2 (VHS-2), VVZ, parechovirus, virus influenza tipo A y tipo B, virus transmitidos por mosquitos (arbovirus), tales como los virus del Nilo Occidental, de la fiebre amarilla, de la encefalitis de San Luis y de la encefalitis de California, el virus de la parotiditis (paramyxovirus), cuyo papel como agente causal es muy limitado por la vacunación, el virus de la coriomeningitis linfocitaria y el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (53). Se han descrito meningitis por SARS-CoV-2, que indica el posible potencial neuroinvasivo de este virus y su capacidad para producir trastornos del SNC como meningitis (54).

3.1.3.2.2 Diagnóstico

El diagnóstico microbiológico de estas infecciones debe hacerse lo más rápidamente posible, lo que es hoy en día posible debido a la implantación de equipos de diagnóstico molecular en plataformas automatizadas en los laboratorios clínicos.

a. Aislamiento del virus mediante cultivo

Son técnicas habitualmente no disponibles en la mayoría de laboratorios, dado que su realización requiere de estrictas normas de bioseguridad, por lo que quedan restringidas a laboratorios de referencia. Además, se trata de técnicas de baja sensibilidad y que requieren de tiempos prolongados para la identificación del virus (55).

b. Técnicas moleculares: TAAN

Son las técnicas de elección para el diagnóstico de la infección viral. La introducción de los métodos de biología molecular, basados en la amplificación de los ácidos nucleicos, en los laboratorios de microbiología clínica supone un gran apoyo a la hora de obtener diagnósticos sensibles y específicos en el menor espacio de tiempo posible, además de simplificar el procedimiento diagnóstico y obtener un tiempo de respues-

ta adecuado para la toma de decisiones clínicas, dada la posibilidad de ser realizadas en plataformas altamente automatizadas.

Como ya se ha comentado, existen diferentes técnicas para la detección del material genético del virus: PCR y modificaciones de esta, como la PCR a tiempo real, PCR anidada y PCR de transcripción inversa (RT-PCR), y las técnicas de NGS (55, 56). Para el diagnóstico de infecciones del SNC existen en el mercado diferentes métodos comerciales, la mayoría basados en la PCR múltiple a tiempo real, que permiten la detección de los principales agentes etiológicos de las meningitis virales (49, 57, 58). Son ejemplos de este tipo de técnicas el panel *Film Array®* meningitis/encefalitis (Biomerieux) o los paneles *bacterial meningitis* y *viral meningitis* (Fast Track Diagnostics Siemens® Multiplex). El inconveniente principal de este tipo de técnicas es actualmente el coste de diagnóstico, de ahí la necesidad de hacer evaluaciones de coste-efectividad y de impacto en la práctica clínica, que permitan valorar la rentabilidad de la implementación de estas técnicas (59).

c. Técnicas serológicas

En algunas ocasiones, y ante la no disponibilidad de LCR para establecer el diagnóstico etiológico del cuadro con los métodos anteriores, puede ser útil recurrir a la serología. Aunque estas técnicas no son útiles para diagnosticar las meningitis causadas por enterovirus o VHS, sí que se utilizan para las causadas por el VVZ, bien por la detección de IgM específica en suero, bien por seroconversión de IgG entre suero de fase aguda y de fase convaleciente o bien por la producción intratecal de anticuerpos específicos, valorada mediante el índice de albúmina LCR/suero (Q_{alb}); un valor por debajo de 0,0075 indica que la BHE está íntegra y que la detección de IgG en LCR frente a este virus es indicativa de infección por dicho virus (43). Igualmente, la demostración de IgM frente a VTOS, en un contexto clínico compatible, es diagnóstico de una meningitis causada por este virus. Además, es el método de elección para detectar cuadros neurológicos por el virus del Nilo Occidental y otros virus emergentes, como el virus de la coriomeningitis linfocitaria, a partir de suero o de LCR (52).

Entre las técnicas serológicas más utilizadas se encuentran las técnicas de ELISA, inmunofluorescencia o inhibición de la hemaglutinación (55), siendo las primeras las preferidas en el laboratorio clínico, debido a su

buena sensibilidad y su capacidad para analizar un gran volumen de muestras.

3.1.3.3 Meningitis tuberculosa

Mycobacterium tuberculosis es la causa infecciosa principal de muerte a nivel mundial y representa uno de los mayores problemas globales de salud pública (60). En España se notificaron 3754 casos de tuberculosis en 2021, con una tasa de notificación de 7,61 por 100.000 habitantes. Hubo una disminución del 2,18% respecto a 2020 y del 28,07% respecto a 2015. Este descenso de tasas fue superior para las formas pulmonares (61). En el estudio de vigilancia epidemiológica de la tuberculosis en España, la tuberculosis pulmonar, fue la forma más frecuente de infección por *Mycobacterium tuberculosis*, pero hasta un 28,5% de los casos de tuberculosis detectados presentaron una localización extrapulmonar (61).

La afectación del SNC constituye aproximadamente del 5-10% de las tuberculosis extrapulmonares. Dicha afectación incluye una forma localizada o tuberculoma y la meningitis tuberculosa, que es la forma más grave de la tuberculosis extrapulmonar, causando muerte o discapacidad en casi la mitad de los pacientes que la padecen, a pesar de la terapia antituberculosa (62). Son poblaciones de alto riesgo los niños <5 años, y en adultos la coinfección con VIH-1 y el estado de inmunosupresión (63, 64)

El retraso en el diagnóstico y tratamiento, además del estadio de la enfermedad y la resistencia a los fármacos antituberculosos, son factores predictores de una mala evolución de la meningitis tuberculosa (64), por lo que un diagnóstico precoz y el inicio rápido del tratamiento son esenciales en el manejo del paciente con meningitis tuberculosa para reducir el riesgo de muerte o discapacidad neurológica a largo plazo (65).

3.1.3.3.1 Diagnóstico de la meningitis tuberculosa

a. Métodos clásicos: tinción y cultivo

La observación microscópica en la muestra de LCR teñida mediante la tinción de Ziehl-Nielsen y el cultivo del LCR son las técnicas tradicionales para el diagnóstico de la meningitis tuberculosa. Sin embargo, ambas son técnicas inadecuadas para este propósito (46). La tinción es una técnica rápida, de bajo coste y ampliamente disponible, pero con una baja sensibilidad (10-20%) (66), aunque este rendimiento puede mejo-

rarse aumentando el volumen de LCR examinado (al menos 6 mL), prolongado el tiempo de observación por personal experimentado o por una modificación de la tinción de Ziehl-Nielsen (67) con citocentrifugación de la muestra. Respecto al cultivo, los medios más utilizados son medios sólidos que utilizan como base huevo coagulado (Löwenstein-Jensen) o líquidos (sistema *Mycobacteria Growth Indicator* (MGIT), que utiliza el medio de Middlebrook). *Mycobacterium tuberculosis* es un microorganismo de crecimiento rápido, por lo que los tiempos para la obtención de resultados no son adecuados para la toma de decisiones (6 semanas para el medio de Löwenstein-Jensen y 2-4 semanas para MGIT) (46). A pesar de las limitaciones asociadas a la sensibilidad y los requerimientos de bioseguridad, el cultivo es esencial para valorar la susceptibilidad a fármacos (68).

b. Métodos moleculares: TAAN

Las TAAN son una herramienta prometedora para mejorar el diagnóstico de la tuberculosis. La prueba GeneXpert MTB/Rif, que permite la detección del ADN de *Mycobacterium tuberculosis* en diferentes muestras biológicas y la resistencia a la rifampicina, es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos rápida, con un tiempo de respuesta (~ 2 horas) adecuado para la toma de decisiones clínicas en cuanto a tratamiento, que se realiza en una plataforma analítica automatizada y está basada en cartuchos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la recomendó en 2015 como la prueba de diagnóstico microbiano inicial para la tuberculosis (69). Aunque esta técnica presenta una elevada especificidad, su sensibilidad es limitada (~ 60-70%) (65, 70) y variable en función de la técnica de diagnóstico de referencia. Esta aumenta significativamente en pacientes VIH (65). En conclusión, GeneXpert MTB/Rif carece de la sensibilidad y valor predictivo negativo adecuado para el *rule-out* de meningitis tuberculosa (46). Con posterioridad, se desarrolló una nueva técnica (GeneXpert MTB/Rif Ultra) mejorada (aumento del volumen de muestra para la PCR, dos nuevos ADN *targets* para la identificación y mejora de la microfluídica) para incrementar la sensibilidad de la técnica (~ 90%) (70) y la detección de la resistencia a la rifampicina. En 2017, este nuevo ensayo fue recomendado por la OMS como prueba de primera línea para el diagnóstico de la meningitis tuberculosa, reemplazando a GeneXpert MTB/Rif (71). Sin embargo, algunos estudios cuestionan esta superioridad diagnóstica (72).

Amplicor MTB (Cobas) es otra plataforma basada en PCR para el diagnóstico de la meningitis tuberculosa. Presenta un rendimiento diagnóstico similar a GeneXpertMTB/Rif (73), aunque se han descrito falsos positivos en pacientes con encefalitis herpética, espondilitis estafilocócica y síntomas neurológicos secundarios a interacciones farmacológicas (46). Aunque pendientes de más estudios que permitan valorar su posible implantación en la práctica clínica real, otras técnicas que pudieran tener un papel en el diagnóstico y manejo del paciente con meningitis tuberculosa son la NGS y la LAMP (46).

c. Otras pruebas diagnósticas

Aunque con menos implantación, otras técnicas para el diagnóstico de la meningitis tuberculosa son (46, 74):

- Determinación en LCR de lipoaribomano, glicopéptido de la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis* que actúa como un factor de virulencia, cuyo valor es controvertido. De acuerdo a la evidencia actual, esta prueba no reúne las características de rendimiento adecuadas, con una sensibilidad inferior al 50%, para el diagnóstico de meningitis tuberculosa (75).
- Determinación del interferón gamma (*Interferon-gamma release assays* [IGRA]) liberado por los linfocitos T sensibilizados por antígenos específicos, cuya medida en sangre es usado como prueba para el diagnóstico de las infecciones causadas por *Mycobacterium tuberculosis* (76). Sin embargo, en LCR esta prueba presenta un rendimiento moderado para el diagnóstico de meningitis tuberculosa (77).

3.1.3.4 Meningitis fúngicas: meningitis criptocócica

3.1.3.4.1 Etiopatogenia

Cryptococcus spp. es el principal hongo causante de meningitis fúngica. La meningitis criptocócica es una micosis oportunista causada por la invasión del SNC por el hongo *Cryptococcus* spp., que mayoritariamente ocurre en pacientes en los estadios más avanzados de la infección por VIH, siendo menor la frecuencia en individuos con inmunosupresión no asociada al VIH, aunque en aumento en los países desarrollados, o en individuos inmunocompetentes. En humanos, *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus*

gattii son las especies productoras de enfermedad (78). Ambos son hongos encapsulados que se encuentran en el ambiente, heces de aves y madera en descomposición y que se caracterizan por una elevada virulencia y por tener capacidad para atravesar la BHE, una rápida variación antigénica en su cápsula, de naturaleza polisacáridica, que le confiere capacidad para evadir las defensas del huésped y presentar una forma esporulada estable (79). *Cryptococcus neoformans* se caracteriza por presentar predilección por el SNC, produciendo meningoencefalitis en pacientes inmunodeprimidos, mientras que *Cryptococcus gattii*, aunque también causa meningitis en individuos aparentemente inmunocompetentes, está asociado con mayor frecuencia a la enfermedad pulmonar (80). La criptococosis meningocócica es la causa del 15-20% de las muertes relacionadas con los estadios más avanzados de la enfermedad asociada a la infección por VIH y casi dos tercios de todas las muertes por meningitis criptocócica asociada al VIH ocurren en el África subsahariana (78). La afectación meníngea por otros patógenos como *Coccidioides*, *Histoplasma* o *Candida* es menos frecuente y raramente se produce en individuos inmunocompetentes (46).

3.1.3.4.2 Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico de la meningitis criptocócica ha cambiado significativamente en los últimos años. Históricamente, la caracterización de las colonias obtenidas por cultivo del LCR en agar dextrosa Saboraud ha sido considerada como la técnica de referencia para el diagnóstico de la meningitis criptocócica, con el apoyo de la identificación directa de *Cryptococcus* spp por observación al microscopio óptico de la muestra de LCR teñida mediante la técnica de la tinta china (81, 82).

El cultivo presenta como principales limitaciones el tiempo prolongado hasta el crecimiento (83) y la sensibilidad está limitada por la presencia de falsos negativos, frecuentes en individuos con baja carga fúngica (81) (**Tabla 8**). Aunque ambas circunstancias limitan la utilidad del cultivo para la toma de decisiones en el contexto agudo, el cultivo permanece como una herramienta útil para el control microbiológico de *Cryptococcus* durante la terapia de inducción y para diferenciar en pacientes con VIH la recaída de la meningitis vs. síndrome inflamatorio de reconstitución inmune paradójico (IRIS) (81).

Respecto a la tinción con tinta china, aunque es una técnica rápida y accesible, especialmente en entornos con recursos limitados, presenta una sensibi-

lidad limitada, especialmente en las etapas más precoces de la enfermedad con baja carga de infección (Tabla 8). Esta sensibilidad puede incrementarse mediante la centrifugación del LCR (83).

Tabla 8. Características de las técnicas para el diagnóstico de la meningitis criptocócica. Adaptado de (78, 81).

Técnica	S (%)	E (%)	Ventajas	Limitaciones
Cultivo de LCR	82,4-94,2	100	Diagnóstico de la recaída de la meningitis criptocócica	Tiempo hasta el diagnóstico (~1-2 semanas) Sensibilidad dependiente del volumen de muestra y de la carga fúngica
Tinción con tinta china	42-86	100	Resultado rápido, bajo coste, procedimiento sencillo	Sensibilidad dependiente de la carga fúngica Requiere de personal entrenado y experimentado
Antígeno criptocócico	99,1	100	Posibilidad de obtener resultados de forma rápida Bajo coste Posibilidad de presentación como <i>Point of Care Testing</i> El test inmunocromatográfico de flujo lateral puede conservarse en condiciones de temperatura ambiental, lo cual le hace de gran valor en determinados contextos con recursos limitados	Efecto prozona en muestras con alta carga fúngica. Esta limitación se resuelve con la dilución de la muestra Algunas de estas técnicas requieren condiciones de refrigeración para la conservación de reactivos, lo que puede ser una limitación en ciertos entornos
PCR múltiple	50-96	96 - 99	Tiempo de respuesta inferior al cultivo	Sensibilidad dependiente de la carga fúngica Elevado coste, lo que puede ser una limitación en ciertos entornos
1,3-β-D-glucano en LCR	89	85	Resultado rápido	Marcador inespecífico

Abreviaturas: S: sensibilidad; E: especificidad; LCR: líquido cefalorraquídeo; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

Dadas las limitaciones de las técnicas clásicas, la detección del antígeno criptocócico, componente polisacarídico de la cápsula, en sangre y en LCR, ha emergido como una técnica de referencia para el diagnóstico de la meningitis criptocócica y ha sido recomendada como test de primera línea

para su diagnóstico (84, 85). Este antígeno puede ser detectado mediante técnicas de inmunocromatografía de flujo lateral, que permite su uso en formato *Point of Care Testing* (83), de gran valor en determinados entornos, ELISA o aglutinación en látex y todas ellas se caracterizan por su elevado rendimiento diagnóstico, con sensibilidad y especificidad cercana al 100% (Tabla 8). En base a los datos de un metaanálisis, Temfack y cols. concluyen que, en pacientes con VIH y síntomas sugestivos de meningitis criptocócica, la negatividad del antígeno criptocócico en suero puede excluir la enfermedad, mientras que la positividad puede ser usado como criterio para iniciar la terapia de inducción si no es factible la punción lumbar, habitual en países de ingresos medianos y bajos. En un primer episodio de meningitis criptocócica, la positividad en LCR es diagnóstica (82). Además, la cuantificación del título del antígeno criptocócico es útil para establecer el pronóstico, pero no para valorar la respuesta al tratamiento ni para el diagnóstico diferencial de la recaída vs. IRIS (81), dada su permanencia en LCR durante años (46). Finalmente, en pacientes VIH con menos de 200 células CD4/mm³ se recomienda la determinación por inmunocromatografía de flujo lateral del antígeno criptocócico en sangre, y el título en caso de ser positivo, como prueba de cribado y estratificación del riesgo de la criptococosis (85).

La medida de 1,3- β -D-glucano, componente de la pared celular de los hongos, en LCR ha sido propuesta para el diagnóstico de la meningitis criptocócica, pero se trata de un marcador inespecífico de infección fúngica (Tabla 8), lo que limita su utilidad diagnóstica (81), inferior a la del antígeno criptocócico. Sin embargo, y a diferencia del antígeno criptocócico, las concentraciones de 1,3- β -D-glucano en LCR se normalizan rápidamente tras el inicio de la terapia antifúngica, por lo que podría ser un marcador útil en la monitorización de la terapia (86).

Respecto a las técnicas moleculares, la utilidad de estas es limitada debido principalmente a su baja sensibilidad en pacientes con baja carga fúngica (Tabla 8). Paneles como CSF *BioFire Film Array* para meningitis/encefalitis incluyen *Cryptococcus* entre los microorganismos que identifica mediante tecnología de PCR múltiple a tiempo real en plataformas altamente automatizadas (87). Esta técnica presenta una elevada sensibilidad y especificidad cuando se compara con el cultivo, pero la sensibilidad disminuye significativamente en comparación con el antígeno criptocócico, aunque los falsos negativos correspondieron a pacientes previamente tratados, lo que sugiere que sí podría ser una herramienta útil en el diagnóstico inicial de la meningitis criptocócica (88). En cualquier caso, y dado el coste de este tipo de técnicas y la no

superioridad diagnóstica frente a técnicas menos costosas, limita la utilidad y por tanto su implantación en la práctica asistencial de los laboratorios (81).

3.2 Estudio de otras magnitudes de laboratorio en LCR

3.2.1 Biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de la esclerosis múltiple (EM)

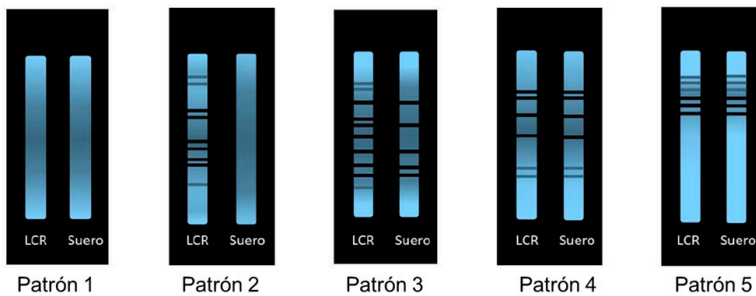
La EM es una enfermedad autoinmune crónica que causa desmielinización y neurodegeneración del SNC. La enfermedad ocurre en personas genéticamente susceptibles y contribuyen a su desarrollo diversos factores ambientales. Respecto a su patogenia, esta enfermedad se caracteriza por la alteración de la tolerancia inmunológica, que facilita la generación de células autorreactivas que migran al SNC e inician una reacción inflamatoria con implicación de diferentes tipos de células (linfocitos T CD8+, macrófagos, células gliales), citoquinas, anticuerpos y mediadores de inflamación. Aunque la lesión tiende a ser reparada, se produce diseminación epitópica que perpetua la respuesta inflamatoria. La EM afecta principalmente a individuos entre 20 y 40 años y es la principal causa de discapacidad no traumática entre los adultos jóvenes en el mundo occidental.

El diagnóstico de la EM incluye el análisis del LCR, que refleja la patogenia autoinmune de la enfermedad y contribuye al diagnóstico de la enfermedad. La síntesis intratecal de IgG por parte de las células plasmáticas y linfocitos B monoclonales en el SNC es característica de esta enfermedad, y está presente en más del 95% de los pacientes. Aunque estos anticuerpos no son exclusivos de la EM, en un contexto clínico adecuado, su presencia muestra la inflamación subyacente y su ausencia obliga a hacer un diagnóstico diferencial con otras enfermedades. La detección de la síntesis intratecal de Ig en pacientes con sospecha de EM puede realizarse mediante diferentes métodos (89):

- a. Caracterización de la síntesis intratecal de IgG (cualitativa): la detección de bandas oligoclonales (BOC) de IgG en LCR ausentes en el suero (**Figura 7**) se considera la prueba de laboratorio *gold standard* para evidenciar una síntesis intratecal elevada, considerándose BOC positivas la presencia de 2 o más bandas de IgG presentes en LCR y no en suero (patrones 2 y 3. **Figura 7**). La presencia de BOC está incluida en los criterios de McDonald de 2017 para el diagnóstico de EM (90). La detección de BOC tiene ciertas limitaciones metodológicas. Se realiza mediante

isoelectroenfoque seguido de una electroforesis en gel de agarosa; se trata de una técnica compleja, de coste elevado, que requiere de personal especializado, cuya interpretación es dependiente del observador y que proporciona un resultado cualitativo (91). Este método presenta un elevado rendimiento para el diagnóstico de EM, con una sensibilidad y especificidad de aproximadamente el 90% (89). Además de su interés en el diagnóstico de la EM, la presencia de BOC en pacientes con síndrome clínico aislado (SCA) (episodio inicial de síntomas neurológicos que dura como mínimo 24 horas causado por la inflamación o desmielinización en el SNC, que no cumple los criterios diagnósticos de EM, pero con un riesgo aumentado de desarrollarla múltiple en los siguientes 20 años de seguimiento) predice la conversión a EM (92).

Figura 7. Representaciones esquemáticas de los patrones de LCR y suero obtenidos mediante isoelectroenfoque. Patrón 1: ausencia de BOC en LCR y en suero. Patrón normal; Patrón 2: BOC presentes sólo en LCR. Síntesis intratecal de IgG. Patrón observado en EM; Patrón 3: BOC presentes en LCR y suero, con bandas adicionales en LCR. Síntesis intratecal de IgG en enfermedades sistémicas; Patrón 4: BOC presentes tanto en LCR como en suero. Inflamación sistémica (perfil oligoclonal en espejo); Patrón 5: Gammapatía monoclonal (perfil monoclonal en espejo). Tomada con autorización de (93).



- b. Caracterización de la síntesis intratecal de IgG (cuantitativa): la síntesis intratecal de IgG puede también determinarse mediante distintas fórmulas lineales como la fórmula de Tourtellote, la fórmula de Schuller y el índice de IgG o de Tibbling Link, que es la más utilizada, o fórmulas no lineales como las propuestas por Reiber y Felgenhauer (91). El índice IgG se calcula como la relación entre IgG y albúmina en el LCR en comparación con la relación entre IgG y albúmina en suero.

Este índice se utiliza para discriminar correctamente si el aumento de concentraciones de IgG en el LCR es debido a alteraciones de la permeabilidad de la BHE, que refleja el cociente de albúmina (Q alb) (94), o al aumento de la síntesis intratecal de inmunoglobulinas. Un índice de IgG $>0,7$ refleja un aumento de la respuesta de las células B en el SNC y por tanto síntesis intratecal de esta inmunoglobulina (Ig), por lo que probablemente revela un diagnóstico de EM, basándose en el hecho de que casi el 70% de los pacientes con EM presentan un índice de IgG aumentado (91). Sin embargo, existen otras enfermedades del SNC en las que el índice de IgG podría aumentar como por ejemplo en la enfermedad de Behcet, en la neurosarcoidosis o en el síndrome de Sjögren. Este índice presenta una sensibilidad moderada (70%) para el diagnóstico de EM (89).

c. Caracterización de la síntesis intratecal de cadenas ligeras libres kappa (CLL- κ)

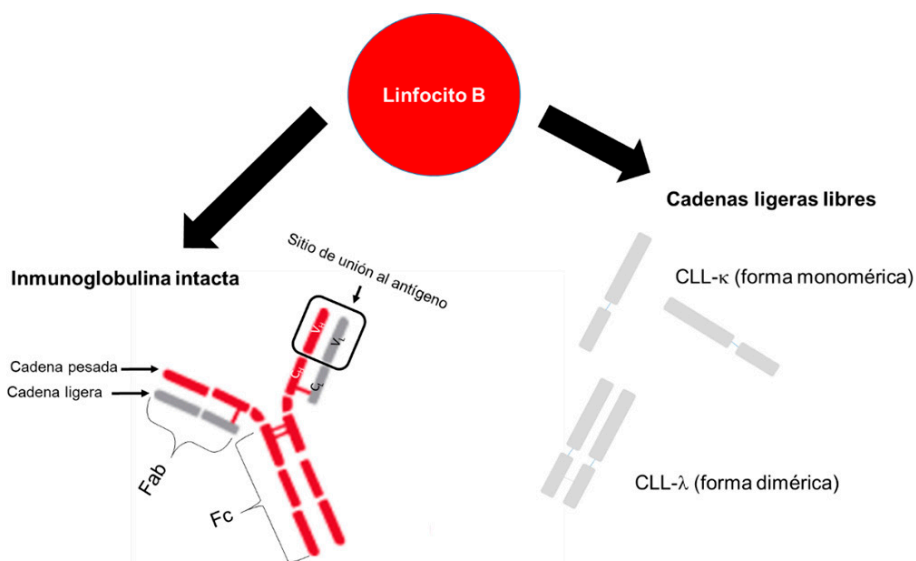
Durante la respuesta inflamatoria, los linfocitos B producen Ig intactas por ensamblaje de las cadenas ligeras (kappa y lambda) y pesadas, pero también producen un exceso de cadenas ligeras que secretan como formas libres (**Figura 8**). De forma similar a las Ig, las CLL se acumulan en el LCR en el caso de enfermedades inflamatorias crónicas del SNC, como la EM, pero también en otras patologías inflamatorias, incluyendo aquellas de etiología infecciosa.

La medida de CLL se realiza mediante ensayos nefelométricos y turbidimétricos, siendo los más estudiados Siemens® NLatex κ FLC y λ FLC y Binding Site Freelite® FLC (Free light chain), cuyo rendimiento para el diagnóstico de EM es comparable, pero los resultados no son intercambiables, de ahí la necesidad de usar siempre el mismo ensayo en el diagnóstico y seguimiento del paciente (95). Aunque tanto las concentraciones de CLL- κ como de las CLL- λ están aumentadas en el LCR de pacientes con EM, las CLL- κ han mostrado una mejor correlación en el diagnóstico de la EM (91). Las principales ventajas de la medida de CLL en LCR, en comparación con las BOC, son: 1) la simplicidad de los métodos automatizados, lo que facilita la incorporación de esta magnitud a los catálogos de pruebas de los laboratorios, y 2) los resultados son objetivos y cuantificables (91).

A partir de la concentración de CLL- κ se han propuestos diferentes magnitudes calculadas, siendo la más utilizada el índice κ , que presenta un

rendimiento similar al de las BOC para el diagnóstico de la EM (96, 97), predice la progresión de la enfermedad y es un predictor de la conversión de SCA a EM (91).

Figura 8. Producción de inmunoglobulinas intactas y cadenas ligeras libres por el linfocito B. Adaptada de (89).



CH: dominio de la cadena pesada constante; CL: dominio de la cadena pesada constante; CLL: Cadena ligera libre; Fab; fragmento de unión al antígeno; Fc: fragmento cristalizante; V_H : dominio de la cadena pesada variable; V_L : dominio de la cadena ligera variable.

Una de las limitaciones principales para la interpretación del índice κ es la falta de consenso respecto al punto de corte óptimo para el diagnóstico de EM. En la **Tabla 9** se recogen los puntos de corte recomendados en algunos estudios.

Un consenso de expertos recientemente publicado ha revisado el posible valor del índice κ en el diagnóstico de la EM (89). En dicho consenso se establecen las siguientes recomendaciones:

1. El índice κ presenta un elevado grado de acuerdo con la en aquellos casos con concentración de CLL- κ , pero parece ser superior en aquellos casos con una producción baja o moderada de CLL- κ .

Tabla 9. Puntos de corte del índice κ para el diagnóstico de EM.

Referencia	Ensayo	Punto de corte óptimo	Sensibilidad/Especificidad
(98)	Free Lite FLC	3,045 ^a 3,045 ^b	97,8%/86,3% 93,9%/90,4%
(99)	Free Lite FLC	5,02 ^b 7,58 ^a	92%/92% 85%/94%
(100)	Free Lite FLC	2,91 ^a	83,8%/85,9%
(101)	Free Lite FLC	6,1 ^a	86,3%/96,9%
(102)	Free Lite FLC	8,92 ^a	88,2%/89,3%
(97)	^c	6,1 ^a	No reportado

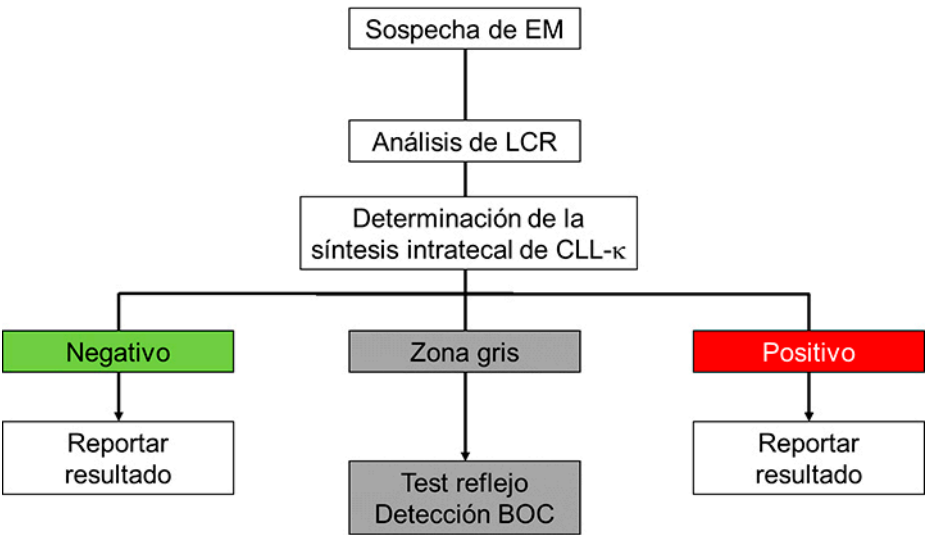
^a Diagnóstico de EM.

^b Detección de BOC.

^c Revisión y metaanálisis incluyendo estudios que utilizaron diferentes plataformas. Esta circunstancia no tuvo impacto en el rendimiento de la magnitud.

2. No existe consenso sobre el punto de corte óptimo a utilizar, siendo necesarios estudios multicéntricos con distintas plataformas analíticas para confirmar estos puntos de corte. Deben desarrollarse materiales certificados para garantizar la trazabilidad del ensayo.
3. La mejor opción para el diagnóstico de la EM es la combinación de la determinación de BOC y el índice κ (**Figura 9**). Los autores proponen la determinación de la síntesis intratecal de CLL- κ como prueba de cribado y recomiendan utilizar dos puntos de corte, informando los resultados claramente negativos o claramente positivos. En el caso de valores entre ambos puntos de corte (zona gris) la detección de BOC es la prueba de segunda línea. Dada la ausencia de datos respecto a los valores que definirían la zona gris, los autores sugieren utilizar como puntos de corte para el índice CLL- κ 2,4 y 20 (89) como base para futuros estudios. El estudio reciente de Maroto y cols. (93) propone utilizar como puntos de corte para el *rule-out* 2,51 y para el *rule-in* 12,07, alcanzando así una sensibilidad y especificidad del 96,7% y 90,2%, respectivamente.
4. La incorporación del índice κ en la próxima revisión de los criterios diagnósticos de EM como forma de evaluar la síntesis intratecal de IgG.

Figura 9. Algoritmo propuesto para el uso de las CLL- κ , en combinación con las BOC, para el diagnóstico de EM (96).



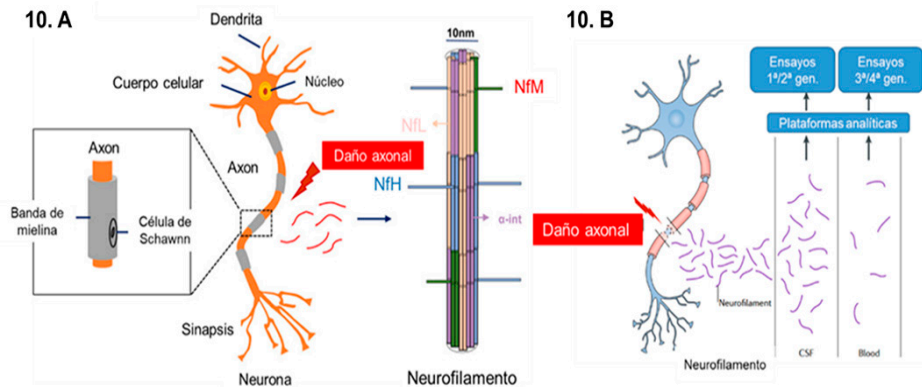
3.2.2 Neurofilamentos

El daño neuroaxonal es el sustrato patológico de la incapacidad permanente de varios desórdenes neurológicos. La cuantificación fiable y seriada en el tiempo de este daño es importante para valorar la actividad de la enfermedad, monitorizar la respuesta al tratamiento y establecer el pronóstico del paciente. En este sentido, los neurofilamentos son una herramienta prometedora porque su concentración aumenta en condiciones caracterizadas por el daño axonal no sólo en el LCR, sino también en sangre cuando se utilizan ensayos de tercera (quimioluminiscencia) y cuarta generación (SI-MOA [*Single Molecule Array*]) caracterizados por su elevada sensibilidad (103). Estudios recientes han demostrado el elevado grado de acuerdo de la medida de neurofilamentos por ambas técnicas (104). La estandarización y la transferibilidad de resultados entre plataformas analíticas, junto con la disponibilidad de la medida de esta magnitud en plataformas automatizadas, facilitará la inclusión de los neurofilamentos en la práctica clínica y, probablemente, su inclusión en las guías para el manejo de algunos de estos trastornos neurológicos (103, 105).

El citoesqueleto neuronal se compone de actina, microtúbulos y neurofilamentos, cuyas funciones principales son la estabilización de dicho citoes-

queleto y el mantenimiento del calibre axonal, permitiendo una conducción nerviosa de alta velocidad. Los neurofilamentos son heteropolímeros formados por cuatro subunidades: cadena ligera o NfL (~68-70 kDa), cadena media (~145-150 kDa), cadena pesada o NfH (~180-200 kDa), además de α -internexina (~66 kDa) o periferina (~57 kDa) (**Figura 10.A**), cada una con estructuras y funciones diferenciadas, aunque sólo las cadenas ligeras y pesadas presentan estabilidad suficiente para ser detectadas mediante inmunoensayo. Cuando se produce el daño axonal, las proteínas del citoesqueleto, incluyendo los neurofilamentos, son liberados al espacio extracelular y a continuación al LCR, y en concentraciones menores, al torrente sanguíneo (**Figura 10.B**).

Figura 10. A. Estructura de los neurofilamentos. Disponible en https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Antigen-detection/Amyotrophic-Lateral-Sclerosis/EQ_6561_I_UK_A.pdf. **B.** Liberación de los neurofilamentos al LCR y sangre. Adaptado de (103).



La medida de neurofilamentos en los líquidos biológicos, incluyendo el LCR, ha emergido en los últimos años como uno de los biomarcadores más importantes de patologías caracterizados por el daño axonal. Aunque su medida no es útil en el diagnóstico de dichas patologías, sí puede ser válida en los estadios preclínicos de las enfermedades neurodegenerativas y como marcadores de la progresión, pronóstico y respuesta al tratamiento (103). Actualmente, son las subunidades ligeras (NfL) las que más se han investigado en diferentes patologías neurológicas; esto es debido a su estabilidad y estequiometría, en comparación con las cadenas pesadas (NfH) y medias

(NfM), en una relación 7:3:2 en individuos sanos, que se modifica en la enfermedad, con aumento de los NfL y descenso de los NfH y NfM, características de los NfL que les hacen ser un buen candidato como biomarcador (103).

La edad, como variable fisiológica asociada a la degeneración neuroaxonal, aumenta la liberación de los NfL al LCR y sangre y condiciona la interpretación de los neurofilamentos, también influenciada por comorbilidades cuya incidencia aumenta con la edad, de ahí el reto que supone generar intervalos de referencia estratificados por edad (103). Además, otras variables como el índice de masa corporal o la presencia de insuficiencia renal y patologías como la diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular son factores de confusión en la interpretación de la concentración sérica de NfL (103)

Como marcador de daño neuroaxonal, la medida en sangre y LCR de los neurofilamentos ha sido evaluada en un amplio espectro de enfermedades neurológicas (103, 106-111), incluyendo:

- Trastornos neuroinflamatorios, como la EM, la encefalomielitis asociada a anticuerpos antiMOG (glicoproteína del oligodendrocito asociado a la mielina) y neuromielitis óptica.
- Enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, patología en la que los NfL podrían ser útiles para predecir monitorizar la gravedad y predecir la progresión del deterioro cognitivo y motor y la progresión a demencia y diferenciar la enfermedad de Parkinson de otros parkinsonismos atípicos, la demencia por cuerpos de Lewy y la demencia frontotemporal.
- Valoración del daño traumático sostenido, generado por ejemplo en determinados deportes, como el boxeo o el rugby.
- ELA: la medida de NfL y NfH en LCR y de NfL en sangre presentan un alto rendimiento para el diagnóstico de ELA, que puede ser una de las principales aplicaciones de este marcador, contribuyendo a una detección precoz, ya que este alto rendimiento es independiente del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas.
- Síndrome de Guillain-Barre, en el que la medida de NfL en suero está asociada a la gravedad de la enfermedad y al pronóstico del paciente, pudiendo ser útil para monitorizar el daño neuronal característico de esta patología y valorar los efectos del tratamiento.

- Muchas patologías caracterizadas por el daño axonal y caracterizadas por el incremento de la concentración en líquidos biológicos de NFL carecen de tratamientos efectivos. En estas, la medida longitudinal de NFL en sangre podría ser una herramienta de valoración de la respuesta en ensayos clínicos. Además, y dado que este incremento ya se observa antes de la aparición de los síntomas clínicos, su medida ofrece la posibilidad de una intervención precoz cuando el daño es limitado.

3.2.3 Biomarcadores en LCR para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

3.2.3.1 Introducción

La enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la pérdida de memoria a corto plazo y un deterioro cognitivo en el lenguaje, funciones visoespaciales y ejecutivas (112). De acuerdo con la Guía Oficial de práctica clínica en demencias de la Sociedad Española de Neurología (SEN), del año 2018, la gravedad del deterioro cognitivo varía según la fase de la enfermedad, progresando desde sintomatología no evidente (fase preclínica), pasando por deterioro subjetivo y leve, hasta llegar a la demencia. Los pacientes con deterioro cognitivo leve suelen mantener su independencia funcional, mientras que la demencia se caracteriza por una pérdida de independencia y deterioro del funcionamiento diario. El tiempo hasta la progresión es muy variable entre pacientes.

La enfermedad de Alzheimer es la primera causa de demencia neurodegenerativa a nivel mundial y supone un problema sanitario de primer orden. Se estima que 40 millones de personas en el mundo padecen una demencia atribuible a esta enfermedad y se prevé un aumento exponencial de esta cifra en las próximas décadas, debido al envejecimiento progresivo de la población. Como consecuencia, en los próximos 20 años se espera que la prevalencia de la demencia debida a la enfermedad de Alzheimer se doble, aunque su incidencia está disminuyendo en probable relación con la mejora en los estilos de vida. En España, se ha estimado una prevalencia entre 2,4% y 6,9% en individuos ≥ 65 años y una tasa de incidencia ajustada por edad de 4,5 a 5,5 casos por 1000 personas/año, lo que supondría entre 210.000 y 260.000 afectados en nuestro país (113). Según datos de la SEN esta cifra aumentaría hasta 800.000,

diagnosticándose aproximadamente 40.000 casos nuevos cada año, lo que implica que en 2050 el número de pacientes alcanzará los casi dos millones de personas. Además, se trata de una patología ampliamente infradiagnosticada, y hasta un 50% de los casos aún leves están aún sin diagnosticar.

3.2.3.2 Factores de riesgo de la enfermedad de Alzheimer

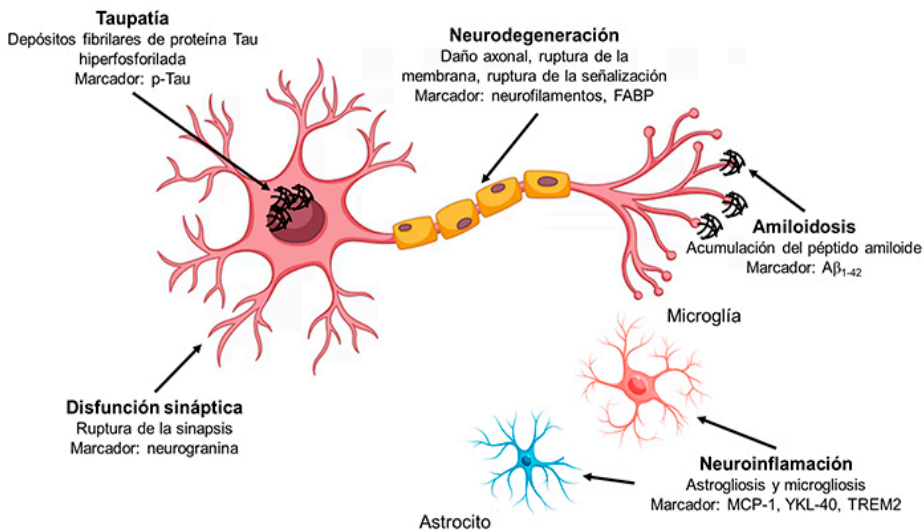
La etiología de la enfermedad de Alzheimer aún no está establecida en los casos esporádicos no determinados genéticamente. Los marcadores de riesgo claramente establecidos para esta enfermedad son la edad, el sexo, y los factores genéticos.

- La edad constituye el primer y más importante marcador de riesgo, de forma que la incidencia y prevalencia aumenta progresivamente y de forma directa con el envejecimiento.
- Otro marcador de riesgo es el sexo. Por causas todavía no completamente dilucidadas, la incidencia de la enfermedad es ligeramente mayor en mujeres, y la prevalencia, muy dependiente de la mayor mortalidad global en varones, es tres veces mayor.
- La mayoría de los casos de enfermedad de Alzheimer ocurren de manera esporádica, pero existe una forma de enfermedad hereditaria, con un patrón autosómico dominante y que supone menos del 1% de todos los casos de enfermedad, relacionada principalmente con las formas de inicio en edades tempranas y vinculada a tres genes: el de la proteína precursora del amiloide (PPA), presenilina 1 y presenilina 2 (PSEN1 y PSEN2). La asociación entre el gen de la apoE y la enfermedad de Alzheimer está también claramente establecida. Hay tres polimorfismos de este gen: el alelo E3 es el más frecuente en población caucásica. El alelo E4 aumenta el riesgo, mientras que el alelo E2 es un factor protector.
- Respecto a factores de riesgo, entendido como aquellos que son modificables, se consideran como tales los factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, dislipemia, obesidad, sedentarismo, hábito tabáquico, diabetes mellitus). Los antecedentes de traumatismo craneales, ya sea único o repetido, parece ser otro factor de riesgo de la enfermedad. También hay evidencias de que la depresión en etapas tardías de la vida constituye un factor de riesgo de la enfermedad.

3.2.3.3 Etiopatogenia

Los principales hallazgos histopatológicos que definen la enfermedad de Alzheimer son la degeneración neuronal y la pérdida sináptica en el contexto de la presencia de placas neuríticas o seniles extraneuronales, compuestas fundamentalmente por depósitos o agregados de β -amiloide ($A\beta$), y los ovillos neurofibrilares (ONF), que son depósitos fibrilares de la proteína Tau hiperfosforilada (p-Tau). Otros eventos patológicos que con frecuencia acompañan a la enfermedad de Alzheimer son la disfunción sináptica, la inflamación, la angiopatía amiloide, que consiste en el depósito fibrilar de $A\beta$ formando un engrosamiento vascular característico y las lesiones vasculares (Figura 11) (112, 114, 115).

Figura 11. Alteraciones histopatológicas y biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. Adaptado de (115, 116).



3.2.3.4 Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

Los primeros criterios para el diagnóstico de la demencia de tipo Alzheimer se remontan al año 1984. Los criterios del grupo *National Institute for Communicative Disorders and Stroke, Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA) (117) definían la enfermedad de Alzheimer

como un síndrome y su diagnóstico con tres grados de certeza: probable, posible y definitiva, requiriendo esta última generalmente la confirmación histopatológica post mortem para alcanzar la certeza diagnóstica. Estos criterios presentaban una sensibilidad adecuada (81%), pero su especificidad era aproximadamente del 70%, que podía disminuir hasta el 48% si se incluían los casos de demencia de tipo Alzheimer posible.

Sin embargo, con el creciente conocimiento de las bases biológicas de la enfermedad y el desarrollo de biomarcadores, se pusieron en evidencia diferentes limitaciones de aquellos criterios diagnósticos. Teniendo en cuenta esas limitaciones, el *International Working Group (IWG) for new research criteria for the diagnosis of Alzheimer disease* publicó en 2007 (118) unos criterios (IGW-1) que se centran en un núcleo clínico de deterioro temprano y significativo de la memoria episódica, que debe estar acompañado por al menos uno o varios biomarcadores anormales en las exploraciones de neuroimagen estructurales como la resonancia magnética, las exploraciones de neuroimagen moleculares mediante tomografía por emisión de positrones (PET) o el análisis en LCR de los biomarcadores de A β y proteínas tau. Por tanto, ya en esta definición se incluyen los biomarcadores circulantes en LCR como un criterio requerido para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

En 2011, la *National Institute of Aging y la Alzheimer's Association (NIA-AA)* publicó una nueva actualización de los criterios diagnósticos de demencia de Alzheimer, de deterioro cognitivo leve, de deterioro cognitivo leve debido a enfermedad de Alzheimer y de los estadios preclínicos de la enfermedad, caracterizados por la ausencia de síntomas clínicos, pero en los que el cerebro presenta cambios patológicos que se pueden detectar mediante biomarcadores en LCR y de imagen (119).

En 2014, la IWG actualizó los criterios para el diagnóstico (IGW-2), de forma que el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer requiere la presencia de un fenotipo clínico apropiado, típico o atípico, y de un biomarcador fisiopatológico consistente con la presencia de la anatomopatología de la enfermedad (120).

La SEN, en su Guía Oficial de práctica clínica en demencias, recomienda para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, tanto en la fase de deterioro cognitivo leve como en la fase de demencia, los criterios diagnósticos NIA-AA y los criterios IWG-2. Además, en la práctica clínica habitual, no se recomienda el diagnóstico preclínico de la enfermedad de Alzheimer.

3.2.3.5 Biomarcadores en enfermedad de Alzheimer

Los biomarcadores permiten el estudio *in vivo* de los cambios estructurales y moleculares que están relacionados con el proceso patológico que caracteriza a la enfermedad de Alzheimer, y así avanzar hacia una clasificación de las enfermedades neurodegenerativas en función de su patología molecular. Su inclusión en los criterios diagnósticos permite aumentar la precisión del diagnóstico clínico, lo que resulta útil tanto en el ámbito de la investigación como en la práctica asistencial.

Según la SEN, los biomarcadores se clasifican en fisiopatológicos, que se corresponderían con aquellos que identifican un elemento distintivo de una etiología concreta, como por ejemplo la concentración de β -Amiloide 1-42 ($A\beta_{1-42}$) y la acumulación cerebral del péptido amiloide (**Figura 11**), y topográficos, no específicos de una patología concreta. Una segunda clasificación divide a los biomarcadores de enfermedad de Alzheimer en:

1. Biomarcadores en LCR, que se corresponden con proteínas que reflejan tanto la producción (expresión, liberación o secreción desde las neuronas y otras células cerebrales) como el aclaramiento o degradación de las mismas en un momento determinado.
2. Biomarcadores de neuroimagen, que incluyen biomarcadores de imagen topográficos, como la resonancia magnética y la PET-FDG, que utiliza como trazador FDG (2-Desoxi-2-fluoro-D-glucosa), y biomarcadores de imagen fisiopatológicos, como la PET-Amiloide, que evalúa la carga y distribución cerebral del péptido amiloide y el PET-Tau, que marca la carga de degeneración neurofibrilar.

En el año 2018, la NIA-AA publicó un nuevo marco conceptual, ideado para ser aplicado en estudios de investigación en la enfermedad de Alzheimer (121), influido por el sistema de clasificación basado en biomarcadores propuesto por Jack y cols. (122), llamado sistema A/T/N, en el cual 7 biomarcadores de enfermedad de Alzheimer son 3 clases binarias (**Figura 12**):

- Clase **A** (amiloidosis): valor de un biomarcador de la placa de β -amiloide.
- Clase **T** (patología tau): valor de un biomarcador de patología tau.
- Clase **N** (neurodegeneración o daño neuronal): valor de un biomarcador cuantitativo o topográfico de neurodegeneración o daño neuronal.

Figura 12. Agrupación de marcadores bioquímicos en LCR y de imagen en función del proceso patológico reflejado por cada uno de ellos.

	A (Amiloide)	T (Tau)	N (neurodegeneración)
LCR	<p>↓ $A\beta_{42}$</p> <p>↓ Ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$</p>	<p>↑ p-Tau</p>	<p>↑ T-tau</p>
Imagen	<p>PET amiloide</p>	<p>PET Tau</p>	<p>MRI anatómico</p> <p>PET FDG</p>

64 La principal novedad de estos criterios de investigación radica en que la enfermedad de Alzheimer se define de manera estrictamente biológica, en base al perfil de biomarcadores, sin tener en cuenta el fenotipo ni el estadio clínico. Esta nueva definición supone un cambio de paradigma ya que estos criterios no se basan en el paradigma clínico-patológico que había imperado en las últimas décadas. En base a la clasificación binaria de los marcadores en cada una de las categorías A/T/N, definen los siguientes términos:

- Enfermedad de Alzheimer (*Alzheimer disease*), caracterizado por la presencia de placas de β -amiloide y depósitos patológicos de proteína tau, definidos *in vitro* por concentraciones anormales de biomarcadores A y T, condiciones ambas requeridas.
- Cambio patológico de Alzheimer (*Alzheimer's pathologic change*), que se correspondería a una etapa precoz del continuo de Alzheimer definido *in vivo* por un biomarcador anormal de A, siendo normal el biomarcador de T
- Continuo de la enfermedad de Alzheimer (*Alzheimer's continuum*), que incluye los dos grupos anteriores, y por lo tanto con un biomarcador de A anormal.

3.2.3.6 Biomarcadores en LCR

Actualmente se emplean tres biomarcadores en LCR, considerados como fisiopatológicos en la definición IGW-2 (120), para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer: $A\beta_{1-42}$, proteína Tau total (t-Tau) y proteína Tau fosforilada (p-Tau), que se corresponde con la forma fosforilada de la proteína Tau en la treonina 181.

1. $A\beta_{1-42}$ es un polipéptido de 42 aminoácidos, que, en su forma monomérica, se encuentra en concentraciones inferiores a las de los sujetos normales. Se asocia denominado se asocia al depósito amiloide cerebral en forma de placas seniles corticales.
2. T-tau se relaciona con la pérdida neuronal y la forma fosforilada (p-tau) se relaciona con la degeneración neurofibrilar cortical, están en concentración mayor a la observada en los sujetos normales.

Este patrón de $A\beta_{1-42}$ disminuido y T-tau y p-tau elevadas es característico de la enfermedad de Alzheimer y la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de esta enfermedad es mayor del 85%, tanto en el estadio de demencia como de deterioro cognitivo leve que progresará a demencia de la enfermedad de Alzheimer (123), siendo mejor el rendimiento cuando se usan de forma conjunta que de forma aislada (124).

El péptido β -amiloide ($A\beta$) se produce por proteólisis de la proteína precursora de amiloide (APP), que se expresa principalmente en neuronas, por lo que sus productos reflejan la actividad o disfunción de este tipo celular, por las enzimas β - y γ -secretasa, para generar finalmente varios fragmentos de fragmentos de diversos tamaños: $A\beta_{1-37}$, $A\beta_{1-39}$, $A\beta_{1-40}$, $A\beta_{1-42}$, $A\beta_{1-43}$. En condiciones normales el péptido $A\beta_{1-40}$ es el más abundante, seguido de $A\beta_{1-42}$, $A\beta_{1-43}$. Diversos estudios clinicopatológicos han mostrado que los niveles reducidos de $A\beta_{1-42}$ o del cociente $A\beta_{1-42}/1-40$ correlacionan con la presencia en el cerebro de depósitos de amiloide fibrilar en forma de placas amiloides y angiopatía amiloide. Así, concentraciones disminuidas en LCR de ambos correlacionan de manera inversa con la carga de amiloide cerebral medida por PET-amiloide en pacientes con enfermedad de Alzheimer (125). Dicha reducción se debería a que los niveles circulantes de $A\beta_{1-42}$ en LCR descienden a medida que se agregan, formando depósitos insolubles de amiloide en el parénquima cerebral o en la pared vascular.

Dos de las principales limitaciones de $A\beta_{1-42}$ son la variabilidad interindividual en su producción y el impacto de los factores preanalíticos (126). Dado que la concentración de $A\beta_{1-40}$ no se modifica en la enfermedad de Alzheimer, el cociente $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ normaliza la concentración de $A\beta_{1-42}$ porque su disminución traduce una reducción selectiva de $A\beta_{1-42}$ en relación a otro péptido amiloide ($A\beta_{1-40}$) y refleja de forma más precisa la presencia de amiloidosis cerebral mejor que la medición aislada de $A\beta_{1-42}$. Este cociente correlaciona mejor con las medidas de cuantificación en PET-amiloide y puede facilitar la detección de niveles bajos de $A\beta_{1-42}$ en los sujetos con elevada o baja producción de este péptido (126), evitando falsos positivos en pacientes sin enfermedad de Alzheimer ("bajos productores") y falsos negativos en pacientes con enfermedad de Alzheimer ("altos productores"). Además, el cociente $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ permite corregir parcialmente las diferencias atribuibles a factores preanalíticos (126), como el material de composición del tubo o el volumen de almacenamiento, aunque no elimina el problema por completo. La similitud en las propiedades físico-químicas de $A\beta_{1-42}$ y $A\beta_{1-40}$ hace que el uso de la aplicación del cociente $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ compense parcialmente estos factores y hace que este biomarcador sea menos sensible a cambios en el material del tubo o al volumen de llenado en comparación con la determinación aislada de $A\beta_{1-42}$.

Otra estrategia propuesta por algunos autores es el uso de los cocientes entre $A\beta_{1-42}$ y T-Tau o p-Tau, que mejorarían el rendimiento de los biomarcadores aislados. En el estudio español CORCOBIA, los cocientes $A\beta_{1-42}/T\text{-tau}$ y $A\beta_{1-42}/p\text{-TAU}$ fueron los biomarcadores con mayor capacidad para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (127).

3.2.3.7 Técnicas de medida. Interpretación de las concentraciones de los biomarcadores en LCR. Puntos de corte

Para el análisis de biomarcadores en LCR se han utilizado distintas técnicas, siendo las basadas en la reacción antígeno-anticuerpo (inmunoanálisis) las de mayor implantación.

Las primeras técnicas de inmunoensayo para el análisis de este tipo de biomarcadores se trataban de ensayos tipo ELISA, que, aunque presentaban un buen rendimiento, tenían como limitación la falta de automatización y los largos tiempos de procesamiento de muestra, que disminuían su practicabilidad y limitaban su inclusión en los catálogos de prueba de los laboratorios. Estas limitaciones han sido resueltas con la aparición de plataformas analíticas que permiten la automatización de ensayos para la medida de

estos biomarcadores basados en el principio de quimioluminiscencia, y que mejoran las prestaciones analíticas y disminuyen los tiempos de respuesta, lo que ha facilitado su implementación.

Los analizadores Lumipulse G600II y G1200 (Fujirebio) son plataformas completamente automatizadas que permiten la cuantificación de las concentraciones de $A\beta_{1-42}$, $A\beta_{1-40}$, T-Tau y p-Tau en LCR mediante inmunoanálisis de quimioluminiscencia enzimática (CLEIA). Por otro lado, también es posible la medida de $A\beta_{1-42}$, $A\beta_{1-40}$ (*Research Use Only [RUO]*), T-Tau y p-Tau mediante el ensayo Elecsys basado en electroquimioluminiscencia (ECLIA) en analizadores Cobas (Roche Diagnostics). Con el objetivo de alcanzar la intercambiabilidad de resultados entre los diferentes ensayos, desde el *Global Biomarker Standardization Consortium* de la *Alzheimer's Association* se ha desarrollado un programa de control de calidad externo y, en colaboración con la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* se elaboró un material de referencia certificado para $A\beta_{1-42}$ cuya validación se completó en 2018. Este material de referencia debería permitir a los principales fabricantes recalibrar sus reactivos con el objetivo de que todos obtuvieran medidas comparables entre sí (128). No se dispone de materiales de referencia para T-Tau y p-Tau.

Para la interpretación de los biomarcadores de enfermedad de Alzheimer en LCR se proponen los siguientes puntos de corte (Tabla 10):

Tabla 10. Puntos de corte de los biomarcadores en LCR para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

Biomarcador	Ensayo Lumipulse (Fujirebio)		Ensayo Elecsys (Roche)
	1	2	1
$A\beta_{1-42}$ (pg/mL)	599	750	1030
$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$	0,069	0,062	RUO
T-Tau (pg/mL)	404	522	300
p-Tau (pg/mL)	56,5	69,9	27
$A\beta_{1-42}/T\text{-Tau}$	1,275	1,76	–
$A\beta_{1-42}/p\text{-Tau}$	8,1	10,25	–
$T\text{-Tau}/A\beta_{1-42}$	0,78	0,57	0,28
$p\text{-Tau}/A\beta_{1-42}$	0,12	0,098	0,023

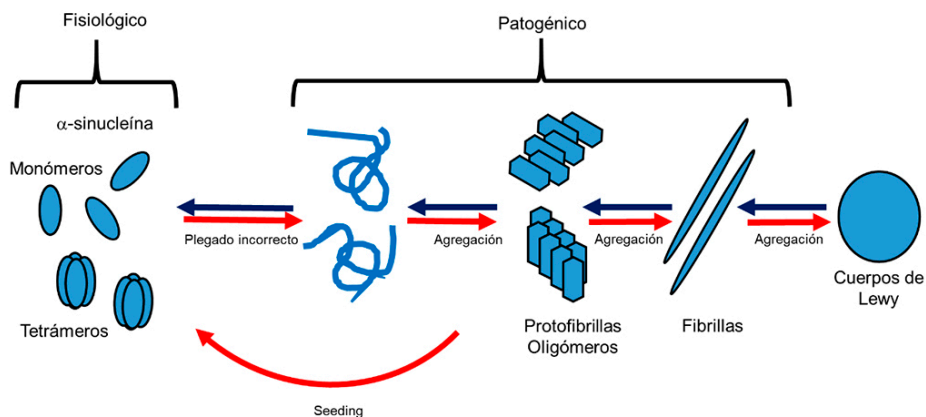
¹ Datos fabricante.

² (127).

3.2.4 Biomarcadores en LCR en la demencia con cuerpos de Lewy y enfermedad de Parkinson

Las sinucleinopatías o alfa (α)-sinucleinopatías son enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la presencia de agregados intraneuronales de la proteína alfa-sinucleína que se localizan en los cuerpos de Lewy y las neuritas de Lewy en la enfermedad de Parkinson y la demencia con cuerpos de Lewy, y en las inclusiones citoplasmáticas gliales en la atrofia multisistémica (Figura 13).

Figura 13. Aspectos patogénicos de la α -sinucleína. Adaptado de (129).



La enfermedad de Parkinson es un proceso neurodegenerativo complejo de aparición en la edad adulta y que constituye la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente por detrás de la demencia tipo Alzheimer. Su etiología es desconocida y, en términos generales, la causa subyacente sería la combinación de factores ambientales y genéticos. Su base anatomopatológica se caracteriza por la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra *pars compacta* del mesencéfalo, así como la presencia de inclusiones intracelulares llamadas cuerpos de Lewy, que están formados por agregados insolubles de la proteína α -sinucleína anormalmente plegada. El resultado de dicha neurodegeneración es la denervación dopaminérgica de las proyecciones de la sustancia negra *pars compacta* hacia el núcleo estriado, lo que condiciona una alteración en la fisiología normal de los ganglios basales que origina las principales mani-

festaciones de la enfermedad. Su prevalencia es aproximadamente de un 0,3% en la población general, llega al 2% en mayores de 60 años y es superior al 4% en mayores de 80, con una incidencia de 8-18/100.000 personas/año.

A pesar de los avances en el conocimiento de distintos aspectos de la enfermedad de Parkinson, de acuerdo con la Guía Oficial de práctica clínica en Parkinson de la SEN, del año 2016, el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson sigue siendo fundamentalmente clínico (130) y por tanto sólo se alcanza cuando la enfermedad se manifiesta, lo que ocurre años después del inicio del proceso neurodegenerativo. Además, incluso cuando los criterios diagnósticos son correctamente aplicados, la frecuencia de diagnósticos erróneos es alta debido al solapamiento en los síntomas entre distintos desórdenes parkinsonianos. Por ello, la disponibilidad de marcadores bioquímicos que puedan medirse en fluidos biológicos y permitan un diagnóstico precoz de la enfermedad de Parkinson son necesarios (131)

Dada la implicación de la α -sinucleína en la fisiopatología de la las sinucleinopatías, su medida en LCR es probablemente el biomarcador más estudiado en la enfermedad de Parkinson. Esta investigación se basa en la (129, 132):

- a. Medida de α -sinucleína total, que incluye las formas fisiológicas y patogénicas de la α -sinucleína, o de formas patogénicas, que incluyen aquellas con conformaciones aberrantes de la estructura terciaria o cuaternaria de la proteína, como la formas oligomérica, o con modificaciones postranslacionales, como la forma fosforilada.
- b. Ensayos para medir la "actividad de siembra" ("*seeding activity*"), que permiten valorar la actividad patogénica de la α -sinucleína. Evidencias emergentes sugieren que la α -sinucleína sería una proteína-prion *like*, que comparte muchas de las actividades patogénicas de la proteína priónica monomérica celular (PrPC), implicada en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Ambas tienen una propensión a agregarse, así como la capacidad de las formas patógenas mal plegadas de la proteína para inducir a las formas no patógenas de la proteína a plegarse mal y adoptar conformaciones patogénicas. Por lo tanto, la α -sinucleína patógena actuaría como una "semilla" que inicia un aumento exponencial de la α -sinucleína mal plegada y agregada. La medida de esta actividad se realiza mediante técnicas de amplificación conocidas como "*Seed*

amplification assays (SAA)" (amplificación de semillas), que incluye técnicas como la "amplificación cíclica de proteínas mal plegadas" ("*protein misfolding cyclic amplification assay (PMCA)*" la conversión inducida por temblores en tiempo real ("*real-time quaking-induced conversion assay*" (RT-QuIC)" (133). Este tipo de técnica permite la detección de cantidades mínimas de α -sinucleína mal plegada en LCR y otras matrices biológicas en pacientes con enfermedad de Parkinson y otras α -sinucleopatías, pudiendo diferenciar pacientes con enfermedad de Parkinson y demencia de Cuerpos de Lewy de sujetos control, incluso en las fases prodrómicas de la enfermedad; además, en el diagnóstico diferencial, las técnicas de SAA diferencian de forma satisfactoria entre para α -sinucleína constituye una herramienta prometedora enfermedad de Parkinson, demencia de cuerpos de Lewy y atrofia multisistémica de otros parkinsonismos no-sinucleopatías, aunque su capacidad para diferenciar entre las distintas formas de α -sinucleinopatías y con cotaupatías, lo cual sería un requerimiento esencial para el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson, es discutido (129). Frente a estos datos, que muestran a la actividad de α -sinucleína detectada mediante esta tecnología como la herramienta más prometedora para el diagnóstico de las α -sinucleinopatías, es necesario resolver aspectos relacionados con la preanalítica y estandarización de la misma (133). Además, pocos de los estudios son lo suficientemente exhaustivos como para proporcionar resultados concluyentes. Por lo general, las cohortes de dichos estudios son relativamente pequeñas y heterogéneas, y los procedimientos analíticos no están estandarizados (134).

Finalmente, y con respecto a otros biomarcadores, también relacionados con la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson, estudios evaluando marcadores de amiloidosis y taupatía, NfL, enzimas lisosomales y marcadores de neuroinflamación, han reportado resultados prometedores como biomarcadores candidatos para el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad (135).

3.2.5 Biomarcadores en LCR para el diagnóstico de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Las encefalopatías espongiformes transmisibles, denominadas enfermedades priónicas o prionopatías, constituyen un grupo raro de enfermedades neu-

rodegenerativas de progresión rápida causadas por la conversión de la isoforma normal de la proteína priónica monomérica celular (PrPC) en multímeros con conformación alterada y anormalmente plegados, denominados colectivamente proteína priónica *scrapie* (PrPSc). La forma no patogénica PrPC, glicoproteína codificada por el gen de la proteína priónica (PRNP) del brazo corto del cromosoma 20 cuyo polimorfismo marcara el tipo de enfermedad priónica, se encuentra de forma constitutiva en la superficie de muchas células, particularmente en las neuronas del SNC. Su función no es completamente conocida, aunque se cree que participa en la sinapsis y en la supervivencia celular (136). Por otro lado, la isoforma patológica PrPSc tiene tendencia a la agregación extracelular, formando fibrillas y placas amiloides que se depositan y se acumulan sobre todo en el cerebro, produciendo afectación de la sustancia gris con muerte neuronal, gliosis y cambios espongiiformes (137).

En función de su vía patogénica, las prionopatías se clasifican en espontáneas, hereditarias o adquiridas. En la actualidad, en humanos, se incluyen en este tipo de enfermedad (138):

- La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, que incluye 4 formas de presentación: clásica o esporádica, que es la forma más común de esta enfermedad (~ 90% de los casos), iatrogénica, genética y variante o enfermedad de las vacas locas.
- El insomnio familiar fatal.
- El síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker.
- El Kuru.

El diagnóstico de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob supone un reto dada la heterogeneidad de síntomas que pueden aparecer y que se superponen, especialmente en los primeros estadios de la enfermedad, con otros cuadros de demencias rápidamente progresivas. Aunque la confirmación del diagnóstico requiere de la autopsia o del estudio anatomopatológico de una biopsia cerebral (139), la medida de biomarcadores en LCR pueden ser útiles para orientar el diagnóstico hacia una enfermedad de Creutzfeldt-Jakob probable o posible (140). Estos biomarcadores pueden clasificarse en (141):

1. Ensayo RT-QuIC, que aumenta la certeza diagnóstica de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Este ensayo se basa en la amplificación de la

forma PrPSc presente en el LCR y se considera la prueba de referencia *ante mortem*. Presenta un alto rendimiento, con sensibilidad y especificidad cercanas al 100%. Sin embargo, por los requerimientos en cuanto a disponibilidad de recursos y bioseguridad, se trata de una prueba relegada a laboratorios de referencia, que realizarán esta prueba como confirmación de los resultados de los biomarcadores subrogados.

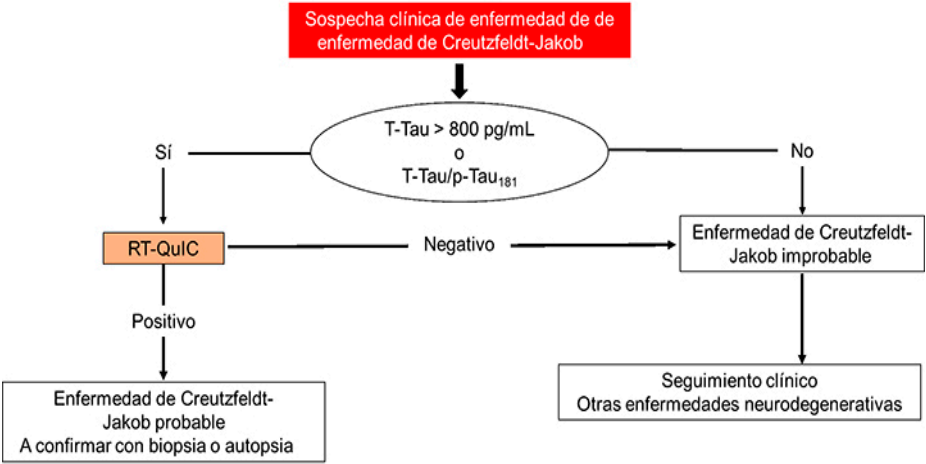
2. Marcadores subrogados, no implicados en la patogénesis de la enfermedad, como la proteína 14-3-3, incluida por la OMS en 1998 en los criterios diagnósticos sospecha de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (142). Esta proteína se libera en el LCR como resultado del daño neuronal y es por tanto un marcador de cambios degenerativos cuya concentración también aumenta en otros trastornos neurológicos, como la encefalitis herpética, la enfermedad de Alzheimer EA y la degeneración frontotemporal (138).

Una de las principales limitaciones de esta prueba es la metodología para su medida, que puede realizarse mediante separación electroforética en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y detección por Western blot con anticuerpos anti 14-3-3 o mediante ELISA. La primera es una técnica manual, de difícil interpretación en algunas ocasiones y con una baja reproducibilidad. Además, su sensibilidad disminuye en determinados subtipos de la enfermedad, por lo que un resultado negativo no descarta la enfermedad; por el contrario, un resultado positivo, en el contexto adecuado y descartando posibles interferencias como la presencia de hematíes por contaminación del LCR, es sugestivo de enfermedad priónica. Respecto a la técnica de ELISA, basada en el reconocimiento de la isoforma gamma de la proteína 14-3-3 y que proporciona un dato cuantitativo, el rendimiento es superior al Western blot, aunque variable en función del punto de corte seleccionado, pero apenas se han desarrollado equipos comerciales para su medición, limitando su inclusión en los catálogos de pruebas de los laboratorios (138).

Existen también otros marcadores subrogados, entre los que destaca la determinación de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada, que refleja el rápido proceso de degeneración axonal que caracteriza a la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, lo que conduce a una liberación excesiva de la proteína, pero que no se acompaña con el grado de fosforilación. Estas magnitudes presentan como ventaja principal la disponibilidad de su

medida ya en muchos laboratorios mediante inmunoanálisis en plataformas automatizadas; además, a diferencia de la proteína 14-3-3, la proteína tau aumenta al inicio de los signos clínicos (143). Un estudio español reciente ha demostrado que la medida en LCR de proteína tau total y de la ratio con su fracción fosforilada presenta una mayor sensibilidad, superior al 90%, y similar especificidad que la medida cualitativa mediante electroforesis de la proteína 14-3-3 (141). En base a sus resultados, Nafría Jiménez y cols. proponen el algoritmo de la **Figura 14** ante una sospecha de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (141). Nuevos estudios permitirán confirmar estos resultados, valorar la utilidad de su medida en otras plataformas analíticas y establecer puntos de corte consensuados para su aplicación en la práctica clínica

Figura 14. Algoritmo para el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob basado en los biomarcadores subrogados tau total y la ratio con su fracción fosforilada, seguidos de RT-QuIC. Tomada de (141) con autorización.



3.2.6 Biomarcadores en LCR y enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington es un trastorno neurodegenerativo, con herencia autosómica dominante, que se caracteriza por presentar movimientos coreicos involuntarios, trastornos conductuales, psiquiátricos y demencia. Esta enfermedad está causada por una expansión de repeticiones CAG en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16.3) en el gen huntingtina, lo que

resulta en una proteína de huntingtina mutante (mHTT). Recientes evidencias demuestran que las concentraciones de mHTT y NfL en LCR correlacionan con la gravedad de la enfermedad de Huntington (144).

3.2.7 Otras

3.2.7.1 Aminoácidos

La difusión pasiva, los transportadores facilitadores y diferentes transportadores Na^+ -dependientes contribuyen a la homeostasia de los aminoácidos, aseguran el acceso de los aminoácidos esenciales al SNC, así como una concentración de estos en el fluido extracelular de alrededor del 10% respecto a la del plasma (145).

En el LCR, la concentración de los aminoácidos es inferior a la del plasma, con algunas excepciones como es el caso de la glutamina, y está sujeta a variaciones poco importantes dependiendo de la edad y el sexo (146), circunstancias fisiológicas (aumento postprandial) y la interacción con algunos fármacos como los antiepilépticos (147). El estudio de LCR es poco empleado para el estudio de los aminoácidos, siendo habitualmente de más utilidad la sangre o la orina. Se recomienda el estudio del LCR para el diagnóstico de las deficiencias de asparragina y glutamina sintetasa, enfermedades relacionadas con la deficiencia de serina, y la encefalopatía por glicina o hiperglicinemia no cetósica (148).

3.2.7.2 Neurotransmisores (NT)

Los NT son moléculas que actúan como mensajeros químicos que transportan información entre las neuronas del SNC y periférico (149). En función de su estructura química pueden clasificarse en tres grupos (150):

1. **Aminoácidos:** glicina, glutamato, ácido γ -aminobutírico (GABA), monoaminas o aminas biógenas (dopamina, serotonina, epinefrina, norepinefrina).
2. **Neuropéptidos:** como oxitocina, vasopresina, sustancia P, péptido vasoactivo intestinal (VIP), galanina y otros muchos.
3. **NT atípicos:** factores neurotróficos, citoquinas, monóxido de carbono, óxido nítrico, purinas (adenosina, adenosina trifosfato) y opioides y cannabinoides endógenos, entre otros.

La principal utilidad del estudio de NT en LCR se centra en el diagnóstico de alteraciones del metabolismo y del transporte de las aminas biógenas, así como la encefalopatía por glicina y trastornos metabólicos que cursan con deficiencia de serina y de folato.

El estudio de los NT en LCR de niños con clínica neurológica ha puesto de manifiesto que otras enfermedades neurodegenerativas y adquiridas del SNC también pueden asociarse a alteraciones secundarias en los niveles de NT en LCR (151).

En el año 2013 se constituyó el *International Working Group on Neurotransmitter Related Disorders* (<https://intd-online.org/>), formado por clínicos e investigadores y que tiene como objetivo principal el estudio en red de estas enfermedades y el desarrollo de guías de consenso para su diagnóstico y tratamiento (152).

4 El laboratorio en el diagnóstico del síndrome neurológico paraneoplásico

Los síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNP) son un conjunto de trastornos del sistema nervioso que pueden afectar a cualquier parte del SNC o periférico de forma localizada o difusa, que están relacionados con la presencia de una neoplasia, que no obedecen a invasión directa por el tumor, metástasis del mismo, trastornos metabólicos ni nutricionales, infecciones oportunistas, ni son consecuencia del tratamiento del cáncer y cuya fisiopatología responde a mecanismos inmunológicos.

La revisión del año 2021 que actualiza los criterios para el diagnóstico del SNP (153) define estos como desórdenes neurológicos que (1) pueden afectar a cualquier parte del sistema nervioso, a menudo con una presentación clínica característica; (2) ocurre en asociación con cáncer; y (3) tiene una patogénesis inmunomediada, que es apoyada por la presencia de anticuerpos antineuronales específicos.

Los SNP se desarrollan en aproximadamente 1 de cada 300 pacientes con cáncer y su incidencia es varía de 1,6 a 8,9 casos por millón de personas-año, aunque probablemente se trate de una entidad infradiagnosticada. Es probable que el uso de los denominados *immune check point inhibitors* en el tratamiento del cáncer incrementará la frecuencia de los SNP (154). Su importancia es doble: a) habitualmente preceden al diagnóstico de cáncer, por lo que su detección puede servir como alarma para la búsqueda de una

neoplasia oculta, que podrá en ocasiones ser detectado en estadios precoces; y b) producen una discapacidad grave.

4.1 *Fisiopatología del síndrome neurológico paraneoplásico .
Clasificación*

La fisiopatología del SNP no ha sido todavía completamente establecida (155). Se piensa que estos desórdenes se producirían en el contexto de una respuesta inmune con producción de anticuerpos dirigidos contra antígenos expresados en las células del tumor asociado y en el sistema nervioso del huésped. Estos anticuerpos serían de dos tipos: a) anticuerpos que se unen a antígenos intracelulares, frecuentemente asociados a cáncer (anticuerpos onconeuronales “clásicos”); y b) anticuerpos que se unen a antígenos de la superficie celular, asociados con menor frecuencia a cáncer (Tabla 11).

Tabla 11. Características clínicas asociadas a anticuerpos dirigidos frente a antígenos intracelulares vs. antígenos de membrana celular. Adaptada de (155).

SNP asociados a anticuerpos dirigidos frente a antígenos intracelulares	SNP asociados a anticuerpos dirigidos frente a antígenos de membrana celular
Frecuentemente se presentan como fenotipos de alto riesgo	Frecuentemente se presentan como fenotipos de riesgo intermedio
Raramente ocurren en pacientes sin cáncer	Pueden aparecer en pacientes sin cáncer
Fisiopatología mediada por la activación de linfocitos T	Fisiopatología mediada por la activación de linfocitos B y producción de anticuerpos
Enfermedad sin recurrencias con mejora limitada de los síntomas	Enfermedad con recurrencias frecuentes con mejoría o resolución de los síntomas

En base a esta clasificación de los anticuerpos, los SNP se dividían en 2 grupos (156):

- Mediados por inmunidad celular (anticuerpos frente a antígenos intracelulares): incluye a los SNP clásicos, asociados a diferentes tipos de tumores y con un peor pronóstico, siendo la inmunoterapia y corticoides tratamientos poco eficaces.

- Mediados por mecanismos de inmunidad humoral (anticuerpos frente a antígenos de superficie), que incluyen síndromes de la unión neuromuscular. En este tipo de SNP, el pronóstico es bueno con inmunoterapia, corticoides y plasmaféresis.

Sin embargo, la actualización 2021 (153) propone una clasificación en la que el concepto de SNP clásico es sustituido por el de “fenotipos de alto riesgo”, en el que el cáncer representa un importante factor desencadenante, por lo que su reconocimiento clínico debería conducir a la búsqueda de aquel. Dicha actualización también introduce la categoría de “fenotipos de riesgo intermedio”, que pueden ocurrir con o sin cáncer; el reconocimiento de este fenotipo, que debe sospecharse ante un inicio de la enfermedad rápidamente progresivo (<3 meses) o la presencia de hallazgos de inflamación en LCR o en técnicas de imagen, debe plantear la existencia de un SNP, especialmente en ausencia de una explicación alternativa, y la medida de anticuerpos antineuronales. Así, la nueva clasificación de los SNP y las patologías que incluye cada categoría se recogen en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Clasificación de los SNP. Adaptada de (153, 157).

Fenotipos de alto riesgo Encefalitis límbica Encefalomiелitis Síndrome cerebeloso rápidamente progresivo Neuropatía sensorial subaguda Síndrome opsoclonus mioclonus Neuropatía entérica Síndrome miasténico de Lambert-Eaton
Fenotipos de riesgo intermedio Encefalitis extralímbica Encefalitis del troncoencefálico Encefalitis por anticuerpos contra el receptor de NMDA (NMDAR) Síndrome de Morvan Mielopatía aislada Síndrome de la persona rígida Polirradiculoneuropatía paraneoplásica
Otros Neuromiotonía adquirida (síndrome de Isaac) Neuropatía autónoma autoinmune Miastenia gravis Miotpatía autoinmune necrotizante

Abreviaturas: NMDAR: receptor del N-metil-D-aspartato.

Además, la actualización de 2021 propone sustituir el concepto de anticuerpos onconeuronales “clásicos” y clasificar a los anticuerpos antineuronales en función de la frecuencia de asociación con el cáncer, con independencia de su relación con la patogenicidad de la enfermedad:

1. El primer grupo incluye anticuerpos que ocurren muy frecuentemente (>70%) en pacientes con un cáncer subyacente. En la clasificación de 2004, estos anticuerpos se denominaban onconeuronales para subrayar la asociación entre cáncer y sistema nervioso. Sin embargo, ahora parece claro que algunos de estos anticuerpos se asocian con menor frecuencia al cáncer (anticuerpos frente al receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico [AMPA] y al receptor del N-metil-D-aspartato [NMDAR]) y los antígenos son expresados tanto por el sistema nervioso como por la neoplasia. Por otro lado, alguno de los antígenos de los anticuerpos onconeuronales “clásicos” (Te/DNER) no se expresan en el tumor asociado (linfoma de Hodgking). Por esta razón, se propuso sustituir el concepto de anticuerpo onconeuronal, que implica de forma obligatoria la expresión del antígeno por el sistema nervioso y el tumor, por el de anticuerpos de alto riesgo, la mayoría de los cuales están dirigidos frente a antígenos intracelulares (**Tabla 13**).
2. El segundo grupo incluiría anticuerpos que ocurren en asociación con el cáncer en el 30-70% de los casos (**Tabla 13**).
3. El tercer grupo de anticuerpos tiene una menor (<30%) o ausente asociación con cáncer (**Tabla 13**).

Los tumores más frecuentemente asociados con SNP son los carcinomas de pulmón microcítico y no microcítico, mama, ovario y linfomas (**Tabla 14**).

Tabla 13. Anticuerpos antineuronales asociados con SNP. Adaptado (153, 155, 158).

Anticuerpo	Antígeno	Localización del antígeno	SNP	Frecuencia de cáncer	Tumores asociados
Anticuerpos de alto riesgo (asociación con cáncer >70%)					
Anti-Hu (ANNA-1)	HuD	Intracelular	Encefalomielitis/neuropatía sensorial	85%	Carcinoma microcítico y no microcítico de pulmón, otros tumores neuroendocrinos, neuroblastoma
Anti-CV2 (CRMP5)	CRMP5	Intracelular	Encefalomielitis/neuropatía motora sensitiva	>80%	Carcinoma microcítico de pulmón y timoma
Anti-SOX1	SOX1	Intracelular	Degeneración cerebelosa paraneoplásica, síndrome de Lambert-Eaton	>90%	Carcinoma microcítico de pulmón
Anti-PCA2 (MAP1B)	MAPB1	Intracelular	Encefalomielitis, poliradiculoneuropatías	80%	Carcinoma microcítico y no microcítico de pulmón, cáncer de mama
Anti-Antifisina	Antifisina	Intracelular/ Superficie celular	Síndrome de la persona rígida y encefalomielitis/neuropatía sensorial	80%	Carcinoma microcítico de pulmón, cáncer de mama
Anti-Ri (ANNA-2)	NOVA 1, 2	Intracelular	Opsoclonus y encefalitis del tronco encefálico	>70%	Cáncer de mama, carcinoma microcítico y no microcítico de pulmón
Anti-Yo (PCA-1)	CDR2L	Intracelular	Degeneración cerebelosa paraneoplásica	>90%	Cáncer de ovario y de mama
Anti-Ma/ Ma2	Ma1 y Ma2	Intracelular	Encefalitis límbica y encefalitis del tronco encefálico	>75%	Cáncer de testículo y carcinoma de pulmón no microcítico

Anticuerpo	Antígeno	Localización del antígeno	SNP	Frecuencia de cáncer	Tumores asociados
Anti-Tr (DNER)	DNER	Intracelular	Degeneración cerebelosa paraneoplásica	90%	Linfoma de Hodgking
Anti-KLHL-11	KLHL-11	Intracelular	Síndrome cerebeloso y encefalitis del troncoencefálico	80%	Cáncer de testículo
Anticuerpos de riesgo intermedio (30-70%)					
Anti-AMPA	Subunidades GluA1/A2 del AMPAR	Superficie celular	Encefalitis límbica	>50%	Timoma maligno y carcinoma de pulmón microcítico
Anti-GABA _B R	Subunidad B1 del receptor de GABA tipo b	Superficie celular	Encefalitis límbica	>50%	Carcinoma de pulmón microcítico
Anti-mGluR5	mGluR5	Superficie celular e intracelular	Encefalitis	~50%	Linfoma de Hodgking
Anti-CASPR2	CASPR2	Superficie celular	Síndrome de Morvan ^a	50%	Timoma maligno
Anti-NMDAR	Subunidad GluN1 de NMDAR	Superficie celular	Encefalitis anti-NMDAR	38%	Teratoma de ovario
Anti-VGCC	VGCC tipo P/Q	Superficie celular	Síndrome cerebeloso rápidamente progresivo, síndrome de Lambert-Eaton	50% ^b	Carcinoma microcítico de pulmón
Anticuerpos de bajo riesgo (asociación con cáncer <30%)					
Anti-mGluR1	mGluR1	Superficie celular	Ataxia cerebelosa	30%	Neoplasias hematológicas
Anti-GABA _A αR	Receptor GABA tipo A	Superficie celular	Encefalitis	<30%	Timoma maligno

Anticuerpo	Antígeno	Localización del antígeno	SNP	Frecuencia de cáncer	Tumores asociados
Anti-CASPR2	CASPR2	Superficie celular	Encefalitis límbica, neuromiotonía adquirida y síndrome de Morvan	<30% ^c	Timoma maligno
Anti-GAD65	GAD65	Superficie celular	Encefalitis límbica, síndrome de la persona rígida y ataxia cerebelosa	<15%	Carcinoma microcítico de pulmón, tumores neuroendocrinos y timoma maligno
Anti-LGI1	LGI1	Superficie celular	Encefalitis límbica	<10%	Timoma maligno y tumores neuroendocrinos
Anti-DPPX	DPPX	Superficie celular	Encefalitis con hiperactividad del SNC, encefalomielitis progresiva con rigidez y mioclonos	<10%	Linfomas de células B
Anti-GlyR	GlyR	Superficie celular	Encefalitis límbica, encefalomielitis progresiva con rigidez y mioclonos	<10%	Timoma maligno y linfoma de Hodgking
Anti-AQP4	AQP4	Superficie celular	Neuromielitis óptica	<5%	Adenocarcinomas
Anti-MOG	MOG	Superficie celular	Enfermedad asociada a anticuerpos MOG	Raro	Teratoma ovárico

^a CASPR-2 sólo es considerado como un anticuerpo de riesgo intermedio cuando está asociado a síndrome de Morvan. Asociado a otros síndromes neurológicos el riesgo de cáncer es muy bajo

^b Hasta 90% en síndrome cerebeloso

^c El síndrome de Morvan está más asociado (~50%) con timoma maligno. La encefalitis límbica es casi siempre no paraneoplásica.

Abreviaturas: ANNA: anticuerpo antinuclear neuronal; AMPAR: receptor del **ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico**; AQP4: acuaporina 4; CASPR2: proteína asociada a contactina-2; CRMP-5: *collapsin response-mediator protein 5*; DNER: *delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor*; DPPX: *dipeptidyl-peptidase-like protein 6*; GABA (a/b)R: receptor del **ácido gamma-aminobutírico**; GAD65: isoforma 65 de la glutamato descarboxilasa; GlyR: receptor de glicina; KHL11: *Kelch-like protein 11*; LGI1: proteína 1 inactivada del glioma rica en leucina; MAP1B: *microtubule-associated protein 1B*; mGluR1: receptor metabotrópico del ácido glutámico subtipo 1; mGluR5: receptor metabotrópico del ácido glutámico subtipo 5; MOG: glicoproteína del oligodendrocito asociado a la mielina; NMDAR: receptor del N-metil-D-aspartato; VGCC: canales de calcio dependientes de voltaje.

Tabla 14. SNP y tumores más frecuentes. Adaptado de (158).

SNP	Tumores asociados (anticuerpos)
Fenotipo de alto riesgo (SNP clásico)	
Encefalomielitis	Carcinoma microcítico de pulmón (Hu, CV2) y testículo (Ma2)
Encefalitis límbica	Carcinoma microcítico de pulmón (Hu, GABAbR), testículo (Ma2) y linfoma de Hodgking (mGluR5)
Ataxia cerebelosa subaguda	Cancer de mama (Yo), ovario (Yo), microcítico de pulmón (P/Q tipo VGCC, SOX1) y linfoma de Hodgking (Tr). Aproximadamente el 30% de los casos con carcinoma de pulmón microcítico son seronegativos
Opsoclonus-mycoclonus	Neuroblastoma (ninguno), teratoma de ovario (ninguno), mama (Ri) y carcinoma microcítico de pulmón (ninguno)
Neuropatía sensorial	Carcinoma microcítico de pulmón (Hu)
Neuropatía entérica	Carcinoma microcítico de pulmón (Hu)
Síndrome miasténico de Lambert-Eaton	Carcinoma microcítico de pulmón (VGCC tipo P/Q). SOX1 presentes en el 60% de los casos de síndrome de Lamber-Eaton y carcinoma microcítico de pulmón
Fenotipo de riesgo intermedio	
Encefalitis no límbica	Carcinoma microcítico de pulmón (GABA bR, AMPAR), timoma (GABAaR, AMPAR), linfoma de Hodgking (mGluR5) y teratoma de ovario (NMDAR)
Síndrome de Morvan	Timoma (CASPR2)
Encefalitis del troncoencefálico	Cáncer de testículo (Ma2, KLHL11), carcinoma microcítico de pulmón (Hu) y cáncer de mama (Ri)
Síndrome de la persona rígida	Mama (anfifisina)
Mielopatías	Carcinoma microcítico de pulmón (anfifisina, CV2)
Polineuropatías	Carcinoma microcítico de pulmón (CV2, PCA2)

Abreviaturas: GABA (a/b)R: receptor del ácido gamma-aminobutírico; mGluR5: receptor metabotrópico del ácido glutámico subtipo 5; VGCC: canales de calcio dependientes de voltaje; AMPAR: receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico; NMDAR: receptor del N-metil-D-aspartato; CASPR2: proteína asociada a contactina-2; KLHL11: *Kelch-like protein 11*.

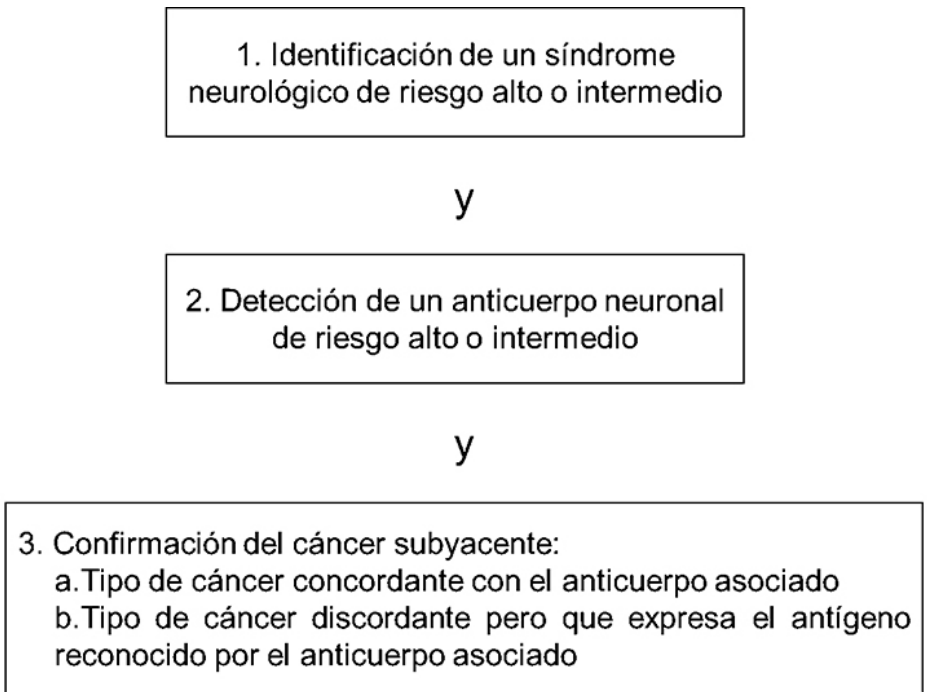
4.2 Criterios para el diagnóstico del síndrome neurológico paraneoplásico

La nueva clasificación de los anticuerpos antineuronales es el origen de los nuevos criterios en la actualización 2021 del diagnóstico del SNP, que incorporan los anticuerpos dirigidos frente a los antígenos de la superficie neuronal que se asocian con cáncer, definidos como de riesgo intermedio,

y redefinen los SNP como de alto riesgo, anteriormente definidos como clásicos, y riesgo intermedio. Además, en dicha actualización se consideró que un diagnóstico de SNP no podía ser establecido cuando hubiera una coincidencia temporal del trastorno neurológico y el diagnóstico de cáncer o por la simple presencia de un anticuerpo neuronal en ausencia de cáncer. De acuerdo a la actualización de 2021 (153), el diagnóstico de SNP requiere las siguientes condiciones (**Figura 15**):

1. La identificación de un síndrome neurológico de riesgo alto o intermedio
- y
2. La presencia de anticuerpos de riesgo alto o intermedio y
3. El tipo de cáncer esperado por el anticuerpo asociado que se detecte o alternativamente el cáncer debe expresar el antígeno identificado por el anticuerpo.

Figura 15. Criterios para el diagnóstico definitivo de SNP. Los tres criterios se deben cumplir. Adaptada de (158).



4.3 *Determinación de anticuerpos antineuronales*

Los únicos anticuerpos antineuronales que tienen valor clínico son los de tipo IgG y pueden ser determinados en suero y LCR. En su análisis, es importante determinar por dos métodos los resultados positivos.

4.3.1 Anticuerpos onconeuronales clásicos

En el caso de los denominados anticuerpos neuronales clásicos, la técnica de detección de cribado es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), seguida de un inmunoblot de antígenos purificados recombinantes, que permitirá establecer la especificidad antigénica concreta (159); así, un resultado positivo necesitará confirmarse mediante otro método. Los sustratos utilizados en la IFI (50, 51) son cerebelo, cerebro y nervio periférico de primate o rata (159). En muestras de suero las titulaciones indicadas para la IFI son 1/10, 1/40 y 1/100, utilizando el LCR sin diluir (159). En la actualidad, existen inmunoblots comerciales para la detección de la mayoría de estos anticuerpos (anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri, anti-Ma/Ma2, anti-anfifisina, anti-MAP1B, anti-CRMP5 y anti-Tr). Para su estudio, normalmente se utilizan muestras de suero (con excepción de los anticuerpos anti-Tr); no obstante, si la sospecha clínica es alta, ante resultados séricos negativos, deberían determinarse también en LCR (160, 161).

4.3.2 Anticuerpos antineuronales dirigidos a antígenos de superficie

Los anticuerpos neuronales de superficie reconocen sus antígenos diana si se expresan en su conformación nativa. Por ello, las técnicas empleadas en su estudio han de cumplir esa condición y entre ellas se encuentran la inmunohistoquímica, IFI y los ensayos basados en células transfectadas. Los anticuerpos antineuronales de superficie se detectan mejor en LCR al estar más concentrados, pero con el empleo conjunto de LCR y suero aumenta la sensibilidad y la especificidad. Se emplea muestra de LCR sin diluir y muestra de suero a dilución 1:10 (162-163).

Para el estudio de los anticuerpos neuronales de superficie se recomienda el empleo de un método de cribado (inmunohistoquímica o IFI), seguido de un método de confirmación mediante el empleo de ensayos con células transfectadas. El estudio de cribado mediante IFI emplea tejidos de hipocampo y cerebelo de roedor observándose la tinción obtenida en el corte de hipocam-

po y en las capas del cerebelo al microscopio de fluorescencia. El estudio de confirmación del anticuerpo se realiza también por IFI, pero empleando células transfectadas para cada una de las especificidades antigénicas. En este caso, el patrón es positivo cuando hay una tinción granular fina del citoplasma de un porcentaje de las células transfectadas, y no de todas, ya que no todas las células transfectadas expresan el antígeno (tasa de expresión del antígeno entre el 10-50% dependiendo del tipo de antígeno) (162-164).

4.4 *Recomendaciones para la determinación de anticuerpos antineuronales*

De acuerdo a los criterios 2021 para el diagnóstico del SNP (153):

- a. La determinación de anticuerpos debe realizarse en suero y LCR, especialmente en la búsqueda de anticuerpos contra antígenos de superficie.
- b. La medida de IgA e IgM carece de utilidad diagnóstica. En el diagnóstico del SNP, sólo el isotipo G tiene valor diagnóstico.
- c. Un resultado negativo para anticuerpos contra antígeno de superficie en positivo en suero, pero negativo en LCR, debería ser reevaluado en un laboratorio de referencia, especialmente ante sospecha de fenotipos de riesgo alto o intermedio.
- d. Los resultados positivos en blots comerciales o ensayos basados en células deben ser confirmados mediante inmunohistoquímica en tejido nervioso, especialmente si sólo se realiza la determinación en suero, el título de anticuerpos es bajo y/o el resultado es discordante con los datos clínicos.
- e. Evaluar de forma crítica y cuidadosa los resultados positivos en paneles de anticuerpos que son incongruentes con el fenotipo neurológico y/o tumor asociado.
- f. El suero y LCR de pacientes con alta sospecha de SNP, pero con determinación negativa de anticuerpos, deberían ser reevaluados en laboratorios de referencia.

Referencias

1. Reguera R. Interpretación del líquido cefalorraquídeo. *Anales de Pediatría Continuada*. 2014;12:30-3.

- 2 Pérez-Neri I, Aguirre-Espinosa AC. Dinámica del líquido cefalorraquídeo y barrera hematoencefálica. *Arch Neurocién (Mex)*. 2015;20:60-4.
- 3 Guillén E, Buño A, Díaz R, Galán A, Guevara P, Malumbres S, et al. Recomendaciones para el estudio del líquido cefalorraquídeo. Comisión de Magnitudes biológicas relacionadas con la Urgencia médica. Documentos de la SEQC 2010, pp. 12-16.
- 4 Valcárcel Piedra G, Guillén Campuzano E, Altimira Qeral L, Galán Ortega A, Hernando Holgado A, Navarro Segarra X, et al. Identificación de líquidos biológicos de origen desconocido. *Rev Lab Clin*. 2018;11:209-16.
- 5 Czarniak N, Kamińska J, Matowicka-Karna J, Koper-Lenkiewicz OM. Cerebrospinal Fluid-Basic Concepts Review. *Biomedicines*. 2023;11:1461. doi: 10.3390/biomedicines11051461.
- 6 McPherson R, Pincus M. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods E-Book*. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2016.
- 7 Valdecabres Ortiz C, Gella Concustell A, Castillo Pérez C, Pérez Surribas D, Martínez Brú C, Llopart Alabern I. Recomendaciones para el estudio de las proteínas del líquido cefalorraquídeo. Comisión de Proteínas. Documentos de la SEQC 2015, pp. 57-67.
- 8 García de Gadiana Romualdo L, Oliver Sáez P, Merino González A, Valcárcel Piedra G, Guillén Campuzano E, Arellano Rodrigo E, et al. Magnitudes biológicas que tiene interés medir de modo urgente. *Rev Lab Clin*. 2017;10:31-43.
- 9 The Lancet Neurology. A wake-up call to improve care for patients with meningitis. *Lancet Neurol*. 2018;17:731. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30289-8. PMID: 30129467.
- 10 Prasad MK, Kumar A, Nalini N, Kumar P, Mishra B, Lata D, et al. Diagnostic Accuracy of Cerebrospinal Fluid (CSF) Adenosine Deaminase (ADA) for Tuberculous Meningitis (TBM) in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus*. 2023;15:e39896. doi: 10.7759/cureus.39896.
- 11 Scarpino M, Lanzo G, Lolli F, Grippo A. From the diagnosis to the therapeutic management: cerebral fat embolism, a clinical challenge. *Int J Gen Med*. 2019;12:39-48. doi: 10.2147/IJGM.S177407.
- 12 Julián-Jiménez A, Morales-Casado MI. Usefulness of blood and cerebrospinal fluid laboratory testing to predict bacterial meningitis in the

- emergency department. *Neurologia (Engl Ed)*. 2019;34:105-13. doi:10.1016/j.nrleng.2018.05.005.
- 13 Betancourt Loza M, Peña Sánchez M, Menéndez Sainz MC, Fernández Almiral I, González Quevedo Monteagudo A. Rango normal de proteínas totales en líquido cefalorraquídeo según grupos etarios y sexo. *Revista Cubana de Neurología y Neurocirugía*. 2020;10:e383.
 - 14 Kahlmann V, Roodbol J, van Leeuwen N, Ramakers CRB, van Pelt D, Neuteboom RF, et al. Validated age-specific reference values for CSF total protein levels in children. *Eur J Paediatr Neurol*. 2017;21:654-60. doi: 10.1016/j.ejpn.2017.03.006.
 - 15 Castellazzi M, Pizzicotti S, Lombardo I, Alfiero S, Morotti A, Pellegatti P, et al. Sexual dimorphism in the cerebrospinal fluid total protein content. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58:1885-90. doi: 10.1515/cclm-2020-0419.
 - 16 McCudden CR, Brooks J, Figurado P, Bourque PR. Cerebrospinal Fluid Total Protein Reference Intervals Derived from 20 Years of Patient Data. *Clin Chem*. 2017;63:1856-1865. doi: 10.1373/clinchem.2017.278267.
 - 17 Alnomasy SF, Alotaibi BS, Mujamammi AH, Hassan EA, Ali ME. Microbial aspects and potential markers for differentiation between bacterial and viral meningitis among adult patients. *PLoS One*. 2021;16:e0251518. doi: 10.1371/journal.pone.0251518.
 - 18 Téllez González C, Reyes Domínguez S, Sanchíz Cárdenas S, Collado Caparrós JF. Meningitis bacteriana aguda. *Protoc diagn ter pediatr*. 2021;1:611-25.
 - 19 Carazo Gallego B, Cardelo Autero N, Moreno Pérez D. Meningitis. Absceso cerebral. Encefalitis aguda. *Protoc diagn ter pediatr*. 2023;2:309-18.
 - 20 de Almeida SM, Kussen GB, Cogo LL, Nogueira K. Cerebrospinal fluid lactate as a predictive biomarker for tuberculous meningitis diagnosis. *Diagnosis (Berl)*. 2022;10:130-9. doi: 10.1515/dx-2022-0102.
 - 21 Komorowski RA, Farmer SG, Hanson GA, Hause LL. Cerebrospinal fluid lactic acid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol*. 1978;18:89-92. doi: 10.1128/jcm.18.1.89-92.1978.
 - 22 Body BA, Oneson RH, Herold DA. Use of cerebrospinal fluid lactic acid concentration in the diagnosis of fungal meningitis. *Ann Clin Lab Sci*. 1987;17:429-34.

- 23 van Doorn PA, Van den Bergh PYK, Hadden RDM, Avau B, Vankrunkelsven P, Attarian S, et al. European Academy of Neurology/Peripheral Nerve Society Guideline on diagnosis and treatment of Guillain-Barré syndrome. *Eur J Neurol*. 2023;30:3646-74. doi: 10.1111/ene.16073.
- 24 Leen WG, Willemsen MA, Wevers RA, Verbeek MM. Cerebrospinal fluid glucose and lactate: age-specific reference values and implications for clinical practice. *PLoS One*. 2012;7:e42745. doi: 10.1371/journal.pone.0042745.
- 25 Fauser S, Tumani H. Epilepsy. *Handb Clin Neurol*. 2017;146:259-66. doi: 10.1016/B978-0-12-804279-3.00015-0. PMID: 29110774.
- 26 Jovandaric MZ, Milenkovic SJ. Neurological impairments in hypoxic neonates and lactate levels. *Neurol Res*. 2018;40:822-7. doi: 10.1080/01616412.2018.1484589.
- 27 McGill F, Heyderman RS, Michael BD, Defres S, Beeching NJ, Borrow R, et al. The UK joint specialist societies guideline on the diagnosis and management of acute meningitis and meningococcal sepsis in immunocompetent adults. *J Infect*. 2016;72:405-38. doi: 10.1016/j.jinf.2016.01.007.
- 28 Buch K, Bodilsen J, Knudsen A, Larsen L, Helweg-Larsen J, Storgaard M, et al; Danish Study Group for Infections in the Brain. Cerebrospinal fluid lactate as a marker to differentiate between community-acquired acute bacterial meningitis and aseptic meningitis/encephalitis in adults: a Danish prospective observational cohort study. *Infect Dis (Lond)*. 2018;50:514-21. doi: 10.1080/23744235.2018.1441539.
- 29 Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: a meta-analysis. *J Infect*. 2011;62:255-62. doi: 10.1016/j.jinf.2011.02.010.
- 30 Baheerathan A, Pitceathly RD, Curtis C, Davies NW. CSF lactate. *Pract Neurol*. 2020;20:320-3. doi: 10.1136/practneurol-2019-002191.
- 31 Ye Q, Yan W. Adenosine deaminase from the cerebrospinal fluid for the diagnosis of tuberculous meningitis: A meta-analysis. *Trop Med Int Health*. 2023;28:175-85. doi: 10.1111/tmi.13849.
- 32 Pérez-Rodríguez MA, Varela P, Cañizares A, Llinares P. Elevated cerebrospinal fluid adenosine deaminase levels in patients with meningitis caused by varicella-zoster virus. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:273-4. doi: 10.1016/j.eimc.2011.12.009.

- 33 Saini PA, Chakrabarti PR, Shilpi D, Shankhini G, Priyanka G, Gargi T. Raised adenosine deaminase in the cerebrospinal fluid: A tool for the diagnosis of tuberculous meningitis in developing countries. *Niger Postgrad Med J.* 2017;24:56-9.
- 34 Kerr JT, Chu FW, Bayles SW. Cerebrospinal fluid rhinorrhea: diagnosis and management. *Otolaryngol Clin North Am.* 2005;38(4):597-611. doi: 10.1016/j.otc.2005.03.011.
- 35 Galli J, Morelli F, Rigante M, Paludetti G. Management of cerebrospinal fluid leak: the importance of multidisciplinary approach. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2021;41(Suppl. 1):S18-S29. doi: 10.14639/0392-100X-suppl.1-41-2021-02.
- 36 Cárdenas Fernández MC, Gimeno Hernández J, Lombardía González C, de Miguel Fernández-Miranda C. Utilidad de la β 2-transferrina y la proteína β -traza en el diagnóstico de fístula de líquido cefalorraquídeo. *Rev Lab Clin.* 2017;10:173-9.
- 37 García-Callejo FJ, Talamantes-Escrivá F, Redondo-Martínez J, Quilis V, Pérez-Carbonell T, Goloney V. Precisión diagnóstica de las tiras multirreactivas de glucosa y nefelometría para beta-2 transferrina en la confirmación de rinoliquorrea. *An Orl Mex.* 2016;61:100-9.
- 38 Chan DT, Poon WS, IP CP, Chiu PW, goh KY. How useful is glucose detection in diagnosing cerebrospinal fluid leak? The rational use of CT and Beta-2 transferrin assay in detection of cerebrospinal fluid fistula. *Asian J Surg.* 2004;27:39-42. doi: 10.1016/S1015-9584(09)60242-6.
- 39 Sanders EL, Clark RJ, Katzmann JA. Cerebrospinal fluid leakage: agarose gel electrophoresis detection of beta(2)-transferrin and nephelometric quantification of beta-trace protein. *Clin Chem.* 2004;50:2401-3. doi: 10.1373/clinchem.2004.040246.
- 40 Bradbury DW, Kita AE, Hirota K, St John MA, Kamei DT. Rapid Diagnostic Test Kit for Point-of-Care Cerebrospinal Fluid Leak Detection. *SLAS Technol.* 2020;25:67-74. doi: 10.1177/2472630319877377.
- 41 Almela MT, Navarro-Zaragoza J, Laorden ML, Sánchez-Celemín F, Almela P. Cut-off value for β -trace protein (β -TP) as a rapid diagnostic of cerebrospinal fluid (CSF) leak detection. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2023;8:1233-9. doi: 10.1002/lio2.1150.
- 42 Bernasconi L, Pötzl T, Steuer C, Dellweg A, Metternich F, Huber AR. Retrospective validation of a β -trace protein interpretation algorithm for

the diagnosis of cerebrospinal fluid leakage. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:554-60. doi: 10.1515/cclm-2016-0442.

- 43 Codina M.G., de Cueto M., Echevarría J.E., Vicente D. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. 2010. Editores: Cercenado E, Cantón R. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos-microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia36.pdf>.
- 44 Oteo JA. Meningitis aséptica aguda: muchas causas a considerar [Acute aseptic meningitis. Many causes to consider]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:359-60. Spanish. doi: 10.1016/j.eimc.2012.05.004. Epub 2012 Jul 2. PMID: 22763113.
- 45 Tattevin P, Tchamgoué S, Belem A, Bénézit F, Pronier C, Revest M. Aseptic meningitis. *Rev Neurol (Paris)*. 2019;175:475-80. doi: 10.1016/j.neurol.2019.07.005.
- 46 Poplin V, Boulware DR, Bahr NC. Methods for rapid diagnosis of meningitis etiology in adults. *Biomark Med*. 2020;14:459-79. doi: 10.2217/bmm-2019-0333.
- 47 van de Beek D, Brouwer MC, Koedel U, Wall EC. Community-acquired bacterial meningitis. *Lancet*. 2021;398:1171-83. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00883-7.
- 48 Hasbun R. Progress and Challenges in Bacterial Meningitis: A Review. *JAMA*. 2022;328:2147-54. doi: 10.1001/jama.2022.20521.
- 49 Trujillo-Gómez J, Tsokani S, Arango-Ferreira C, Atehortúa-Muñoz S, Jimenez-Villegas MJ, Serrano-Tabares C, et al. Biofire FilmArray Meningitis/Encephalitis panel for the aetiological diagnosis of central nervous system infections: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 2022;44:101275. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101275.
- 50 Cailleaux M, Pilmis B, Mizrahi A, Lourtet-Hascoet J, Nguyen Van JC, Alix L, et al. Impact of a multiplex PCR assay (FilmArray®) on the management of patients with suspected central nervous system infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39:293-7. doi: 10.1007/s10096-019-03724-7.
- 51 Hueth KD, Thompson-Leduc P, Totev TI, Milbers K, Timbrook TT, Kirson N, et al. Assessment of the Impact of a Meningitis/Encephalitis Panel on Hospital Length of Stay: A Systematic Review and Meta-

- Analysis. Antibiotics (Basel). 2022;11:1028. doi: 10.3390/antibiotics11081028.
- 52 Marí JM, Ruiz MP, Anza DV. Diagnóstico de laboratorio de las meningitis linfocitarias [Laboratory diagnosis of lymphocytic meningitis]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28 Suppl 1:56-61. Spanish. doi: 10.1016/S0213-005X(10)70010-0.
 - 53 Al-Qahtani SM, Shati AA, Alqahtani YA, Ali AS. Etiology, Clinical Phenotypes, Epidemiological Correlates, Laboratory Biomarkers and Diagnostic Challenges of Pediatric Viral Meningitis: Descriptive Review. *Front Pediatr*. 2022;10:923125. doi: 10.3389/fped.2022.923125.
 - 54 Kohil A, Jemmieh S, Smatti MK, Yassine HM. Viral meningitis: an overview. *Arch Virol*. 2021;166:335-45. doi: 10.1007/s00705-020-04891-1.
 - 55 Xu H, Chen P, Guo S, Shen X, Lu Y. Progress in etiological diagnosis of viral meningitis. *Front Neurol*. 2023;14:1193834. doi: 10.3389/fneur.2023.1193834.
 - 56 Graff K, Dominguez SR, Messacar K. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Diagnosis of Pediatric Meningitis and Encephalitis: A Review. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2021;10:S78-S87. doi: 10.1093/jpids/piab067.
 - 57 Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire® FilmArray® meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2020r;26(3):281-90. doi: 10.1016/j.cmi.2019.11.016.
 - 58 Humisto A, Antikainen J, Holma T, Jarva H, Toivonen A, Loginov R, et al. Evaluation of the Novel CE-IVD-Marked Multiplex PCR QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel. *Microbiol Spectr*. 2023 15;11:e0514422. doi: 10.1128/spectrum.05144-22.
 - 59 Díaz KMO, Piedrahíta JAA, Suárez Brochero OF, Granada DO, Barón LM, Bonilla IC, et al. Impact of the Film Array Meningitis/Encephalitis panel in adults with meningitis and encephalitis in Colombia. *Epidemiol Infect*. 2020;148:e173. doi: 10.1017/S0950268820001648.
 - 60 World Health Organization [WHO]. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization. 2022. Disponible en <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>.
 - 61 Gómez del Río S, Amillategui Dos Santos R, Herrera León L, Sastre M, Herrador Z. Vigilancia de la tuberculosis en España (2015-2021). BES

- [Internet]. 2023;31(3):176-89. Disponible en: [//revista.isciii.es/index.php/bes/article/view/1316](http://revista.isciii.es/index.php/bes/article/view/1316).
- 62 Ahlawat S, Chaudhary R, Dangi M, Bala K, Singh M, Chhillar AK. Advances in tuberculous meningitis diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020;20:1229-41. doi: 10.1080/14737159.2020.1858805.
 - 63 Donovan J, Thwaites GE, Huynh J. Tuberculous meningitis: where to from here? *Curr Opin Infect Dis.* 2020;33:259-66. doi: 10.1097/QCO.0000000000000648.
 - 64 Wilkinson RJ, Rohlwink U, Misra UK, van Crevel R, Mai NTH, Dooley KE, et al; Tuberculous Meningitis International Research Consortium. Tuberculous meningitis. *Nat Rev Neurol.* 2017;13:581-98. doi: 10.1038/nrneurol.2017.120.
 - 65 Mai NT, Thwaites GE. Recent advances in the diagnosis and management of tuberculous meningitis. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30:123-8. doi: 10.1097/QCO.0000000000000331.
 - 66 Török ME. Tuberculous meningitis: advances in diagnosis and treatment. *Br Med Bull.* 2015;113:117-31. doi: 10.1093/bmb/ldv003.
 - 67 Chen P, Shi M, Feng GD, Liu JY, Wang BJ, Shi XD, et al. A highly efficient Ziehl-Neelsen stain: identifying de novo intracellular *Mycobacterium tuberculosis* and improving detection of extracellular *M. tuberculosis* in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 2012;50:1166-70. doi: 10.1128/JCM.05756-11.
 - 68 Ho J, Marais BJ, Gilbert GL, Ralph AP. Diagnosing tuberculous meningitis - have we made any progress? *Trop Med Int Health.* 2013;18:783-93. doi: 10.1111/tmi.12099.
 - 69 World Health Organization [WHO]. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children: Policy update. 2015. Geneva: World Health Organization. Disponible en https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/112472/9789241506335_eng.pdf?sequence=1.
 - 70 Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Yao M, Dheda K, Denkinger CM, et al. Xpert MTB/RIF Ultra and Xpert MTB/RIF assays for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;1:CD012768. doi: 10.1002/14651858.CD012768.pub3.
 - 71 World Health Organization [WHO]. WHO meeting report of a technical expert consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva: World Health Organization.

2017. Disponible en <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-TB-2017.04>.
- 72 Donovan J, Thu DDA, Phu NH, Dung VTM, Quang TP, Nghia HDT, et al. Xpert MTB/RIF Ultra versus Xpert MTB/RIF for the diagnosis of tuberculous meningitis: a prospective, randomised, diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20:299-307. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30649-8.
 - 73 Patel VB, Connolly C, Singh R, Lenders L, Matinyenya B, Theron G, et al. Comparison of amplicor and GeneXpert MTB/RIF tests for diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol*. 2014;52:3777-80. doi: 10.1128/JCM.01235-14.
 - 74 Shi Y, Zhang C, Pan S, Chen Y, Miao X, He G, et al. The diagnosis of tuberculous meningitis: advancements in new technologies and machine learning algorithms. *Front Microbiol*. 2023;14:1290746. doi: 10.3389/fmicb.2023.1290746.
 - 75 Chen YL, Zhu MM, Guan CP, Zhang YA, Wang MS. Diagnostic value of the cerebrospinal fluid lipoarabinomannan assay for tuberculous meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Front Public Health*. 2023;11:1228134. doi: 10.3389/fpubh.2023.1228134.
 - 76 González-Martín J, García-García JM, Anibarro L, Vidal R, Esteban J, Blanquer R, Moreno S, et al. Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis [Consensus document on the diagnosis, treatment and prevention of tuberculosis]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28:297.e1-20. Spanish. doi: 10.1016/j.eimc.2010.02.006.
 - 77 Yu J, Wang ZJ, Chen LH, Li HH. Diagnostic accuracy of interferon-gamma release assays for tuberculous meningitis: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016;20:494-9. doi: 10.5588/ijtld.15.0600. PMID: 26970159.
 - 78 Tugume L, Ssebambulidde K, Kasibante J, Ellis J, Wake RM, Gakuru J, et al. Cryptococcal meningitis. *Nat Rev Dis Primers*. 2023;9:62. doi: 10.1038/s41572-023-00472-z.
 - 79 Fisher KM, Montrieff T, Ramzy M, Koyfman A, Long B. Cryptococcal meningitis: a review for emergency clinicians. *Intern Emerg Med*. 2021;16:1031-42. doi: 10.1007/s11739-020-02619-2. Epub 2021 Jan 9. PMID: 33420904.
 - 80 Baddley JW, Chen SC, Huisingh C, Benedict K, DeBess EE, Galanis E, et al. MSG07: An International Cohort Study Comparing Epidemi-

- ology and Outcomes of Patients With *Cryptococcus neoformans* or *Cryptococcus gattii* Infections. *Clin Infect Dis*. 2021;73:1133-41. doi: 10.1093/cid/ciab268.
- 81 McHale TC, Boulware DR, Kasibante J, Ssebambulidde K, Skipper CP, Abassi M. Diagnosis and management of cryptococcal meningitis in HIV-infected adults. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36:e0015622. doi: 10.1128/cmr.00156-22.
 - 82 Temfack E, Rim JJB, Spijker R, Loyse A, Chiller T, Pappas PG, et al. Cryptococcal Antigen in Serum and Cerebrospinal Fluid for Detecting Cryptococcal Meningitis in Adults Living With Human Immunodeficiency Virus: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies. *Clin Infect Dis*. 2021;72:1268-78. doi: 10.1093/cid/ciaa1243.
 - 83 Kabanda T, Siedner MJ, Klausner JD, Muzoora C, Boulware DR. Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis*. 2014;58:113-6. doi: 10.1093/cid/cit641.
 - 84 World Health Organization. 2018. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children. WHO. Geneva. Disponible en <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550277>.
 - 85 Chang CC, Harrison TS, Bicanic TA, Chayakulkeeree M, Sorrell TC, Warris A, et al. Global guideline for the diagnosis and management of cryptococcosis: an initiative of the ECMM and ISHAM in cooperation with the ASM. *Lancet Infect Dis*. 2024;24:e495-e512. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00731-4.
 - 86 Rhein J, Bahr NC, Morawski BM, Schutz C, Zhang Y, Finkelman M, et al. Detection of High Cerebrospinal Fluid Levels of (1→3)- β -d-Glucan in Cryptococcal Meningitis. *Open Forum Infect Dis*. 2014;1:ofu105. doi: 10.1093/ofid/ofu105.
 - 87 Romero-Hernández CA, Zuleta-Motta JL, Zapa-Pérez NM, Martínez-Lemus JD. Experiencia con el Biofire FilmArray® para meningitis/encefalitis infecciosa en una institución de alta complejidad en Bogotá, Colombia [Experience with the Biofire FilmArray® for infectious meningitis/encephalitis in a high complexity institution in Bogota, Colombia]. *Rev Neurol*. 2023;77:87-93. Spanish. doi: 10.33588/rn.7704.2023082.
 - 88 Van TT, Kim TH, Butler-Wu SM. Evaluation of the Biofire FilmArray meningitis/encephalitis assay for the detection of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*.

- mans/gattii. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26:1375-9. doi: 10.1016/j.cmi.2020.01.007.
- 89 Hegen H, Arrambide G, Gnanapavan S, Kaplan B, Khalil M, Saadeh R, et al. Cerebrospinal fluid kappa free light chains for the diagnosis of multiple sclerosis: A consensus statement. *Mult Scler.* 2023;29:182-95. doi: 10.1177/13524585221134217.
 - 90 Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018;17:162-73. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
 - 91 Maroto-García J, Martínez-Escribano A, Delgado-Gil V, Mañez M, Mugueta C, Varo N, et al. Biochemical biomarkers for multiple sclerosis. *Clin Chim Acta.* 2023 1;548:117471. doi: 10.1016/j.cca.2023.117471.
 - 92 Axisa PP, Hafler DA. Multiple sclerosis: genetics, biomarkers, treatments. *Curr Opin Neurol.* 2016;29:345-53. doi: 10.1097/WCO.0000000000000319.
 - 93 Maroto García, J. Evaluación del uso de las cadenas ligeras libres kappa en laboratorio clínico para el diagnóstico de esclerosis múltiple [Ph. D. thesis]. Universidad de Málaga; 2024.
 - 94 Seeliger T, Gingele S, Güzeloglu YE, Heitmann L, Lüling B, Kohle F. Comparative analysis of albumin quotient and total CSF protein in immune-mediated neuropathies: a multicenter study on diagnostic implications. *Front Neurol.* 2024;14:1330484. doi: 10.3389/fneur.2023.1330484.
 - 95 Daves M, Piccin A, Roccaforte V, Lippi G. Comparison of Freelite and N-Latex serum free light chain assays: a critical review. *Biochem Med (Zagreb).* 2021;31:030701. doi: 10.11613/BM.2021.030701.
 - 96 Hegen H, Walde J, Berek K, Arrambide G, Gnanapavan S, Kaplan B, et al. Cerebrospinal fluid kappa free light chains for the diagnosis of multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler.* 2023;29:169-81. doi: 10.1177/13524585221134213
 - 97 Morello M, Mastrogiovanni S, Falcione F, Rossi V, Bernardini S, Casciani S, et al. Laboratory Diagnosis of Intrathecal Synthesis of Immunoglobulins: A Review about the Contribution of OCBs and K-index. *Int J Mol Sci.* 2024;25:5170. doi: 10.3390/ijms25105170.
 - 98 Sanz Diaz CT, de Las Heras Flórez S, Carretero Perez M, Hernández Pérez MÁ, Martín García V. Evaluation of Kappa Index as a Tool in

- the Diagnosis of Multiple Sclerosis: Implementation in Routine Screening Procedure. *Front Neurol.* 2021;12:676527. doi: 10.3389/fneur.2021.676527.
- 99 Saldaña-Inda I, Aparicio-Pelaz D, Rodríguez-Montolio J, Sebastián-Torres B, Iñíguez-Martínez C, Inda-Landaluce M. Utilidad del índice kappa en el diagnóstico de esclerosis múltiple y validación de valores de referencia en la Comunidad de Aragón [Usefulness of the kappa index in the diagnosis of multiple sclerosis and validation of reference values in the Community of Aragón]. *Rev Neurol.* 2022;75:181-7. Spanish. doi: 10.33588/rn.7507.2022266.
 - 100 Valencia-Vera E, Martínez-Escribano García-Ripoll A, Enguix A, Abalos-García C, Segovia-Cuevas MJ. Application of κ free light chains in cerebrospinal fluid as a biomarker in multiple sclerosis diagnosis: development of a diagnosis algorithm. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56:609-13. doi: 10.1515/cclm-2017-0285. PMID: 29087953.
 - 101 Monreal E, Fernández-Velasco JI, García-Soidán A, Sainz de la Maza S, Espiño M, Villarrubia N, et al. Establishing the best combination of the kappa free light chain index and oligoclonal bands for an accurate diagnosis of multiple sclerosis. *Front Immunol.* 2023;14:1288169. doi: 10.3389/fimmu.2023.1288169.
 - 102 Levraut M, Laurent-Chabalier S, Ayrignac X, Bigaut K, Rival M, Squalli S, et al; Société Francophone de la Sclérose En Plaques (SFSEP). Kappa Free Light Chain Biomarkers Are Efficient for the Diagnosis of Multiple Sclerosis: A Large Multicenter Cohort Study. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2022;10:e200049. doi: 10.1212/NXI.0000000000200049.
 - 103 Khalil M, Teunissen CE, Lehmann S, Otto M, Piehl F, Ziemssen T, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders - towards clinical application. *Nat Rev Neurol.* 2024;20(5):269-87. doi: 10.1038/s41582-024-00955-x.
 - 104 Vecchio D, Puricelli C, Malucchi S, Virgilio E, Martire S, Perga S, et al. Serum and cerebrospinal fluid neurofilament light chains measured by SIMOA™, Ella™, and Lumipulse™ in multiple sclerosis naïve patients. *Mult Scler Relat Disord.* 2024;82:105412. doi: 10.1016/j.msard.2023.105412.
 - 105 Feldman EL, Goutman SA, Petri S, Mazzini L, Savelieff MG, Shaw PJ, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet.* 2022;400(10360):1363-80. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01272-7.

- 106 Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90:870-81. doi: 10.1136/jnnp-2018-320106.
- 107 van Tilburg SJ, Teunissen CE, Maas CCHM, Thomma RCM, Walgaard C, Heijst H, et al. Dynamics and prognostic value of serum neurofilament light chain in Guillain-Barré syndrome. *EBioMedicine*. 2024;102:105072. doi: 10.1016/j.ebiom.2024.105072.
- 108 Liu Y, Dou K, Xue L, Li X, Xie A. Neurofilament light as a biomarker for motor decline in Parkinson's disease. *Front Neurosci*. 2022 1;16:959261. doi: 10.3389/fnins.2022.959261.
- 109 Sheng ZH, Ma LZ, Liu JY, Ou YN, Zhao B, Ma YH, Tan L. Cerebrospinal fluid neurofilament dynamic profiles predict cognitive progression in individuals with de novo Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci*. 2022;14:1061096. doi: 10.3389/fnagi.2022.1061096.
- 110 Pedersen CC, Ushakova A, Alves G, Tysnes OB, Blennow K, Zetterberg H, et al. Serum neurofilament light at diagnosis: a prognostic indicator for accelerated disease progression in Parkinson's Disease. *NPJ Parkinsons Dis*. 2024;10:162. doi: 10.1038/s41531-024-00768-1.
- 111 Mousele C, Holden D, Gnanapavan S. Neurofilaments in neurologic disease. *Adv Clin Chem*. 2024;123:65-128. doi: 10.1016/bs.acc.2024.06.010.
- 112 Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7:33. doi: 10.1038/s41572-021-00269-y.
- 113 Gómez Maldonado L, de Mora-Figueroa R, López-Angarita A, Maravilla-Herrera P, Merino M. Cost of Patients with Alzheimer's Disease in Spain According to Disease Severity. *Pharmacoecon Open*. 2024;8:103-114. doi: 10.1007/s41669-023-00451-w.
- 114 Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chételat G, Teunissen CE, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2021;397:1577-90. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- 115 Janeiro MH, Ardanaz CG, Sola-Sevilla N, Dong J, Cortés-Erice M, Solas M, Puerta E, Ramírez MJ. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Adv Lab Med*. 2021;2:39-50. Spanish. doi: 10.1515/almed-2020-0109.

- 116 Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med*. 2018;284:643-63. doi: 10.1111/joim.12816.
- 117 McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;34:939-44. doi: 10.1212/wnl.34.7.939.
- 118 Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007;6:734-46. doi: 10.1016/S1474-4422(07)70178-3.
- 119 McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011;7(3):263-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
- 120 Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 2014;13:614-29. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70090-0.
- 121 Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al; Contributors. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14:535-62. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018.
- 122 Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisoni GB, et al. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2016;87:539-47. doi: 10.1212/WNL.0000000000002923.
- 123 Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2010;6:131-44. doi: 10.1038/nrneurol.2010.4.
- 124 Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2016;15:673-684. doi: 10.1016/S1474-4422(16)00070-3.

- 125 Strozzyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ. CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology*. 2003;60:652-6. doi: 10.1212/01.wnl.0000046581.81650.d0.
- 126 Hansson O, Lehmann S, Otto M, Zetterberg H, Lewczuk P. Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (A β) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease. *Alzheimers Res Ther*. 2019;11:34. doi: 10.1186/s13195-019-0485-0.
- 127 Puig-Pijoan A, García-Escobar G, Fernández-Lebrero A, Manero-Borràs RM, Sánchez-Benavides G, Navalpotro-Gómez I, et al. The CORCO-BIA study: Cut-off points of Alzheimer's disease CSF biomarkers in a clinical cohort. *Neurologia (Engl Ed)*. 2022:S2173-5808(22)00084-0. doi: 10.1016/j.nrleng.2022.05.002.
- 128 Blennow K, Stomrud E, Zetterberg H, Borlinghaus N, Corradini V, Manuilova E, Müller-Hübner L, Quevenço FC, Rutz S, Hansson O. Second-generation Elecsys cerebrospinal fluid immunoassays aid diagnosis of early Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med*. 2022;61:234-44. doi: 10.1515/cclm-2022-0516. PMID: 36282960.
- 129 Kalia LV. Diagnostic biomarkers for Parkinson's disease: focus on α -synuclein in cerebrospinal fluid. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;59:21-25. doi: 10.1016/j.parkreldis.2018.11.016.
- 130 Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30:1591-601. doi: 10.1002/mds.26424.
- 131 Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, Paciotti S, Hansson O, El-Agnaf O, et al. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2019;18:573-86. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30024-9.
- 132 Srivastava A, Alam P, Caughey B. RT-QuIC and Related Assays for Detecting and Quantifying Prion-like Pathological Seeds of α -Synuclein. *Biomolecules*. 2022;12:576. doi: 10.3390/biom12040576.
- 133 Bellomo G, De Luca CMG, Paoletti FP, Gaetani L, Moda F, Parnetti L. α -Synuclein Seed Amplification Assays for Diagnosing Synucleinopathies: The Way Forward. *Neurology*. 2022;99:195-205. doi: 10.1212/WNL.0000000000200878.
- 134 Lin YM, Banoth D, Wali MH, Bekova K, Abdulla N, Gurugubelli S, et al. The Role of Alpha-Synuclein and Tubulin-Associated Unit (Tau) Proteins in the Diagnosis, Prognosis, and Treatment of Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Cureus*. 2024;16:e64766. doi: 10.7759/cureus.64766.

- 135 Kwon EH, Tennagels S, Gold R, Gerwert K, Beyer L, Tönges L. Update on CSF Biomarkers in Parkinson's Disease. *Biomolecules*. 2022;12:329. doi: 10.3390/biom12020329.
- 136 Flechsig E, Weissmann C. The role of PrP in health and disease. *Curr Mol Med*. 2004;4:337-53. doi: 10.2174/1566524043360645. PMID: 15354865.
- 137 Baral PK, Yin J, Aguzzi A, James MNG. Transition of the prion protein from a structured cellular form (PrP^C) to the infectious scrapie agent (PrP^{Sc}). *Protein Sci*. 2019;28:2055-63. doi: 10.1002/pro.3735.
- 138 Nafria Jiménez B, Garrido Chércoles A. Biomarcadores diagnósticos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. *Rev Med Lab* 2023;4:12-23. DOI: 10.20960/revmedlab.00125.
- 139 European Centre for Disease Prevention and Control (CDC). Review of guidelines for prevention of Creutzfeldt-Jakob disease transmission in medical settings in EU Member States and Norway 2011. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/review-guidelines-prevention-creutzfeldt-jakob-disease-transmission-medical>.
- 140 Figgie MP Jr, Appleby BS. Clinical Use of Improved Diagnostic Testing for Detection of Prion Disease. *Viruses*. 2021;13:789. doi: 10.3390/v13050789.
- 141 Nafria Jiménez B, Garrido Chércoles A, Moreno Izco F. Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. *Rev Med Lab* 2023;4:4-11. DOI: 10.20960/revmedlab.00177.
- 142 Hermann P, Appleby B, Brandel JP, Caughey B, Collins S, Geschwind MD, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Neurol*. 2021;20:235-46. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30477-4.
- 143 Foucault-Fruchard L, Delaye JB, Morange V, Beaufile E, Duwicquet C, Quadrio I, et al. An automated alert system based on the p-Tau/Tau ratio to quickly inform health professionals upon a suspected case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci*. 2020;415:116971. doi: 10.1016/j.jns.2020.116971.
- 144 Byrne LM, Rodrigues FB, Johnson EB, Wijeratne PA, De Vita E, Alexander DC, et al. Evaluation of mutant huntingtin and neurofilament proteins as potential markers in Huntington's disease. *Sci Transl Med*. 2018;10:eaat7108. doi: 10.1126/scitranslmed.aat7108.

- 145 Hawkins RA, Viña JR, Peterson DR, O’Kane R, Mokashi A, Simpson I. Amino acid transport across each side of the blood-brain barrier. In *Amino Acids in Human Nutrition and Health*. CABI Publishing. 2011. pp. 189-214
- 146 Shih V. Amino Acid Analysis. *Physician’s Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2003;11-26.
- 147 Scholl-Bürgi S, Haberlandt E, Heinz-Erian P, Deisenhammer F, Albrecht U, Sigl SB, et al. Amino acid cerebrospinal fluid/plasma ratios in children: influence of age, gender, and antiepileptic medication. *Pediatrics*. 2008;121:e920-6. doi: 10.1542/peds.2007-1631.
- 148 Sharer JD, De Biase I, Matern D, Young S, Bennett MJ, Tolun AA; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Laboratory analysis of amino acids, 2018 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2018;20:1499-507. doi: 10.1038/s41436-018-0328-6.
- 149 Sharer JD, De Biase I, Matern D, Young S, Bennett MJ, Tolun AA; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Laboratory analysis of amino acids, 2018 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2018;20:1499-507. doi: 10.1038/s41436-018-0328-6.
- 150 Jung-Klawitter S, Kuseyri Hübschmann O. Analysis of Catecholamines and Pterins in Inborn Errors of Monoamine Neurotransmitter Metabolism-From Past to Future. *Cells*. 2019;8:867. doi: 10.3390/cells8080867.
- 151 van Karnebeek CDM, Dunbar M, Egri C, Sayson B, Milea J, Stockler-Ipsiroglu S, et al Secondary Abnormal CSF Neurotransmitter Metabolite Profiles in a Pediatric Tertiary Care Centre. *Can J Neurol Sci*. 2018;45:206-13. doi: 10.1017/cjn.2017.271.
- 152 Opladen T, Cortès-Saladelafont E, Mastrangelo M, Horvath G, Pons R, Lopez-Laso E, et al; International Working Group on Neurotransmitter related disorders (iNTD). The International Working Group on Neurotransmitter related Disorders (iNTD): A worldwide research project focused on primary and secondary neurotransmitter disorders. *Mol Genet Metab Rep*. 2016;9:61-6. doi: 10.1016/j.ymgmr.2016.09.006.
- 153 Graus F, Vogrig A, Muñoz-Castrillo S, Antoine JG, Desestret V, Dubey D, et al. Updated Diagnostic Criteria for Paraneoplastic Neurologic Syndromes. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2021;8:e1014. doi: 10.1212/NXI.0000000000001014.

- 154 Darnell RB, Posner JB. Paraneoplastic syndromes involving the nervous system. *N Engl J Med*. 2003;349:1543-54. doi: 10.1056/NEJM-ra023009.
- 155 Verma N, Jaffer MH, Kolli AS, Mokhtari S. Updates in the Management of Paraneoplastic Syndrome. *Semin Neurol*. 2024;44:36-46. doi: 10.1055/s-0043-1777353.
- 156 Alarcón Torres I, González Rodríguez C. Anticuerpos onconeuronales en los síndromes neurológicos paraneoplásicos. *Ed Cont Lab Clin*. 2012;16:9-19.
- 157 Gilligan M, McGuigan C, McKeon A. Paraneoplastic Neurologic Disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2023;23:67-82. doi: 10.1007/s11910-023-01250-w.
- 158 Graus F. Clinical approach to diagnosis of paraneoplastic neurologic syndromes. *Handb Clin Neurol*. 2024;200:79-96. doi: 10.1016/B978-0-12-823912-4.00007-4.
- 159 Carrasco A, Alarcón I, González C, Graus F. Identificación y utilidad clínica de los anticuerpos antineuronales. *Inmunología*. 2014;33:128-36. doi:10.1016/j.inmuno.2014.04.003.
- 160 Endres D, Perlov E, Dersch R, Baumgartner A, Hottenrott T, Berger B, et al. Evidence of cerebrospinal fluid abnormalities in patients with depressive syndromes. *J Affect Disord*. 2016;198:178-84. doi: 10.1016/j.jad.2016.03.030.
- 161 Endres D, Perlov E, Baumgartner A, Hottenrott T, Dersch R, Stich O, et al. Immunological findings in psychotic syndromes: a tertiary care hospital's CSF sample of 180 patients. *Front Hum Neurosci*. 2015;9:476. doi: 10.3389/fnhum.2015.00476.
- 162 Dalmau J, Geis C, Graus F. Autoantibodies to Synaptic Receptors and Neuronal Cell Surface Proteins in Autoimmune Diseases of the Central Nervous System. *Physiol Rev*. 2017;97:839-87. doi: 10.1152/physrev.00010.2016.
- 163 Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol*. 2016;15:391-404. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00401-9.
- 164 Khadilkar S, Soni G, Patil S, Huchche A, Faldu H. Autoimmune Encephalitis: An update. *J Assoc Physicians India*. 2017;65:62-9.