

UNIVERSIDAD DE GRANADA

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN
BIOLOGÍA FUNDAMENTAL Y DE SISTEMAS**



TESIS DOCTORAL

**DETECCIÓN DE BIOMARCADORES EN MUESTRAS
DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO EN PACIENTES
CON PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SISTEMA
NERVIOSO CENTRAL USANDO ENSAYOS DE
QUIMIOLUMINISCENCIA**

REALIZADA POR: RAFAEL GARCÍA COBO.

DIRIGIDA POR: MARIA MANUELA JIMÉNEZ VALERA

GRANADA, 2024

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Rafael García Cobo
ISBN: 978-84-1195-727-4
URI: <https://hdl.handle.net/10481/102851>

“Soñar, anhelar y mantener viva la ilusión son ingredientes esenciales de la esperanza. Gracias a ellos, visualizamos lo que esperamos del futuro y trabajamos en ello para alcanzarlo”

■ Víctor Hugo

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa por estar siempre a mi lado...

A mis padres por haber hecho que haya llegado hasta aquí...

A mi hermana por nunca dudar de mí...

A la doctora Almudena Rojas por su apoyo incondicional en todo momento...

Al doctor José Rojas por compartir su conocimiento de forma desinteresada...

A la empresa Vircell, ya que sin su apoyo esta tesis no hubiera sido posible...

A mi directora María Jiménez por su colaboración en esta tesis...

A mis hijos por ser la última fuente de energía que ha llegado a mi vida...

ABREVIATURAS

AC: Anticuerpos

AUC: Area under curve (área bajo la curva)

BHE: Barrera hematoencefálica

BOC: Bandas oligoclonales

BPL: Buenas prácticas de laboratorio

CLIA: Chemiluminescent immunoassay (Ensayo de quimioluminiscencia)

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)

DAMPs: Danger Associated Molecular Pattern (Patrones moleculares asociados a daño)

DO: Densidad óptica

DS: Desviación estándar

ECLIA: Electrochemiluminescence Immunoassay (Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia)

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Enzimoimmunoanálisis de adsorción)

EM: Esclerosis Múltiple

FN: Falso negativo

FP: Falso positivo

GDRP: General Data Protection Regulation (Reglamento general de protección de datos)

IC: Intervalo de confianza

IF: Intratecal fraction (fracción intratecal)

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IVDR: Reglamento de dispositivos médicos in vitro

JEV: Virus de la encefalitis japonesa

LCR: Líquido cefalorraquídeo

ABREVIATURAS

LR+: Likelihood ratio positive (ratio de probabilidad positiva)

LR-: Likelihood ratio negative (ratio de probabilidad negativa)

MRC: Medical Research Council (Consejo de investigación médica)

MRZR: Reacción para Measles, Rubeola y Zoster

PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns (Patrones moleculares asociados a patógenos)

PCR: Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa)

PL: Punción lumbar

PMN: Polimorfonucleares

PPRs: Pattern recognition receptors (Receptores de reconocimiento de patrón)

QAl**b:** Cociente albúmina LCR-suero

Qe**sp:** Cociente Q específico

QI**g**G**:** Cociente IgG LCR-suero

RLU: Relative luminiscence unit (Unidad Relativa de Luminiscencia)

SE: Standard Error (Error estándar)

SIT: Síntesis intratecal

SNC: Sistema nervioso central

TLR: Toll-like receptor (Receptor tipo toll)

VP: Verdadero positivo

VN: Verdadero negativo

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	9
ÍNDICE DE TABLAS	15
ÍNDICE DE FIGURAS	21
RESUMEN	27
1. INTRODUCCIÓN	33
1.1 HITOS HISTÓRICOS	34
1.2 NEUROANATOMÍA HUMANA.....	35
1.2.1. BARRERA HEMATOENCEFÁLICA	35
1.2.2. MENINGES.....	36
1.2.3. SISTEMA VENTRICULAR.....	38
1.3 NEUROPATIAS INFECCIOSAS	39
1.3.1. MENINGITIS.....	39
1.3.2. ENCEFALITIS.....	42
1.4 OTRAS NEUROPATÍAS NO INFECCIOSAS (ESCLEROSIS MÚLTIPLE).....	42
1.5 EPIDEMIOLOGÍA DE LAS PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC.....	45
1.5.1. HERPES SIMPLE	46
1.5.2. SARAMPIÓN	46
1.5.3. VARICELA ZOSTER.....	47
1.5.4. NEISSERIA MENINGITIDIS	48
1.5.5. HAEMOPHILUS INFLUENZAE	49
1.5.6. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE.....	49
1.6 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN Y PATOGÉNESIS.....	50
1.7 DIAGNÓSTICO DE LAS PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC	52
1.7.1 USO DEL LCR EN EL DIAGNÓSTICO	53
1.7.2 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	55
1.7.2.1 EXAMEN VISUAL DEL LCR	56
1.7.2.2 ESTUDIO BIOQUÍMICO	57
1.7.2.3 ESTUDIO CITOLÓGICO DEL LCR	57
1.7.2.4 ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL LCR.....	58
1.7.2.5 LA ESCALA DE BOYER.....	59
1.7.2.6 BANDAS OLIGOCLONALES EN LCR.....	60
1.7.2.7 DIAGRAMAS DE REIBER.....	61
1.7.2.8 ÍNDICE DE TIBBLING	65
1.7.2.9 SÍNTESIS INTRATECAL DE ANTICUERPOS.....	66
1.7.2.10 LAS TÉCNICAS DE QUIMIOLUMINISCENCIA.....	68
1.7.2.11 REACCIÓN MRZ	69

1.7.3 PROBLEMÁTICA ACTUAL EN EL DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS Y ENCEFALITIS	70
2. OBJETIVOS	75
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	79
3.1 MUESTRAS HUMANAS (SUERO Y LCR)	79
3.2 MUESTRAS DE CONTROL DE CALIDAD (INSTAND)	85
3.3 MUESTRAS NEGATIVAS COMERCIALES	87
3.4 KITS DE DIAGNÓSTICO USADOS PARA EL ENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA	87
3.5 KITS DE DIAGNÓSTICO USADOS PARA EL ENSAYO DE ELISA	88
3.6 REACTIVOS ADICIONALES USADOS	90
3.6.1 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS	90
3.6.2 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS EDB	90
3.6.3 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS DS	90
3.6.4 VIRCELL DYE KIT	90
3.6.5 AGUA DESTILADA TIPO II	91
3.7 ANALIZADORES AUTOMATIZADOS.....	91
3.7.1 ANALIZADOR AUTOMATIZADO THUNDERBOLT	91
3.7.2 ANALIZADOR AUTOMATIZADO VIRCLIA® LOTUS	92
3.8 EQUIPAMIENTO DE LABORATORIO	93
3.8.1 PIPETAS.....	93
3.8.2 VIALES DE 2ML.....	93
3.8.3 FOTÓMETRO DE MICROPLACAS HiPo MPP-96.....	93
3.8.4 INCUBADOR A 37°C PST-60HL	94
3.8.5 LAVADOR DE MICROPLACAS 3D-IW8	94
3.8.6 PROBETA GRADUADA.....	94
3.9 MATERIAL INFORMÁTICO.....	94
3.9.1 EDITOR DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO VIRCLIA® LOTUS	94
3.10 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO USANDO KITS DE VIRION SERION.....	95
3.10.1 VISIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO.....	95
3.10.2 PROCEDIMIENTO MANUAL	96
3.10.3 CRITERIOS DE VALIDEZ	97
3.10.4 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	97
3.10.5 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS CON EL KIT DE VIRION SERION	98
3.10.6 CÁLCULO ACTIVIDAD (U/ML).....	98
3.11 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO USANDO EL KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA VIRCLIA® MONOTEST.....	101
3.11.1 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS CON EL KIT DE VIRCLIA®	105
3.12 DESARROLLO DE UN KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SU UTILIZACIÓN EN PLATAFORMAS AUTOMATIZADAS.....	108

3.12.1 DISEÑO COMPUTERIZADO DEL TEST DE DIAGNÓSTICO.....	108
3.12.2 PRUEBAS FUNCIONALES DE VERIFICACIÓN (VOLUMÉTRICAS Y COLORIMÉTRICAS)...	125
3.12.3 PRUEBAS DE LINEALIDAD EN MUESTRAS DE SUERO.....	127
3.12.4 ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN.....	129
3.12.5 ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD	133
3.12.6 ESTUDIO DEL PUNTO DE CORTE.....	135
3.12.7 ESTUDIO DE LAS INTERFERENCIAS ENDÓGENAS SEGÚN LA CLSI EP07-A2	136
3.12.8 ESTUDIO DE LAS POSIBLES REACCIONES CRUZADAS SEGÚN LA CLSI EP07-A2	138
3.12.9 COMPARACIÓN ENTRE SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	139
3.12.10 ANÁLISIS DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE BLANCO	139
3.13 AJUSTE Y ADAPTACIÓN AL MODELO TEÓRICO DESARROLLADO POR HANSOTTO REIBER AL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC	141
3.13.1 ADAPTACIÓN DE LAS FÓRMULAS DE REIBER	141
3.13.2 ELABORACIÓN DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA APLICACIÓN DE LAS FÓRMULAS DE REIBER	142
3.13.3 ELABORACIÓN Y ESTUDIO DE LOS DIAGRAMAS DE REIBER USANDO UN SOFTWARE LIBERADO PARA INVESTIGACIÓN	146
3.13.4 ESTUDIO DE LAS FRECUENCIAS DE SÍNTESIS DE INMUNOGLOBULINAS.....	148
3.13.5 ESTUDIO DE LA FRECUENCIA DE LA DISFUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA	149
3.13.6 EVALUACIÓN DEL TEST DISEÑADO, USANDO MUESTRAS DE UN CONTROL DE CALIDAD EXTERNO ACREDITADO DE ACUERDO A LA NORMATIVA ISO/IEC 17043:2010	151
3.13.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	152
3.14 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN SOFTWARE PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LCR CUMPLIENDO CON EL REGLAMENTO SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO (UE) 2017/746 (IVDR).....	152
4. RESULTADOS	159
4.1 DESARROLLO DE UN KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SU UTILIZACIÓN EN LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS EN LCR FRENTE A LOS PRINCIPALES AGENTES RESPONSABLES DE NEUROPATÍAS INFECCIOSAS DEL SNC.....	159
4.1.1 DESARROLLO DEL KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SARAMPIÓN Y VARICELA	159
4.2 AJUSTE Y ADAPTACIÓN DEL MODELO TEÓRICO DESARROLLADO POR REIBER AL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC	180
4.2.1 APLICACIÓN DEL MÉTODO VIRCLIA MONOTEST USANDO MUESTRAS DE UN CONTROL DE CALIDAD EXTERNO (INSTAND).....	180
4.2.2 ESTUDIO DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS Y SU CORRELACIÓN CON LOS DIAGRAMAS DE REIBER PARA MUESTRAS USADAS EN LOS KITS SARAMPIÓN IgG Y VARICELA IgG	181
4.2.3 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN DE MUESTRAS	183
4.2.4 COMPARACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE QUIMIOLUMINISCENCIA FRENTE A UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO ESTABLECIDO Y VALIDADO EN EL MERCADO.....	189
4.2.5 ESTUDIO DE LA NORMALIDAD DE LA POBLACIÓN DE MUESTRAS USANDO EL TEST DE SHAPIRO-WILKS.....	189

4.2.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE VARIABLES CUALITATIVAS FRENTE A UN TEST COMERCIAL VALIDADO USANDO EL TEST EXACTO DE FISHER.....	192
4.2.7 ESTUDIO DE LA CONCORDANCIA USANDO EL TEST KAPPA DE COHEN	194
4.2.8 ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN USANDO EL COEFICIENTE DE PEARSON.....	195
4.2.9 IMPLANTACIÓN DE UN ALGORITMO PARA EL ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON SÍNTOMAS COMPATIBLES CON PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC	195
4.3 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN SOFTWARE PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LCR CUMPLIENDO CON EL REGLAMENTO SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO (UE) 2017/746 (IVDR).....	198
4.3.1 FASE DE PLANIFICACIÓN.....	198
4.3.2 FASE DE DISEÑO	201
4.3.3 FASE DE COMPROBACIÓN.....	202
4.3.4 FASE DE AJUSTE.....	203
5. DISCUSIÓN.....	207
6. CONCLUSIONES	231
7. BIBLIOGRAFÍA	235
8. ANEXOS.....	251
ANEXO I. DIAGRAMAS DE REIBER.....	251
ANEXO II. ESTUDIO DEL PUNTO DE CORTE PARA MUESTRAS NEGATIVAS DE LCR	393
ANEXO III. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD	399
ANEXO IV. CURVA ROC PARA SARAMPIÓN	401
ANEXO V. CURVA ROC PARA VARICELA.....	405
ANEXO VI. CERTIFICADOS DE PARTICIPACIÓN EN EL CONTROL DE CALIDAD INSTAND.....	408
ANEXO VII. INFORMES DEL ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE	411

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Virus que pueden causar meningitis	40
Tabla 2. Bacterias que pueden causar meningitis	41
Tabla 3. Meningitis y encefalitis agudas adquiridas en la comunidad.....	55
Tabla 4. Interpretación de los parámetros bioquímicos en LCR.....	57
Tabla 5. Constituyentes en LCR según el tipo de infección	58
Tabla 6. Diagnóstico diferencial usando escala de Boyer.....	59
Tabla 7. Muestras usadas para el estudio incluyendo la identificación de la muestra, edad del paciente, tipo de muestra y procedencia.	79
Tabla 8. Muestras procedentes de pacientes diagnosticados con esclerosis múltiple	85
Tabla 9. Ejemplo de valores proporcionados por el control INSTAND.	86
Tabla 10. Esquema de preparación de la placa de ELISA.....	96
Tabla 11. Interpretación del índice de anticuerpos.....	101
Tabla 12. Interpretación del índice de anticuerpos.....	107
Tabla 13. Volúmenes objetivo para comprobar el pipeteo del analizador.....	125
Tabla 14. Densidades ópticas objetivo para comprobar el correcto pipeteo del analizador.	127
Tabla 15. Diluciones usadas para establecer zona lineal de las muestras de suero.....	128
Tabla 16. Volúmenes usados para las pruebas de linealidad en muestras de suero.	129
Tabla 17. Volumen de muestra positiva para contaminar el “pool” de muestras negativas.	131
Tabla 18. Sustancias interferentes endógenas con valores normales y anormales en LCR.	137
Tabla 19. Volumen final en microlitros de las muestras para el ensayo de interferencias endógenas.....	137
Tabla 20. Concentración de cada interferente para cada una de los niveles establecidos en g/L en un volumen final de 100 microlitros.	138
Tabla 21. Identificación de la mezcla de muestras negativas.....	140
Tabla 22. Frecuencia de síntesis intratecal de inmunoglobulina.....	148
Tabla 23. Frecuencia de disfunción de la barrera hematoencefálica.....	150

Tabla 24. “Sprints” y tiempo de consecución.	154
Tabla 25. Volúmenes dispensados por el método automatizado frente al volumen objetivo (referencia manual) para el test de sarampión IgG.	159
Tabla 26. Volúmenes dispensados por el método automatizado frente al volumen objetivo (referencia manual) para el test de varicela IgG.	160
Tabla 27. Densidades ópticas en relación a los volúmenes dispensados por el método automatizado para sarampión IgG.	160
Tabla 28. Densidades ópticas en relación con los volúmenes dispensados por el método automatizado de varicela IgG.	161
Tabla 29. Valores de RLU obtenidos durante las pruebas de linealidad para una muestra de sarampión IgG positiva.	161
Tabla 30. Valores de RLU obtenidos durante las pruebas de linealidad para una muestra de varicela IgG positiva.	162
Tabla 31. Identificación de las muestras para la prueba de precisión del kit de sarampión y varicela IgG.	163
Tabla 32. Resumen de los valores del estudio de precisión.	164
Tabla 33. Resultados del estudio de sensibilidad y especificidad para sarampión IgG.	164
Tabla 34. Resultados del estudio de sensibilidad y especificidad para varicela IgG.	164
Tabla 35. Valores de sensibilidad y especificidad para el kit de sarampión y varicela VirClia IgG monotest.	165
Tabla 36. Sensibilidad y especificidad para el nuevo valor de punto de corte escogido para el kit de sarampión y varicela IgG.	167
Tabla 37. Muestras usadas para el estudio de interferencias endógenas de sarampión.	167
Tabla 38. Muestras usadas para el estudio de interferencias endógenas de varicela.	167
Tabla 39. Sustancias interferentes endógenas con valores anormales en LCR.	168
Tabla 40. Resultados del estudio de interferencias endógenas para una muestra positiva en RLU de sarampión IgG.	168
Tabla 41. Resultados del estudio de interferencias endógenas para una muestra positiva en RLU de varicela IgG.	168

Tabla 42. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra cut-off de sarampión en RLU.	169
Tabla 43. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra cut-off de varicela en RLU.	169
Tabla 44. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra negativa de sarampión en RLU.	170
Tabla 45. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra negativa de varicela en RLU.	170
Tabla 46. Resultados del estudio de interferencias endógenas en porcentaje para cada interferente para el kit de sarampión IgG.....	171
Tabla 47. Resultados del estudio de interferencias endógenas en porcentaje para cada interferente para el kit de varicela IgG.	171
Tabla 48. Valores de RLU y concentración del análisis del límite de blanco y detección para el kit de sarampión.....	172
Tabla 49. Valores de RLU y concentración del análisis del límite de blanco y detección para el kit de varicela.	172
Tabla 50. Resultados del estudio comparativo de los índices entre analizadores automatizados usando el coeficiente de correlación de Pearson para muestras de LCR para el kit de sarampión IgG.	173
Tabla 51. Resultados del estudio comparativo de los índices entre analizadores automatizados usando el coeficiente de correlación de Pearson para muestras de LCR para el kit de varicela IgG.	176
Tabla 52. Resultados de muestras de pacientes diagnosticados con EM según el índice de Tibbling y el índice de anticuerpos por VirClia®.....	179
Tabla 53. Fechas de participación en el organismo de control INSTAND.....	180
Tabla 54. Frecuencia de síntesis intratecal con respecto al total de muestras para sarampión IgG..	183
Tabla 55. Frecuencia de síntesis intratecal con respecto al total de muestras para varicela IgG ..	183
Tabla 56. Tabla de datos de los pacientes analizados con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC según la edad.	183

Tabla 57. Análisis de la frecuencia y porcentaje de sexo según la edad.....	185
Tabla 58. Concordancia entre el número de casos positivos para Vircell y Siemens usando como punto de corte para el índice de anticuerpos el valor de 1.5.	188
Tabla 59. Número de casos positivos para Vircell y Siemens usando como punto de corte para el índice de anticuerpos el valor de 1.3.	189
Tabla 60. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para sarampión IgG VirClia monotest.....	189
Tabla 61. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para varicela IgG VirClia monotest.	190
Tabla 62. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para sarampión IgG Virion Serion ELISA.	190
Tabla 63. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para varicela IgG Virion Serion ELISA.....	190
Tabla 64. Evaluación del test exacto de Fisher para sarampión IgG VirClia monotest.....	192
Tabla 65. Evaluación del test exacto de Fisher para varicela IgG VirClia monotest.	192
Tabla 66. Evaluación del test exacto de Fisher para sarampión IgG Virion Serion ELISA.	193
Tabla 67. Evaluación del test exacto de Fisher para varicela IgG Virion Serion ELISA.....	193
Tabla 68. Interpretación del test Kappa de Cohen	194
Tabla 69. Resultados del test de Kappa de Cohen para sarampión IgG VirClia® monotest y sarampión IgG Virion Serion ELISA.....	194
Tabla 70. Resultados del test de Kappa de Cohen para varicela IgG VirClia monotest y varicela IgG Virion Serion ELISA.	194
Tabla 71. Resultados del coeficiente de Pearson para sarampión IgG VirClia monotest y sarampión IgG Virion Serion ELISA.....	195
Tabla 72. Resultados del coeficiente de Pearson para varicela IgG VirClia monotest y varicela IgG Virion Serion ELISA.	195
Tabla 73. Elección del valor de cut-off según el valor de índice de anticuerpos en LCR.	197
Tabla 74. Población de muestras analizada para establecer el punto de corte para el índice de anticuerpos de LCR.....	197
Tabla 75. Etapas y tiempo de consecución.....	202
Tabla 76. Comparación entre el punto de corte establecido por Reiber & Peter (2001) y el optimizado usando el kit de VirClia® de la casa comercial Vircell para varicela zoster y sarampión.....	212

Tabla 77. Valores de sensibilidad y especificidad para el kit de la casa comercial Virion Serion usando el punto de corte establecido por Reiber & Peter (2001) para varicela zoster y sarampión.....214

Tabla 78. Coeficientes de variación para varicela usando el kit de Virion Serion.216

Tabla 79. Coeficientes de variación para sarampión usando el kit de Virion Serion.....216

Tabla 80. Tabla donde se muestra la especificidad y sensibilidad para los test de varicela y sarampión usando como punto de corte 1.3 para el índice de anticuerpos.225

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de la barrera hematoencefálica.....	36
Figura 2. Las meninges.....	37
Figura 3. Sistema ventricular y recorrido del LCR.....	38
Figura 4. Representación del proceso infectivo durante la meningitis bacteriana.....	51
Figura 5. Tipos de patrones de focalización isoelectrica en geles de agarosa.....	60
Figura 6. Diagramas de Reiber para las distintas clases de inmunoglobulinas.....	62
Figura 7. Áreas de los diagramas de Reiber y significación.....	64
Figura 9. Esquema de la reacción inmunológica donde se produce la reacción de quimioluminiscencia.....	88
Figura 10. Reacción inmunológica durante el ensayo directo de ELISA.....	89
Figura 11. Analizador VirClia Thunderbolt.....	92
Figura 12. Analizador VirClia® Lotus.....	93
Figura 13. Visión general del ensayo manual de ELISA.....	95
Figura 14. Disposición de los pocillos en la tira monodosis de Virclia®.....	102
Figura 15. Dispensación de muestra y diluyente.....	102
Figura 16. Dispensación del calibrador.....	102
Figura 17. Dispensación del control negativo.....	103
Figura 18. Fase de lavado de la tira monotest.....	103
Figura 19. Fase de dilución del conjugado con solución de lavado.....	103
Figura 20. Fase de dispensación del conjugado.....	104
Figura 21. Fase de lavado de la tira monotest.....	104
Figura 22. Fase de dispensación del sustrato A.....	104
Figura 23. Fase de dispensación del sustrato B.....	105
Figura 24. Panel principal del software para la edición de métodos.....	108
Figura 25. Panel para dar nombre al método a desarrollar.....	110

Figura 26. Disposición de los reactivos en los pocillos de la tira monotest.	110
Figura 27. Parámetros usados en la fase de lavado de la punta del analizador.	111
Figura 28. Parámetros usados durante la aspiración de la muestra.	111
Figura 29. Parámetros usados durante la dispensación de la muestra.	112
Figura 30. Parámetros usados durante la aspiración del calibrador.	112
Figura 31. VirClia monotest donde se presentan los pocillos de reacción (A, B, C) y los pocillos de reactivos (D, E, F, G, H).	113
Figura 32. Parámetros para definir la profundidad del pocillo de reactivo.	113
Figura 33. Parámetros usados durante la dispensación del calibrador.	114
Figura 34. Tipos de dispensación de reactivos.	115
Figura 35. Parámetros usados durante la aspiración del control negativo.	115
Figura 36. Parámetros usados durante la dispensación del control negativo.	116
Figura 37. Parámetros usados durante la post-acción de la dispensación del control negativo... ..	116
Figura 38. Parámetros usados durante el lavado de las tiras monotest.	117
Figura 39. Parámetros usados durante la dispensación del conjugado.	118
Figura 40. Fenómeno de “Backlash” en analizadores automatizados.	119
Figura 41. Parámetros usados durante la dispensación múltiple de conjugado.	119
Figura 42. Parámetros usados durante la fase de lavado tras la dispensación del conjugado.	120
Figura 43. Parámetros usados durante la fase de lavado de la tira monotest.	121
Figura 44. Parámetros usados durante la dispensación múltiple de los substratos.	121
Figura 45. Parámetros usados durante la fase posterior a la dispensación de substratos.	122
Figura 46. Parámetros establecidos para la lectura de RLU.	122
Figura 47. Definición de la fórmula para el cálculo del índice de los anticuerpos.	123
Figura 48. Reglas de validación establecidas por las instrucciones del kit.	123
Figura 49. Reglas de interpretación establecidas por las instrucciones del kit.	124
Figura 50. Panel de métodos en el software de VirClia Lotus.	124
Figura 51. Tiras monotest con pocillos de reacción (blancos) y de ELISA (transparentes).	126

Figura 52. Diluciones de muestra positiva a partir del “pool” de muestras negativas.....	131
Figura 53. Réplicas para el análisis del límite de detección y límite de blanco.	140
Figura 54. Menú principal de la hoja de cálculo Excel para el cálculo del índice de anticuerpos. .	142
Figura 55. Menú para insertar los valores comunes de cada paciente.	143
Figura 56. Hoja de cálculo para la introducción de los datos de quimioluminiscencia.	144
Figura 57. Diagrama de Reiber junto a su pictograma explicando las diferentes zonas del diagrama.....	145
Figura 58. Informe final generado por la hoja de cálculo (1).....	145
Figura 59. Informe final generado por la hoja de cálculo (2).....	146
Figura 60. Software CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic (freeware V.4.63).....	147
Figura 61. Pestaña “Help” que contiene la información de cómo usar el software.....	147
Figura 62. Diagramas de Reiber generados por el software Protein Statistic (freeware V.4.63)...	148
Figura 63. Valores de frecuencia de la disfunción sangre - LCR en la pestaña "statistic" dentro del software Protein Statistic freeware V.4.63	149
Figura 64. Pestaña “Statistic” dentro del software Protein Statistic (freeware V.4.63).....	150
Figura 65. Plantilla para el envío de los resultados al control de calidad INSTAND una vez se han realizado los ensayos con muestras ciegas.	151
Figura 66. Algoritmo evaluación de un software mediante el modelo ágil iterativo.	153
Figura 67. Backlog siguiendo el método de evaluación Scrum.....	153
Figura 68. Diagrama de GANTT que muestra el tiempo (días) en los que cada tarea fue completada.	155
Figura 69. Representación de las RLU sobre un ajuste logarítmico durante las pruebas de linealidad para los kits de sarampión y varicela.....	162
Figura 70. Representación gráfica de la curva ROC para el kit de (A) sarampión y (B) varicela IgG VirClia® monotest.....	165
Figura 71. Diagrama de puntos para establecer el punto de corte óptimo para los kits de sarampión (A) y varicela (B) IgG Virclia monotest.....	166
Figura 72. Correlación de muestras entre VirClia Lotus y VirClia Thunderbolt para el kit de varicela.	177

Figura 73. Correlación de muestras entre VirClia® Lotus y VirClia® Thunderbolt para el kit de sarampión.....	177
Figura 74. Diagrama de cajas y bigotes para el índice de anticuerpos comparando tres casas comerciales.....	178
Figura 75. Diagrama de Reiber para muestras con AI positivo para el kit de sarampión IgG.....	181
Figura 76. Diagrama de Reiber para muestras con AI positivo para el kit de VZV IgG.	182
Figura 77. Porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC clasificados según la edad.....	184
Figura 78. Frecuencia de los pacientes con sintomatología compatible con una infección del SNC clasificados según la edad.	185
Figura 79. Frecuencia de los pacientes con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC clasificados según el género	186
Figura 80. Porcentaje de los pacientes con sintomatología compatible con una infección del SNC clasificados según el género.....	187
Figura 81. Porcentaje de positivos con respecto al total de casos por grupo de edad	187
Figura 82. Gráfico donde se muestra el porcentaje de positivos frente al total de pacientes según el género.....	188
Figura 83. Algoritmo de diagnóstico para la detección de anticuerpos intratecales para el kit de VirClia®	196
Figura 84. Diagrama de puntos donde se muestran los valores de sensibilidad y especificidad para el punto de corte elegido para el índice de anticuerpos de LCR usando muestras negativas de sarampión y varicela.....	197
Figura 85. Curva ROC donde se representa la sensibilidad y especificidad para el punto de corte escogido de 0.3 para el índice de anticuerpos.	198
Figura 86. Pantalla principal del software VirClia - CSF assistant (version 1.0)	203
Figura 87. Diagrama de puntos donde se muestran las nubes de puntos (valor del índice de anticuerpos) para las muestras ensayadas con los kits de VirCell para sarampión y varicela	213
Figura 88. Nueva clasificación para el kit de quimioluminiscencia de VirClia® donde se introduce otro cut-off para muestras con posible producción intratecal.	214

Figura 89. Porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC clasificados según la edad.....219

Figura 90. Número (a) y proporción (b) de casos notificados por año y edad según SurvStat@RKI 2.0. Fuente: 10.1016/j.vaccine.2022.02.043.....220

Figura 91. Gráfico de anillos donde se representa el diagnóstico final de los pacientes evaluados en este estudio.....222

RESUMEN

Las patologías infecciosas del sistema nervioso central (SNC) pueden ser causadas por microorganismos de todo tipo como virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos. Cualquiera de ellos, puede provocar un cuadro de meningitis y/o encefalitis. Este tipo de neuropatías infecciosas pueden dejar secuelas en la mayoría de los pacientes que las sufren, sin olvidar el alto índice de mortalidad y morbilidad que generan si estas no son detectadas a tiempo y se administra el tratamiento adecuado. Estas neuropatías deben ser abordadas mediante un diagnóstico diferencial, puesto que no existe una técnica diagnóstica definitiva que permita establecer la etiología de la infección. Una de las metodologías que puede ser usada consiste en la detección de anticuerpos en el espacio intratecal a través de la quimioluminiscencia.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la utilidad de la técnica de quimioluminiscencia como herramienta en el diagnóstico de patologías infecciosas del sistema nervioso central. Adicionalmente, se investigó si el desarrollo de un software de diagnóstico podría reducir el tiempo necesario para emitir un diagnóstico y disminuir la tasa de errores asociados a los procedimientos manuales en comparación con los automatizados.

Para este trabajo se llevó a cabo un estudio retrospectivo con muestras de suero y LCR (líquido cefalorraquídeo) obtenidas de 140 pacientes procedentes del Instituto de Medicina del Laboratorio del Centro Médico del Noroeste en Frankfurt (Alemania). Estos pacientes fueron ingresados en el hospital por presentar síntomas compatibles con una patología del SNC y a los que se les había sometido a una punción lumbar. Los pacientes incluían hombres de entre 19 y 95 años (mediana: 60 años) y mujeres de entre 19 y 89 años (mediana: 54 años). Las muestras de LCR y suero se analizaron en paralelo y se usaron las fórmulas de Reiber para determinar si había producción de anticuerpos a nivel intratecal. Para este estudio, se utilizaron muestras de pacientes con hallazgos normales en el LCR (n = 50), pacientes con reactividad positiva de inmunoglobulina IgG frente a varicela en suero y LCR y sospecha de infección en el SNC (n = 30) y pacientes con reactividad positiva de IgG frente a sarampión en suero y LCR y sospecha de infección del SNC (n = 60). Estas muestras fueron ensayadas tanto por la técnica de ELISA como por el método de quimioluminiscencia, evaluando tanto la sensibilidad y especificidad generada por el kit de quimioluminiscencia como su correlación y potencia estadística frente a otros kits disponibles en el mercado.

Para las tres marcas comerciales evaluadas, el p valor fue $< 0,05$ lo que indicaba que los resultados obtenidos en cuanto a categorización de las muestras se refiere, eran similares. El grado de acuerdo entre el monotest de VirClia® y el método de ELISA de Virion Serion, fue evaluado en comparación con los resultados de la prueba de referencia (Enzygnost) utilizando el coeficiente kappa de Cohen (κ). Estos valores para el kit de VirClia® fueron de 0,84 para sarampión (error estándar = 0,052; intervalo de confianza del 95% [0,73–0,94]) y 0,79 para VZV (error estándar = 0,07; intervalo de confianza del 95% [0,64, 0,93]) frente a la prueba de Siemens. En cambio, para Virion Serion, los valores de κ fueron 0,07 para sarampión (error estándar = 0,06; intervalo de confianza del 95% [-0,04, 0,20]) y 0,43 para VZV (error estándar = 0,11; intervalo de confianza del 95% [0,22, 0,64]). La correlación entre los valores de índice de anticuerpos (IA) se analizó utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (r). Los valores de r para sarampión y VZV fueron 0,83 y 0,90 respectivamente para el kit de VirClia® y 0,77 y 0,61 para el kit de ELISA de Virion Serion.

También se estudió un conjunto de 10 muestras de pacientes con esclerosis múltiple para evaluar si la técnica de quimioluminiscencia podía ser útil para el diagnóstico de esta neuropatía no infecciosa del SNC. Los resultados fueron muy alentadores y daban pie a futuros trabajos en el diagnóstico de esta patología.

Los hallazgos obtenidos tras la consecución de este trabajo mostraron que la técnica de quimioluminiscencia puede automatizarse obteniendo unos resultados de precisión y exactitud equivalentes a cuando esta técnica se realiza manualmente. De la misma forma, se pudo adaptar esta técnica al ajuste matemático llevado a cabo por Reiber y sus colaboradores, pudiendo de esta forma, determinar si existía una producción intratecal de anticuerpos en pacientes con patologías infecciosas del SNC. Se incluyó además un algoritmo diagnóstico que permitía salvar una limitación en las fórmulas de Reiber cuando el paciente presentaba una disfunción de la barrera hematoencefálica, permitiendo así un diagnóstico adecuado. También se llevó a cabo el diseño y evaluación de un software el cual sería validado bajo el marco del nuevo reglamento (EU) 2017/746 (IVDR) y que facilitaría tanto el manejo como la emisión del diagnóstico final del paciente.

Tras el trabajo llevado a cabo, se estableció que el índice de anticuerpos supone una herramienta muy útil para ayudar al diagnóstico de patologías infecciosas del SNC. También se demostró que la técnica de quimioluminiscencia presenta una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de este tipo de patologías, permitiendo discernir entre muestras positivas y negativas en pacientes con este tipo de complicaciones. Además de su contribución en el diagnóstico de patologías infecciosas del SNC, parece que la quimioluminiscencia se postula como una ayuda al diagnóstico de pacientes con neuropatías no infecciosas como la esclerosis múltiple.

No obstante, estos resultados siempre deben ir acompañados de otras técnicas y datos clínicos que apoyen el diagnóstico final del paciente. Finalmente, también se observó que el uso de un software para el manejo de datos disminuyó el porcentaje de errores humanos además de facilitar el diagnóstico para el facultativo



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del sistema nervioso central (SNC) afectan anualmente a una gran cantidad de personas en todo el mundo con una incidencia estimada de 5 a 17 casos por cada 100.000 habitantes en países desarrollados (Domínguez-Gil et al., 2020). Las elevadas tasas de mortalidad y el impacto socioeconómico de las secuelas, pueden ser devastadores para los pacientes, familias y comunidades, encontrando tasas superiores a los 2.5 millones de casos anuales y 236.000 muertes a nivel mundial en 2019 (Schiess et al., 2021). Es por ello fundamental, que se desarrollen herramientas de diagnóstico completas que permitan diagnosticar este tipo de infecciones de una forma ágil y adecuada.

Debido a la complejidad del diagnóstico de las infecciones del SNC, se debe realizar un diagnóstico diferencial, estudiando diferentes variables tales como la evaluación visual del líquido cefalorraquídeo (LCR), cuantificación y diferenciación celular, integridad de la barrera hematoencefálica, técnicas moleculares como la PCR, detección de bandas oligoclonales, diagramas de Reiber e índice de anticuerpos (Reiber & Peter, 2001).

Los métodos de referencia en el diagnóstico de infecciones del SNC han sido el cultivo viral usando células vivas y las técnicas de biología molecular. Ambos métodos tienen sus limitaciones en la detección del agente infeccioso. El cultivo viral requiere de tiempo y demora la instauración del tratamiento. En el caso de las técnicas de biología molecular, puesto que en la mayoría de los casos se desconoce el patógeno causante de la infección, se lleva cabo el uso de técnicas de PCR multiplex. El problema de este tipo de técnicas multi-parámetro es que presentan sensibilidades y especificidades menores que las técnicas de PCR con diana única (Wall et al., 2021).

En aquellas circunstancias en las que el patógeno ya no se encuentre presente en el LCR sino invadiendo el tejido cerebral, la única manera de detectar el material genético del microorganismo sería mediante técnicas invasivas tales como la biopsia, en este caso del encéfalo (Aneja & Sharma, 2019). No obstante, hay alternativas para evitar este tipo de técnicas invasivas. Una de las metodologías usadas es la detección de estos anticuerpos específicos en muestras de LCR. Existen algunos kits que permiten la detección de anticuerpos en muestras de suero y plasma, pero la disponibilidad de estos kits usando muestras de LCR es más limitada. En concreto, técnicas como la quimioluminiscencia permiten detectar las inmunoglobulinas generadas por el paciente como respuesta inmune frente al patógeno, aunque el microorganismo ya no se encuentre presente en el LCR. Usando esta metodología, donde se reducen los tiempos requeridos para la obtención de

los resultados, además de tener en cuenta la posibilidad de automatización del ensayo, hacen de la quimioluminiscencia una técnica de interés en el diagnóstico de este tipo de patologías.

El objetivo principal de esta tesis era el desarrollo de una metodología que, usando un ensayo de quimioluminiscencia, permitiera la identificación de diferentes agentes patógenos causantes de algunas neuropatías infecciosas del SNC de una manera rápida y sencilla. Este estudio además implicó el desarrollo y evaluación de un programa informático que facilitase la interpretación y análisis de los resultados.

1.1 HITOS HISTÓRICOS

Para entender la importancia del análisis del LCR, es conveniente saber que las primeras referencias acerca de un fluido que circulaba por la cavidad interna craneal, datan del antiguo Egipto, la Grecia clásica y el Imperio Romano (Wilkins, 1964). El primer manuscrito se le atribuye a Imhotep (2700 – 2650 A.C.) no encontrando nuevas referencias hasta la Grecia clásica aun estando prohibida la disección de cuerpos humanos. Hipócrates de Kos (460 – 375 A.C) confirmó la presencia de un líquido dentro de la cavidad craneal y fue la primera persona en considerar la hidrocefalia como la acumulación de fluido intracraneal (Woollam, 1957). Aristóteles, (384 – 280 A.C) en su obra “Historia de los animales”, menciona que todos los animales presentan membranas que envuelven el cerebro además de ventrículos (Smith & Ross, 2017) y Herófilo de Chalcedon, (335 – 280 A.C) fue el primero en mencionar el plexo coroideo como uno de los sitios donde se lleva a cabo la formación de LCR (Woollam, 1957). Algunos siglos más tarde, Galeno de Pérgamo (130 – 200 D.C) realizó la primera descripción del sistema ventricular en animales (Conly & Ronald, 1983). También, Leonardo Da Vinci (1452 – 1519) generó modelos en tres dimensiones del sistema ventricular. Más tarde, en 1543 Vesalius se dio cuenta de que los ventrículos, en lugar de estar llenos de un tipo de gas, estaban llenos de un fluido. Tras ellos, otros anatomistas dieron lugar a la descripción de varias estructuras cerebrales las cuales llevan hoy día sus nombres. No obstante, el verdadero estudio del LCR no comenzó hasta el siglo XIX. Fue James Leonard Corning (1855-1923), el primer médico en realizar punciones lumbares en pacientes vivos. Luego esta técnica fue mejorada por Heinrich Irenaeus Quincke (1842-1922), siendo muy similar a la usada hoy en día. Finalmente, para el estudio cuantitativo de los componentes que forman el LCR hubo que esperar al siglo XX.

1.2 NEUROANATOMÍA HUMANA

Para comprender qué zonas están involucradas en las patologías infecciosas del SNC, es necesario conocer las diferentes partes y componentes más importantes que lo integran, siendo estas estructuras clave durante el transcurso de estas infecciones.

1.2.1. BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

La primera y una de las más importantes estructuras que forman parte del SNC es la barrera hematoencefálica. Las células del cerebro deben encontrarse en un medio bien oxigenado y protegido de las toxinas que puedan recorrer el torrente sanguíneo y, que a su vez, este medio mantenga un equilibrio iónico para el correcto funcionamiento celular. Esta función la realiza la barrera hematoencefálica.

El bacteriólogo Paul Ehrlich, identificó la presencia de esta barrera y su función inyectando colorantes por vía intravenosa en experimentos animales. Durante sus ensayos, observó que no todos los colorantes eran capaces de teñir algunos tejidos del cuerpo. Más tarde, su discípulo Edwin Goldman, concluyó con sus experimentos que las paredes de la barrera hematoencefálica tenían una estructura que impedía que ciertos tipos de pigmentos la atravesaran y alcanzaran el encéfalo (Purves & Platt, 2019).

La barrera hematoencefálica está formada por una estrecha unión de células que evita el paso de moléculas grandes. Aquellos iones y moléculas necesarias para el correcto funcionamiento del encéfalo pueden atravesar esta barrera, en base a sus propiedades eléctricas, termodinámicas y a la solubilidad de estas moléculas en lípidos, los cuales son el principal componente de las membranas celulares. No obstante, aquellas moléculas cuya solubilidad en lípidos no es muy grande, se ayudan de transportadores específicos que permiten conectar la barrera hematoencefálica y el encéfalo como se muestra en la **Figura 1** en la siguiente página.

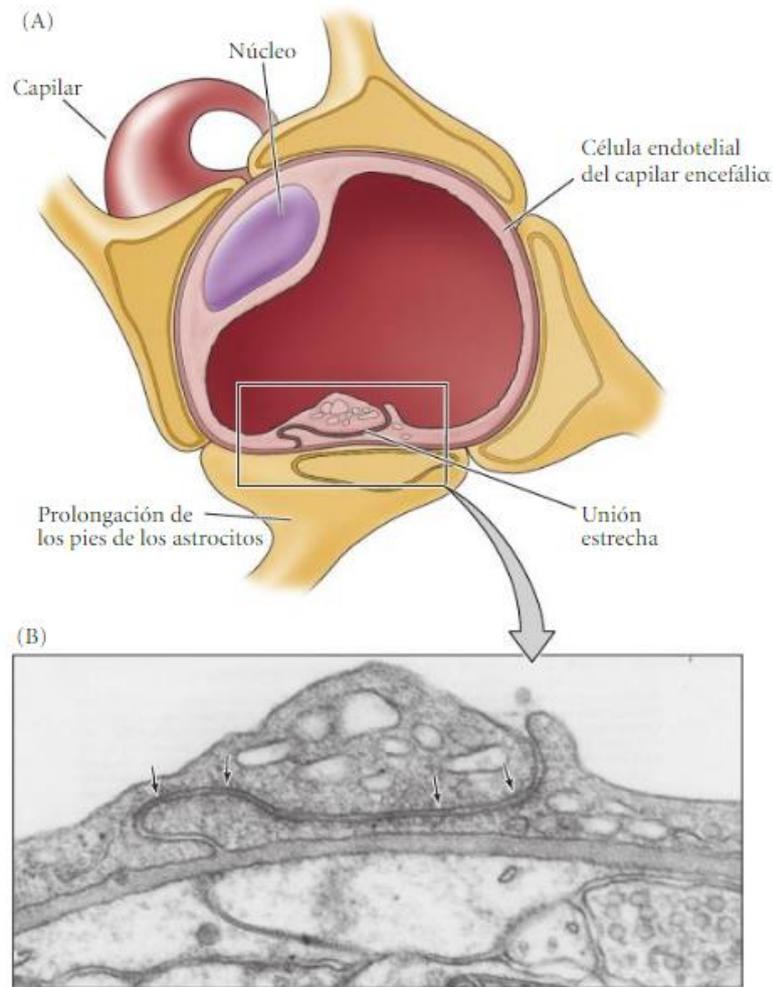


Figura 1. Imagen de la barrera hematoencefálica. (a) *Representación de las uniones estrechas entre células endoteliales.* (b) *Imagen realizada por micrografía electrónica donde se muestran las uniones entre células endoteliales (Purves & Platt, 2019).*

Dada la importancia del encéfalo en el buen funcionamiento del SNC, éste debe estar constantemente protegido frente a cambios bruscos en el medio en el que se encuentra. Esto pasa por una regulación continua de la homeostasis y protección frente a sustancias tóxicas, para lo cual la barrera hematoencefálica es fundamental.

1.2.2. MENINGES

Otra de las estructuras que va a jugar un papel importante en la evolución de las patologías infecciosas del SNC son las meninges. El encéfalo está localizado dentro de la cavidad craneal. En esta cavidad encontramos una serie de cubiertas que sirven de protección tanto para el encéfalo como la medula espinal y tronco encefálico. Encontramos tres cubiertas que reciben el nombre de meninges.

1. **Duramadre:** capa más externa y gruesa.
2. **Aracnoides:** capa media con trabéculas y donde se encuentran las arterias principales que irrigan el encéfalo.
3. **Piamadre:** capa más interna en estrecho contacto con el encéfalo.

En la **Figura 2** se representa un esquema de las meninges, donde también pueden observarse las cisternas, las cuales aparecen gracias a los pliegues cerebrales y que junto a la piamadre generan los reservorios de LCR (Purves & Platt, 2019).

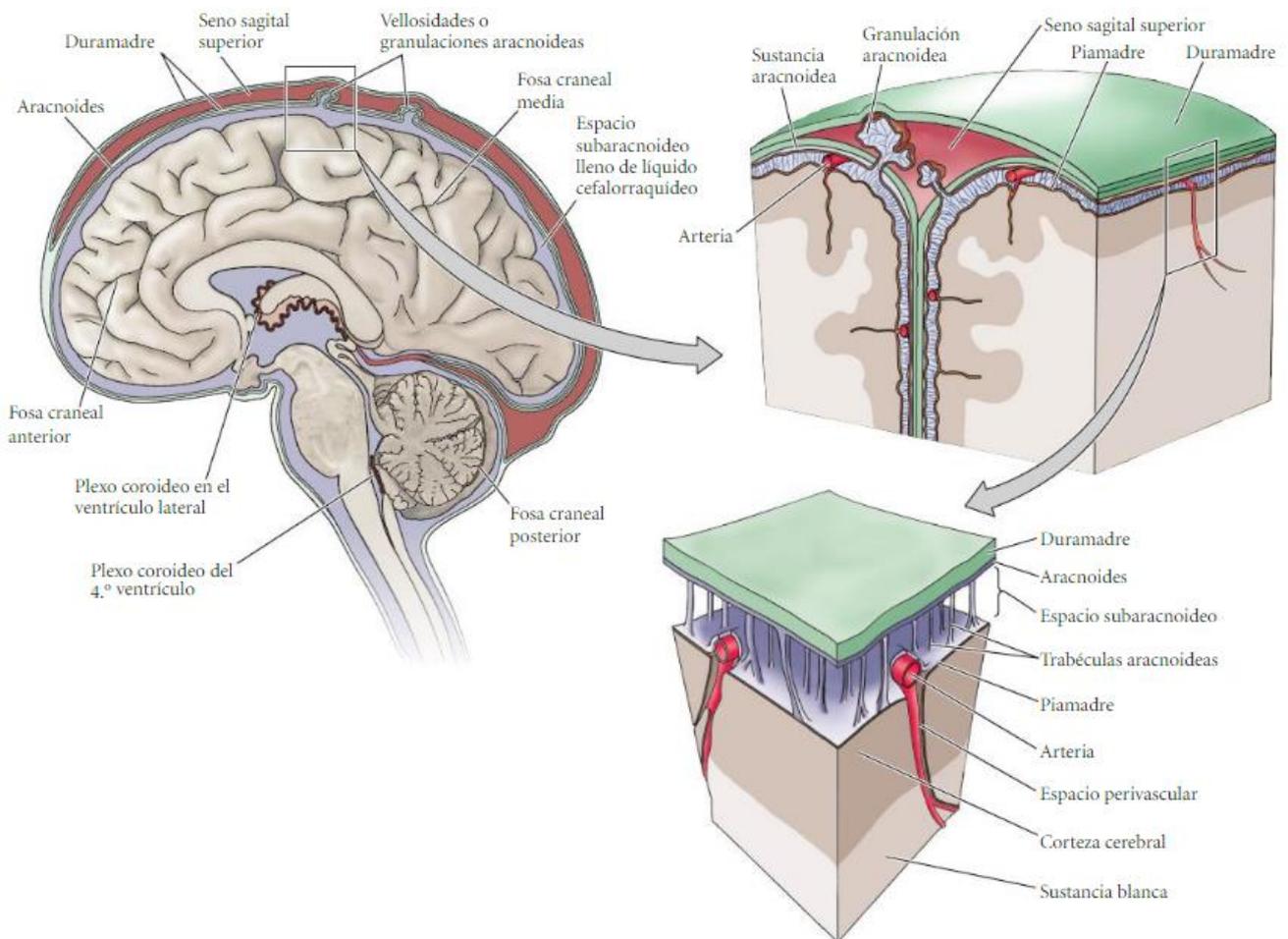


Figura 2. Las meninges (Purves & Platt, 2019)

1.2.3. SISTEMA VENTRICULAR

Por último, el tercer componente del SNC es el sistema ventricular. Se trata de unos espacios dentro del encéfalo ocupados por LCR y que se encuentran conectados entre sí. En estos espacios se encuentra el plexo coroideo que es el encargado de producir el LCR. El volumen medio del sistema ventricular es de 140 mL y su tiempo de renovación es de aproximadamente 3 horas. Este LCR realiza un recorrido a través del SNC y a su paso, elimina sustancias tóxicas que hayan podido generarse en el espacio subaracnoideo.

Finalmente, el LCR es reabsorbido por unas estructuras denominadas vellosidades o granulaciones aracnoideas, retornando así a la circulación venosa. El LCR comienza su viaje en los ventrículos laterales, donde a través del foramen de Monro, pasa al tercer ventrículo. Una vez allí, pasa del tercer ventrículo al cuarto ventrículo ya que este está conectado con el cuarto ventrículo por el denominado conducto de Silvio. Finalmente, del cuarto ventrículo se abre paso al resto de la médula espinal a través del foramen de Magendie como se muestra en la **Figura 3**.

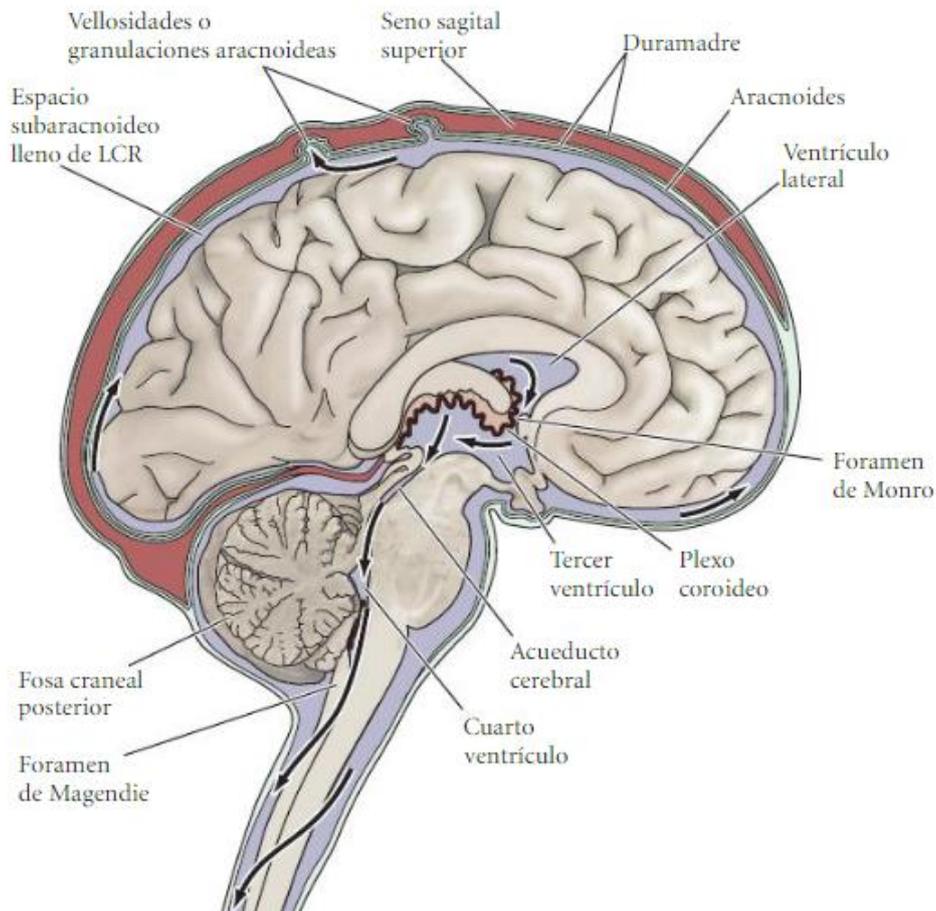


Figura 3. Sistema ventricular y recorrido del LCR (Purves & Platt, 2019).

Estas tres estructuras (barrera hematoencefálica, meninges y sistema ventricular) forman parte del sistema que protege al encéfalo tanto de perturbaciones internas, como del acúmulo de toxinas procedentes de actividades metabólicas y de potenciales peligros externos, siendo la barrera hematoencefálica el mecanismo de seguridad más importante.

1.3 NEUROPATIAS INFECCIOSAS

Son numerosas las patologías infecciosas que pueden afectar al SNC. No obstante, cuando se hace referencia a las causadas por virus y bacterias, fundamentalmente se habla de dos patologías graves como son la meningitis y encefalitis.

1.3.1. MENINGITIS

Las infecciones que aparecen en el SNC pueden ser producidas por distintos agentes etiológicos como bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos. Estas infecciones pueden ser agudas, subagudas o crónicas. El tipo de infección va a depender de la etiología, localización y virulencia del microorganismo infeccioso. Además, las vías por las que los microorganismos pueden invadir el SNC pueden ser diversas. Algunos microorganismos invaden el SNC por vía hematógena, otros por un foco de infección cercano, otros, aprovechan la oportunidad de infectar al paciente a través de los sistemas usados durante las intervenciones quirúrgicas. No obstante, estas no son las únicas vías de entrada, por ejemplo, la transmisión sexual es otra de las vías por las que estos virus y bacterias pueden entrar al organismo, además de las mordeduras de animales como es el caso del virus de la rabia. Otra de las vías que con mayor frecuencia genera el desarrollo de estas neuropatías es la transmisión oro-fecal. Finalmente, y no por ello menos importante, encontramos la transmisión mediada por vectores, sobre todo artrópodos y dípteros, que debido al cambio en su distribución que se está produciendo a nivel mundial, están siendo otra de las vías más frecuentes de transmisión.

Cuando hablamos de meningitis nos referimos a una inflamación de las capas protectoras que cubren el cerebro y la médula espinal, llamadas meninges (Logan & MacMahon, 2008). Este tipo de infección puede provocar graves trastornos en el estado de salud del paciente. Los síntomas y manifestaciones clínicas son muy similares entre los microorganismos causantes de meningitis, como son la fiebre, dolor de cabeza, rigidez de cuello y alteración del estado mental (Costerus et al., 2017). Por esta razón, el diagnóstico del agente etiológico es realmente difícil en los primeros estadios de la infección (Kohil et al., 2021). El dolor al mover los ojos, o la fotofobia, son algunos

INTRODUCCIÓN

síntomas que pueden ayudar cuando se usa el diagnóstico diferencial (Khatib et al., 2017). Además, como síntoma adicional, estas infecciones pueden venir acompañadas de eritema maculopapular y petequias (van de Beek et al., 2016). Cuando el patógeno, además de afectar a las meninges afecta al encéfalo, se produce lo que denominamos meningoencefalitis, apareciendo síntomas comunes de la meningitis como fiebre, náuseas, cefalea, fotofobia y rigidez de la nuca y otros como disfunción neurológica, letargia, pérdida de consciencia, alteración del comportamiento y convulsiones (Steiner et al., 2010).

En el diagnóstico de este tipo de neuropatías infecciosas, el LCR juega un papel muy importante que nos puede ayudar a establecer el posible agente etiológico que está causando la infección. No obstante, la extracción de LCR por punción lumbar debe estar bien fundamentada y acompañada de una elevada sospecha clínica de infección, como es el caso de que se den al menos dos de los tres síntomas principales en este tipo de infecciones como son el dolor de cabeza, fiebre y rigidez de cuello y que se excluya que la causa no sea de origen infeccioso (McGill et al., 2017).

En la **Tabla 1** y **Tabla 2** se muestran los microorganismos más comunes que pueden dar lugar a cuadros meníngeos (Chadwick, 2005; Harvala & Simmonds, 2016; McGill et al., 2017; Nesher et al., 2016).

Tabla 1. Virus que pueden causar meningitis

AGENTE ETIOLÓGICO	
Herpes simple tipo 1 (Simplexvirus)	Virus del Nilo occidental (Flavivirus)
Herpes simple tipo 2 (Simplexvirus)	Virus de la encefalitis japonesa (Flavivirus)
Virus de la varicela (Varicellovirus)	Virus de la encefalitis de San Luis (Flavivirus)
Virus del herpes humano 6 (Roseolovirus)	Virus de la Crosse (Orthobunyavirus)
<i>Echovirus</i> (Enterovirus)	Virus <i>coxsackie</i> A y B (Enterovirus)
Virus del Dengue (Flavivirus)	Virus del VIH (Lentivirus)
Virus Zika (Flavivirus)	Adenovirus (Mastadenovirus)
Virus de la coriomeningitis linfocítica (Arenavirus)	Rubeola (Rubivirus)
Virus de la parotiditis (Rubulavirus)	Virus del Epstein-Barr (Lymphocryptovirus)
Virus del sarampión (Morbillivirus)	Citomegalovirus (Cytomegalovirus)

Tabla 2. Bacterias que pueden causar meningitis

AGENTE ETIOLÓGICO
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Treponema pallidum</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>

Entre las bacterias causantes de meningitis podemos destacar *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. No obstante, la ayuda de las vacunas ha modificado la prevalencia y epidemiología de este tipo de infecciones. En la actualidad, los microorganismos con mayor probabilidad de causar meningitis según el grupo de edad son los siguientes:

- **Recién nacidos:** *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*.
- **Niños:** *Neisseria meningitidis* (Meningococo).
- **Adultos mayores de 30:** *Streptococcus pneumoniae* (Neumococo).
- **Adultos mayores de 50:** *Listeria monocytogenes*.

Otras bacterias que también pueden provocar meningitis son *Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Borrelia burgdorferi*. Como podemos observar, son muchos los microorganismos susceptibles de causar algún cuadro de infección en el SNC. En el caso de esta tesis, nos centraremos en algunos de los microorganismos más comunes en lo que a virus se refiere, ya que son los que más prevalencia tienen dentro de la población a nivel mundial.

1.3.2. ENCEFALITIS

Otra de las patologías infecciosas del SNC que puede desencadenarse tras la infección por algunos de los virus y bacterias mencionados es la encefalitis. Esta se define como una inflamación del parénquima cerebral, que puede ir acompañada de disfunción neurológica (Venkatesan & Murphy, 2018). La encefalitis viral ocurre normalmente por diseminación hematológica al SNC, aunque virus como el *Simplexvirus* o *Lyssavirus* pueden causar una afectación neurológica a través de la diseminación por las vías nerviosas (Johnson, 1999). Esta neuropatía, se caracteriza por presentar síntomas como son la fiebre, convulsiones, signos de afectación neurológica y una elevada concentración de glóbulos blancos en el LCR (cantidad superior a 5 glóbulos blancos por mm³) (Britton et al., 2015; Granerod et al., 2010). No obstante, también pueden aparecer otros síntomas como son problemas motores o afectación de nervios craneales (Mailles et al., 2017).

La incidencia global de este tipo de infección se estima en 1.7 a 7.4 casos por cada 100.000 habitantes anualmente (van de Beek, 2011). Su mortalidad está muy influenciada por el tiempo que se tarda en el diagnóstico de la infección. Un elemento principal en el diagnóstico es el análisis de LCR, ya que, un diagnóstico acertado y temprano permitirá aplicar el tratamiento correcto (antiviral o antimicrobiano) permitiendo al paciente superar este tipo de infección.

La mayoría de los casos de encefalitis son causados por virus y el desenlace de la infección dependerá en gran medida del estado inmunitario del paciente. De esta manera, la infección puede ser autolimitante o, por el contrario, continuar de manera progresiva causando un cuadro agudo o crónico.

1.4 OTRAS NEUROPATÍAS NO INFECCIOSAS (ESCLEROSIS MÚLTIPLE)

Existen patologías que afectan al SNC las cuales no tienen su origen en ningún proceso infeccioso provocado por un virus o bacteria con características neurotrópicas. En este tipo de patologías el sistema inmunológico es el que ataca a elementos del sistema nervioso, incluyendo el cerebro y la médula espinal.

La EM se define como una enfermedad inflamatoria crónica que afecta la SNC. En los pacientes que sufren esta patología, el sistema inmunológico ataca por error la cubierta protectora de las fibras nerviosas, conocida como mielina, generando una desmielinización, que provoca inflamación, daño y formación de cicatrices (esclerosis) en las fibras nerviosas (Cook, 2006).

Lo que se produce con este daño, es la interrupción de la comunicación entre las señales provenientes del cerebro y el resto del cuerpo, provocando una amplia gama de síntomas como son la fatiga, debilidad, entumecimiento, problemas de coordinación y deterioro cognitivo. Se trata de una enfermedad progresiva con diferentes niveles de gravedad y que causa, en la mayoría de los casos, una discapacidad significativa, en los pacientes que la sufren. Su origen es desconocido, pero hay indicios que indican que una combinación de factores genéticos, ambientales y del sistema inmunológico podrían ser los desencadenantes de esta patología (Jarius et al., 2017). Algunos de los factores de riesgo que se asocian al desarrollo de EM son por ejemplo, bajos niveles de vitamina D en sangre, hábitos fumadores, infección por el virus de Epstein-Barr, obesidad, además del mencionado factor hereditario (Kobelt et al., 2017).

La EM antes de la segunda guerra mundial era más prevalente en hombres que en mujeres. No obstante, parece que el acceso de las mujeres a agentes nocivos como el tabaco, hizo que se equiparase la incidencia de esta enfermedad entre ambos sexos (Palacios et al., 2011). Esto parece estar relacionado con los solventes orgánicos adicionados a este tipo de productos (Napier et al., 2016). A pesar de los factores de riesgo mencionados, parece que uno de los principales riesgos de mayor importancia puede ser el genético, siendo el gen HLA-DRB1*15 uno de los implicados en que la probabilidad de padecer esta enfermedad sea más alta (Hollenbach & Oksenberg, 2015).

Cabe destacar que la inmortalización de linfocitos B con secreción crónica de inmunoglobulinas IgG, en pacientes con EM tras una infección por *Epstein-Barr*, parece ser otro de los factores que duplica el riesgo de padecer esta enfermedad (Feki et al., 2018). Además, se ha demostrado que los linfocitos CD19 en pacientes sanos no aparecen en el LCR, mientras que en pacientes con EM, estos linfocitos parecen migrar al espacio subaracnoideo a través de la barrera hematoencefálica acumulándose en el SNC de estos pacientes (Kuenz et al., 2008).

La enfermedad puede presentarse de diferentes formas:

- **Síndrome clínico aislado (CIS):** aparecen síntomas neurológicos aislados que son el primer signo clínico de una posible esclerosis múltiple.
- **Recurrente-remitente (EMRR):** esta es la forma más común de EM y se caracteriza por ataques intermitentes de síntomas, los cuales siguen a un corto, medio o largo plazo sin ningún síntoma.
- **Primaria progresiva (EMPP):** una vez aparecen los síntomas iniciales, la enfermedad progresa afectando gravemente a la salud del paciente.

- **Secundaria progresiva (EMSP):** en esta fase los ataques con sintomatología fuerte disminuyen, pero continúa el deterioro progresivo.

Según la organización mundial de la salud, se calcula que 1.8 millones de personas sufren EM en todo el mundo y el número sigue incrementando según otros autores (Browne et al., 2014). La EM es una enfermedad que no es fácil de diagnosticar, sobre todo en sus primeras etapas y, que hasta día de hoy, no tiene cura. El diagnóstico de esta enfermedad se hace mayoritariamente por exclusión, ya que no existen pruebas diagnósticas definitivas. No obstante, sí que hay técnicas como la investigación serológica, imágenes de resonancia magnética o los criterios de McDonald (revisión 2010 y 2017) que son de ayuda para establecer el diagnóstico de esta patología. Se recomienda el diagnóstico a través de la extracción de LCR por punción lumbar en pacientes con sospechas de EM por su alto valor diagnóstico (Dobson & Giovannoni, 2019).

Las técnicas de diagnóstico más comunes que pueden ser seleccionadas usando el LCR para el estudio de pacientes con sospecha de EM son las siguientes:

- Detección de bandas oligoclonales usando la técnica de isoelectroenfoque e inmunofijación.
- Uso del índice de IgG (Índice de Tibbling).
- Interpretación de los diagramas de Reiber.
- Análisis del índice de anticuerpos.

Todos estos test, son de ayuda en el diagnóstico, pero no definitivos, sobre todo en casos confusos donde los marcadores diagnósticos indican la presencia de EM pero no la sintomatología o viceversa. En los últimos años, la detección de la respuesta inmune humoral de anticuerpos intratecales poliespecíficos frente a tres virus con características neurotrópicas como son el sarampión, la rubeola y la varicela, conocida por sus siglas en inglés reacción MRZ, de la que hablaremos en detalle a lo largo de esta tesis, parece postularse como una técnica útil en el diagnóstico de esta patología (Felgenhauer & Reiber, 1992; Jarius et al., 2017).

1.5 EPIDEMIOLOGÍA DE LAS PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

Una vez que se conocen las estructuras que se ven involucradas en este tipo de patologías y cuáles son los agentes etiológicos más frecuentes que pueden causarlas, hay que tener en cuenta otro factor que es la epidemiología de este tipo de infecciones. Se estima que a nivel mundial se producen unos 2.5 millones de casos de neuropatías infecciosas cada año (Schiess et al., 2021). La mortalidad y morbilidad varían dependiendo de la región, país, patógeno involucrado y edad de la persona. No obstante, cuando el paciente no recibe el tratamiento adecuado, la tasa de mortalidad puede aumentar hasta un 70%. Además, el paciente puede quedar con secuelas (1 de cada 5) donde se incluyen problemas neurológicos, sordera o problemas psicomotrices (Rosenstein et al., 2001).

Tanto meningitis como encefalitis son dos causas importantes de mortalidad y morbilidad a nivel mundial cada año, siendo la meningitis una de las mayores causas que contribuyen a una afectación de la vida diaria del paciente a nivel global. En un estudio llevado a cabo en 2016, se observó que el agente etiológico que causa este tipo de infecciones con mayor frecuencia era el herpes simple con un 65% de los casos, seguido de los enterovirus y el virus de la varicela (Boucher et al., 2017). Además, se sabe que el impacto de este tipo de infecciones puede variar con el clima y la edad del paciente (Wunrow & Bender, 2023).

Wang y sus colaboradores, llevaron a cabo un estudio donde observaron las diferentes etiologías de estas infecciones, distinguiendo entre bacterias y virus que pueden causar meningitis y encefalitis como son los enterovirus, HSV, JEV, virus de las paperas, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* tipo B, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Streptococcus pneumoniae*. También, estudiaron la frecuencia, demografía y tendencia estacional de estos microorganismos. Dentro de los diferentes factores estudiados, la edad fue el factor más determinante a la hora de establecer que virus o bacterias eran más proclives a generar este tipo de infecciones. Los enterovirus, por ejemplo, fueron más comunes en niños con edades inferiores a 8 años, mientras que agentes como HSV o JEV eran más prevalentes en adultos cuya edad era mayor a 18 años (Wang et al., 2022).

Se sabe que la epidemiología de los virus es variable y aunque se pueden asociar algunos tipos de virus a zonas geográficas concretas, éstos pueden encontrarse en cualquier parte del mundo siendo la forma de propagarse específica del tipo de virus.

Algunos virus se propagan con las pequeñas gotículas que los seres humanos generan al hablar o respirar, otros mediante contacto físico cercano entre personas, mediante la práctica de relaciones

sexuales o por contacto físico con las áreas infectadas por estos patógenos. Sin embargo, estas no son las únicas vías de transmisión, pues es posible sufrir este tipo de infecciones al ingerir alimentos o agua contaminados.

Finalmente, otra vía de transmisión muy común es la que se produce por mordeduras o picaduras de animales e insectos. Esta última queda restringida al área donde ese vector tenga acceso. Por esta razón, existen virus muy localizados debido a que sus vectores están muy restringidos a una zona geográfica concreta (Duintjer Tebbens et al., 2013). A continuación, se hace referencia a algunos de los microorganismos virales y bacterianos con altas prevalencias entre la población en lo que a neuropatías infecciosas del SNC se refiere.

1.5.1. HERPES SIMPLE

El virus del herpes simple pertenece al género *Simplexvirus*, familia Herpesviridae y al orden de los Herpesvirales. Las infecciones causadas por la familia Herpesviridae provocan la mayoría de las infecciones que afectan al SNC como meningitis, encefalitis o meningoencefalitis, siendo el *Herpes simple* tipo 1 y 2 los más frecuentes. Debido a su neurotropismo, este virus puede causar infecciones graves en las que se aprecia neuroinvasividad, neurotoxicidad y recurrencia en el SNC (Magaz et al., 2015).

Se estima que hasta un 20 % de todas las infecciones del SNC son causadas por este virus a nivel global (Boucher et al., 2017, Saraya et al., 2016). La prevalencia en adultos se asocia con un 90 % de los casos atribuidos al virus del Herpes simple tipo 1 (Joshi, 2016) siendo estos en su mayoría causados por reactivaciones, mientras que en neonatos, el agente etiológico más frecuente es el herpes simple tipo 2 (Zis et al., 2016) siendo estos casos en su mayoría primoinfecciones que se producen durante el paso del recién nacido por el canal del parto.

La mortalidad causada por esta familia de virus es elevada cuando no hay tratamiento, alcanzando una tasa de mortalidad en torno al 50 – 70 %. No obstante, con el tratamiento adecuado, estas tasas suelen reducirse alrededor del 20 - 30% (Magaz et al., 2015).

1.5.2. SARAMPIÓN

El virus del sarampión pertenece al género *Morbillivirus*, familia Paramyxoviridae y al orden de los Mononegavirales. Desde el año 2010, este virus ha sido causante de la muerte de más de 100.000 personas cada año (Strebel & Orenstein, 2019).

Este virus produce en su mayoría casos de encefalitis. Dependiendo de la fase en que el virus cause este tipo de infección se puede hablar de dos tipos de encefalitis:

- **Encefalitis primaria:** afecta de 1 a 3 personas por cada 1.000 habitantes. En este caso el paciente presenta una infección cerebral durante la fase donde aparece el sarpullido. El tratamiento de este tipo de patologías es meramente de apoyo, presentando una mortalidad del 10 – 15 % y donde hasta un 25 % de los pacientes que lo sufren quedan con secuelas neurológicas (Buchanan & Bonthius, 2012).
- **Encefalitis post-sarampión:** en este caso, la inflamación del encéfalo se produce por una respuesta inmune del hospedador tras la infección por el virus o en respuesta a la vacunación teniendo una incidencia de 1 a 2 casos por cada 1.000.000 niños (Bennetto, 2004).

1.5.3. VARICELA ZOSTER

El virus de la varicela pertenece al género *Varicellovirus*, familia Herpesviridae y al orden de los Herpesvirales. Este patógeno es prevalente a nivel mundial y, sobre todo, endémico de poblaciones con suficiente tamaño para mantener una transmisión anual (Gershon et al., 2011).

Se han realizado estudios genómicos que han permitido diferenciar los siguientes grupos o clados (Breuer et al., 2010):

- **Grupo 1, 3, 5:** origen europeo.
- **Grupo 2:** origen asiático.
- **Grupo 4:** origen africano.

La incidencia de infecciones por varicela oscila de 13 a 16 casos por cada 1.000 habitantes de forma anual. Los grupos de población que se ven afectados por este patógeno varían dependiendo del clima. En climas templados, la mayor incidencia se da en niños entre 1 y 4 años o niños escolarizados de entre 5 y 9 años, presentando una alta tasa de prevalencia con 100 casos por cada 1.000 niños. Esto causa que cerca del total de la población termine infectándose antes de la adolescencia (Gershon et al., 2011). En cambio, en climas tropicales, la edad media de infección es más elevada, siendo ésta de unos 14.5 años y con una incidencia mayor en adultos (Liyanage et al., 2007).

No está muy claro cuáles pueden ser los factores que generan esta diferencia entre climas y seroprevalencia, pero podrían estar relacionados con las características físicas del microorganismo

como la inactivación por el calor o la humedad (Gershon et al., 2011). Este microorganismo muestra como muchos otros, un patrón estacional presentando picos de mayor incidencia en primavera o verano (Lolekha et al., 2001). Como otros patógenos transmitidos de persona a persona, los brotes de varicela suelen ocurrir en situaciones donde hay una aglomeración de niños como pueden ser escuelas, pero también pueden generarse estas situaciones en otros enclaves como pueden ser hospitales, hostales, refugios, o correccionales (Izurieta, 1997). Normalmente, la infección causada por el virus de la varicela suele autolimitarse, pero en ocasiones puede generar complicaciones que hacen aumentar la peligrosidad de la infección y las tasas de mortalidad, por ejemplo, causando sepsis bacteriana, encefalitis o vasculitis.

Además de los microorganismos de origen viral, existen microorganismos de origen bacteriano que también pueden causar cuadros de meningitis o encefalitis. Entre los microorganismos de etiología bacteriana podemos destacar los que se mencionan a continuación.

1.5.4. NEISSERIA MENINGITIDIS

Esta bacteria pertenece al género *Neisseria*, familia Neisseriaceae y al orden de los Neisseriales. Este patógeno puede presentarse de manera encapsulada o no. Las formas encapsuladas son las más virulentas y las que pueden causar una mayor prevalencia de neuropatías. *Neisseria meningitidis* se clasifica en 6 serogrupos: A, B, C, W135, X e Y, los cuales son causantes de la mayoría de las infecciones en pacientes (Leimkugel et al., 2005). La distribución de los diferentes serogrupos de *Neisseria meningitidis* a nivel mundial es diferente. En América, Europa y Australia predominan los serogrupos B y C mientras que en África y Asia, el serogrupo más prevalente es el A (Harrison et al., 2009).

Encontramos que entre los factores de riesgo, las condiciones de hacinamiento y contacto cercano aumentan la predisposición a adquirir esta infección. También destacamos la edad, siendo los menores de cinco años y adultos jóvenes los más proclives a adquirirla. Además, realizar viajes a zonas endémicas y condiciones previas de salud del paciente que puedan comprometer su sistema inmunológico, aumentan el riesgo de sufrir infecciones por este agente patógeno. Existen medidas de prevención y control como la vacunación. Actualmente, la vacuna más efectiva es la conjugada ya que cubre varios serogrupos (A, C, W, Y y recientemente, B). Finalmente, para personas que hayan podido tener contacto con el patógeno se recomienda la quimioprofilaxis con antibióticos como medida preventiva.

1.5.5. HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Esta bacteria pertenece al género *Haemophilus*, familia Pasteurellaceae y al orden de los Pasteurellales. Este microorganismo se encuentra encapsulado lo que permite clasificar al patógeno en 93 serotipos reconocidos. Muchos de ellos son capaces de causar infecciones invasivas tanto a nivel sanguíneo como a nivel del SNC. Los serogrupos más prevalentes en países desarrollados corresponden al 1 y al 5 (Antonio et al., 2008).

Uno de los principales factores de riesgo es la falta de vacunación, actualmente, la implementación de la vacuna conjugada ha hecho que la incidencia de esta enfermedad se reduzca de manera drástica en muchos países desarrollados, disminuyendo a la misma vez, el impacto socioeconómico que generan este tipo de infecciones.

Cabe destacar que la falta de vacunación no es solamente el único factor de riesgo, condiciones de hacinamiento, pacientes bajo tratamiento de inmunosupresión o patologías crónicas, también hacen que estas poblaciones sean más proclives a sufrir este tipo de infecciones. Es por ello que es fundamental que los sistemas de salud prioricen los esfuerzos de inmunización y conciencien a la población de los riesgos que este tipo de infecciones pueden albergar.

1.5.6. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Esta bacteria pertenece al género *Streptococcus*, familia Streptococcaceae y al orden de los Lactobacillales. Este patógeno puede estar encapsulado, usando una envuelta polisacáridica o sin encapsular. Esta capsula permite que este microorganismo sea clasificado en 6 serogrupos (a, b, c, d, e, f) siendo el causante de un mayor número de infecciones el serogrupo b. Las tasas más altas de infección se producen en niños menores de 5 años, con una tasa estimada de 31 casos por cada 100.000 habitantes (Watt et al., 2009). No obstante, los ancianos pertenecen al grupo de riesgo más proclive a sufrir este tipo de infección con una tasa estimada de 17 casos por cada 100.000 habitantes (O'Brien et al., 2009). Algunos de los factores de riesgo son la falta de vacunación, condiciones de hacinamiento o pacientes que estén bajo tratamiento de inmunosupresión. Existen medidas de control y prevención para disminuir la incidencia de esta infección, siendo la más efectiva a día de hoy la vacunación. No obstante, aunque la vacuna haya reducido en gran medida la incidencia de estas infecciones, la falta de acceso a programas de vacunación puede hacer que se produzcan brotes que vuelvan a establecer a este agente como uno de los principales microorganismos involucrados en ciertas patologías infecciosas del sistema nervioso central.

1.6 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN Y PATOGÉNESIS

Los mecanismos mediante los cuales los virus o las bacterias pueden afectar al SNC son distintos. En el caso de los virus, como en cualquier otro tipo de infección, se desencadena una respuesta inflamatoria provocada por la liberación de citoquinas inflamatorias, que atraen a un mayor número de linfocitos para combatir esta infección. Las citoquinas inflamatorias normalmente implicadas en este tipo de infecciones son la interleuquina 1 (IL-1) y la interleuquina 6 (IL-6), además, se generan otras como el factor de necrosis tumoral (TNF) así como la producción local por parte de los leucocitos de inmunoglobulinas, que serán las encargadas de marcar las células infectadas (Kothur et al., 2016).

En pacientes inmunodeprimidos, el riesgo de este tipo de infecciones aumenta. Existen casos donde virus que no son especialmente neurotrópicos, pueden causar cuadros clínicos donde se ve involucrado el SNC. En la literatura se pueden encontrar descritos algunos ejemplos con agentes de naturaleza vírica, como el virus de *Epstein-Barr* o *Cytomegalovirus*, agentes fúngicos como *Cryptococcus*, bacterias como *Bartonella* o parásitos como *Toxoplasma gondii* (Misbah, 2017).

Una característica de los virus que los hace ser tan eficaces atacando al SNC es que se aprovechan de nuestra maquinaria replicadora a nivel celular para generar copias de ellos mismos. En este tipo de infecciones del SNC, dada la protección de este área en el organismo, la infección y replicación comienza en áreas alejadas del SNC hasta conseguir alcanzar el espacio subaracnoideo (Benninger & Steiner, 2017). Por tanto, las estrategias de invasión del SNC pueden ser diferentes:

1. **Mediante la infección de leucocitos:** los enterovirus son capaces de llevar a cabo una replicación fuera del SNC y luego invadir éste por vía hematológica. Luego las partículas virales atraviesan la barrera hematoencefálica a través de leucocitos infectados para, finalmente, terminar infectando el espacio subaracnoideo.
2. **Infectando nervios craneales o periféricos:** el virus del herpes o de la polio, infecta los nervios craneales o periféricos, y una vez se encuentran dentro del SNC, éste se replica y expande en el espacio subaracnoideo causando una respuesta inflamatoria y afectación del área infectada. Esto va a generar un cúmulo de células proinflamatorias dentro del SNC que, junto a la liberación de citoquinas como la IL-1 y IL-6 y otras como el factor de necrosis tumoral, van a incrementar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica con la correspondiente entrada de inmunoglobulinas al espacio subaracnoideo (Chadwick, 2005).

3. **Invasión de tejidos:** los virus normalmente invaden las mucosas como el tracto respiratorio (Weisfelt et al., 2006). En el caso del tejido nasofaríngeo, los microorganismos pueden atravesar la capa de células epiteliales que sirve como mecanismo de defensa a la entrada de organismos patógenos, invadiendo por tanto la capa subyacente, capa subepitelial y alcanzando así el torrente sanguíneo (Biller & Ferro, 2014).

En el caso de las bacterias, los mecanismos empleados son similares. Estas se unen a receptores específicos en las células que promueven su internalización a través de la capa de células que usualmente suele ser el tracto respiratorio, resultando finalmente en una invasión del torrente sanguíneo. Una vez en el torrente sanguíneo, las bacterias deben hacer frente a los diferentes mecanismos de defensa del hospedador, como las inmunoglobulinas circulantes, sistema del complemento o la posible fagocitosis mediada por neutrófilos. Si estas primeras barreras son superadas por el microorganismo, aún queda la etapa de entrada al SNC para causar la infección.

Para ello, el microorganismo tiene que atravesar la barrera hematoencefálica la cual está compuesta por células endoteliales con unas uniones muy estrechas que impiden el transporte intracelular (Kim, 2008). En la

Figura 4 se muestra el desarrollo de una meningitis bacteriana aguda. El microorganismo infeccioso aparece representado como diplococos azules.

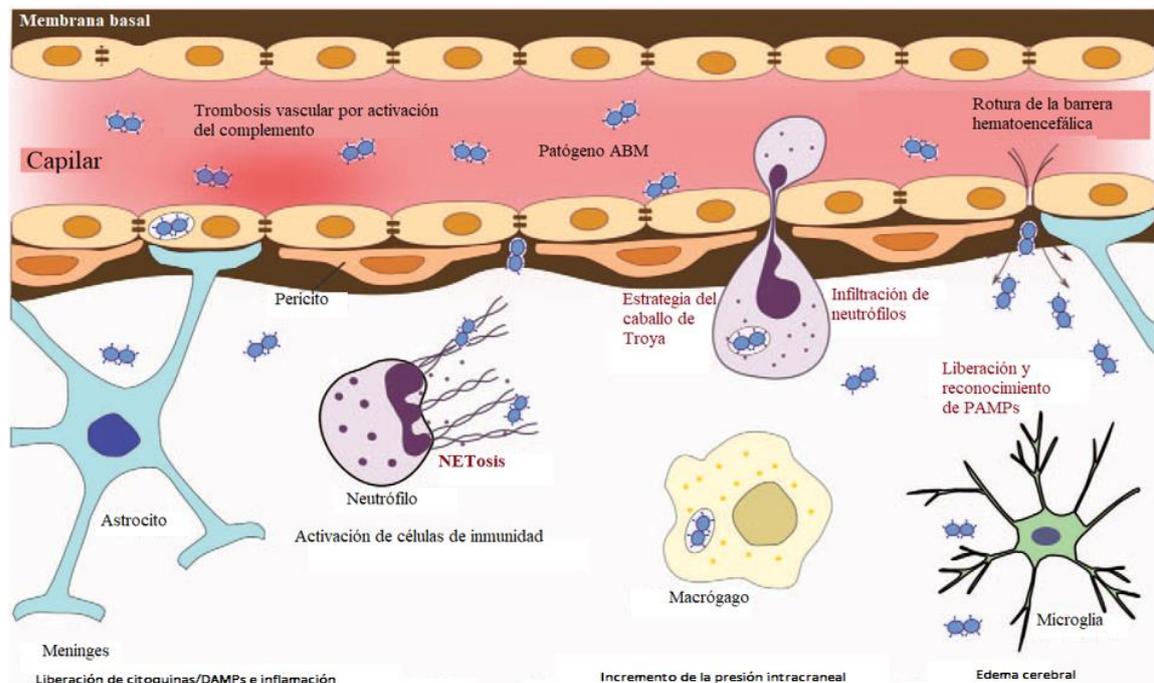


Figura 4. Representación del proceso infeccioso durante la meningitis bacteriana (Figura modificada de Wall et al., 2021)

Estos diplococos atraviesan la barrera hematoencefálica (células endoteliales) usando rutas transcelulares y paracelulares. Esta no es solo la única vía de entrada, pues el patógeno también puede atravesar la barrera hematoencefálica por fagocitosis. No obstante, existen mecanismos de defensa frente al patógeno, como son los receptores de PAMPs (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos). Se trata de pequeñas secuencias de moléculas que se repiten en grupos de patógenos. Estos patrones, son reconocidos por los denominados receptores de reconocimiento de patrón (PRRs) entre los que se encuentra la familia de receptores tipo TOLL, llamados TLRs (Toll-like receptor) o los receptores tipo NOD, denominados NLRs (Nod-like receptor). Estas secuencias conducen a la activación de células inmunitarias como macrófagos, astrocitos o microglia y la consiguiente liberación de los DAMPs, que se definen como Patrones Moleculares Asociados al Daño. Se trata de unas moléculas que se encuentran dentro de las células y que se liberan cuando las células resultan dañadas por la acción de microorganismos patógenos. Los DAMPs también son reconocidos por PRRs, induciendo o reforzando respuestas de inmunidad innata.

Esta respuesta por parte de las células del huésped es fundamental para contener el avance de la infección. No obstante, al generarse este tipo de procesos inflamatorios, se producen daños en los tejidos pudiendo verse afectada la integridad de la barrera hematoencefálica. Si esta se ve afectada, tanto el microorganismo como las moléculas generadas durante la respuesta inflamatoria pasan al encéfalo, por lo que el paciente podría sufrir secuelas neurológicas que pueden perdurar de por vida (Wall et al., 2021).

No obstante, las bacterias también pueden invadir el SNC por vías distintas a la hematológica. Estas situaciones ocurren cuando hay un daño en la barrera hematoencefálica o alguna de las capas que envuelven al cerebro, produciéndose una comunicación directa con la zona subaracnoidea y haciendo que la infección por parte de microorganismos sea mucho más fácil y efectiva. Además, existe una última vía de infección que serían las derivadas de procesos quirúrgicos, donde la vía de entrada del patógeno es facilitada a través de procedimientos invasivos.

1.7 DIAGNÓSTICO DE LAS PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

El diagnóstico de las neuropatías infecciosas que afectan al SNC requiere de gran experiencia y de la evaluación de diferentes biomarcadores y pruebas diagnósticas. La razón de esta dificultad radica en que los signos clínicos no son definitorios para poder establecer la etiología de la infección. El análisis de LCR es fundamental en la mayoría de las infecciones del SNC, siendo diversas las pruebas

de diagnóstico usadas para determinar el agente causal de la infección y establecer el tratamiento adecuado (Thomson & Bertram, 2001).

Podríamos distinguir dos pilares básicos a la hora de establecer el diagnóstico de las infecciones del SNC:

1. **Detección del microorganismo en LCR:** la presencia del agente patógeno o de su material genético en el espacio subaracnoideo, es prueba irrefutable del origen de la infección.
2. **Detección de biomarcadores en LCR:** la presencia de biomarcadores que den indicios de cual ha podido ser la causa de la infección es de gran ayuda cuando, por alguna razón, el patógeno ya no se encuentra presente en el medio o se ha instalado en el tejido.

1.7.1 USO DEL LCR EN EL DIAGNÓSTICO

El LCR es un líquido incoloro e inodoro, que baña el encéfalo y la médula espinal (Reguera, 2014). Su actividad metabólica y dinámica le confiere características importantes como protección, actividad endocrina y mantenimiento de la homeostasis del medio. Además, presenta un papel muy importante en la evolución de procesos inflamatorios e infecciosos, donde diferentes estructuras del SNC, abordadas al inicio de este trabajo, se ven involucradas.

Su composición es muy similar a la del plasma, encontrando cloruros, glucosa, proteínas y enzimas (Spector et al., 2015). La obtención de LCR se realiza mediante punción lumbar entre las vértebras L3-L4 o L4-L5. Una vez extraído, es preciso analizar los componentes que lo constituyen antes de ser utilizado en ensayos de diagnóstico, ya que diferentes agentes patógenos, pueden causar alteraciones similares en estos componentes. Por esta razón, es necesario analizar diferentes biomarcadores como albúmina, inmunoglobulinas o lactato, además de aplicar diferentes técnicas diagnósticas para aumentar la sensibilidad y especificidad de la técnica diagnóstica usada. Existen diferentes procedimientos analíticos para sistematizar el análisis de LCR (Reiber & Peter, 2001).

- **Programa de emergencia:** en este programa se incluye el análisis macroscópico (color y presencia de coágulos o partículas), recuento celular (pleocitosis y diferenciación entre PMN's y linfocitos), concentración de glucosa y proteínas, tinción de GRAM y cultivo para la caracterización de bacterias (Gray & Fedorko, 1992).

- **Programa extendido:** el programa extendido para el estudio de patologías del sistema nervioso central (SNC) incluye un análisis más completo que abarca diversos parámetros clínicos. Entre ellos destacan la concentración de lactato, los índices de inmunoglobulina G (IgG), la relación entre IgG y albúmina, así como el estudio de bandas oligoclonales. También se examinan marcadores tumorales y proteínas derivadas del cerebro, como la proteína Tau o la enolasa, que son útiles en el diagnóstico de enfermedades neurológicas específicas (Van Everbroeck et al., 1999). Este enfoque integral permite detectar alteraciones en el SNC que pueden deberse a infecciones, enfermedades autoinmunes o procesos tumorales. Además, el uso de IA específicos cobra importancia cuando se sospecha que microorganismo patógeno está implicado en la infección. Este parámetro facilita la identificación del agente causante de la enfermedad, lo que a su vez contribuye a seleccionar el tratamiento más adecuado. La historia clínica del paciente también es un componente esencial de este análisis, ya que permite realizar un diagnóstico diferencial más preciso (Reiber & Peter, 2001). Por otra parte, el empleo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utiliza como método complementario, especialmente en casos de encefalitis provocada por el virus del Herpes simple (Cinque et al., 1996) o infecciones oportunistas como las de *Cytomegalovirus* o *Toxoplasma* (Reiber, 1998).

El análisis del LCR es una herramienta clave para el diagnóstico preciso de neuropatías infecciosas del SNC. En particular, resulta crucial en el estudio de enfermedades como la encefalitis y la meningitis, donde determinar si la causa es viral o bacteriana permite aplicar el tratamiento correcto. Un diagnóstico temprano, que distinga entre ambos tipos de infección, es fundamental para mejorar el pronóstico de la enfermedad, ya que una intervención rápida puede reducir significativamente las complicaciones.

En individuos sanos, las concentraciones de proteínas en el LCR y el suero se encuentran en equilibrio. Sin embargo, este balance puede verse alterado por infecciones, reacciones autoinmunes o cualquier proceso patológico que perturbe la homeostasis de estos fluidos corporales. Un análisis detallado del LCR permite identificar estas alteraciones, lo que es esencial para el diagnóstico.

En la **Tabla 3**, se recogen los valores típicos observados en el LCR durante diversas patologías, y se comparan con los rangos de referencia normales (Beaman, 2018). Esta información facilita a los médicos identificar anomalías que pueden ser indicativas de infecciones o procesos autoinmunes, guiando el proceso diagnóstico.

Tabla 3. Meningitis y encefalitis agudas adquiridas en la comunidad (Tabla modificada de Beaman, 2018).

PARÁMETRO	RANGO DE REFERENCIA	MENINGITIS BACTERIANA	MENINGITIS VIRAL	ENCEFALITIS
Tinción de Gram	N/A ¹	Positivo en 25 - 90% de los casos	Negativo	Negativo
Recuento de glóbulos blancos	0 - 5 x 10 ⁶ /L	>2000 x 10 ⁶ /L (neutrófilos dominantes)	5-1000 x 10 ⁶ /L (linfocitos predominantes)	5-1000 x 10 ⁶ /L (linfocitos predominantes)
Proteínas	0.15 - 0.5 g/L	>2.2 g/L	0.5-1 g/L	0.5 - 1 g/L
Glucosa	2.5 - 4.4 mmol/L LCR/suero > 0.6	<1.9 mmol/L LCR/suero <0.23	Normal	>2.7 mmol/L
PCR	N/A ¹	Útil antes de terapia antibiótica	Se requiere investigación	Se requiere investigación
Cultivo celular	N/A ¹	Positivo en 50 - 96% de los casos	Negativo	Positivo para bacterias y hongos.

De entre los distintos marcadores que aparecen en la **Tabla 3** encontramos dos que son usados rutinariamente para diferenciar si se trata de una infección con etiología viral o bacteriana. Estos marcadores son la concentración de glucosa y la de proteínas. Los agentes virales no usan la glucosa como parte de su metabolismo, cosa que sí hacen las bacterias y algunos hongos. En el caso de las proteínas, en las infecciones causadas por virus, el valor suele encontrarse dentro de la normalidad, esto puede deberse a la forma en la que los virus generan el proceso infeccioso ya que esta respuesta suele ser menos intensa que la que se produce frente a una infección bacteriana y dirigida principalmente a los linfocitos no generándose un efecto llamado al resto de células inmunitarias tan intenso como el que se produce en las infecciones bacterianas, además de presentar una menor severidad durante el proceso inflamatorio.

1.7.2 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico de este tipo de las neuropatías infecciosas del SNC no es sencillo. Muchas de ellas comparten los mismos signos y síntomas clínicos aun cuando estas son producidas por distintos agentes etiológicos.

¹ El término N/A hace referencia a que no existe un rango de referencia con respecto a la técnica aplicada.

Debido a esto, lo más correcto para abordar este tipo de diagnóstico es llevar a cabo un diagnóstico diferencial. Para ello se realizan una serie de pruebas diagnósticas tales como el examen visual del LCR, estudio bioquímico, estudio citológico, estudio microbiológico, PCR, uso de escala de Boyer, detección de inmunoglobulinas, prueba MRZ, índice de Tibbling y la evaluación de los diagramas de Reiber. Clasificar correctamente este tipo de infecciones es fundamental, ya que las decisiones terapéuticas van a depender de ello (Quagliariello & Scheld, 1993) así como las consecuencias económicas y sociales que este tipo de infecciones pueden acarrear (Negrini et al., 2000).

1.7.2.1 EXAMEN VISUAL DEL LCR

El LCR es un líquido incoloro, por lo que cualquier cambio en su composición puede modificar su aspecto e indicar la posible etiología de la infección. Esta inspección visual puede dar información importante como la siguiente:

- **Turbidez del LCR:** cuando aparece turbidez, esto nos puede indicar que el proceso infeccioso tiene una etiología bacteriana. Una mayor turbidez de las muestras de LCR podría estar asociada a un aumento del contenido celular (pleocitosis²). El recuento normal de células en LCR debe estar entre 0 – 5 células/ μ L. Por encima de este valor, se puede empezar a sospechar que hay algún tipo de alteración.
- **Color alterado del LCR:** un cambio en la coloración normal del LCR, puede indicar posibles patologías como hemorragias subaracnoideas donde el LCR adquiere una tonalidad rojiza (xantocromía) producida por la presencia de glóbulos rojos. Este tipo de coloración, también se produce en punciones lumbares traumáticas donde algún capilar sanguíneo se daña durante la punción. Si el LCR se va aclarando conforme es obtenido, podríamos pensar que durante la punción algún vaso sanguíneo se vio afectado. Si, por el contrario, el LCR no se va aclarando durante la extracción, esto nos estaría indicando que estamos ante una posible hemorragia subaracnoidea. Finalmente, si la coloración de este LCR es amarilla-anaranjada, se podría estar ante una hemorragia en estado avanzado.

² El término pleocitosis hace referencia a un aumento del número de células en un fluido corporal, particularmente se refiere a un aumento en la concentración de glóbulos blancos

1.7.2.2 ESTUDIO BIOQUÍMICO

El estudio bioquímico puede dar indicios de si estamos frente a un proceso de etiología viral o bacteriana. En este tipo de estudios, lo que se analiza sobre todo es el contenido en glucosa y proteínas además de la concentración de leucocitos por microlitro, como se muestra en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Interpretación de los parámetros bioquímicos en LCR (Reguera, 2014).

INFECCIÓN	LEUCOCITOS/ μ L	PROTEÍNAS (MG/DL)	GLUCOSA (MG/DL)
Bacteriana	50-30.000 (PMN)	>100	<40
Viral	< 500 linfocitos	<100	Normal
Tuberculosa	25-100 linfocitos	>100	<40
Hongos	50-500 linfocitos	>100	Normal o <40
Herpética	0-500 linfocitos	60-200	Normal o <40
Absceso cerebral	100-200 linfocitos/PMN	>100	Normal
Válvula de derivación	-	>100	Normal o <40

1.7.2.3 ESTUDIO CITOLÓGICO DEL LCR

En este tipo de estudio, las diferentes células que pueden aparecer en el SNC son evaluadas (leucocitos, hematíes y otras células inmunitarias). Puesto que el estudio citológico es de gran relevancia, este deber ser lo más objetivo posible. Por tanto, hay que tener en cuenta que durante la extracción del LCR, se puede producir un pequeño sangrado al verse comprometido algún vaso sanguíneo durante la punción, apareciendo algunas células derivadas de esta rotura en la muestra.

Este estudio citológico, además de darnos información de los constituyentes del LCR, también nos pueden dar indicación de posibles complicaciones debidas a microorganismos infecciosos como se muestra en la **Tabla 5** en la siguiente página.

Tabla 5. Constituyentes en LCR según el tipo de infección (Wright et al., 2012).

PARÁMETRO	NORMAL	VIRAL	BACTERIANA	FÚNGICA	TUBERCULOSA
Apariencia	Clara	Clara/opaca	Turbidez	Clara	Clara/opaca
Glóbulos blancos (mm ³)	0-5	10-2.000	100-60.000	20-500	50-5.000
Diferenciación celular	Linfocitos monocitos	Predominancia de linfocitos	Predominancia de PMNs	Predominancia de linfocitos	Predominancia de linfocitos
Proteínas (g/l)	<0.5	0.5-0.9	>0.9 (1.0-5.0)	>0.5 (0.5-5.0)	>1.0 (1-5)
Ratio LCR/suero para glucosa (60% de la glucemia)	-	Normal	Bajo	Ligeramente bajo	Bajo

1.7.2.4 ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL LCR

Son muchas las pruebas que se pueden realizar usando el LCR como muestra diagnóstica. Algunas de ellas generan un resultado de forma rápida mientras que otras requieren de un mayor tiempo y experiencia para llevarlas a cabo (Spreer & Nau, 2015).

Entre las técnicas microbiológicas más usadas destacan las siguientes:

- **Tinciones:** tinción de Gram, tinción de Ziehl-Neelsen y tinción con tinta china.
- **Cultivo celular:** el cultivo de virus usando líneas celulares tiene la limitación de ser una técnica generalmente lenta y no siempre viable.
- **Detección de antígeno:** la técnica utilizada normalmente es la aglutinación, la cual presenta una baja sensibilidad frente a la detección de este tipo de patologías.
- **PCR:** técnica que presenta una alta sensibilidad y especificidad. El inconveniente es su coste y la necesidad de conocimientos para realizar la técnica.
- **Serología:** técnica con alta sensibilidad y especificidad. Necesita tiempo para que el paciente haya generado una respuesta inmune frente al patógeno.

1.7.2.5 LA ESCALA DE BOYER

Distinguir entre la etiología viral o bacteriana de las neuropatías infecciosas del SNC no es fácil sin usar el cultivo viral (Feigin et al., 1992). En 1980 Thomé y Boyer diseñaron una escala que podía servir como alternativa para distinguir las meningitis bacterianas de las virales. Esta escala se sigue usando hoy en día con buenos resultados. La escala de Boyer establece una puntuación según los datos clínicos y los analíticos enfrentándonos a diferentes casos como se muestra en la **Tabla 6** (Pérez Martínez et al., 2001).

Tabla 6. Diagnóstico diferencial usando escala de Boyer (Pérez Martínez et al., 2001).

SINTOMAS	PUNTUACIÓN		
	0	1	2
Temperatura	<39,5°C	>39,5°C	-
Petequias/púrpuras	Ausentes	-	Presentes
Coma/convulsiones/obnubilación	Ausentes	Presentes	-
Proteinorraquia (g/L)	<0,9	0,9 – 1,4	>1,4
Glucorraquia (g/L)	>0,35	0,2 – 0,35	<0,2
Leucocitos/ μ L en LCR	<1000	1000 – 4000	>4000
PMN (%) en LCR	<60	>60	-
Leucocitos/ μ L en sangre	<15000	>15000	-

Valoración de la puntuación según la escala de Boyer:

- **Mayor de 5 puntos:** aplicar tratamiento antibiótico inmediato.
- **Entre 3 – 4 puntos:** aplicar tratamiento antibiótico inmediato o si el estado clínico es bueno, esperar a los resultados del cultivo.
- **Menor de 3 puntos:** no tratar con antibióticos.

Hay situaciones específicas donde esta escala no debe ser usada pues este método puede dar lugar a un diagnóstico incorrecto. Estas situaciones son las que se presentan a continuación:

- Recién nacidos.
- Pacientes con sepsis.
- Niños sometidos a cirugía del SNC.
- Meningitis tuberculosa.
- Niños con tratamiento antibiótico en las últimas 24 - 48 horas.

Para el resto de pacientes con sintomatología compatible con neuropatías infecciosas del SNC, la escala de Boyer supone otro aporte adicional en el diagnóstico diferencial.

1.7.2.6 BANDAS OLIGOCLONALES EN LCR

Las bandas oligoclonales (BOC) detectadas en LCR corresponden a inmunoglobulinas de tipo IgG, que sugieren la síntesis intratecal de este tipo de inmunoglobulina debido a un proceso inflamatorio (Cabrera, 2022). Estas bandas son detectadas por isoelectroenfoque y tras ello una inmunofijación (Berek et al., 2020). Ambas técnicas, son hoy en día el estándar de oro para determinar la producción intratecal de inmunoglobulina IgG. Este tipo de bandas son indicativas de inflamación crónica o proceso post-inflamatorio tras una infección del SNC. No obstante, dichas bandas pueden aparecer en otros procesos inflamatorios, como la EM (Thompson et al., 2018). Una vez llevada a cabo la técnica de isoelectroenfoque donde las muestras se ensayan en un gel de agarosa con un gradiente de pH, estas son transferidas a una membrana de nitrocelulosa por electrotransferencia. Más tarde, usando como se ha mencionado la técnica de inmunofijación, las muestras son ensayadas para detectar la presencia de este tipo de bandas que corresponden a la presencia o no de inmunoglobulinas de tipo IgG. El resultado de esta prueba puede ser positivo, indicando la presencia de bandas en el LCR o negativo por ausencia de las mismas.

No obstante, la interpretación es más compleja ya que existen cinco patrones según el consenso internacional para la detección de bandas oligoclonales de IgG como se muestra en la **Figura 5** (Andersson et al., 1994).

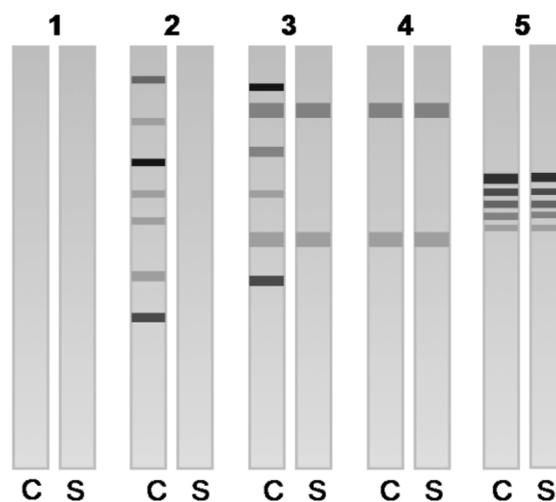


Figura 5. Tipos de patrones de focalización isoelectrica en geles de agarosa. La letra C hace referencia al líquido cefalorraquídeo (*Cerebro spinal fluid*) y la S corresponde al suero (*Serum*) (Bonnan, 2016).

Tipo 1: no hay presencia de bandas oligoclonales (BOC) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) ni en el suero (patrón normal).

Tipo 2: BOC restringidas al LCR, ausentes en el suero. Indica una producción de inmunoglobulinas de baja intensidad en el sistema nervioso central (SNC). Patrón típico en la EM.

Tipo 3: BOC idénticas tanto en el suero como en el LCR, con bandas adicionales en el LCR. Patrón observado durante la síntesis sistémica asociada con la síntesis intratecal. Se observa en la EM.

Tipo 4: BOC en el LCR que reflejan las del suero. Indica una síntesis sistémica de IgG y transferencia pasiva de BOC desde la sangre al LCR, sin síntesis local. Desde un punto de vista puramente teórico, una baja síntesis local con clones de células B similares no se puede discernir completamente en esta situación.

Tipo 5: BOC idénticas tanto en el suero como en el LCR de tipo escalonado, típicamente asociadas con proteínas de IgG monoclonales. Síntesis periférica de IgG sin síntesis local.

En cuanto a la detección de bandas oligoclonales correspondientes a inmunoglobulinas de las clases IgA e IgM es posible, aunque se consideran menos sensibles cuando se usa la técnica de isoelectroenfoque (Sindic et al., 1994).

1.7.2.7 DIAGRAMAS DE REIBER

Los diagramas de Reiber son una herramienta muy importante para conocer el estado de la barrera hematoencefálica y detectar si hay una síntesis intratecal de anticuerpos. Estos diagramas, unidos a la historia clínica del paciente y técnicas de laboratorio adicionales, pueden ayudar a establecer la posible causa de la infección para así aplicar el tratamiento adecuado.

Los diagramas de Reiber son generados a partir de la representación gráfica de la fórmula propuesta por Reiber y Felgenhauer (Contreras, 2005).

$$SIT_{IgG} \left(\frac{mg}{L} \right) = \left\{ \frac{IgG_{LCR}}{IgG_{suero}} - \left[0.8 \cdot \left(2 \cdot \frac{Alb_{LCR}}{Alb_{suero}} + 15 + 1.8 \right) \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \cdot IgG_{suero}$$

En la fórmula de arriba, IgG_{LCR} corresponde a la concentración de inmunoglobulina IgG en la muestra de LCR, IgG_{suero} es la concentración de inmunoglobulina tipo IgG en suero, Alb_{LCR} es la concentración de albúmina en muestra LCR y Alb_{suero} es la concentración de albúmina en suero.

En la **Figura 6** se presentan los diagramas de Reiber para las clases de inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM.

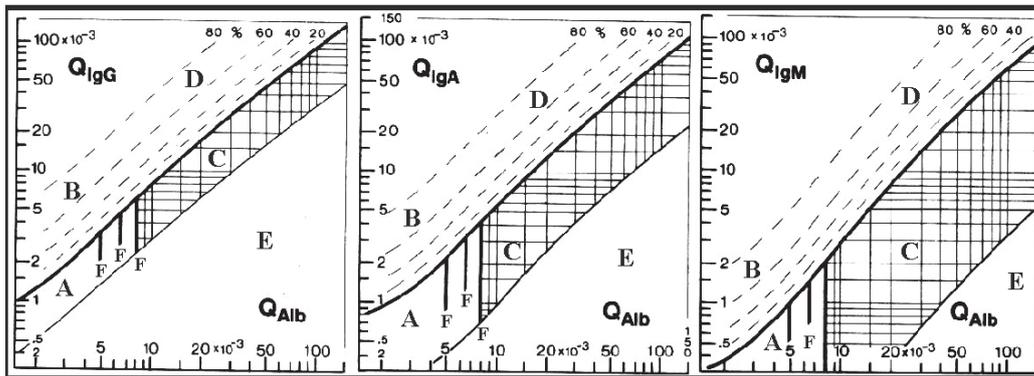


Figura 6. Diagramas de Reiber para las distintas clases de inmunoglobulinas (Reiber & Peter, 2001).

En estos gráficos podemos distinguir diferentes elementos:

1. Las líneas verticales marcadas en negro, muestran la proporción de albúmina según la edad siguiendo la siguiente fórmula:

$$Q_{alb} = \left(4 + \frac{edad}{15}\right) \cdot 10^{-3}$$

Los rangos de edad correspondientes a estas tres líneas verticales son los siguientes:

- $Q_{alb} = 5 \times 10^{-3}$ (valor hasta los 15 años)
 - $Q_{alb} = 6,5 \times 10^{-3}$ (valor hasta los 40 años)
 - $Q_{alb} = 8 \times 10^{-3}$ (valor hasta los 60 años)
2. La línea hiperbólica destacada en negro, separa el rango de referencia (producción de inmunoglobulinas) de la fracción derivada de la sangre, que se situaría por debajo de esta y la fracción derivada de la síntesis intratecal que se situaría por encima de la línea. Esta función hiperbólica se introdujo tras el análisis de 4.300 sujetos para hacer una discriminación entre síntesis intratecal de anticuerpos y anticuerpos derivados de la fracción sanguínea (Reiber & Peter, 2001).
 3. Los rangos de referencia para los cocientes entre LCR y suero se apoyan en la línea discriminadora superior más oscura denominada Q_{limite} (límite superior) y la más tenue llamada Q_{low} (límite inferior).

Hay que tener en cuenta que los componentes que forman el LCR son muy similares a los de la sangre, por lo que se recomienda que los valores de LCR sean comparados con los encontrados a nivel sanguíneo en una muestra obtenida simultáneamente. Dentro de los constituyentes proteicos del LCR hay que destacar la presencia de dos, como son la albúmina y la inmunoglobulina IgG. La albúmina es una de las proteínas más abundantes en la sangre. Esta se sintetiza en el hígado y sus funciones prioritarias son la reguladora y transportadora. Al ser sintetizada en el hígado, su presencia en LCR sólo es debida a su difusión pasiva a través de la barrera hematoencefálica. En este caso, el cociente entre LCR y suero, puede ayudar a entender si la concentración de albúmina que encontramos en LCR presenta valores normales o no.

Lo mismo ocurre con la inmunoglobulina IgG. A diferencia de otras moléculas más grandes, como las inmunoglobulinas IgM, las inmunoglobulinas IgG difunden muy lentamente a través de los capilares de la barrera hematoencefálica, donde un incremento en la concentración de IgG puede ser debido a dos razones, bien por una disfunción de la barrera hematoencefálica o por una producción intratecal de esta inmunoglobulina (Reiber & Peter, 2001).

En estos casos se usan dos cocientes distintos para ver esta relación:

$$Q_{IgG} = \frac{IgG\ LCR}{IgG\ suero}$$

$$Q_{Alb} = \frac{Alb\ LCR}{Alb\ suero}$$

Por otro lado, hay que destacar que los diagramas de Reiber están basados en funciones hiperbólicas y usan escalas logarítmicas que cubren los rangos de valores más frecuentes:

- $Q_{alb}: 1.5 \times 10^{-3} - 150 \times 10^{-3}$
- $Q_{IgG}: 0.3 \times 10^{-3} - 150 \times 10^{-3}$

Las líneas punteadas que aparecen en la **Figura 7** indican la magnitud de la fracción sintetizada intratecalmente (IF= 20, 40, 60, 80%) y estas se calculan teniendo en cuenta que Q_{limite} en condiciones normales equivale al 0%.

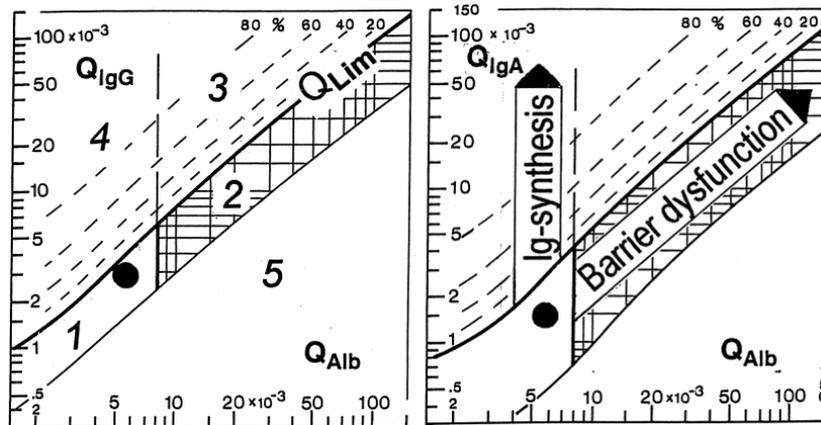


Figura 7. Áreas de los diagramas de Reiber y significación (Reiber, 1994).

La función hiperbólica que se sigue para establecer el rango de referencia es la siguiente:

$$Q_{IgG} = \frac{a}{b} \sqrt{Q_{alb}b^2 + b^2 - c}$$

Los valores de a/b , b^2 , c fueron establecidos por Reiber (Reiber, 1994). Esta función permite la corrección de aquellas proteínas que, por rotura de la barrera hematoencefálica, pasan al LCR, difundiéndose de una manera mucho más fácil. La cantidad de inmunoglobulina IgG presente en LCR puede ser expresada de dos formas, una respecto a la concentración total que aparece en ese líquido biológico a nivel local (IgG_{loc}) y otra, como porcentaje de cuanta de esa inmunoglobulina es producida intratecalmente (fracción intratecal - F_{Ilg}) (Link & Huang, 2006). Puesto que la proporción de inmunoglobulina local depende mucho del estado de la barrera hematoencefálica, para los análisis de rutina, el cálculo de la fracción intratecal (F_{Ilg}) es más recomendable ya que es independiente de la velocidad a la que se produce el LCR.

El diagrama de Reiber consta de 5 áreas que tienen una interpretación distinta dependiendo de la relación entre Q_{alb} y Q_{IgG} como se muestra en la anterior **Figura 7** (Reiber, 1994).

Zona 1: se trata de la zona que está comprendida entre los límites de la línea superior denominada Q_{limite} y la línea inferior Q_{low} . El área de esta zona va a estar delimitada por el valor de Q_{alb} y se relaciona con la edad del paciente según la fórmula vista anteriormente:

$$Q_{alb} = \left(4 + \frac{edad}{15}\right) \cdot 10^{-3}$$

La interpretación de esta zona es que no existe síntesis intratecal de inmunoglobulinas y tampoco hay disfunción de la barrera hematoencefálica.

Zona 2: se trata de la zona que está comprendida entre los límites de la línea superior denominada $Q_{límite}$ y la línea inferior Q_{low} . A diferencia de la zona 1, este área solo abarca los valores de Q_{alb} por encima del valor normal en relación a la edad del paciente. La interpretación de esta zona es que no existe síntesis intratecal de inmunoglobulinas, pero si hay una disfunción de la barrera hematoencefálica, con el consiguiente acúmulo de albúmina en el LCR.

Zona 3: esta zona se encuentra por encima del valor normal de Q_{alb} en relación con la edad del paciente y por encima de $Q_{límite}$. La interpretación cuando nos encontramos en esta zona, hace alusión a una síntesis intratecal de inmunoglobulinas y una disfunción de la barrera hematoencefálica.

Zona 4: esta zona se encuentra limitada por el valor de Q_{alb} normal para la edad del paciente y por encima del valor de $Q_{límite}$. Esto significa que existe una síntesis intratecal de inmunoglobulinas pero que no hay una disfunción de la barrera hematoencefálica.

Zona 5: se trata de una zona que no tiene significado biológico. Cuando nos encontramos en esta zona, la razón puede ser debida a un error en los procedimientos para cuantificar la albúmina o inmunoglobulina, un error a la hora de llevar a cabo la técnica o a un desfase en la recogida de la muestra entre LCR y suero (debe ser inferior a 6 horas en adultos y 2 horas en niños). Esta zona permite detectar errores metodológicos que, de otra manera, llevarían a diagnósticos erróneos.

1.7.2.8 ÍNDICE DE TIBBLING

El índice de Tibbling o índice de IgG se usa para detectar afectaciones del SNC. Se sabe que en pacientes con EM hay una síntesis crónica de anticuerpos de tipo IgG. Esto se conoce desde los años 50 como la hipótesis de Kabat (Kabat & Freedman, 1950). Estas inmunoglobulinas pueden ser detectadas por isoelectroenfoque y luego inmunofijación. Este tipo de análisis cuantitativo de IgG es llevado a cabo de manera rutinaria en todo el mundo para pacientes con sospecha de esclerosis múltiple (Freedman et al., 2005).

Para el cálculo de este índice se usa la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Tibbling} = \frac{\text{IgG LCR}}{\text{IgG suero}} / \frac{\text{Albúmina LCR}}{\text{Albúmina suero}}$$

El criterio para establecer si un paciente presenta o no sospecha de EM es el siguiente (Link & Tibbling, 1977).

- **Índice de Tibbling < 0.5** → Índice no patológico para EM.
- **Índice de Tibbling 0.5 – 0.6** → Índice sugestivo de EM.
- **Índice de Tibbling > 0.6** → Índice patológico para EM.

El uso de este marcador en casos donde haya una sospecha de EM, puede ser complementado con otros marcadores como el índice de anticuerpos, imágenes de resonancia magnética o uso de los criterios de McDonald 2017, estableciéndose como una herramienta útil en el diagnóstico diferencial de este tipo de patologías.

1.7.2.9 SÍNTESIS INTRATECAL DE ANTICUERPOS

Existen zonas en el cuerpo llamadas “zonas de privilegio inmunológico” donde la aparición de anticuerpos podría estar indicando la presencia de una posible infección por un agente externo (Shamier et al., 2021). El espacio subaracnoideo, lugar donde encontramos el LCR, sería una de estas zonas.

Una herramienta útil para detectar infecciones del SNC cuando no es posible la detección directa del patógeno es el índice intratecal de anticuerpos (IA). El cálculo de este IA, comienza con la cuantificación de los anticuerpos totales y específicos, por lo que, cuando se habla de IA, se estaría haciendo referencia al cociente entre los anticuerpos específicos encontrados en LCR y suero (Q_{esp}) y las inmunoglobulinas totales encontradas en LCR y suero (Q_{IgG}).

$$\text{Índice de anticuerpos} = Q_{esp} / Q_{IgG}$$

Los anticuerpos que encontramos en el LCR pueden tener dos orígenes:

1. **Derivados de la fracción cerebral:** producidos por linfocitos B perivasculares.
2. **Derivados de la fracción sanguínea:** los cuales son el resultado de la difusión pasiva a través de la barrera hematoencefálica.

Se sabe que el principal modulador de la concentración de este tipo de componentes en el LCR es la tasa de flujo del LCR. Una disminución de la tasa de flujo va a provocar un aumento de la concentración de los derivados de la fracción sanguínea (Reiber & Peter, 2001). Por lo tanto, para el cálculo del índice intratecal de anticuerpos hay que tener en cuenta tanto la concentración de albúmina como de anticuerpos y su procedencia. En este aspecto, la albúmina juega un papel muy importante, ya que, al ser producida exclusivamente en el hígado, nos permite cuantificar y establecer si la cantidad que presenta un paciente está dentro de la normalidad.

No obstante, existen situaciones donde enfermedades inflamatorias del SNC como la EM y otras enfermedades autoinmunes, pueden estar acompañadas de una síntesis intratecal de anticuerpos poliespecíficos. En estos casos, la concentración de inmunoglobulina total en el LCR se ve incrementada ya que, a la cantidad de inmunoglobulinas sintetizadas intratecalmente, se le adiciona la cantidad de anticuerpos poliespecíficos que pasan al LCR por difusión provenientes del plasma.

En estas situaciones, el cociente entre las inmunoglobulinas totales en LCR y suero se ve incrementado y por tanto ya no puede ser usado como una referencia para el cálculo del índice de anticuerpos. En el caso particular de la EM, los pacientes tienen además un resultado positivo para al menos dos de los tres virus mencionados a continuación como son el virus del sarampión, virus de la rubeola y el virus de la varicela (Feki et al., 2018). Esta sería otra consideración a tener en cuenta a la hora de realizar el diagnóstico de este tipo de patologías.

En estos casos, para reconocer esta síntesis intratecal de anticuerpos poliespecíficos, se usa el cociente de $Q_{\text{límite}}$. La fórmula para el cálculo de $Q_{\text{límite}}$ deriva de una función hiperbólica entre Q_{alb} y Q_{IgG} donde se representa una discriminación entre las dos fracciones mencionadas anteriormente, fracción sanguínea y fracción cerebral, en este caso, tomando como referencia que hay un alto grado de afectación de la barrera hematoencefálica (Reiber & Peter, 2001).

El cálculo se basa también en las constantes de difusión específicas de cada inmunoglobulina:

$$Q_{\text{límite IgG}} = 0.93 \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 6 \cdot 10^{-6}} - 1.7 \cdot 10^{-3}$$

$$Q_{\text{límite IgM}} = 0.67 \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 120 \cdot 10^{-6}} - 7.1 \cdot 10^{-3}$$

$$Q_{\text{límite IgA}} = 0.77 \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 23 \cdot 10^{-6}} - 3.1 \cdot 10^{-3}$$

Se puede considerar que cuando la concentración de anticuerpos totales es superior a la establecida por $Q_{\text{límite}}$ hay una síntesis intratecal de anticuerpos policlonales. Por otro lado, para el cálculo de los anticuerpos específicos se tiene en cuenta la relación entre los anticuerpos sintetizados intratecalmente y la cantidad de anticuerpos en suero (Reiber & Lange, 1991).

$$Q_{\text{esp}} = \frac{IgG_{\text{LCR}}}{IgG_{\text{suero}}}$$

Basándose en la relación entre Q_{IgG} y $Q_{\text{límite}}$, el IA se calcula de la siguiente forma:

INTRODUCCIÓN

- Si $Q_{IgG} > Q_{límite} \rightarrow$ Índice de anticuerpos = $Q_{específico}/Q_{límite}$
- Si $Q_{IgG} < Q_{límite} \rightarrow$ Índice de anticuerpos = $Q_{específico}/Q_{IgG}$

Dependiendo de la exactitud del método de diagnóstico, se establecen los siguientes rangos (Felgenhauer & Reiber, 1992).

- **Índice de anticuerpos < 0,7** \rightarrow Error en el desarrollo de la técnica.
- **Índice de anticuerpos 0.7 – 1.3** \rightarrow Valor normal.
- **Índice de anticuerpos > 1.5** \rightarrow Valor patológico (síntesis intratecal de anticuerpos).

1.7.2.10 LAS TECNICAS DE QUIMIOLUMINISCENCIA

Una técnica usada para el diagnóstico diferencial y que tendrá un peso muy importante en este estudio, es la quimioluminiscencia. Se trata de un inmunoensayo donde el revelador de la reacción es una molécula luminiscente que tiene una emisión de luminiscencia entre 300 – 800 nanómetros. Tras la reacción inmunológica lo que se obtiene son fotones de luz, los cuales son interpretados como unidades relativas de luminiscencia (RLU). Estas RLU corresponden a una medida usada en la ciencia y la tecnología para cuantificar la intensidad de luminiscencia de una sustancia. Se trata de una medida relativa y sin unidades absolutas, lo que significa que no tiene una correspondencia directa con una unidad de medida establecida.

Los métodos que usan quimioluminiscencia pueden ser de dos tipos:

1. **Directos:** usan un marcador luminiscente.
2. **Indirectos:** usan como marcador una enzima.

Mientras que en los métodos directos, el marcador luminiscente suele ser un éster de acridinio o rutenio, en los métodos indirectos se usan fosfatasas alcalinas con 1-adamantil, 2-dioxetano aril fosfato como substrato (AMPPD) o peroxidasa de rábano con luminol como substrato.

La técnica de quimioluminiscencia tiene características que no están presentes en otros métodos usados a diario en los laboratorios clínicos como son los enzoinmunoensayos, en particular, el ensayo de ELISA. Algunas de las ventajas que ofrece la quimioluminiscencia es presentar una alta sensibilidad y especificidad, tener un alto grado de automatización, reducir los tiempos de ensayo y ofrecer la posibilidad de realizar un gran número de test, incluyendo diferentes marcadores en un tiempo reducido (The Immunoassay Handbook, 2013). Todo esto tiene un impacto muy beneficioso en el flujo de trabajo, organización y gasto económico de los laboratorios clínicos.

Otra de las ventajas de esta técnica es que permite la detección de concentraciones de anticuerpos extremadamente bajas o altas gracias a su mayor rango dinámico (Cinquanta et al., 2017). Estas características, unidas al uso de plataformas automatizadas, hacen que la técnica de quimioluminiscencia sea una solución eficiente para los laboratorios que requieren bajos tiempos de ejecución (30 – 40 minutos) en comparación con otras técnicas como los ensayos de ELISA (90 minutos) o ensayos de inmunofluorescencia (120 – 150 minutos).

Además, el analizador automatizado donde se llevan a cabo los ensayos está controlado por programas informáticos avanzados que permiten tener trazabilidad de todas las fases del proceso analítico, incluyendo puntos de control importantes, como interpretación de controles durante el ensayo e identificación positiva de la muestra del paciente. Todas estas características van a permitir que los ensayos de quimioluminiscencia se presenten como un candidato muy adecuado como método de referencia en los laboratorios de análisis clínicos.

1.7.2.11 REACCIÓN MRZ

El estudio del LCR puede ser usado tanto para diagnosticar patologías infecciosas como no infecciosas del SNC. En este último caso, la detección de anticuerpos intratecales puede ayudar al diagnóstico de estas patologías del SNC, aunque su etiología no sea provocada por agentes externos.

Desde hace mucho tiempo se sabe que la mayoría de los pacientes que presentan EM, muestran una respuesta inmune intratecal poliespecífica frente a una gran variedad de patógenos con características neurotrópicas. Entre estos patógenos encontramos como más frecuentes los virus del sarampión, varicela y rubeola (Feki et al., 2018).

Según varios estudios, la positividad de una muestra de un paciente con sospecha de EM frente a dos de los tres parámetros mencionados como son el sarampión, varicela y rubeola aumenta en gran medida la probabilidad de presentar esta enfermedad. Es por ello que hoy en día la llamada “reacción MRZ” (Measles, Rubella y Zoster) es uno de los marcadores más específicos para el diagnóstico (Jarius et al., 2017).

Esta respuesta frente a estos tres agentes virales, sugiere la activación inespecífica de linfocitos B, o más recientemente, el apoyo a la teoría de que los linfocitos B secretores de IgG se transforman en linfocitos inmortales debido a una infección del paciente por el virus del Epstein-Barr, cronificando de esta manera la producción de IgG (Markus Reind, 2012).

La importancia diagnóstica de este marcador necesita de más estudios que avalen su sensibilidad y especificidad, no obstante, su importancia sí que se ha visto evaluada en diversas ocasiones por paneles de expertos, como en la revisión de los criterios diagnósticos de McDonald (Tumani et al., 2011). Es por ello que a lo largo de este trabajo, la reacción MRZ será otro de los puntos a evaluar durante el diagnóstico diferencial de pacientes con posibles neuropatías infecciosas del SNC.

1.7.3 PROBLEMÁTICA ACTUAL EN EL DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS Y ENCEFALITIS

Una vez conocidas las estructuras corporales involucradas en las neuropatías infecciosas del SNC, conocidos los agentes etiológicos, formas de invasión y además, los métodos usados para su diagnóstico, tenemos que saber cuáles son las dificultades y desafíos a los que nos enfrentamos en el diagnóstico de esta patologías y la importancia para reducir la mortalidad y morbilidad de las mismas.

1. **Gravedad y urgencia en el diagnóstico de estas patologías:** las neuropatías infecciosas del SNC como la meningitis y la encefalitis, pueden causar serios daños neurológicos a largo plazo e incluso la muerte de la persona afectada. Es por ello que la rapidez en el diagnóstico de este tipo de infecciones es fundamental para poder instaurar el tratamiento adecuado, ya sea farmacológico o de soporte adecuado y aumentar la probabilidad de recuperación del paciente. Los retrasos que se produzcan o la aplicación de un tratamiento inadecuado, aumentará dramáticamente la mortalidad y morbilidad asociada a este tipo de infecciones (Hanson, 2016).
2. **Desafíos en el diagnóstico:** debido al elevado número de microorganismos que pueden dar lugar a este tipo de neuropatías infecciosas del SNC, incluyendo bacterias, hongos, virus, protozoos, parásitos y helmintos y a que la sintomatología como fiebre, dolor de cabeza, náuseas, rigidez de cuello es común a otras enfermedades, hace que el diagnóstico de este tipo de neuropatías no sea fácil y que requiera de un enfoque multifactorial a la hora de llevarlo a cabo. Actualmente, las técnicas moleculares han supuesto una gran mejora en el diagnóstico rápido y certero de estas infecciones. No obstante, existen determinadas circunstancias donde la sensibilidad y especificidad de este tipo de técnicas se ve mermada y es por ello que la serología sigue siendo una técnica de diagnóstico fundamental en este tipo de infecciones donde los anticuerpos pueden ser clave en el diagnóstico (Nesher et al., 2016).

3. **Importancia de mejorar el diagnóstico de estas infecciones:** debido a la carga clínica (mortalidad y morbilidad) y carga económica, es muy importante intentar mejorar en la precisión y la rapidez con la que se diagnostican estas infecciones. Para ello, es muy importante abordar las mismas usando técnicas de diagnóstico molecular, técnicas serológicas y técnicas de imagen para asegurarnos una mejor cobertura de todos los microorganismos que pueden causar estas patologías. Cuanto más rápido y preciso sea el diagnóstico, mejor será la terapia aplicada al paciente y aumentarán las posibilidades de recuperación sin secuelas a la vez que disminuirá el coste público destinado a la hospitalización del paciente (Navarro Mari et al., 2010).
4. **Impacto económico en la salud pública:** una mejora en el diagnóstico va a tener repercusiones en la salud pública además de efectos directos sobre los pacientes. El hecho de que se emitan diagnósticos más rápidos y precisos que limiten las hospitalizaciones prolongadas de los pacientes, supondrá una reducción en el coste público destinado a este tipo de cuidados, pudiendo destinar ese presupuesto a otros usos como mejora de tratamientos en aquellos pacientes que hayan quedado con secuelas o ampliación del catálogo de técnicas diagnósticas usadas para la detección de agentes infecciosos en este tipo de neuropatías. Esta reducción en el gasto público podría permitir además, el uso de técnicas cada vez más automatizadas, permitiendo que hospitales y centros médicos de diferentes perfiles de actividad y complejidad puedan tener acceso al diagnóstico de este tipo de neuropatías infecciosas (Pulido et al., 2018).

En resumen, los desafíos que nos encontramos en el diagnóstico de las neuropatías infecciosas del SNC radican en la necesidad de un diagnóstico rápido y certero para mejorar las posibilidades de supervivencia de estos pacientes a la vez reducimos las secuelas que pueden quedar en los mismos. La importancia de un diagnóstico diferencial, que combine una evaluación clínica detallada, uso de técnicas de última generación (técnicas de biología molecular o NGS) a la vez que técnicas serológicas y de imagen, todo ello en conjunción con una buena formación de los especialistas que participan en la emisión del diagnóstico final, es esencial para establecer con precisión la causa subyacente y abordar el tratamiento de este tipo de infecciones de una manera más eficiente.



OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Para este trabajo de investigación se planteó la hipótesis de si la aplicación de la técnica de quimioluminiscencia podría mejorar significativamente el diagnóstico de las patologías infecciosas del SNC. Ante ello, la presente propuesta de tesis se basa en la necesidad de disponer de un mayor número de herramientas para el diagnóstico de las infecciones que pueden producirse en el SNC. Un diagnóstico temprano llevará a la aplicación más rápida de un tratamiento, disminuyendo las secuelas del paciente, así como el coste económico de la hospitalización. Es importante decir que, la quimioluminiscencia ha aportado ventajas desde su descubrimiento en comparación con otros métodos inmunoenzimáticos, por lo que puede ser una herramienta con mucho potencial para diagnosticar este tipo de patologías infecciosas del SNC. En el caso objeto de esta tesis, se pretende desarrollar una herramienta completa ayudándonos de un ensayo de quimioluminiscencia comercial, con el propósito de obtener una mayor sensibilidad, especificidad y rapidez a la hora de emitir un diagnóstico para este tipo de patologías.

Finalmente, adaptaremos este ensayo a una plataforma automatizada que permita un procesamiento rápido de la muestra contando con la opción de carga continua y la ventaja del formato de dosis única, es decir, cada unidad de reactivo será aplicada individualmente a un solo paciente. Puesto que la disponibilidad de kits para determinar la presencia de estos anticuerpos en muestras de LCR es limitada, se llevará a cabo el desarrollo y la validación de un kit comercial para esta finalidad. Además, se pretende desarrollar y validar un software que ayude al facultativo a emitir un diagnóstico rápido y certero siguiendo las directrices establecidas por el nuevo reglamento (EU) 2017/746 (IVDR).

Los objetivos específicos de esta tesis se muestran a continuación:

- 2.1 Desarrollo de un kit de quimioluminiscencia para su utilización en la detección de anticuerpos en LCR frente a los principales agentes responsables de neuropatías infecciosas del SNC.
- 2.2 Ajuste y adaptación del modelo teórico, desarrollado por Hansotto Reiber al diagnóstico de patologías infecciosas del SNC.
- 2.3 Desarrollo y validación de un software para el diagnóstico diferencial del LCR siguiendo la metodología ágil y adaptándose a la normativa de IVDR (EU) 2017/746.



MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MUESTRAS HUMANAS (SUERO Y LCR)

Las muestras fueron proporcionadas por el departamento de Neurología del Centro Médico Noroeste de Frankfurt (Alemania), la Clínica Neurológica de Asklepolis de Bad Salzhausen (Alemania) y el departamento de Neurología del Bürgerhospital Friedberg (Alemania).

Los ensayos fueron llevados a cabo en el Hospital-Pflege, Frankfurt (Alemania). Concretamente por el instituto central de medicina de laboratorio microbiología de higiene hospitalaria. Este hospital, está avalado por la DIN EN ISO 9001:2015, garantizando así que los servicios ofrecidos están basados en un sistema de gestión de calidad controlado. La norma se basa en un modelo de sistema de gestión que asegura que el laboratorio cumple con la capacidad para proveer sus servicios, garantizando la satisfacción del cliente y llevando a cabo una mejora continua de sus procesos.

Para este proyecto se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes, en el momento de su ingreso, para el posible uso de sus muestras serológicas y de LCR con fines de investigación médica. Un total de 280 muestras pareadas (LCR y suero) fueron analizadas. Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de la Comisión Central de Ética de Alemania sobre el uso de materiales del cuerpo humano con fines de investigación médica (nº 20/02/2003; <https://www.zentrale-ethikkommission.de>). El estudio fue revisado y aprobado por el comité ético local del Centro Médico del Noroeste, Frankfurt (Alemania). Los datos de las muestras utilizadas en este estudio se exponen en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Muestras usadas para el estudio incluyendo la identificación de la muestra, edad del paciente, tipo de muestra y procedencia.

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
1	1810929589	57	SUERO/LCR	ALEMANIA
2	1811006678	77	SUERO/LCR	ALEMANIA
3	1811015450	89	SUERO/LCR	ALEMANIA
4	1811016607	62	SUERO/LCR	ALEMANIA
5	1811024151	67	SUERO/LCR	ALEMANIA

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
6	1811025412	86	SUERO/LCR	ALEMANIA
7	1811027391	30	SUERO/LCR	ALEMANIA
8	1811027501	85	SUERO/LCR	ALEMANIA
9	1811030414	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
10	1811031086	32	SUERO/LCR	ALEMANIA
11	1811033343	44	SUERO/LCR	ALEMANIA
12	1811034847	57	SUERO/LCR	ALEMANIA
13	1811054662	64	SUERO/LCR	ALEMANIA
14	1811059975	64	SUERO/LCR	ALEMANIA
15	1811061430	63	SUERO/LCR	ALEMANIA
16	1811071593	42	SUERO/LCR	ALEMANIA
17	1811073199	84	SUERO/LCR	ALEMANIA
18	1811078792	85	SUERO/LCR	ALEMANIA
19	1811081006	82	SUERO/LCR	ALEMANIA
20	1811094283	71	SUERO/LCR	ALEMANIA
21	1811095378	58	SUERO/LCR	ALEMANIA
22	1811096093	82	SUERO/LCR	ALEMANIA
23	1811096563	71	SUERO/LCR	ALEMANIA
24	1811096944	66	SUERO/LCR	ALEMANIA
25	1811097102	66	SUERO/LCR	ALEMANIA
26	1811098301	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
27	1811210903	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
28	1811231766	20	SUERO/LCR	ALEMANIA
29	1900032251	64	SUERO/LCR	ALEMANIA
30	1900032280	74	SUERO/LCR	ALEMANIA
31	1900032352	71	SUERO/LCR	ALEMANIA
32	1900035444	51	SUERO/LCR	ALEMANIA
33	1900036003	46	SUERO/LCR	ALEMANIA
34	1900036089	21	SUERO/LCR	ALEMANIA
35	1900036091	75	SUERO/LCR	ALEMANIA

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
36	1900036163	52	SUERO/LCR	ALEMANIA
37	1900036244	56	SUERO/LCR	ALEMANIA
38	1900036367	24	SUERO/LCR	ALEMANIA
39	1900037183	71	SUERO/LCR	ALEMANIA
40	1900037205	37	SUERO/LCR	ALEMANIA
41	1900037247	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
42	1900037248	77	SUERO/LCR	ALEMANIA
43	1900037282	50	SUERO/LCR	ALEMANIA
44	1900037299	52	SUERO/LCR	ALEMANIA
45	1900037369	65	SUERO/LCR	ALEMANIA
46	1900037722	61	SUERO/LCR	ALEMANIA
47	1900037982	85	SUERO/LCR	ALEMANIA
48	1900038031	63	SUERO/LCR	ALEMANIA
49	1900038063	81	SUERO/LCR	ALEMANIA
50	1900038366	84	SUERO/LCR	ALEMANIA
51	1900038401	62	SUERO/LCR	ALEMANIA
52	1900038501	78	SUERO/LCR	ALEMANIA
53	1900080513	82	SUERO/LCR	ALEMANIA
54	1900080546	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
55	1900080598	58	SUERO/LCR	ALEMANIA
56	1900080789	28	SUERO/LCR	ALEMANIA
57	1900080993	75	SUERO/LCR	ALEMANIA
58	1900081084	33	SUERO/LCR	ALEMANIA
59	1900081489	53	SUERO/LCR	ALEMANIA
60	1900081650	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
61	1900081755	46	SUERO/LCR	ALEMANIA
62	1811006360	51	SUERO/LCR	ALEMANIA
63	1811006376	85	SUERO/LCR	ALEMANIA
64	1811006766	60	SUERO/LCR	ALEMANIA
65	1811007365	57	SUERO/LCR	ALEMANIA

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
66	1811007395	37	SUERO/LCR	ALEMANIA
67	1811007486	46	SUERO/LCR	ALEMANIA
68	1811009461	41	SUERO/LCR	ALEMANIA
69	1811010171	37	SUERO/LCR	ALEMANIA
70	1811011440	78	SUERO/LCR	ALEMANIA
71	1811011582	45	SUERO/LCR	ALEMANIA
72	1811012036	30	SUERO/LCR	ALEMANIA
73	1811012694	55	SUERO/LCR	ALEMANIA
74	1811012753	42	SUERO/LCR	ALEMANIA
75	1811013337	36	SUERO/LCR	ALEMANIA
76	1811029818	58	SUERO/LCR	ALEMANIA
77	1811029836	35	SUERO/LCR	ALEMANIA
78	1811037150	57	SUERO/LCR	ALEMANIA
79	1811037917	34	SUERO/LCR	ALEMANIA
80	1811054176	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
81	1811077565	79	SUERO/LCR	ALEMANIA
82	1811086221	35	SUERO/LCR	ALEMANIA
83	1811086408	31	SUERO/LCR	ALEMANIA
84	1811096765	44	SUERO/LCR	ALEMANIA
85	1900031107	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
86	1900035523	26	SUERO/LCR	ALEMANIA
87	1900035547	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
88	1900035562	31	SUERO/LCR	ALEMANIA
89	1900035564	71	SUERO/LCR	ALEMANIA
90	1900035578	75	SUERO/LCR	ALEMANIA
91	1900035604	70	SUERO/LCR	ALEMANIA
92	1900035609	37	SUERO/LCR	ALEMANIA
93	1900035618	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
94	1900035637	24	SUERO/LCR	ALEMANIA
95	1900035651	41	SUERO/LCR	ALEMANIA

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
96	1900035706	57	SUERO/LCR	ALEMANIA
97	1900036497	75	SUERO/LCR	ALEMANIA
98	1900036501	36	SUERO/LCR	ALEMANIA
99	1900037270	36	SUERO/LCR	ALEMANIA
100	1900037692	48	SUERO/LCR	ALEMANIA
101	1900038470	50	SUERO/LCR	ALEMANIA
102	1900038503	78	SUERO/LCR	ALEMANIA
103	1900038563	66	SUERO/LCR	ALEMANIA
104	1900038950	26	SUERO/LCR	ALEMANIA
105	1900038953	66	SUERO/LCR	ALEMANIA
106	1900038970	69	SUERO/LCR	ALEMANIA
107	1900039046	87	SUERO/LCR	ALEMANIA
108	1900039054	25	SUERO/LCR	ALEMANIA
109	1950057577	46	SUERO/LCR	ALEMANIA
110	1950057759	30	SUERO/LCR	ALEMANIA
111	1950063286	55	SUERO/LCR	ALEMANIA
112	1810844618	53	SUERO/LCR	ALEMANIA
113	1811008076	78	SUERO/LCR	ALEMANIA
114	1811008642	78	SUERO/LCR	ALEMANIA
115	1811023724	35	SUERO/LCR	ALEMANIA
116	1811025300	68	SUERO/LCR	ALEMANIA
117	1811034141	62	SUERO/LCR	ALEMANIA
118	1811035331	32	SUERO/LCR	ALEMANIA
119	1811199569	41	SUERO/LCR	ALEMANIA
120	1811208762	26	SUERO/LCR	ALEMANIA
121	1811228836	45	SUERO/LCR	ALEMANIA
122	1811236475	46	SUERO/LCR	ALEMANIA
123	1811236668	19	SUERO/LCR	ALEMANIA
124	1900028531	95	SUERO/LCR	ALEMANIA
125	1900028547	43	SUERO/LCR	ALEMANIA

NÚMERO	IDENTIFICACIÓN	EDAD	TIPO DE MUESTRA	ORIGEN
126	1900028597	32	SUERO/LCR	ALEMANIA
127	1900029851	45	SUERO/LCR	ALEMANIA
128	1900032251	64	SUERO/LCR	ALEMANIA
129	1900035645	56	SUERO/LCR	ALEMANIA
130	1900035740	48	SUERO/LCR	ALEMANIA
131	1900036464	59	SUERO/LCR	ALEMANIA
132	1900036578	19	SUERO/LCR	ALEMANIA
133	1900037683	42	SUERO/LCR	ALEMANIA
134	1900038378	84	SUERO/LCR	ALEMANIA
135	1900039028	73	SUERO/LCR	ALEMANIA
136	1900080368	70	SUERO/LCR	ALEMANIA
137	1900081263	35	SUERO/LCR	ALEMANIA
138	1900081416	57	SUERO/LCR	ALEMANIA
139	1900081545	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
140	1950043592	49	SUERO/LCR	ALEMANIA
141	1950058901	87	SUERO/LCR	ALEMANIA
142	1950074059	81	SUERO/LCR	ALEMANIA

**Dos muestras fueron eliminadas a lo largo del estudio por falta de volumen.*

Además del análisis de patologías infecciosas en el SNC, en esta tesis se llevaron a cabo una serie de ensayos para evaluar si muestras de pacientes con EM podían ser analizadas mediante el kit a desarrollar con resultados satisfactorios. Para ello, se ensayaron 10 muestras pareadas (LCR y suero) procedentes del hospital Virgen de las Nieves (Granada) las cuales pertenecían a pacientes que habían sido diagnosticados de EM. Los datos referentes a estas muestras aparecen en la **Tabla 8** en la siguiente página.

Tabla 8. Muestras procedentes de pacientes diagnosticados con esclerosis múltiple

Nº MUESTRA	IgG (mg/dL)	IgG (mg/dL)	ALBÚMINA (mg/dL)	ALBÚMINA (g/dL)	TIPO DE MUESTRA
	LCR	SUERO	LCR	SUERO	
131093578	5.8	1340	19.0	4.4	LCR/SUERO
136050428	1.9	611	18.4	3.8	LCR/SUERO
131095816	10	1590	29.0	4.3	LCR/SUERO
131095797	3.9	872	27.6	5.0	LCR/SUERO
131095758	6.4	1370	19.6	4.2	LCR/SUERO
131095960	2.8	935	20.5	4.2	LCR/SUERO
151057571	7.2	1030	15.4	4.0	LCR/SUERO
151057509	3.7	1300	18.0	4.4	LCR/SUERO
151988976	11.4	1230	20.4	4.0	LCR/SUERO
151057554	3.1	927	20.9	4.2	LCR/SUERO

Las muestras fueron analizadas por el laboratorio de análisis clínicos Ángel Méndez Soto (Granada) para la obtención de los valores de albúmina e IgG total, tanto para LCR como para suero. Para ello se usó la técnica de nefelometría. Usando estos datos, se pudo obtener el índice de IgG o índice de Tibbling por el que las muestras fueron categorizadas como positivas para EM, corroborando de esta manera, el diagnóstico final emitido por el facultativo.

3.2 MUESTRAS DE CONTROL DE CALIDAD (INSTAND)

Se trata de muestras procedentes de un control de calidad externo. Este control forma parte de una organización que se dedica a promover y establecer estándares de calidad para laboratorios clínicos y médicos, teniendo como principal objetivo mejorar la precisión y fiabilidad de los resultados de los análisis clínicos implementando rigurosos controles de calidad. Dicho control de calidad analiza y evalúa los resultados de los diferentes laboratorios que participan y compara los resultados con los valores de referencia establecidos. Además, se usan métodos estadísticos que determinan la veracidad y el rendimiento de los resultados de cada laboratorio.

En concreto, este control con referencia 463 - Reacción MRZ por sus siglas en inglés, Measles (sarampión), Rubella (rubeola) y Zoster (varicela zoster), se basa en la detección de anticuerpos frente a estos agentes virales. Este análisis de anticuerpos específicos de virus se realiza tanto en LCR como en suero para detectar la respuesta de anticuerpos específicos en el SNC. Las muestras serán tratadas como muestras potencialmente infecciosas, por lo que se tomarán las mismas medidas de precaución que con el resto de las muestras que se usan en un laboratorio clínico siguiendo las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Este programa de control de calidad proporciona todo el material necesario para llevar a cabo los cálculos del índice de anticuerpos como se muestra en la **Tabla 9**.

1. Muestras pareadas (LCR y suero).
2. Valores de IgG total.
3. Valores de albúmina.

Tabla 9. Ejemplo de valores proporcionados por el control INSTAND.

PARÁMETRO	VALOR
QAlb ^a	9.43×10^{-3}
Albúmina (LCR)	414 mg/l
Albúmina (suero)	43.9 g/l
Q IgG ^b	5.0×10^{-3}
IgG (LCR)	5.5 mg/l
IgG (suero)	11.0 g/l

- a)** Representa el cociente entre la cantidad de albúmina en LCR y suero. **b)** Representa el cociente entre la cantidad de IgG en LCR y suero.

Tras el análisis de las muestras y el uso de los datos proporcionados por este control de calidad se llevó a cabo el cálculo del índice intratecal de anticuerpos, para más tarde enviar los resultados al organismo de control de calidad (INSTAND) para su certificación.

3.3 MUESTRAS NEGATIVAS COMERCIALES

Se usó un conjunto de muestras negativas procedente de la casa comercial BIOIVT (EEUU) (Ref: HUMANCSFR-0101364). Las muestras usadas procedían de remanentes hospitalarios desvinculados que habían sido recogidos en diversos hospitales con fines de diagnóstico médico. La única información conocida de los donantes de las muestras fue la edad y el sexo, no conociéndose el estado de salud de estos, ni el resultado de las pruebas que se les realizaron. Este tipo de muestras, deben manipularse como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos, debiéndose tomar precauciones universales, ya que ningún método de prueba puede proporcionar una garantía total de que el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C, el virus de la inmunodeficiencia humana u otros agentes infecciosos estén ausentes. Por lo tanto, todas las muestras deben manipularse en el nivel de bioseguridad 2, según lo recomendado por el Manual CDC/NHI de bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos. El volumen ofrecido por esta casa comercial fue de viales de 6 ml, siendo requeridos 30 ml para este proyecto.

3.4 KITS DE DIAGNÓSTICO USADOS PARA EL ENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA

Para llevar a cabo el ensayo de quimioluminiscencia, se usaron los kits de la casa comercial Vircell S.L (España). El kit contiene 24 tiras monodosis donde todos los reactivos necesarios para llevar a cabo el ensayo están incluidos listos para su uso. Además, las soluciones de dilución de muestras y de conjugado estaban coloreadas como ayuda a la realización de la técnica. En concreto los kits usados fueron los siguientes:

- MEASLES VIRCLIA® IgG MONOTEST (REF: VCM089): los pocillos están recubiertos con antígenos del virus de sarampión, cepa Edmonston.
- VARICELLA-ZOSTER VIRCLIA® IgG MONOTEST (REF: VCM054): los pocillos están recubiertos con glicoproteínas de varicela-zoster, cepa Ellen.

El fundamento del método de quimioluminiscencia se basa en un inmunoensayo quimioluminiscente indirecto (CLIA) para determinar anticuerpos IgG en suero o plasma humano. Tras la fase de incubación de las muestras, las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno en los pocillos de reacción son eliminadas en el proceso de lavado.

En un paso posterior, la anti-gammaglobulina humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo y la que no se une, es eliminada durante el proceso de lavado. La anti-gammaglobulina humana se encuentra unida a una enzima, en este caso la peroxidasa de rábano. Esta peroxidasa al reaccionar con el luminol, que actúa como sustrato en la reacción, generará una luminiscencia de brillo prolongado (luminiscencia tipo *glow*) que puede leerse con un luminómetro. En la figura **Figura 8** se muestra un esquema del proceso.

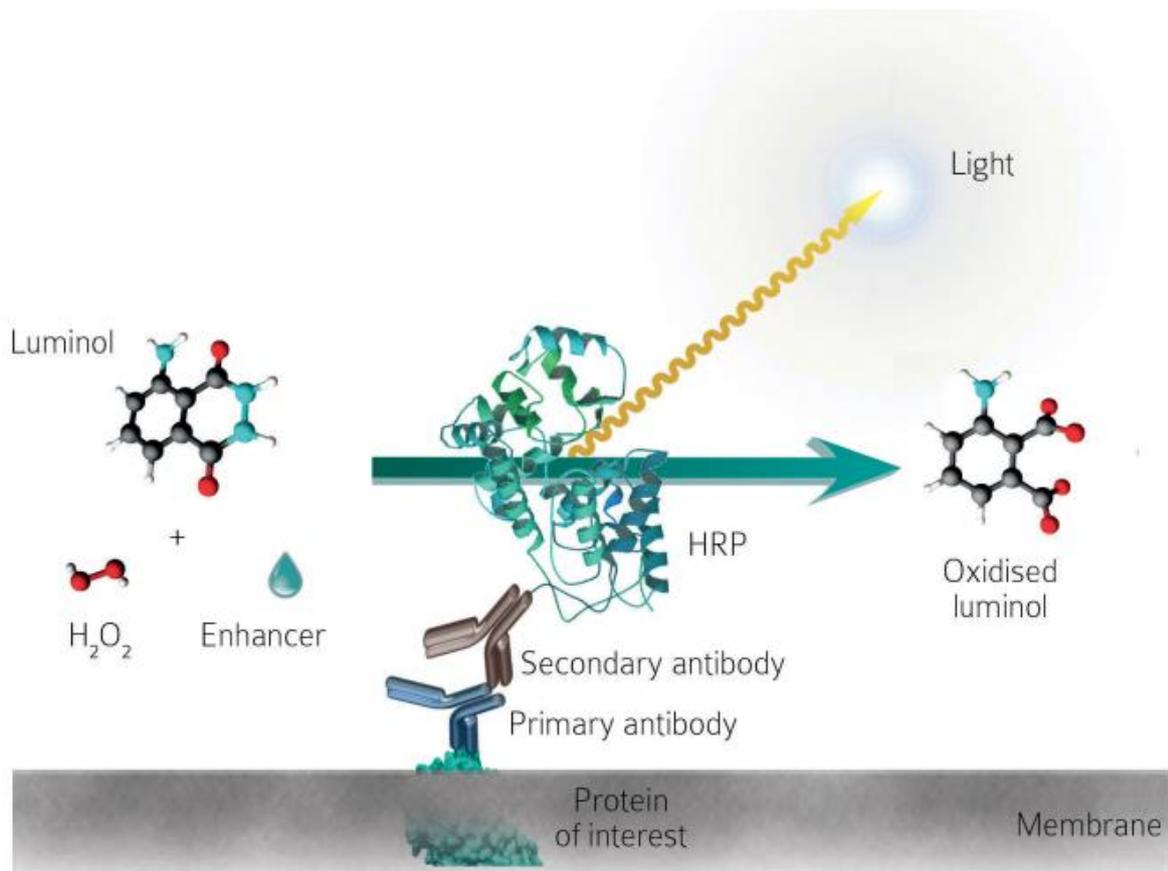


Figura 8. Esquema de la reacción inmunológica donde se produce la reacción de quimioluminiscencia. Los fotones generados durante la reacción son captados por el luminómetro del analizador y transformados en una señal de unidades relativas de luminiscencia. *Fuente:*

https://www.covalab.com/media/wysiwyg/documents/flyers/Flyer_Covalight.pdf

3.5 KITS DE DIAGNÓSTICO USADOS PARA EL ENSAYO DE ELISA

Para llevar a cabo el ensayo de ELISA, se usaron los kits de la casa comercial Virion Serion (Alemania).

Las pruebas de SERION ELISA son inmunoensayos cuantitativos y cualitativos para la detección de anticuerpos humanos en suero o plasma, dirigidos a diferentes antígenos específicos que determinan o no la presencia de infección. La prueba SERION ELISA IgG, se recomienda para la determinación del estado inmunológico y para la detección de anticuerpos IgG sintetizados en el espacio intratecal en el líquido cefalorraquídeo. La reacción se basa en la interacción específica de anticuerpos con su antígeno correspondiente, por lo que las tiras reactivas de la placa de microtitulación de SERION ELISA classic se recubren con antígenos específicos del agente patógeno a diagnosticar. En concreto los kits usados fueron los siguientes:

- VIRION SERION ELISA CLASSIC MEASLES VIRUS IgG (REF: ESR102G): pocillos recubiertos con antígeno del virus del sarampión.
- VIRION SERION ELISA CLASSIC VARICELLA ZOSTER VIRUS IgG (REF: ESR104G): pocillos recubiertos con glicoproteína de Varicela Zoster.

El funcionamiento es muy similar al del ensayo de quimioluminiscencia. Si los anticuerpos están presentes en la muestra de suero del paciente, estos se unen al antígeno fijado. Por otro lado, un anticuerpo secundario, que se ha conjugado con la enzima fosfatasa alcalina, detecta y se une al complejo inmune. El sustrato incoloro p-nitrofenolfosfato se convierte entonces en el producto coloreado p-nitrofenol. La intensidad de la señal de este producto de reacción es proporcional a la concentración del analito en la muestra y se mide fotométricamente. En la **Figura 9** se observa de manera esquemática la reacción que se produce en este tipo de ensayos.

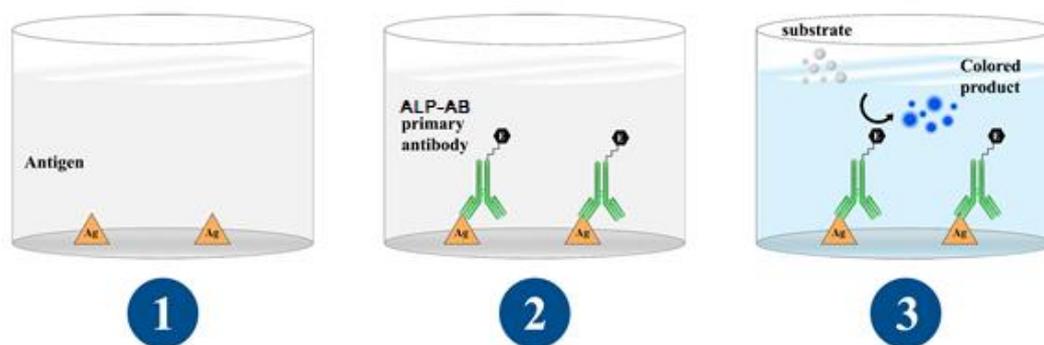


Figura 9. Reacción inmunológica durante el ensayo directo de ELISA. 1) Antígeno unido a la placa de poliestireno. 2) Los anticuerpos del paciente reaccionan con el antígeno unido a la placa de poliestireno. 3) El sustrato reacciona con la enzima fosfatasa alcalina para dar lugar a un producto coloreado. Fuente: <https://www.aatbio.com/resources/faq-frequently-asked-questions/What-is-an-Indirect-ELISA>

3.6 REACTIVOS ADICIONALES USADOS

3.6.1 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS

Se trata de reactivos auxiliares para la fase de lavado y dilución de reactivos para los kits de VIRCLIA® (Ref. VCMAR-W1). El kit contiene lo siguiente:

- VIRCLIA® WASHING SOLUTION: 1000 ml de solución de lavado (concentrado 20x): conteniendo tampón fosfato con TweenR-20 y con Proclin 300.

Preparación del reactivo: Es necesario preparar con antelación este reactivo, previo a la realización de la prueba. Para ello, hay que completar 1000 ml de VIRCLIA® WASHING SOLUTION (20x) hasta 20 litros con agua destilada.

3.6.2 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS EDB

Son reactivos auxiliares para dilución de muestras ensayadas con los kits VIRCLIA® (Ref. VCMAR-EDB).

- VIRCLIA® SERUM DILUENT: 2 viales x 10 ml de diluyente para sueros de color azul, tampón fosfato con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox como conservante. Listo para uso.

3.6.3 VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS DS

Estos reactivos auxiliares son usados para la descontaminación de los sistemas automatizados durante el montaje de kits VIRCLIA® conteniendo 6 viales x 20 ml de solución de ácido sulfúrico 0,5 M. Listo para su uso.

3.6.4 VIRCELL DYE KIT

Se trata de un kit para realizar un ensayo con colorante (REF. VLDK) para la evaluación rutinaria de funcionamiento de los analizadores de diagnóstico in vitro. En este caso se ha usado para el desarrollo y puesta a punto de los diferentes test de diagnóstico que serán ensayados por el analizador.

Para las pruebas de exactitud y precisión de pipeteo se usaron las soluciones de colorante proporcionadas en este kit. Los datos generados por el instrumento se pueden utilizar para calcular todos los valores referentes a la exactitud y la precisión del pipeteo.

- VIRCELL 1x DYE CONCENTRATE: 2 viales con 20 ml de colorante concentrado 1x.
- VIRCELL 4x DYE CONCENTRATE: 3 viales con 1,8 ml de colorante concentrado 4x.
- UNCOATED MICROTITER PLATE: 6 microplacas de 96 pocillos.

3.6.5 AGUA DESTILADA TIPO II

Agua destilada tipo II (Ref. LC267502 Agua desionizada, ASTM tipo II, certificada, LabChemTSM) con niveles reducidos de contaminantes, ya sean orgánicos, inorgánicos y coloides, haciendo esta agua adecuada para métodos analíticos y de diagnóstico. Su conductividad máxima es de $1\mu\text{s}/\text{cm}$ a 25°C y $0,002\text{ mg}/\text{L}$ de sílice. Este agua puede comprarse embotellada o procedente de un destilador que genere un agua con las características mencionadas.

3.7 ANALIZADORES AUTOMATIZADOS

3.7.1 ANALIZADOR AUTOMATIZADO THUNDERBOLT

El dispositivo ThunderBolt (Ref. TB00300-CL) el cual se muestra en la **Figura 10**, se utiliza para automatizar el procesamiento de inmunoensayos enzimáticos (EIA) e inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA). Se trata de un analizador químico fotométrico diseñado para simplificar los procedimientos analíticos manuales mediante la realización automática de varios pasos como el pipeteo, la incubación y la medición de la intensidad del color. El analizador sólo debe ser manejado por personal debidamente formado. El dispositivo ThunderBolt está registrado y certificado para cumplir los siguientes requisitos normativos:

- ISO 13485:2016
- Directiva EN 98/79/CE
- EN 61010-1:2001
- EN 61010-1:2001-02
- Desviaciones nacionales de EE.UU. y del Estado de California según el informe de pruebas nº 586125.01

Para su uso, el personal ha debido ser previamente entrenado siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante a la hora de llevar a cabo los ensayos.



Figura 10. Analizador VirClia Thunderbolt

3.7.2 ANALIZADOR AUTOMATIZADO VIRCLIA® LOTUS

La plataforma automatizada VirClia® Lotus™ (Ref. VCL-TS) mostrada en la **Figura 11**, ha sido diseñada para procesar inmunoensayos de diagnóstico de dispositivos VirClia® monotest. Para cada muestra se pueden realizar uno o más ensayos con el fin de determinar uno o más parámetros en la misma sesión de análisis, lo que significa que, para procesar una muestra, se podrán cargar uno o más VirClia® monotest en el analizador. El sistema automatizado VirClia® Lotus es capaz de soportar carga continua de muestras y dispositivos monotest, permitiendo así al usuario añadir nuevas muestras, nuevos dispositivos monotest y programar sus ensayos, mientras el instrumento está procesando los cargados previamente gracias a su alta flexibilidad.

El software utilizado en el analizador VirClia® Lotus ha sido diseñado de tal forma que cualquier dato introducido sea almacenado de forma dissociada o pseudonimizada por el usuario de acuerdo con las definiciones establecidas en el Reglamento UE 2016/679 (RGPD). Por tanto, el usuario tiene la exclusiva responsabilidad de mantener y tratar los datos de acuerdo con la legislación de protección de datos que aplique en el territorio de referencia del Reglamento UE 2016/679 (RGPD) en Europa.



Figura 11. Analizador VirClia® Lotus.

3.8 EQUIPAMIENTO DE LABORATORIO

3.8.1 PIPETAS

Pipetas de 100 μL y 10 μL de la marca Thermo Scientific (Ref. 4651050N (100 μL) / 4651020N F1 (10 μL) - THERMO SCIENTIFIC) las cuales se usaron para la optimización de los diferentes tests diseñados.

3.8.2 VIALES DE 2ML

Estos viales fueron usados para llevar a cabo las diluciones necesarias para la puesta a punto del método. Su volumen total fue de 2 ml (Ref. 72.694.006 - SARSTEDT).

3.8.3 FOTÓMETRO DE MICROPLACAS HiPo MPP-96

Se trata de un fotómetro de microplacas (Ref. BS-050108-A02 - BIOSAN) compacto de sobremesa que se usa para medir los resultados de los ensayos para microplacas de 96 pocillos. El fotómetro se controla a través de un software donde pueden verse los resultados obtenidos tras la lectura de las microplacas. Este fotómetro cuenta con un diodo emisor de luz con calibración automática como fuente de iluminación y como fuente de detección, 8 fotodiodos de silicio. Las longitudes de onda permitidas por este lector se encuentran entre 400 – 700 nm.

3.8.4 INCUBADOR A 37°C PST-60HL

Se trata de un agitador térmico para placas (Ref. BS-010119-AAI - BIOSAN), diseñado para agitar y termostatar 2 microplacas estándar de 96 pocillos. Este agitador térmico permite un ajuste de temperatura entre 25 – 60°C, siendo 37°C la temperatura utilizada en nuestros ensayos. Además proporciona una agitación suave durante la incubación lo que permite que haya una buena mezcla de reactivos durante todo el procedimiento.

3.8.5 LAVADOR DE MICROPLACAS 3D-IW8

El lavador de microplacas de la serie Inteliwasher 3D-IW8 (Ref. BS-060102-AAI), está diseñado para varios tipos de lavado de placas de microtitulación estándar de 96 pocillos de microtiras y también de microarrays en FastFRAME (forma de pocillo rectangular). Es adecuado para lavar pocillos con diferentes geometrías como forma plana, en U o en V. Además, este lavador dispone de un sistema de dispensación de líquidos para cada canal por separado.

3.8.6 PROBETA GRADUADA

Se trata de una probeta graduada para medir líquidos con precisión fabricada con vidrio de borosilicato de clase A (Ref. 11577832 – Fisherbrand), las cuales cumplen con la norma DIN 12680 BS 604 ISO 4788. Su volumen final fue de 1L.

3.9 MATERIAL INFORMÁTICO

3.9.1 EDITOR DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO VIRCLIA® LOTUS

Se trata de un editor de métodos que permite la programación *in-silico* de los protocolos manuales (kit de diagnóstico) para que estos sean ensayados en analizadores automatizados (Versión V 0.32.0.7) siguiendo los pasos recomendados por el fabricante indicados en las instrucciones del producto.

3.10 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO USANDO KITS DE VIRION SERION

En este caso, los kits de la casa comercial Virion Serion (Alemania) se usaron como método comparativo frente a los kits de la casa comercial Vircell S.L (España). Según indican las instrucciones del fabricante, solamente se pueden lograr resultados óptimos si se siguen estrictamente las instrucciones del kit. La casa comercial advierte que los componentes del kit no deben intercambiarse con reactivos de otros fabricantes e indica que la solución de lavado, el sustrato y la solución de parada se pueden utilizar para todos los inmunoensayos SERION ELISA classic independientemente del lote y de la prueba.

3.10.1 VISIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO

Para un correcto funcionamiento de la técnica se requieren los siguientes pasos tal como se muestra en la **Figura 12**.

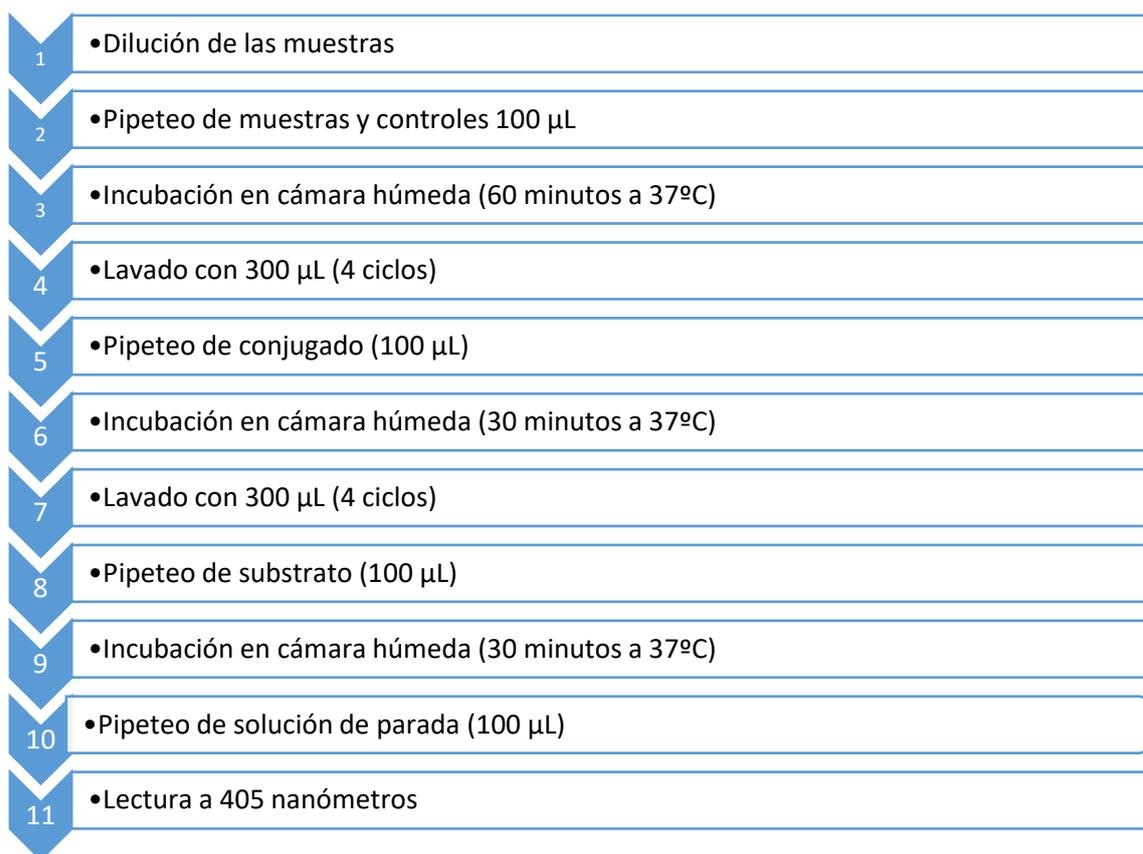


Figura 12. Visión general del ensayo manual de ELISA.

3.10.2 PROCEDIMIENTO MANUAL

Para la realización del proceso manual se siguieron los siguientes pasos:

1. Colocar en el bastidor el número necesario de pocillos para el ensayo y preparar una hoja de protocolo.
2. Añadir 100 µl de muestra diluida, control negativo y suero estándar listo para usar en los pocillos correspondientes de las tiras de prueba de microtitulación. Reservar un pocillo para el blanco. Un ejemplo de la distribución de los pocillos lo podemos ver en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Esquema de preparación de la placa de ELISA.

A1	Pocillo en blanco
B1	Control negativo
C1	Suero estándar
D1	Suero estándar
E1	Suero Paciente 1
F1	LCR Paciente 1
G1	Suero Paciente 2
H1	LCR Paciente 2

3. Llevar a incubar la placa durante 60 minutos (+/- 5 min) a 37 °C (+/- 1°C) en la cámara húmeda.
4. Tras la incubación, lavar todos los pocillos con solución de lavado (mediante dispositivo automatizado o manualmente), de acuerdo con las siguientes indicaciones dadas por la casa comercial:
 - a. Aspirar la solución de incubación.
 - b. Llenar cada pocillo con 300 µl de solución de lavado.
 - c. Aspirar la solución amortiguadora de lavado y descartar este volumen.
 - d. Repetir el procedimiento de lavado 4 veces.
 - e. Secar los pocillos dando ligeros golpes a la placa sobre un papel absorbente.
5. Adición de conjugado: Añadir 100 µl del conjugado IgG listo para usar a los pocillos apropiados (excepto en el pocillo reservado para el blanco).

6. Incubar la placa con el conjugado durante 30 minutos (+/- 1 min.) a 37 °C (+/- 1 °C) en la cámara de humectación.
7. Tras la incubación, lavar todos los pocillos con solución de lavado de igual forma que en el punto 4.
8. Adición de sustrato: Añadir 100 µl de solución de sustrato listo para usar a cada pocillo (incluido el pocillo para el blanco).
9. Incubar el sustrato en oscuridad durante 30 minutos (+/- 1 min.) a 37 °C (+/- 1 °C) en la cámara de humedad.
10. Parada de la reacción: Añadir 100 µl de solución de parada a cada pocillo, agitar suavemente la placa de microtitulación para mezclar.
11. Leer la densidad óptica (DO) en los siguientes 60 minutos a 405 nm frente al pocillo que contiene el blanco.

3.10.3 CRITERIOS DE VALIDEZ

Para la validez del ensayo deben de cumplirse una serie de requisitos:

- El pocillo que contiene el blanco debe tener < 0,25 DO.
- El control negativo debe ser negativo.
- El valor medio de DO (después de restar el blanco) del suero estándar, debe estar dentro del rango de validez que se proporciona en el certificado de control de calidad específico del lote.
- La variación de los valores de DO del suero estándar no debe ser superior al 20 %.

En caso de que alguno de los criterios de validación no se cumpla, la prueba será considerada inválida y deberá repetirse.

3.10.4 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Un índice de anticuerpos en el rango patológico > 1.5 es indicativo de la síntesis de anticuerpos intratecales dirigidos contra el patógeno. Cuando el índice de anticuerpos es < 0.7 se considera que la técnica no fue llevada a cabo correctamente.

3.10.5 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS CON EL KIT DE VIRION SERION

La detección de actividades de anticuerpos específicos frente a determinados patógenos en el líquido cefalorraquídeo, por sí sola no es suficiente para probar la síntesis de anticuerpos intratecales. Los anticuerpos pueden pasar del sistema circulatorio sanguíneo a los espacios del LCR mediante procesos de difusión pasiva y complicar así, la interpretación del resultado. Por lo tanto, la determinación del índice de anticuerpos (IA) sirve para diferenciar entre la difusión pasiva y la síntesis de anticuerpos intratecales en el SNC. Para calcular los índices de anticuerpos específicos, es necesaria la determinación de varias proteínas como por ejemplo, albúmina e IgG total en el líquido cefalorraquídeo y la muestra de suero correspondiente.

3.10.6 CÁLCULO ACTIVIDAD (U/ML)

Para la evaluación de la concentración de anticuerpos se requiere una curva estándar la cual es específica de lote al igual que una tabla de evaluación también específica de lote incluida en cada kit. Gracias a esta curva estándar (4PL), los valores obtenidos de densidad óptica pueden ser asociados a la actividad de los anticuerpos.

$$\text{Actividad} \left(\frac{U}{ml} \right) = e^{C - \frac{1}{B} \ln \left(\frac{D - A}{(DO \text{ paciente}) \cdot F - A} - 1 \right)}$$

Tanto el valor de DO de referencia del suero estándar como de los 4 parámetros de la fórmula de evaluación se indican en el certificado de control de calidad del kit. Los 4 parámetros A, B, C y D son representativos de la forma exacta de la curva estándar:

- Parámetro A: asíntota inferior (DO).
- Parámetro B: pendiente de la curva.
- Parámetro C: punto de inflexión.
- Parámetro D: asíntota superior (DO).

Después de restar el valor del pocillo que contiene el blanco a todos los valores de DO medidos y calcular el valor medio de DO del suero estándar (probado por duplicado), la evaluación de las actividades de anticuerpos a partir de las señales de densidad óptica (DO) de muestras de pacientes se puede realizar con la función 4PL presentada anteriormente.

Debido a las desviaciones entre días y entre laboratorios, se producen las denominadas variaciones inter-ensayo. Estas son compensadas multiplicando la medida de densidad óptica obtenida por su correspondiente factor de corrección F. Para ello se deben seguir los siguientes pasos:

1. Calcular el valor medio de DO del suero estándar (ensayado por duplicado) y comprobar que se encuentra dentro de los rangos de validación.
2. Calcular el factor F con la siguiente fórmula:

$$F = \frac{DO - \text{valor de referencia (suero estandar)}}{DO - \text{valor actual (suero estandar)}}$$

3. Multiplicar los valores de DO de los pacientes por este factor (F).
4. La actividad de anticuerpos en U/ml puede determinarse a partir de la curva estándar usando los correspondientes valores de DO corregidos.

Los parámetros y valores de referencia solo se cambian si el usuario cambia de lote del kit. Puesto que los anticuerpos específicos de suero y LCR son medidos usando diferentes diluciones (LCR a 1:2 y suero a 1:400), los valores obtenidos deben ser calculados para una dilución única. En nuestro caso, se usará la dilución 1:100. Por lo tanto, el valor en U/ml del suero debe ser multiplicado por un factor de 4, mientras que el valor de U/ml para LCR debe ser dividido por un factor de 50.

El valor del cociente entre LCR y suero para el cálculo de anticuerpos específicos se calcula con la siguiente fórmula:

$$Q_{\text{especifico IgG}} = \frac{\frac{U}{ml} \text{especifico} \cdot \text{IgG LCR}}{\frac{U}{ml} \text{especifico} \cdot \text{IgG suero}}$$

Por otro lado, para la detección de síntesis local de anticuerpos frente a un patógeno específico en el SNC, hay que comparar el cociente específico de anticuerpos entre LCR y suero con el cociente de IgG total entre LCR y suero.

Para ello usaremos la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de anticuerpos} = \frac{Q_{\text{especifico}}}{Q_{\text{IgG total}}}$$

En el caso de que haya una síntesis específica de IgG por activación policlonal y debido a la necesidad de diferenciar entre los anticuerpos que difunden a través de la barrera hematoencefálica de los que son producidos intratecalmente, el cociente específico entre LCR y suero debe compararse con el cociente límite entre LCR y suero ($Q_{\text{límite}}$). En estos casos podemos encontrar dos situaciones:

- Cuando $Q_{\text{IgG total}} > Q_{\text{límite}}$, se debe usar la siguiente ecuación para calcular el índice de anticuerpos:

$$\text{Índice de anticuerpos} = \frac{Q_{\text{especifico}}}{Q_{\text{límite}}}$$

- Cuando $Q_{\text{IgG total}} < Q_{\text{límite}}$, se debe usar la siguiente ecuación para calcular el índice de anticuerpos:

$$\text{Índice de anticuerpos} = \frac{Q_{\text{especifico}}}{Q_{\text{IgG total}}}$$

Para poder realizar los cálculos del mencionado protocolo se necesitan los siguientes datos:

- La concentración de albúmina en LCR.
- La concentración de albúmina en suero.
- La concentración de IgG en LCR.
- La concentración de IgG en suero.

En un primer paso se debe determinar el contenido de IgG en suero y LCR y calcular la relación entre la concentración total de IgG en suero y LCR:

$$Q_{\text{IgG}} = \frac{\text{IgG LCR}}{\text{IgG suero}}$$

Después, debe determinarse también la concentración de albúmina en suero y LCR y calcularse el cociente de albúmina y $Q_{\text{límite}}$:

$$Q_{\text{Alb}} = \frac{\text{Albúmina LCR}}{\text{Albúmina suero}}$$

En nuestro caso, puesto que se está estudiando la inmunoglobulina IgG, se usará la siguiente fórmula:

$$Q_{\text{Lim IgG}} = 0.93 \sqrt{Qalb^2 + 6 \cdot 10^{-6}} - 1.7 \cdot 10^{-3}$$

El índice de anticuerpos determinado se evalúa generalmente de acuerdo con los criterios mostrados en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Interpretación del índice de anticuerpos.

INTERPRETACIÓN	RESULTADO
Fallo de la técnica	Índice de anticuerpos < 0.7
No patológico	Índice de anticuerpos entre 0.7 – 1.3
Patológico	Índice de anticuerpos > 1.5

3.11 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO USANDO EL KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA VIRCLIA® MONOTEST

La casa comercial Vircell S.L en sus instrucciones indica que se sigan los procedimientos indicados por el fabricante para obtener resultados óptimos. Hay que tener en cuenta que para este ensayo de quimioluminiscencia el analizador llevará a cabo automáticamente dos diluciones diferentes, una para suero (1:300) y otra para LCR (1:4), donde los volúmenes específicos para las diluciones serán tenidos en cuenta por el analizador a la hora de realizar el ensayo. Los pasos generales llevados a cabo por el analizador se describen a continuación:

1. Dejar que el reactivo VIRCLIA® WASHING SOLUTION (ya diluido según se indica en las instrucciones) alcance la temperatura ambiente antes del uso (aproximadamente 1 hora).
2. Extraer las monodosis del envase y dejar a temperatura ambiente antes de usar (aproximadamente 20 minutos). Determinar la cantidad de monodosis que van a ser empleadas, una para cada muestra a analizar. La disposición de los reactivos y pocillos de reacción se muestra en la **Figura 13**.

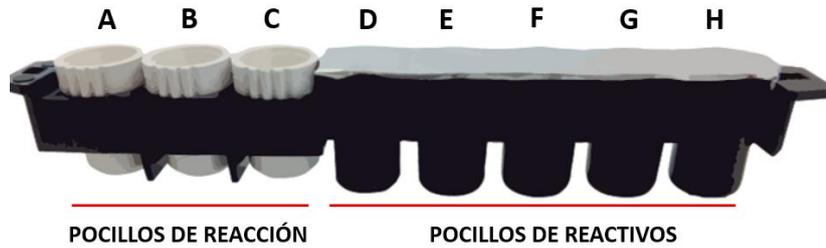


Figura 13. Disposición de los pocillos en la tira monodosis de Virclia®

3. Colocar las tiras en el analizador siguiendo las indicaciones proporcionadas por el asistente de carga del software. Para comenzar con el ensayo, el analizador perfora el papel de aluminio del pocillo en la posición E, aspira 100 μl del reactivo (diluyente de muestras), aspira 5 μl de muestra y dispensa en el pocillo blanco, posición B como se muestra en la **Figura 14**.

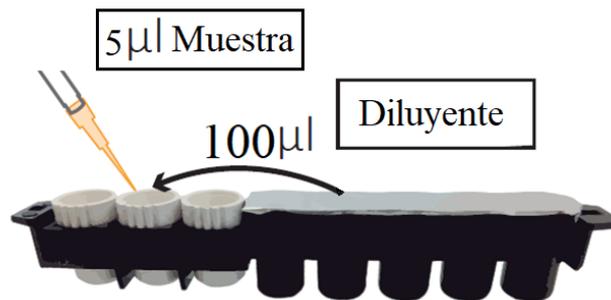


Figura 14. Dispensación de muestra y diluyente.

Seguidamente, el analizador perfora el papel de aluminio del pocillo en la posición F, pipetea 100 μl de reactivo (calibrador) y dispensa este volumen en el pocillo blanco de la posición A como se muestra en la **Figura 15**.

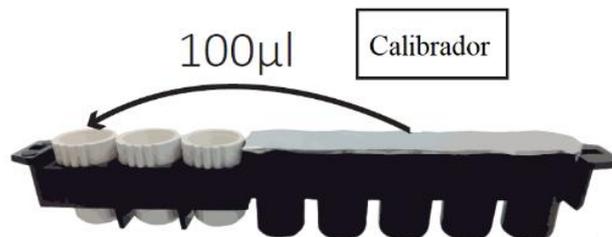


Figura 15. Dispensación del calibrador.

Tras esto, aspira 95 μL de reactivo desde el pocillo de la posición E, luego aspira 5 μL de reactivo del pocillo en la posición F y dispensa este volumen en el pocillo blanco de la posición C, como se muestra en la **Figura 16**.

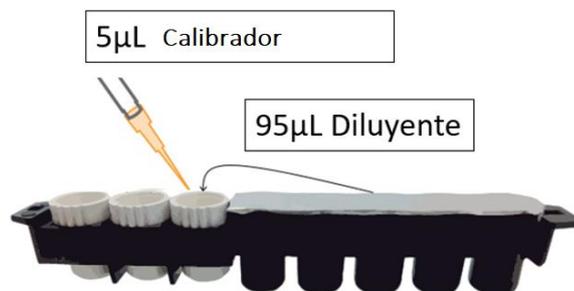


Figura 16. Dispensación del control negativo.

5. Una vez realizada la dispensación, incuba a 37 ± 1 °C durante 20 minutos .

6. En el siguiente paso, el analizador aspira el líquido de los pocillos A, B, C y realiza tres ciclos de lavado con 0,3 ml de VIRCLIA® WASHING SOLUTION (ya diluido según se indica en las instrucciones), eliminando el líquido sobrante como aparece en la **Figura 17**.



Figura 17. Fase de lavado de la tira monotest.

7. Inmediatamente el analizador dispensa 50 μL de VIRCLIA® WASHING SOLUTION (ya diluido según se indica en las instrucciones) en cada uno de los pocillos A, B, C como se muestra en la **Figura 18**.

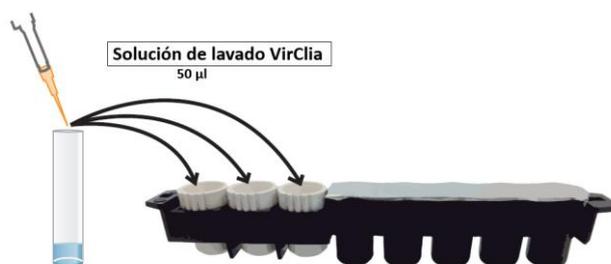


Figura 18. Fase de dilución del conjugado con solución de lavado.

8. A continuación, el analizador perfora el papel de aluminio del pocillo en la posición D, aspira 50 μ l de reactivo (conjugado) y dispensa este volumen en el pocillo blanco de la posición A. Se repite el mismo paso para los pocillos de la posición B y C, como se muestra en la **Figura 19**.

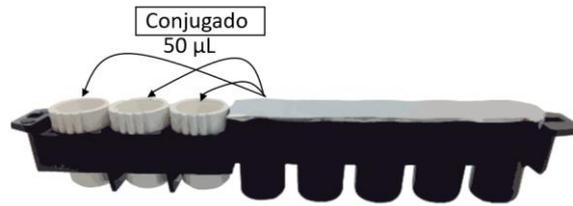


Figura 19. Fase de dispensación del conjugado.

9. Incubación a 37 ± 1 °C durante 20 minutos.



10. El analizador aspira el líquido de los pocillos A, B, C y realiza tres ciclos de lavado con 0,3 ml de VIRCLIA® WASHING SOLUTION (ya diluido según se indica en las instrucciones), eliminando el líquido sobrante como aparece en la **Figura 20**.



Figura 20. Fase de lavado de la tira monotest.

11. Tras este paso de lavado, el analizador perfora el papel de aluminio del pocillo de la posición H, aspira 50 μ l de reactivo (componente A del sustrato) y dispensa este volumen en el pocillo blanco de la posición A. Se repite el mismo paso para los pocillos de la posición B y C, como se muestra en la **Figura 21**.

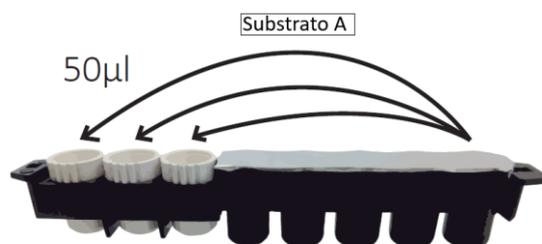


Figura 21. Fase de dispensación del sustrato A.

12. En este paso, el analizador perfora el papel de aluminio del pocillo de la posición G, aspira 50 μl de reactivo (componente B del sustrato) y dispensa este volumen en el pocillo blanco de la posición A. El mismo paso se repite para los pocillos de la posición B y C como aparece en la **Figura 22**.

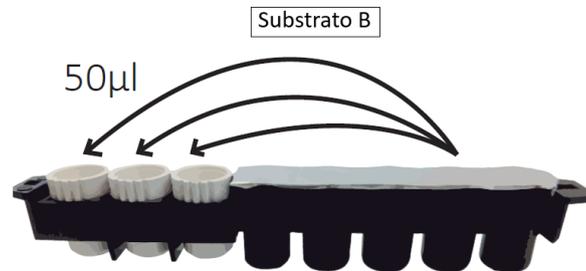


Figura 22. Fase de dispensación del sustrato B.

13. Se lleva a cabo la incubación a 37 ± 1 °C durante 10 minutos protegido de la luz. 🕒

14. Pasados los 10 minutos, el analizador lleva a cabo la medida de las unidades relativas de luminiscencia (RLU) en los pocillos A, B, C con la ayuda de un luminómetro.

Una vez terminado el ensayo, los resultados serán extraídos en formato XML para el posterior cálculo de los índices correspondientes, siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante.

3.11.1 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS CON EL KIT DE VIRCLIA®

Como ocurre con el ensayo de ELISA, la detección de actividades de anticuerpos específicos frente a patógenos en el líquido cefalorraquídeo por sí sola, no es suficiente para probar la síntesis de anticuerpos intratecales. Esto es debido en gran medida, a la difusión pasiva de anticuerpos al espacio subaracnoideo, por lo que es necesaria la determinación del índice de anticuerpos (IA).

El procedimiento de cálculo es similar al ensayo de ELISA, aunque presenta algunas diferencias. Para poder realizar los cálculos del mencionado protocolo se necesitan los mismos datos que para el ensayo de ELISA:

- La concentración de albúmina en LCR.
- La concentración de albúmina en suero.
- La concentración de IgG en LCR.
- La concentración de IgG en suero.

Primero se debe determinar el contenido de IgG en suero y LCR y calcular la relación entre la concentración total de IgG en suero y LCR:

$$Q_{IgG} = \frac{IgG_{LCR}}{IgG_{suero}}$$

Además, como ya se hizo para el ensayo de ELISA, debemos determinar el cociente de albúmina y $Q_{límite}$:

$$Q_{Alb} = \frac{Albúmina\ LCR}{Albúmina\ suero}$$

$$Q_{Lim\ IgG} = 0.93 \sqrt{Q_{alb}^2 + 6 \cdot 10^{-6}} - 1,7 \cdot 10^{-3}$$

Una vez conocidos los cálculos para IgG y albúmina, debemos calcular el índice de anticuerpos de la muestra de LCR y de suero.

Para el caso de la muestra de suero usaremos el valor de RLU de la dilución 1/300 para calcular el índice de anticuerpos normalizado usando la fórmula a continuación.

$$\text{Índice de anticuerpos normalizado suero} = 75 \cdot \frac{\text{muestra [dilución 1/300] RLU}}{\text{calibrador RLU}}$$

Si el valor de RLU de la dilución de suero 1/300 es superior a 20 RLU, se usará el valor de RLU de la dilución 1/400 para calcular el índice de anticuerpos normalizado de la muestra de suero según la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de anticuerpos normalizado suero} = 100 \cdot \frac{\text{muestra [dilución 1/400] RLU}}{\text{calibrador RLU}}$$

Si el valor de RLU de la dilución de suero 1/400 es superior a 20 RLU, se usará el valor de RLU de la dilución 1/800 para calcular el índice de anticuerpos normalizado de la muestra de suero usando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de anticuerpos normalizado suero} = 200 \cdot \frac{\text{muestra [dilución 1/800] RLU}}{\text{calibrador RLU}}$$

A continuación, se calculan los índices de anticuerpos para la muestra de LCR de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de anticuerpos para muestra de LCR} = \frac{\text{Muestra RLU}}{\text{calibrador RLU}}$$

Conociendo el índice de anticuerpos de la muestra de LCR y teniendo el índice normalizado de anticuerpos del suero, podemos llevar a cabo el cálculo de $Q_{\text{especifico}}$

$$Q_{\text{especifico}} = \frac{\text{Índice de anticuerpos del LCR}}{\text{Índice normalizado del suero}}$$

Una vez conocidos estos valores, estamos en disposición de realizar el cálculo del índice de anticuerpos intratecales. Hay que tener en cuenta que si $Q_{\text{IgGtotal}} > Q_{\text{límite}}$, se debe usar la siguiente ecuación para el cálculo del índice de anticuerpos:

$$\text{Índice de anticuerpos intratecales} = \frac{Q_{\text{especifico}}}{Q_{\text{límite}}}$$

Si por el contrario $Q_{\text{IgGtotal}} < Q_{\text{límite}}$, se debe usar la siguiente ecuación para calcular el índice de anticuerpos:

$$\text{Índice de anticuerpos intratecales} = \frac{Q_{\text{especifico}}}{Q_{\text{IgG total}}}$$

Una vez que se ha establecido la fórmula que se debe utilizar para el cálculo del índice de anticuerpos, se consideran los resultados obtenidos tras el ensayo de quimioluminiscencia. El índice de anticuerpos intratecales determinado, se evalúa con los mismos criterios que para el ensayo de ELISA, como se muestran en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Interpretación del índice de anticuerpos.

INTERPRETACIÓN	RESULTADO
Fallo de la técnica	Índice de anticuerpos < 0.7
No patológico	Índice de anticuerpos entre 0.7 – 1.3
Patológico	Índice de anticuerpos > 1.5

3.12 DESARROLLO DE UN KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SU UTILIZACIÓN EN PLATAFORMAS AUTOMATIZADAS.

Este desarrollo constituyó uno de los objetivos de esta tesis. Teniendo en cuenta que hoy en día la mayoría de los laboratorios trabajan de forma automatizada, es necesario adaptar las técnicas manuales para que estas puedan ser llevadas a cabo en un analizador automático. Esta automatización evitará que los laboratorios acumulen muestras y permitirá que los resultados de los pacientes sean entregados lo antes posible pudiendo el facultativo administrar el tratamiento adecuado de acuerdo con el cuadro clínico del paciente.

3.12.1 DISEÑO COMPUTERIZADO DEL TEST DE DIAGNÓSTICO

Para el diseño automatizado del test se hará uso de un programa de diseño informático. Este programa permite crear desde el inicio el test a ensayar. La información de los diferentes pasos a ejecutar por el analizador automatizado será extraída de la información contenida en las instrucciones del producto para suero y plasma.

Para ello se usará el editor de métodos de VirClia® Lotus con versión V0.32.0.7. El panel principal del software se puede observar en la **Figura 23**.

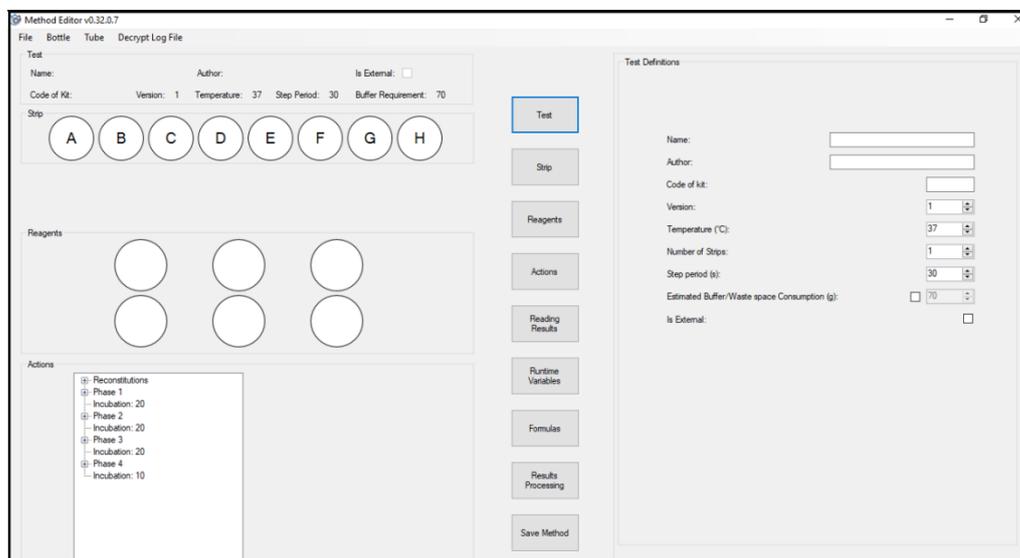


Figura 23. Panel principal del software para la edición de métodos.

Para el diseño del test, además de la información contenida en las instrucciones del producto se tuvieron en cuenta los diferentes parámetros relacionados con la dinámica de fluidos y características físico-químicas de los reactivos a tratar como:

1. Tamaño de burbuja para separar los reactivos aspirados en microlitros.
2. Profundidad necesaria a la que la punta del analizador debe bajar para aspirar el reactivo (milímetros).
3. Velocidad de aspiración de los reactivos en función de su viscosidad ($\mu\text{L/s}$).
4. Velocidad de bajada y salida de la punta del analizador en los fluidos (mm/s).
5. Volumen de reactivos para ser aspirado (μL).
6. Ciclos de mezclado de reactivos.
7. Tiempo de espera tras la aspiración del reactivo según la viscosidad (milisegundos).
8. Localización de los reactivos en el analizador.
9. Altura de dispensación de los reactivos (milímetros).
10. Salida de la punta del analizador del reactivo para evitar la aspiración de aire (milímetros).
11. Ciclos de lavado para eliminar las inmunoglobulinas que no son necesarias en la reacción.
12. Tiempo de aspiración del reactivo (milisegundos).
13. Tiempo de creación de vacío para la aspiración de los desechos de la reacción (milisegundos).
14. Velocidad de dispensación del fluido por la bomba de lavado (porcentaje).
15. Tiempos de incubación de los reactivos (minutos).
16. Temperatura de incubación de los reactivos ($^{\circ}\text{C}$).
17. Preacciones y postacciones antes de manejar cualquier reactivo.

Una vez tenido en cuenta todo lo anterior, lo primero que se llevó a cabo fue el diseño *in-silico* del programa, incluyendo todas las características del método a desarrollar. El desarrollo de este método de diagnóstico a ensayar en una plataforma automatizada consta de 14 fases las cuales se describen a continuación:

Fase 1: Nomenclatura del método

Se realiza en el panel principal denominado como “Test” tal como puede observarse en la **Figura 24**.



The screenshot shows a configuration window for a test. The fields are as follows:

Name:	VARICELLA-ZOSTER IgG CSF
Author:	RAFAEL GARCIA
Code of kit:	089
Version:	1
Temperature (°C):	37
Number of Strips:	1
Step period (s):	35
Estimated Buffer/Waste space Consumption (g):	<input checked="" type="checkbox"/> 35
Is External:	<input type="checkbox"/>

Figura 24. Panel para dar nombre al método a desarrollar.

Fase 2: Definición de los distintos reactivos

Se establece la disposición de los distintos reactivos a utilizar en la tira monotest de acuerdo con la imagen representada en la siguiente página como **Figura 25**.

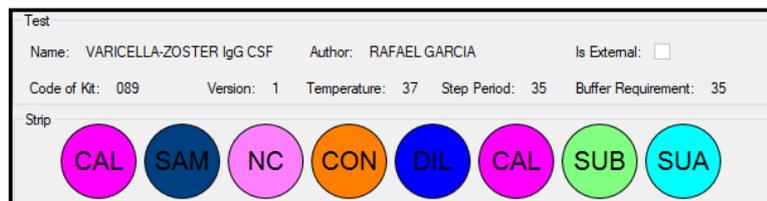


Figura 25. Disposición de los reactivos en los pocillos de la tira monotest.

- **CAL:** Localización del control 1 (calibrador) del kit VirClia® monodosis (pocillo de reacción).
- **SAM:** Localización de la muestra (pocillo de reacción).
- **NC:** Localización del control 2 (control negativo) del kit VirClia® monodosis (pocillo de reacción).
- **CON:** Localización del conjugado del kit VirClia® monodosis (pocillo de reactivo).
- **DIL:** Localización del diluyente del kit VirClia® monodosis (pocillo de reactivo).
- **CAL:** Localización del control 1 (calibrador) del kit VirClia® monodosis (pocillo de reactivo).
- **SUB:** Localización del sustrato B del kit VirClia® monodosis (pocillo de reactivo).
- **SUA:** Localización del sustrato A del kit VirClia® monodosis (pocillo de reactivo).

Fase 3: Fase de dispensación de controles y muestras

En esta fase el analizador automatizado dispensará los controles y las muestras en los pocillos correspondientes de la tira monotest.

Preacción antes de manipular reactivos

Se usa como paso intermedio para que la punta que dispensará controles y muestras esté completamente limpia y así evitar contaminaciones cruzadas. Para ello, se usará el líquido de sistema (solución de lavado).

Los parámetros usados se muestran en la **Figura 26**.

Needle Washing	
Pump Speed (0-100)	100
Pump Time (ms)	200
Needle Volume Dispense (µL)	500
Soaking Time (ms)	0

Figura 26. Parámetros usados en la fase de lavado de la punta del analizador.

Fase 3.1 Aspiración de la muestra

A continuación, se decide de donde se va a aspirar la muestra junto al diluyente para preparar la dilución deseada. En este punto es muy importante tener en cuenta la velocidad de aspiración y el volumen de exceso, para evitar mezclar los fluidos cuando estos entran dentro de la punta del analizador. Aquí usaremos una burbuja de 10 µL, que funcionará como separación entre fases líquidas. El resto de parámetros usados se muestran en la **Figura 27**.

Reagent		Source (Sample)	
Location	E	Requires Predilution (sample/diluent)	<input type="checkbox"/> 0 0
Air Bubble Before (µL)	20	Air Bubble Before (µL)	10
Depth below sensor level (tenths of mm)	50	Depth below sensor level (tenths of mm)	20
Aspiration Speed (µL/s)	400	Aspiration Speed (µL/s)	250
Volume to Aspirate (µL)	130	Volume to Aspirate (µL)	5
Mixing Cycles	0	Mixing Cycles	0
Needle Soaking Time (ms)	0	Needle Soaking Time (ms)	0

Figura 27. Parámetros usados durante la aspiración de la muestra.

Fase 3.2 Dispensación de la muestra

Para la correcta dispensación de la muestra, se requerirán los parámetros correctos a la hora de dispensar la misma, los cuales se muestran en la **Figura 28**. En esta fase, es muy importante la burbuja antes de aspirar la muestra, ya que esta burbuja evitará la dilución de la muestra dentro de la punta del analizador.

No obstante, hay otros parámetros como son la velocidad de dispensación y la altura de dispensación, que deben ser definidos con cautela para evitar una mala precisión y exactitud a la hora de llevar a cabo la fase de dispensación.

Dispensation	
Location	B - Sample
Air Bubble Before (µL)	5
Height (tenths of mm)	50
Dispensation Speed (µL/s)	500
Volume to Dispense (µL)	120
Mixing Cycles	0
Needle Soaking Time (ms)	0
Back Up Speed (tenths of mm/s)	0
Air Bubble After (µL)	5

Figura 28. Parámetros usados durante la dispensación de la muestra.

Fase 3.3 Aspiración del control 1 (calibrador)

En esta fase se aplicarán los mismos criterios que para la aspiración de la muestra. La peculiaridad de este paso es, que la punta del analizador tiene que realizar la aspiración dentro de un pocillo de reactivo que contiene 350 µL. Como se muestra en la **Figura 29**, los parámetros para el reactivo G están indicados como 0. La razón es que el calibrador no va diluido, por lo que solo se aspiran 130 µL de calibrador puro, para más tarde dispensar 100 µL sobre el pocillo de reacción del calibrador en la tira monotest.

Reagent		Source (Calibrator)	
Location	G	Location	F
Air Bubble Before (µL)	0	Air Bubble Before (µL)	20
Depth below sensor level (tenths of mm)	0	Depth below sensor level (tenths of mm)	50
Aspiration Speed (µL/s)	0	Aspiration Speed (µL/s)	400
Volume to Aspirate (µL)	0	Volume to Aspirate (µL)	130
Mixing Cycles	0	Mixing Cycles	0
Needle Soaking Time (ms)	0	Needle Soaking Time (ms)	0

Figura 29. Parámetros usados durante la aspiración del calibrador.

Por otro lado, también hay que tener en cuenta la profundidad necesaria a la que la punta del analizador tiene que entrar para poder aspirar la cantidad total de volumen necesario, en este caso, 130 μL del pocillo F, como se muestra en la **Figura 30**.

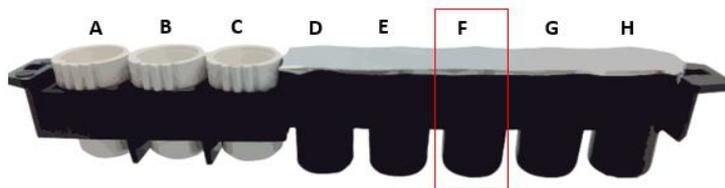
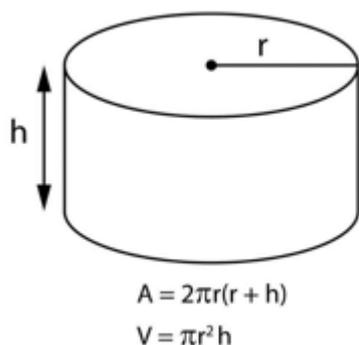


Figura 30. VirClia monotest donde se presentan los pocillos de reacción (A, B, C) y los pocillos de reactivos (D, E, F, G, H).

Se usará la fórmula para calcular el área de un cilindro que equivale a nuestro pocillo de reactivo como se muestra en la **Figura 31** en la siguiente página.



Según la fórmula para el área de un cilindro, la profundidad necesaria para aspirar 130 μL equivale a 2.5 mm. Como margen de seguridad, puesto que el pocillo tiene una altura de 11 mm, la punta del analizador bajará a una profundidad de 5 mm.

- Diámetro del pocillo: 8 mm
- Altura del pocillo: 11 mm
- Volumen a aspirar: 130 μL
- Profundidad requerida: 2.5 mm

Figura 31. Parámetros para definir la profundidad del pocillo de reactivo.

Fase 3.4 Dispensación del control 1 (calibrador)

En esta fase se aplicarán los mismos criterios de programación que en la fase anterior de dispensación de la muestra, considerando el volumen a dispensar. Es muy importante tener en cuenta la altura a la que vamos a llevar a cabo la dispensación. En la **Figura 32** se muestran los parámetros usados durante la dispensación del calibrador.

Dispensation	
Location	A - Calibrator
Air Bubble Before (µL)	5
Height (tenths of mm)	50
Dispensation Speed (µL/s)	500
Volume to Dispense (µL)	110
Mixing Cycles	0
Needle Soaking Time (ms)	0
Back Up Speed (tenths of mm/s)	0
Air Bubble After (µL)	5

Figura 32. Parámetros usados durante la dispensación del calibrador.

Existen tres modos de dispensación como se muestra en la siguiente página como **Figura 33**:

- **Dispensación libre:** el fluido se dispensa a gran velocidad y desde una altura de 4-5 mm sobre la superficie del receptáculo o fluido que va a recibir la dispensación.
- **Dispensación por contacto:** El fluido se dispensa a menor velocidad y muy cerca del receptáculo o fluido que va a recibir la dispensación.
- **Dispensación por inmersión:** El fluido se dispensa a baja velocidad y dentro del fluido que ya estaba presente en el receptáculo que recibe la dispensación.

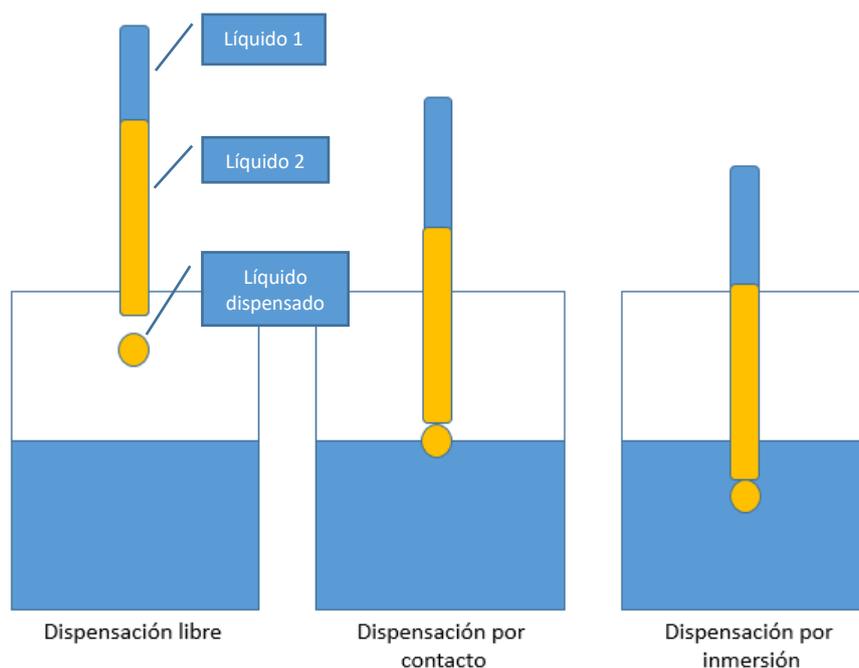


Figura 33. Tipos de dispensación de reactivos.

Cada modo de dispensación tiene sus particularidades. En nuestro caso y basados en la experiencia de otros desarrollos, la dispensación por contacto es la que mejor resultados genera en cuanto a precisión y exactitud tras las dispensación.

Fase 3.5 Aspiración del control 2 (control negativo)

En esta fase se aplicarán los mismos criterios que en la fase de aspiración del control 1, teniendo en cuenta el volumen necesario a aspirar. En la siguiente página, **Figura 34** se hace mención a los parámetros usados en esta fase.

Reagent		Source (Control)	
Location	E	Location	F
Air Bubble Before (μL)	20	Air Bubble Before (μL)	10
Depth below sensor level (tenths of mm)	50	Depth below sensor level (tenths of mm)	50
Aspiration Speed ($\mu\text{L/s}$)	400	Aspiration Speed ($\mu\text{L/s}$)	250
Volume to Aspirate (μL)	130	Volume to Aspirate (μL)	5
Mixing Cycles	0	Mixing Cycles	0
Needle Soaking Time (ms)	0	Needle Soaking Time (ms)	0

Figura 34. Parámetros usados durante la aspiración del control negativo.

Fase 3.6 Dispensación del control 2 (control negativo)

En esta fase, al igual que ocurría en la fase anterior, se aplicarán los mismos criterios que en la fase de dispensación del control 1, teniendo en cuenta el volumen necesario a dispensar. Los parámetros usados durante esta fase se muestran en la **Figura 35**.

Dispensation	
Location	C - Control
Air Bubble Before (µL)	<input type="text" value="5"/>
Height (tenths of mm)	<input type="text" value="50"/>
Dispensation Speed (µL/s)	<input type="text" value="500"/>
Volume to Dispense (µL)	<input type="text" value="120"/>
Mixing Cycles	<input type="text" value="0"/>
Needle Soaking Time (ms)	<input type="text" value="0"/>
Back Up Speed (tenths of mm/s)	<input type="text" value="0"/>
Air Bubble After (µL)	<input type="text" value="5"/>

Figura 35. Parámetros usados durante la dispensación del control negativo.

Postacción después de manipular reactivos

Las post-acciones son los pasos que se realizan tras una fase de dispensación de reactivos. En este caso los parámetros usados para limpiar la punta de muestras aparecen en la **Figura 36**.

Needle Washing	
Pump Speed (0-100)	<input type="text" value="100"/>
Pump Time (ms)	<input type="text" value="200"/>
Needle Volume Dispense (µL)	<input type="text" value="500"/>
Soaking Time (ms)	<input type="text" value="0"/>

Figura 36. Parámetros usados durante la post-acción de la dispensación del control negativo.

Fase 4: Incubación de los reactivos durante 20 minutos 

En esta etapa se lleva a cabo la incubación de los diferentes reactivos usados. La incubación se lleva a cabo a una temperatura de 37°C.

Fase 5: Lavado de los pocillos de reacción.

Esta fase es importante para eliminar todas las inmunoglobulinas no unidas y restos que no son deseables para la consecución de la reacción. Para ello, se usa solución de lavado dispensada sobre los tres pocillos de reacción usando los parámetros que se muestran en la **Figura 37**.

Tras cada ciclo de dispensación, el lavador automatizado del analizador retirará la solución de lavado dispensada conteniendo los restos y reactivos de la reacción no necesarios. De nuevo en esta fase hay que tener en cuenta la cantidad de fluido necesario para que todas las inmunoglobulinas no unidas y los restos de la reacción sean retirados correctamente, no interfiriendo con el correcto desarrollo de la reacción. El volumen dispensado y velocidad de dispensación fueron seleccionados en base a experiencias previas con este tipo de analizadores.

Washing	
Reagent Source (not used)	<input type="text" value="0"/>
Dispense while Aspirate	<input checked="" type="checkbox"/>
Suction Height (tenths of mm)	<input type="text" value="60"/>
Needle Speed (tenths of mm/s)	<input type="text" value="150"/>
Pre Suction Time (ms)	<input type="text" value="150"/>
Pump Speed (0-100)	<input type="text" value="60"/>
Pump Time (ms)	<input type="text" value="500"/>
Soaking Time (ms)	<input type="text" value="0"/>
Suction Time (ms)	<input type="text" value="1600"/>
Washing Cycles	<input type="text" value="4"/>

Figura 37. Parámetros usados durante el lavado de las tiras monotest.

Fase 6: Dispensación del conjugado: En esta fase tiene lugar la dispensación del conjugado (anticuerpo secundario marcado con peroxidasa de rábano). Los parámetros usados para esta dispensación se muestran en la siguiente página como **Figura 38**.

Reagent Source	
Location	D
Air Bubble Before (μL)	20
Depth below sensor level (tenths of mm)	30
Aspiration Speed ($\mu\text{L/s}$)	400
Volume to Aspirate (μL)	220
Cycles	0
Soaking Time (ms)	0
Reagent Parameters	
Volume to Redispense on source (μL)	50
Well Order	A-B-C
Dispense Height (tenths of mm)	50
Dispensation Speed ($\mu\text{L/s}$)	500
Volume to Dispense Well A (μL)	50
Volume to Dispense Well B (μL)	50
Volume to Dispense Well C (μL)	50

Figura 38. Parámetros usados durante la dispensación del conjugado.

En esta fase del desarrollo, además de tener en cuenta las variables aplicadas en los otros modos de dispensación, se va a valorar una variable más que es el modo en que se dispensa de manera múltiple uno de los reactivos. La dispensación múltiple de reactivos tiene ventajas, como el reducir el tiempo en que se lleva a cabo la acción de dispensación de un reactivo. No obstante, tiene alguna desventaja, como es una menor precisión y exactitud. Esta reducción de precisión y exactitud es debido a lo que se conoce como efecto "*Backlash*".

La causa de este error en la dispensación múltiple podría explicarse como un fenómeno generalmente llamado "holgura". En el caso de las pipetas, la holgura se debe al tornillo que controla el volumen que se va a dispensar, así como otros componentes de la pipeta como son el sellado del cilindro y la junta tórica que sella la pipeta. Variaciones de presión tanto al aspirar (negativa) como al dispensar (positiva) pueden generar cambios en el volumen de dispensación.

En el caso de los analizadores, el fenómeno es similar, con la particularidad de que la holgura se produce en los engranajes que componen el motor de modo que, la dispensación experimentará cambios en el volumen cuando estos engranajes se mueven en una u otra dirección. En la siguiente página como aparece en la **Figura 39** puede observarse la explicación matemática de este fenómeno.

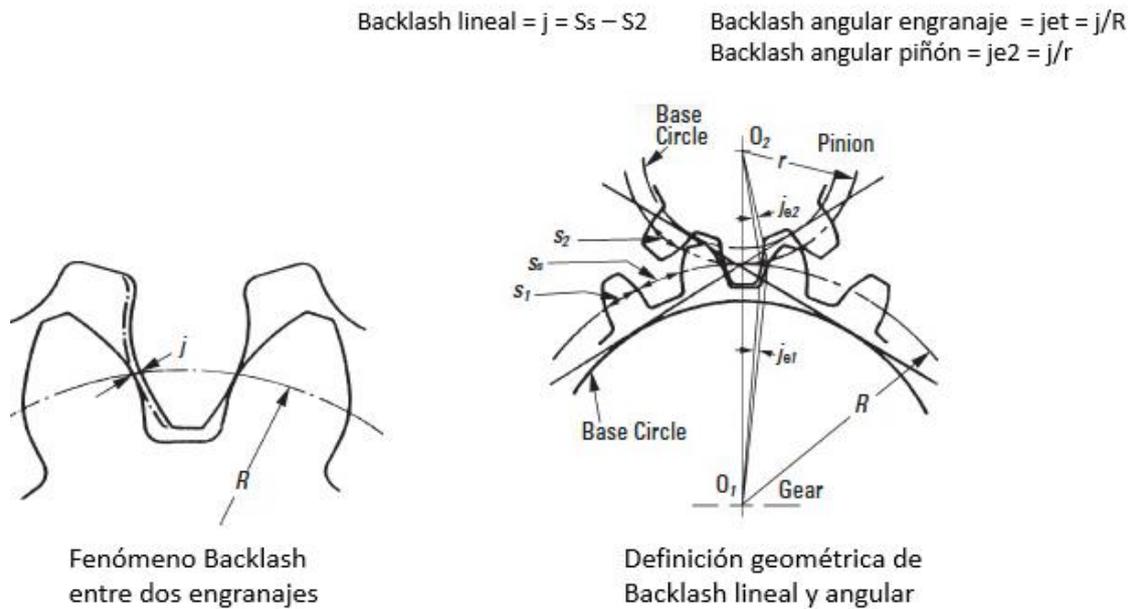


Figura 39. Fenómeno de “Backlash” en analizadores automatizados. Fuente: <https://www.sdp-si.com/resources/elements-of-metric-gear-technology/page7.php>

La holgura se define como el exceso de espesor del espacio del diente (engranaje) sobre el espesor del diente de contacto (j). En los analizadores automatizados que usan componentes mecánicos, este fenómeno puede mitigarse. Para ello, lo que se hace es llevar a cabo una aspiración mayor del volumen final a dispensar y, antes de proceder con la dispensación, descargar una cantidad mínima de este volumen, acción conocida como re-dispensación. En nuestro editor de métodos, esta variable se denomina “*Volume to redispense on source (μ L)*” tal y como se muestra en la **Figura 40**.

Reagent Parameters	
Volume to Redispense on source (μ L)	50
Well Order	A-B-C <input type="button" value="v"/>
Dispense Height (tenths of mm)	50
Dispensation Speed (μ L/s)	500
Volume to Dispense Well A (μ L)	50
Volume to Dispense Well B (μ L)	50
Volume to Dispense Well C (μ L)	50

Figura 40. Parámetros usados durante la dispensación múltiple de conjugado.

Postacción tras manejo de reactivos

Debido a que en la fase del conjugado se trabaja con anticuerpos secundarios marcados con una enzima (peroxidasa de rábano) es muy importante que tras la dispensación del conjugado la punta del analizador quede totalmente limpia. De otro modo, puesto que el siguiente paso es la dispensación de los substratos, el primero de ellos, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) empezaría a reaccionar con la peroxidasa. Para ello, lo que se hace es una limpieza de la punta del analizador con una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) cuya concentración es de 0,5 M. Este paso en el editor de métodos se denomina “descontaminación” como se muestra en la **Figura 41**.

Decontamination	
Air Bubble Before (μ L)	50
Depth below sensor level (tenths of mm)	50
Volume to Aspirate (μ L)	250
Soaking Time (ms)	1000
Needle Washing	
Pump Speed (0-100)	100
Pump Time (ms)	200
Needle Volume Dispense (μ L)	1500
Soaking Time (ms)	0

Figura 41. Parámetros usados durante la fase de lavado tras la dispensación del conjugado.

Fase 7: Incubación de los reactivos durante 20 minutos

En esta etapa se lleva a cabo la incubación de los diferentes reactivos usado a una temperatura de 37°C.

Fase 8: Lavado de los pocillos de reacción

Aplicaremos los mismos parámetros que se usaron para el lavado de los pocillos de reactivos en la fase 5 como aparece en la siguiente página como **Figura 42**.

Washing	
Reagent Source (not used)	0
Dispense while Aspirate	<input checked="" type="checkbox"/>
Suction Height (tenths of mm)	60
Needle Speed (tenths of mm/s)	150
Pre Suction Time (ms)	150
Pump Speed (0-100)	60
Pump Time (ms)	500
Soaking Time (ms)	0
Suction Time (ms)	1600
Washing Cycles	4

Figura 42. Parámetros usados durante la fase de lavado de la tira monotest.

Fase 9: Dispensación de los substratos A y B

Para la dispensación de los substratos A y B se utilizaron los parámetros expuestos en la **Figura 43**.

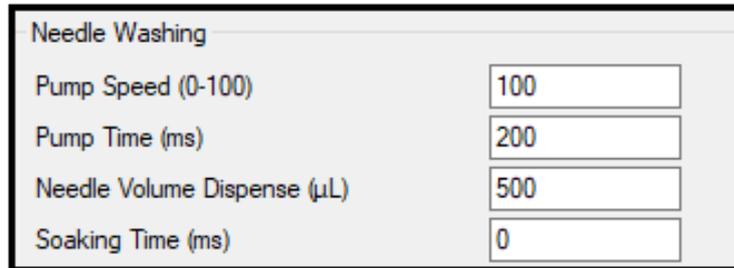
Reagent Source		Reagent Source	
Location	H	Location	G
Air Bubble Before (μL)	75	Air Bubble Before (μL)	75
Depth below sensor level (tenths of mm)	40	Depth below sensor level (tenths of mm)	40
Aspiration Speed (μL/s)	400	Aspiration Speed (μL/s)	400
Volume to Aspirate (μL)	275	Volume to Aspirate (μL)	275
Cycles	0	Cycles	0
Soaking Time (ms)	200	Soaking Time (ms)	0
Reagent Parameters		Reagent Parameters	
Volume to Redispense on source (μL)	50	Volume to Redispense on source (μL)	50
Well Order	A-B-C	Well Order	A-B-C
Dispense Height (tenths of mm)	20	Dispense Height (tenths of mm)	50
Dispensation Speed (μL/s)	500	Dispensation Speed (μL/s)	500
Volume to Dispense Well A (μL)	50	Volume to Dispense Well A (μL)	50
Volume to Dispense Well B (μL)	50	Volume to Dispense Well B (μL)	50
Volume to Dispense Well C (μL)	50	Volume to Dispense Well C (μL)	50

Figura 43. Parámetros usados durante la dispensación múltiple de los substratos.

Además, en esta fase también se lleva a cabo una dispensación múltiple por lo que se aplicaron los mismos criterios que en la fase 6 (dispensación del conjugado).

Postacción después de manipular reactivos

Tras el manejo de los substratos, se lleva a cabo un lavado de la punta del analizador. De esta manera se evita la posible mezcla de reactivos. Para ello se usaron los parámetros mostrados en la **Figura 44**.



Needle Washing	
Pump Speed (0-100)	100
Pump Time (ms)	200
Needle Volume Dispense (µL)	500
Soaking Time (ms)	0

Figura 44. Parámetros usados durante la fase posterior a la dispensación de substratos.

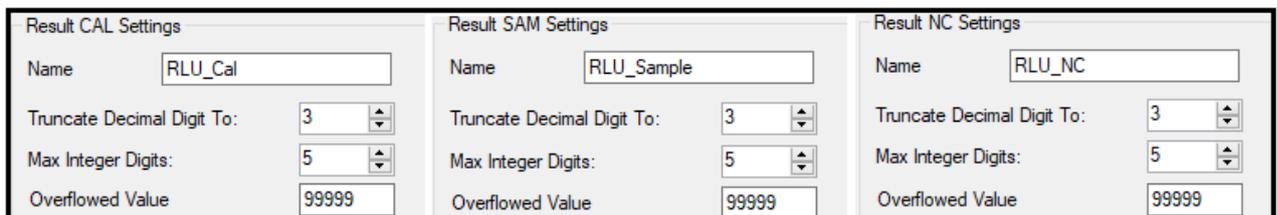
Fase 10: Incubación de los reactivos durante 10 minutos



En esta etapa se lleva a cabo la incubación de los diferentes reactivos usados, la cual tendrá una duración de 10 minutos y una temperatura de 37°C.

Fase 11: Lectura de resultados

Los parámetros usados durante la fase de lectura vienen indicados en la **Figura 45**. En esta fase se establece el número de decimales, el nombre de los pocillos relacionados con las lecturas de RLU, además se establece un valor por encima del cual la lectura sería considerada como saturada, por lo que una interpretación más allá de ese valor no sería precisa.

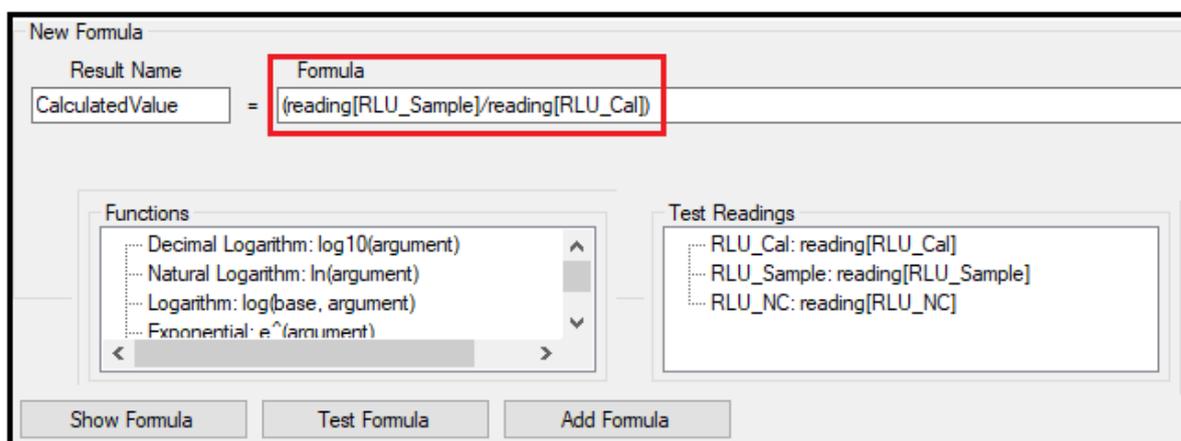


Result CAL Settings	Result SAM Settings	Result NC Settings
Name: RLU_Cal	Name: RLU_Sample	Name: RLU_NC
Truncate Decimal Digit To: 3	Truncate Decimal Digit To: 3	Truncate Decimal Digit To: 3
Max Integer Digits: 5	Max Integer Digits: 5	Max Integer Digits: 5
Overflowed Value: 99999	Overflowed Value: 99999	Overflowed Value: 99999

Figura 45. Parámetros establecidos para la lectura de RLU.

Fase 12: Definición de la fórmula de cálculo de los resultados

Otra de las fases importantes es la definición de la fórmula para el cálculo de los resultados. En la **Figura 46** se muestra la fórmula establecida para este cálculo, donde las RLU de la muestra se dividen entre las RLU del valor del calibrador, obteniendo así un índice de anticuerpos. No obstante, cada test diseñado tendrá su fórmula de cálculo de resultados específica.



The screenshot shows a 'New Formula' dialog box. The 'Result Name' field contains 'CalculatedValue'. The 'Formula' field contains '(reading[RLU_Sample]/reading[RLU_Cal])'. Below the formula field, there are two lists: 'Functions' and 'Test Readings'. The 'Functions' list includes: Decimal Logarithm: log10(argument), Natural Logarithm: ln(argument), Logarithm: log(base, argument), and Exponential: e^(argument). The 'Test Readings' list includes: RLU_Cal: reading[RLU_Cal], RLU_Sample: reading[RLU_Sample], and RLU_NC: reading[RLU_NC]. At the bottom of the dialog, there are three buttons: 'Show Formula', 'Test Formula', and 'Add Formula'.

Figura 46. Definición de la fórmula para el cálculo del índice de los anticuerpos.

Fase 13: Definición de las reglas de validación para cumplir con las especificaciones del kit

Al tratarse de un kit para diagnóstico, se han de establecer unos criterios de validación que indiquen si el kit está funcionando como se espera. En la **Figura 47** se muestran las dos reglas de validación establecidas tanto para el control de calidad 1 como el control de calidad 2. Al igual que para la fórmula de cálculo de resultados, cada test diseñado tendrá sus propias reglas de validación.

Rules:	
Name	Validating Condition
<input type="checkbox"/> QC1	((reading[RLU_Cal] > 2)&(reading[RLU_Cal] < 7))
<input type="checkbox"/> QC2	(reading[RLU_NC] < 2)

Figura 47. Reglas de validación establecidas por las instrucciones del kit.

Fase 14: Definición de las reglas de interpretación del resultado

Fue necesario también establecer los criterios que clasificarían a una muestra como positiva, equivocada o negativa. Para ello, se establecieron los criterios indicados en las instrucciones del kit como se muestra en la **Figura 48**. Estas reglas de nuevo vuelven a ser específicas para cada test diseñado.

Outcomes:				
Name	Interpretation	Physical Quantity	Value	Condition
<input type="checkbox"/> Interpretation1	Positive	Concentration (Index)	eq[CalculatedValue]	(eq[CalculatedValue] >= 1.1)
<input type="checkbox"/> Interpretation2	Negative	Concentration (Index)	eq[CalculatedValue]	(eq[CalculatedValue] <= 0.9)
<input type="checkbox"/> Equivocal	Equivocal	Index	eq[CalculatedValue]	((eq[CalculatedValue] > 0.9)&(eq[CalculatedValue] < 1.1))

Figura 48. Reglas de interpretación establecidas por las instrucciones del kit.

Una vez finalizado el diseño del método *in-silico*, lo primero que se hizo fue ver su compatibilidad con el software del analizador. Para ello el método, se incluyó en la localización donde el analizador coteja los test y los incorpora a su base de datos (C:\ProgramData\Lotus\methods).

Se observó que el método era reconocido por el software del analizador y por tanto el diseño era el correcto a nivel de programación. En la **Figura 49** se presenta una imagen del panel de métodos en el software utilizado.



Figura 49. Panel de métodos en el software de VirClia Lotus.

3.12.2 PRUEBAS FUNCIONALES DE VERIFICACIÓN (VOLUMÉTRICAS Y COLORIMÉTRICAS)

Una vez diseñado el test *in-silico*, se llevaron a cabo pruebas volumétricas y colorimétricas.

Pruebas volumétricas: Para estas pruebas se usaron tiras monodosis de VirClia®. Las monodosis se prepararon para que contuviesen agua en su interior (pocillos de reactivos) ya que lo que se necesitaba era medir que los volúmenes dispensados por el analizador y programados en el test eran los correctos. Para ello, se programó un ensayo en el analizador VirClia® Lotus incluyendo un total de 30 tiras monodosis. Tras cada fase de dispensación, el analizador era pausado a través del menú de servicio del software del analizador. A continuación, las tiras monodosis eran extraídas del analizador y el volumen pipeteado por el mismo era verificado con una pipeta manual.

El margen permitido para un analizador de estas características es $\pm 5 \mu\text{L}$ en cada dispensación.

En la **Tabla 13** se muestran las diferentes fases y volúmenes objetivos.

Tabla 13. Volúmenes objetivo para comprobar el pipeteo del analizador.

FASE	VOLUMEN OBJETIVO	DESVIACIÓN
Dispensación de calibrador	100 μL	$\pm 5 \mu\text{L}$
Dispensación de muestra	100 μL	$\pm 5 \mu\text{L}$
Dispensación de control negativo	100 μL	$\pm 5 \mu\text{L}$
Dispensación de conjugado	100 μL	$\pm 5 \mu\text{L}$
Dispensación de substrato	100 μL	$\pm 5 \mu\text{L}$

Pruebas colorimétricas: Para estas pruebas se usó el colorante incluido en el kit Dye test (ref: VLDK). La solución se encontraba a una concentración 40X para la muestra y 1X para el calibrador, conjugado y substrato. Se prepararon un total de 30 tiras monodosis, en las cuales se incluyó el colorante (dilución de tartracina a 1X) en cada uno de los pocillos de reactivo de la siguiente forma:

- 350 μL de tartracina a 1X en el pocillo del conjugado (D), calibrador (F) y substratos (G y H).
- 350 μL de agua en el pocillo del diluyente (E).

En el caso de la muestra, la solución coloreada fue dispensada en un vial de 2 ml (tubo Sarstedt). Para poder leer la absorbancia del reactivo, se usaron pocillos transparentes de kits de ELISA sin antigenar, los cuales sustituirían a los pocillos de poliestireno antigenados (blancos) en estas pruebas como se muestra en la **Figura 50**.



Figura 50. Tiras monotest con pocillos de reacción (blancos) y de ELISA (transparentes).

Tras cada fase de dispensación, el analizador era pausado a través del menú de servicio, las tiras monodosis eran extraídas del analizador y leídas en el lector de absorbancia HiPo MPP-96 (ref: BS-050108-A02). En esta fase se tuvo en cuenta la ley de Lambert-Beer que establece que hay una relación exponencial entre la cantidad de luz que se transmite a través de una sustancia y la concentración de la misma.

Ley de Lambert-Beer

$$A = \alpha \cdot l \cdot c \qquad A = -\log \frac{I1}{I0}$$

$$\frac{I1}{I0} = e^{-\alpha l c} \qquad \alpha = \frac{4\pi \cdot k}{\lambda}$$

Donde cada parámetro de la ecuación viene definido de la siguiente manera:

- A es la absorbancia.
- I_0 es la intensidad de la luz incidente.
- I_1 es la intensidad de la luz una vez ha atravesado el medio.
- l es la distancia que la luz atraviesa por el medio.
- c es la concentración de sustancia absorbente en el medio.
- α es el coeficiente de absorción o la absorbancia molar de la sustancia.
- λ es la longitud de onda del haz de luz.
- k es el coeficiente de extinción.

El volumen objetivo para esta prueba fue de 100 μ L de forma que el pocillo fuese cubierto de forma uniforme con la solución coloreada de tartracina. La **Tabla 14** muestra los valores de densidad óptica objetivo para esta prueba:

Tabla 14. Densidades ópticas objetivo para comprobar el correcto pipeteo del analizador.

FASE	DO OBJETIVO	DESVIACIÓN
Dispensación de calibrador	1	± 0.2
Dispensación de muestra	2	± 0.2
Dispensación de control negativo	1	± 0.2
Dispensación de conjugado	0.5	± 0.2
Dispensación de substrato	1	± 0.2

El margen permitido para esta prueba fue de un ± 0.2 DO en valor absoluto de la densidad óptica objetivo.

3.12.3 PRUEBAS DE LINEALIDAD EN MUESTRAS DE SUERO

Para poder establecer una relación entre el LCR y el suero, fue necesario realizar pruebas de linealidad usando muestras de suero. Es fundamental saber que, para que las diluciones tengan el efecto deseado en los valores de RLU, debemos movernos en la zona lineal y, por tanto, esta debe ser identificada.

Para llevar a cabo este procedimiento se realizaron diluciones de muestras de suero para los diferentes agentes infecciosos usados en este estudio (sarampión y varicela). Las diluciones que se establecieron fueron las que se incluyen en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Diluciones usadas para establecer zona lineal de las muestras de suero.

FACTOR DE DILUCIÓN
1:20
1:100
1:200
1:300
1:400
1:500
1:600
1:700
1:800

Se usaron 3 muestras positivas de cada agente infeccioso con un valor de RLU comprendido entre 5 y 25. A partir de un valor de 20 RLU, el lector de quimioluminiscencia del analizador VirClia® Lotus comienza a alcanzar su zona de saturación, por lo que medidas por encima de este valor pueden ser menos precisas. Por esta razón, se evitó el uso de muestras con unas RLU muy elevadas. Para evitar gastar un alto volumen de muestra, las diluciones fueron llevadas a cabo manualmente debido a la limitación de estos analizadores de no poder pipetear volúmenes con gran exactitud por debajo de 5 µL.

El test diseñado para LCR en la plataforma fue modificado para realizar una aspiración de 100 µL directamente de los viales donde se encontraban las diluciones preparadas a la concentración deseada. Se prepararon 9 viales usando el tipo de vial de 2 ml de Sarstedt. Estos viales fueron rotulados haciendo referencia a la dilución que contenían en su interior.

La dilución 1:20 fue preparada directamente, mientras que el resto de diluciones fueron preparadas a partir de la dilución 1:100. Para ello se usó diluyente de sueros (ref: VCMAR-EDB). Los volúmenes preparados fueron los mostrados en la

Tabla 16.

Tabla 16. Volúmenes usados para las pruebas de linealidad en muestras de suero.

DILUCIÓN	VOLUMEN SUERO (μ l)	VOLUMEN DILUYENTE (μ l)	VOLUMEN FINAL (μ l)
1:20	20	380	400
1:100	10	990	1000
1:200	90	180	270
1:300	60	180	240
1:400	50	200	250
1:500	50	250	300
1:600	30	180	210
1:700	30	210	240
1:800	20	160	180

Una vez los 9 viales rotulados para cada uno de los tres agentes infecciosos fueron preparados, se llevó a cabo el ensayo en el analizador automatizado durante 1.5 horas. Todas las muestras y parámetros fueron ensayados en paralelo para disminuir la variabilidad inter-ensayo.

3.12.4 ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN

Para este estudio se usaron las normas CLSI EP12 y CLSI EP24. Se trata de pautas y estándares internacionales que se usan en el ámbito de los laboratorios clínicos. Estas reglas y estándares son usados para garantizar la consistencia, precisión y fiabilidad de los resultados obtenidos por un laboratorio.

El objetivo de este análisis era el estudio de las siguientes variables:

- Precisión dentro del mismo ensayo (intra-ensayo).
- Precisión entre diferentes ensayos (inter-ensayo).
- Precisión entre diferentes días (inter-día).
- Precisión dentro del mismo día (intra-día).

El estudio consistió en el análisis de una muestra positiva y una muestra negativa de LCR durante 20 días. Se prepararon dos réplicas de cada una de las muestras y los ensayos fueron realizados en dos analizadores diferentes. Uno de los requisitos de este ensayo fue que los mismos analizadores VirClia® Lotus debían usarse a lo largo del estudio, para evitar así la variabilidad que puede aparecer entre analizadores.

Además, para el ensayo se prepararon 4 alícuotas de la muestra negativa y 4 alícuotas de la muestra positiva conteniendo cada alícuota 600 µL. Cada una de estas alícuotas fue usada durante 5 días, pasados los cuales, se descartó el resto de muestra restante. En el caso de la muestra negativa, se usó una mezcla comercial (ref: HUMANCSFR-0101364). En cambio, para la muestra positiva, puesto que el volumen necesario para este estudio era muy elevado, y debido a las limitaciones de obtener este tipo de muestras positivas de LCR, se llevó a cabo una contaminación controlada de un volumen determinado de la mezcla de muestras negativas. La contaminación controlada se llevó a cabo en la proporción idónea para que las RLU obtenidas estuviesen dentro de la zona de linealidad del analizador. Para ello se realizó una prueba realizando una contaminación controlada usando alícuotas de dos muestras positivas que se adicionaron a la mezcla de muestras negativas de LCR a diferentes concentraciones.

Las muestras positivas usadas pertenecían al banco de sueros de la empresa Vircell S.L y fueron las siguientes:

- **Sarampión IgG:** A-108-075
- **Varicela IgG:** A-92-025

Para establecer la cantidad necesaria de muestra positiva que se debía adicionar a la muestra de LCR negativo, se establecieron varios niveles de dilución. Para ello se usaron doble diluciones a diferentes concentraciones. En la siguiente página como se muestra en la **Figura 51** se observa un esquema representativo de cómo se llevaron a cabo estas diluciones.

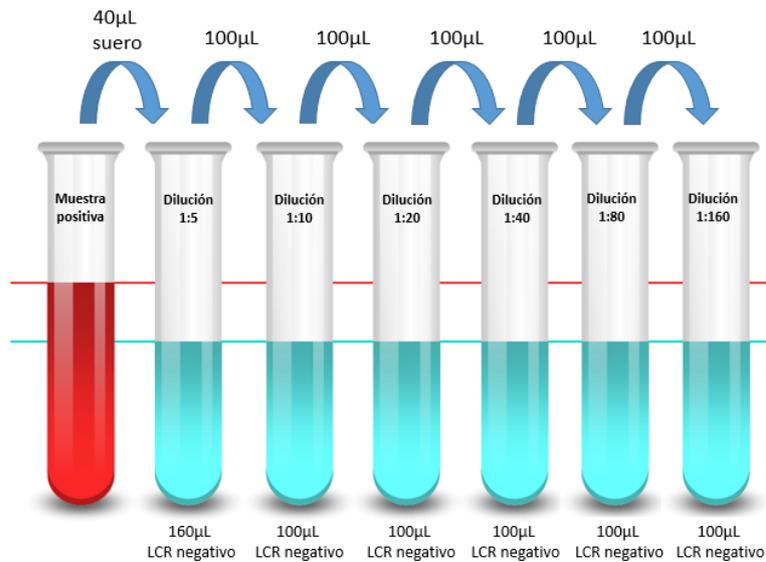


Figura 51. Diluciones de muestra positiva a partir del “pool” de muestras negativas.

Tras este procedimiento, se ensayaron las diferentes muestras a sus correspondientes diluciones para establecer qué concentración de anticuerpos era necesaria para que la mezcla de muestras de LCR negativas fuese positiva a los valores adecuados por debajo de la zona de saturación.

Una vez conocida la concentración necesaria, se prepararon 3 mL de la mezcla de muestras negativas para cada parámetro y 3 mL de muestra contaminada (positiva). Puesto que cada agente infeccioso era diferente, el volumen para la contaminación controlada usando la muestra positiva, también fue diferente. Los volúmenes se muestran en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Volumen de muestra positiva para contaminar el “pool” de muestras negativas.

KIT	DILUCIÓN FINAL	VOLUMEN LCR NEGATIVO	VOLUMEN SUERO POSTIVO
Measles IgG (VCM062)	1:40	2925 µL	75 µL
VZV IgG (VCM089)	1:5	2400 µL	600 µL

Durante este estudio, se tuvo en cuenta el volumen necesario para que el analizador pudiera pipetear las muestras sin problema. A este volumen se le denomina, volumen muerto. Se trata del volumen residual que queda en el vial, el cual ya no puede ser detectado por el analizador debido a la sensibilidad del sistema de detección del mismo. En nuestro caso, se estableció un volumen de 100 µL por alícuota, preparándose 3 ml como volumen final, los cuales fueron alicuotados en 4

viales con un volumen final de 600 μL cubriendo así los 20 días que duraba el estudio. Las fórmulas usadas para el estudio de precisión fueron las siguientes:

Repetitividad (S_r)

$$S_r = \sqrt{\frac{(1) + (2)}{4I}}$$

(1): Suma de (Resultado RLU 1 – Resultado RLU2)² del analizador 1

(2): Suma de (Resultado RLU 1 – Resultado RLU2)² del analizador 2

I: Número de días empleados para el estudio (n=20)

Precisión entre ensayos (S_{rr}^2)

$$S_{rr}^2 = A^2 - \frac{S^2 r}{2}$$

El resultado obtenido de esta fórmula, se toma como valor absoluto y es este valor el que se usa para el cálculo de S_{rr} .

$$S_{rr} = \sqrt{S_{rr}^2}$$

Precisión entre días (S_{dd}^2)

$$S_{dd} = B^2 - \frac{A^2}{2}$$

El resultado obtenido de esta fórmula, se toma como valor absoluto, siendo este valor el que se usa para el cálculo de S_{dd} .

$$S_{dd} = \sqrt{S_{dd}^2}$$

Precisión entre instrumentos

$$S_T = \sqrt{S_{dd}^2 + S_{rr}^2 S_r^2}$$

Se usaron las desviaciones estándar de las fórmulas anteriores para calcular cada tipo de precisión junto al valor promedio diario. Además, se realizó el cálculo del coeficiente de variación, el cual fue expresado como porcentaje:

Precisión intra-ensayo:

$$CV (\%) = \frac{\sigma Sr}{Promedio\ global} \times 100$$

Precisión intra-día:

$$CV (\%) = \frac{\sigma Sd}{Promedio\ global} \times 100$$

Precisión inter-ensayo:

1) Entre ensayos:

$$CV (\%) = \frac{\sigma Srr}{Promedio\ global} \times 100$$

2) Entre días:

$$CV (\%) = \frac{\sigma Sdd}{Promedio\ global} \times 100$$

3) Entre analizadores:

$$CV (\%) = \frac{\sigma ST}{Promedio\ global} \times 100$$

Las especificaciones establecidas fueron las siguientes:

- A) **Muestras positivas:** obtener un coeficiente de variación igual o inferior al 20% en todos los ensayos realizados.
- B) **Muestras negativas:** se establece que no puede haber un cambio en la interpretación cualitativa de la muestra.

3.12.5 ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Este estudio se llevó a cabo para establecer la sensibilidad y especificidad del kit usando las siguientes fórmulas:

Sensibilidad: se trata de la probabilidad de que el resultado del ensayo sea positivo cuando verdaderamente existe enfermedad.

$$\text{Sensibilidad (\%)} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}} \times 100$$

Especificidad: se trata de la probabilidad de que el resultado del ensayo sea negativo cuando verdaderamente no existe enfermedad.

$$\text{Especificidad (\%)} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{falsos negativos}} \times 100$$

Razón de verosimilitud negativa (-LR): relación entre la probabilidad de obtener un resultado negativo existiendo enfermedad y la probabilidad de obtener un resultado negativo no existiendo enfermedad:

$$-LR = \frac{100 - \text{sensibilidad (\%)}}{\text{Especificidad (\%)}}$$

Razón de verosimilitud positiva (+LR): relación entre la probabilidad de obtener un resultado positivo existiendo enfermedad y la probabilidad de obtener un resultado positivo no existiendo enfermedad:

$$+LR = \frac{\text{Sensibilidad (\%)}}{100 - \text{especificidad (\%)}}$$

Valor predictivo positivo (VPP): probabilidad de enfermedad presente cuando la prueba es positiva.

$$\text{VPP (\%)} = 100 \times \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}}$$

Valor predictivo negativo (VPN): probabilidad de ausencia de enfermedad cuando la prueba es negativa.

$$\text{VPN (\%)} = 100 \times \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{falsos negativos}}$$

Los resultados obtenidos pueden ser:

- **VP o verdaderos positivos:** aquellas muestras en las cuales se obtuvieron valores de índice positivos en ambas técnicas comparadas.
- **VN o verdaderos negativos:** aquellas muestras en las cuales se obtuvieron valores de índice negativos en ambas técnicas comparadas.
- **FP o falsos positivos:** aquellas muestras donde se obtuvieron valores de índice positivos para el kit a evaluar mientras que el resultado fue negativo cuando se usó el kit de referencia.
- **FN o falsos negativos:** muestras donde se obtuvieron valores de índice negativos para el kit a evaluar mientras que el resultado fue positivo cuando se usó el kit de referencia.
- **Indeterminado:** aquellas muestras donde el índice se encuentra en la zona gris establecida por el kit a evaluar o el kit de referencia. A la hora de calcular la sensibilidad y especificidad del kit, estas muestras pueden ser excluidas de los cálculos.

El kit a estudiar debe ser comparado con uno previamente validado (marcado CE) que actuará como método de referencia. Por tanto, el panel de muestras debe ser ensayado tanto con el método a evaluar como con el método ya establecido en el mercado. Las muestras fueron ensayadas en paralelo analizando a la vez las parejas de LCR y sueros.

- Ensayo manual con kit de Varicela Zoster IgG Virion Serion.
- Ensayo manual con kit de Sarampión IgG Virion Serion.
- Ensayo automatizado con kit de Varicela Zoster IgG VirClia® monotest.
- Ensayo automatizado con kit de Sarampión IgG VirClia® monotest.

3.12.6 ESTUDIO DEL PUNTO DE CORTE

Para este estudio se usaron las normas CLSI EP12 y CLSI EP24. El objetivo de este estudio fue establecer el punto de corte óptimo para el kit que se pretendía evaluar. Para ello, se estudió una población de donantes sanos y una población hospitalaria con sospecha clínica de la enfermedad siendo el criterio de exclusión el no usar aquellas muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Los calibradores y controles fueron ajustados para obtener el mejor balance entre sensibilidad y especificidad, teniendo un intervalo de confianza del 95%, para ello nos ayudamos del análisis de la curva ROC.

Una curva ROC o Característica Operativa del Receptor, es una representación gráfica de la sensibilidad frente a la especificidad para un sistema clasificador binario, en este caso, entre dos casas comerciales, según varía el umbral de discriminación. Estas curvas ROC usan un parámetro que se denomina área bajo la curva por sus siglas en inglés (AUC). Este valor, comúnmente varía entre 0.5 a 1, donde 0.5 nos estaría indicando que el kit es capaz de discriminar un resultado positivo de un resultado negativo en el 50 % de los casos mientras que si el valor es de 1, significaría que el kit tiene una discriminación diagnóstica del 100%.

En la curva ROC la proporción de falsos positivos se representa en el eje X, mientras que en el eje Y se representa la proporción de verdaderos positivos (esto es lo que hace referencia a la sensibilidad). De esta manera podemos saber la sensibilidad y especificidad para cada punto de corte seleccionado, siendo este el que se represente más cercano a la zona superior izquierda de la gráfica de la curva ROC, que será en este caso, el punto de corte que tenga una mayor AUC. En este análisis, se usaron los datos obtenidos en el punto 3.12.5 donde se estudió la sensibilidad y especificidad del kit. Los índices de grado de acuerdo y desacuerdo entre técnicas se calcularon mediante el programa estadístico Medcalc (versión 5.00.017).

Se usaron también otro tipo de gráficos diferentes a los de las curvas ROC como son, los diagramas de puntos. En este tipo de diagramas se representa a la población de muestras positivas y negativas (valores de RLU). El punto de corte óptimo es delimitado por una línea horizontal, la cual puede ajustarse para optimizar sensibilidad o especificidad, según las preferencias de desarrollo del kit de diagnóstico. Los valores de sensibilidad y especificidad aparecen en la leyenda del diagrama de puntos situada en el lateral derecho del diagrama de puntos.

3.12.7 ESTUDIO DE LAS INTERFERENCIAS ENDÓGENAS SEGÚN LA CLSI EP07-A2

Para este estudio se usó la norma CLSI EP07-A2. Hay sustancias que pueden alterar la concentración medible de un analito o alterar la unión de los anticuerpos durante el transcurso del inmunoensayo. Estas sustancias interferentes endógenas pueden ser de diversa índole. En el caso que nos ocupa, se seleccionaron los componentes principales que forman parte de la matriz de cualquier LCR. Estos interferentes pueden dar lugar a concentraciones de analito falsamente elevadas o bajas durante el ensayo, dando lugar a una interpretación errónea de los resultados de un paciente por parte del laboratorio y llevar a la administración de un tratamiento equivocado por parte del facultativo.

Las sustancias seleccionadas para ser ensayadas como posibles sustancias que pueden causar interferencias endógenas y sus valores normales en LCR se muestran en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Sustancias interferentes endógenas con valores normales y anormales en LCR.

COMPONENTE	VALOR NORMAL EN LCR	VALORES ANORMALES EN LCR
Albúmina	10 – 30 mg/dL	>70mg/dL
Glucosa	40 – 80 mg/dL	>300mg/dL
Lactato	10 – 30mg/dL	>8mmol/L
Inmunoglobulina IgG	0.9 – 5 mg/dL	>10mg/dL
Hemoglobina	0 glóbulos rojos en LCR	>1.569µg/L

Los ensayos fueron llevados a cabo y evaluados de acuerdo con la norma CLSI EP07-A2. Lo que se pretendía evaluar fue el efecto de las sustancias interferentes en muestras de LCR, usando los kits de VirClia® monotest. Para ello, cada sustancia interferente se ensayó en triplicado usando tres niveles distintos, es decir, en una muestra positiva, una muestra negativa y otra indeterminada.

Para simplificar el montaje de este ensayo, se usó la información que se muestra en la siguiente página en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Volumen final en microlitros de las muestras para el ensayo de interferencias endógenas.

COMPONENTE	POSITIVA	INDETERMINADA	NEGATIVA	CONTROL
Albúmina	175 µL	175 µL	175 µL	175 µL
Glucosa	175 µL	175 µL	175 µL	175 µL
Lactato	175 µL	175 µL	175 µL	175 µL
IgG kappa	175 µL	175 µL	175 µL	175 µL
Hemoglobina	175 µL	175 µL	175 µL	175 µL

En el volumen final se tuvo en cuenta el volumen muerto necesario para que el analizador pudiese pipetear las muestras sin problema (volumen muerto establecido en 100 µL). Para cada sustancia endógena se requerían 25 µL, y puesto que en el ensayo se analizaban tres niveles, muestras positiva, indeterminada y negativa, el volumen necesario de sustancia endógena fue de 75 µL. Debido a que se conocían los valores de normalidad de estas sustancias en LCR, para establecer el valor de sustancia que podría causar interferencias en el inmunoensayo, se usaron las siguientes cantidades de interferente como se muestra en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Concentración de cada interferente para cada una de los niveles establecidos en g/L en un volumen final de 100 microlitros.

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN EN g/L
Albúmina	50
Glucosa	1.2
Lactato	8.5
IgG <i>kappa</i>	0.234
Hemoglobina	0.15

Para el cálculo de porcentaje de interferencia se evaluó cada sustancia por separado.

- **Interferencia** = media RLU del test – media RLU muestra control.
- **% de interferencia** = $100 \times (\text{media RLU del test} - \text{media RLU muestra control}) / \text{media RLU}$.

Se consideró que no hubo interferencia en los siguientes casos:

- **Calibrador y muestras positivas:** el porcentaje de interferencia fue menor al 25%.
- **Control negativo y muestras negativas:** no hubo cambios en la interpretación del resultado.

3.12.8 ESTUDIO DE LAS POSIBLES REACCIONES CRUZADAS SEGÚN LA CLSI EP07-A2

Para este estudio se usó la norma CLSI EP07-A2. El objetivo de este análisis fue determinar si muestras que eran positivas para otros agentes infecciosos a los evaluados en esta tesis, podían interferir con los kits evaluados de sarampión IgG y varicela zoster IgG. Para ello, muestras las cuales eran positivas a microorganismos taxonómicamente o sindrónicamente relacionados con el agente objetivo de los kits a evaluar, se incluyeron como agentes con potencial para dar lugar a una reacción cruzada.

En el estudio planteado, muestras positivas para un agente infeccioso en concreto debían de resultar negativas para el kit a evaluar, interpretando así que no había reacción cruzada. En caso de reportar un resultado positivo, el mismo debía ser informado en las instrucciones del uso del kit. Los resultados catalogados como indeterminados no fueron eliminados del estudio.

3.12.9 COMPARACIÓN ENTRE SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Para esta comparación se usaron dos sistemas automatizados como fueron el analizador VirClia® Lotus y VirClia® Thunderbolt® siguiendo las instrucciones de montaje indicadas en el manual de usuario de cada uno de los analizadores. Las muestras incluidas en el estudio de sensibilidad y especificidad fueron usadas para esta comparación para cada uno de los kits evaluados (Sarampión IgG y Varicela Zoster IgG). Este estudio se llevó a nivel cualitativo, ensayando las muestras en paralelo para evitar la variabilidad inter-ensayo y preparando las soluciones de lavado extemporáneamente.

Para evaluar la correlación entre ambos analizadores, se realizó un análisis estadístico-descriptivo donde se usó el coeficiente de correlación de Pearson que establecería si había una relación lineal entre los resultados emitidos entre ambos analizadores.

3.12.10 ANÁLISIS DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE BLANCO

Para entender cada uno de estos conceptos hay que tener claro a lo que hacen referencia:

- **Límite de detección (LoD):**

Suele definirse como la cantidad mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado.

- **Límite de blanco (LoB):**

Es la menor cantidad de señal que puede ser generada por un analito. Por debajo de esa señal, lo que se está midiendo es el fondo de la reacción.

Para este ensayo, cuatro muestras negativas fueron ensayadas en triplicado, usando dos lotes diferentes de kit y durante tres días consecutivos. Para ello, se prepararon cuatro alícuotas de 600 µL cada una. En este volumen ya estaba contemplado el volumen muerto del ensayo 100 µL. Dado el alto volumen de muestra que se necesitaba para este estudio, las alícuotas se obtuvieron de una mezcla de muestras negativas comerciales cuya identificación se muestra en la **Tabla 21**.

Tabla 21. Identificación de la mezcla de muestras negativas.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA
Muestra 1 – R-1105-041
Muestra 2 – R-1105-043
Muestra 3 – R-1105-044
Muestra 4 – R-1105-045

Las 3 réplicas diarias necesarias de las 4 muestras a ensayar como se aprecia en la siguiente página como **Figura 52**, fueron ensayadas en el analizador VirClia® Lotus siguiendo las instrucciones del fabricante.

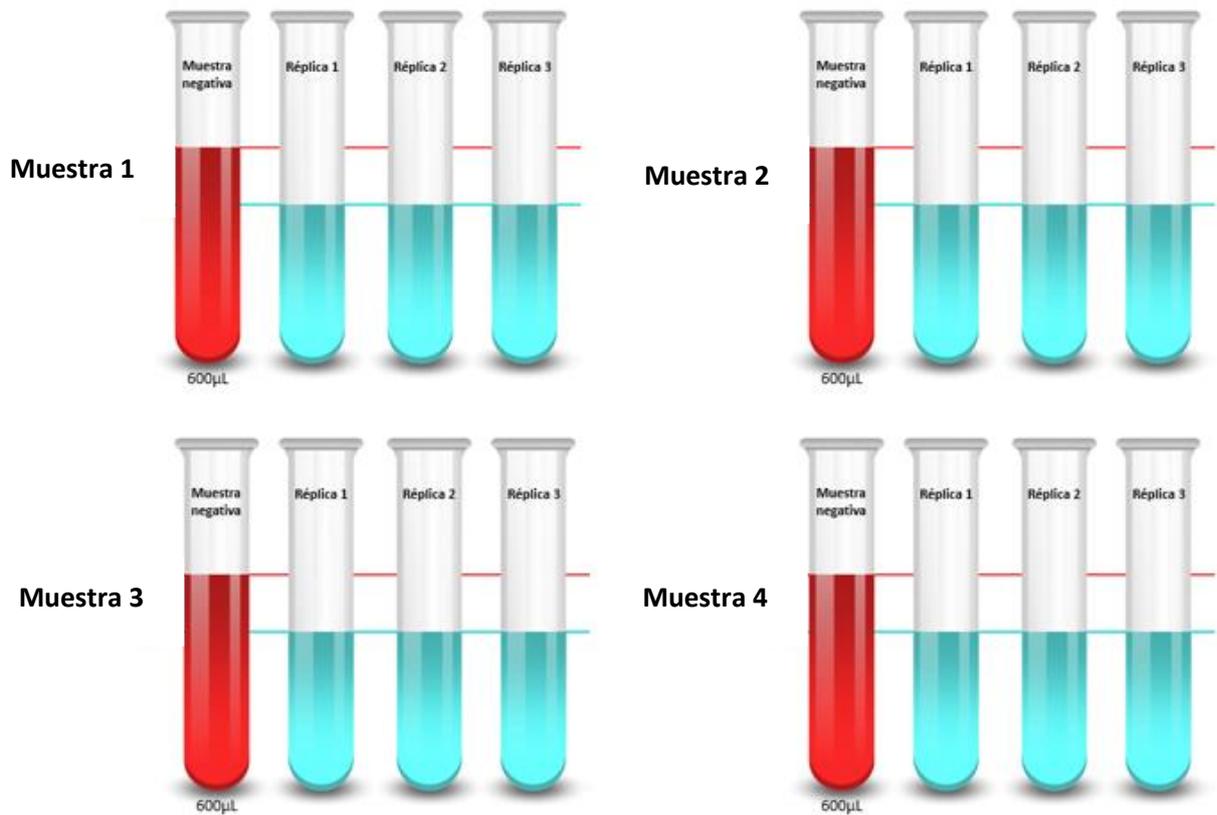


Figura 52. Réplicas para el análisis del límite de detección y límite de blanco.

3.13 AJUSTE Y ADAPTACIÓN AL MODELO TEÓRICO DESARROLLADO POR HANSOTTO REIBER AL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

Este ajuste y adaptación constituye el segundo objetivo específico de esta tesis.

3.13.1 ADAPTACIÓN DE LAS FÓRMULAS DE REIBER

Las fórmulas de Reiber para el cálculo del índice de anticuerpos son conocidas desde 1994. Estas fórmulas se aplican para conocer el ratio de anticuerpos entre LCR y suero. Este índice es adimensional y no indica la cantidad absoluta de anticuerpos en LCR o suero. En el caso de esta tesis, se requirió de la adaptación de las fórmulas de Reiber al ensayo de quimioluminiscencia para de este modo, normalizar las diluciones entre LCR y suero. Para ello se estableció un límite superior por encima del cual, los valores de RLU obtenidos para la muestra se consideraban incluidos en la zona de saturación del lector de quimioluminiscencia y, por tanto, se requerían diluciones adicionales.

El valor fue elegido basándonos en las indicaciones del fabricante según los lectores de quimioluminiscencia usados en cada analizador, correspondiendo este con 20 RLU. Puesto que la dilución de la muestra de LCR tenía un factor de dilución de 1:4, se usaron las fórmulas necesarias para calcular el índice normalizado de anticuerpos en suero como se indica en el punto 3.11.1 de esta tesis. Una vez obtenido el índice de anticuerpos normalizado en suero, se pudo seguir con el resto de fórmulas de Reiber hasta llegar al índice de anticuerpos (IA) el cual determinaba la producción intratecal de anticuerpos en el paciente. Un paciente que no ha tenido contacto con el microorganismo o cuando el contacto se produjo hace mucho tiempo, puede no presentar anticuerpos frente a dicho patógeno o el nivel de los mismos puede ser muy bajo. En estos casos, el sistema de Reiber presenta una limitación y es que valores muy bajos de anticuerpos en LCR y suero, puede generar resultados falsos positivos. Esto es debido a que puesto que lo que se tiene en cuenta en las fórmulas de Reiber es la proporcionalidad entre los anticuerpos que encontramos en el LCR y los encontrados en el suero, ante valores muy bajos, la proporción entre LCR y suero puede verse distorsionada causando que el resultado de la prueba no corresponda con el diagnóstico clínico del paciente.

Por lo tanto, se evaluó la posibilidad de usar el índice de anticuerpos de la muestra de LCR de VirClia® monotest para clasificar a estas muestras como negativas y poder de esta manera, paliar la limitación anteriormente mencionada por Reiber. Para ello, se llevó a cabo el método clásico para establecer un punto de corte para un kit diagnóstico, el cual consiste en calcular la media de una

población de pacientes negativos más tres desviaciones estándar. El valor obtenido, serviría para categorizar al paciente como negativo, por debajo de este punto de corte y evaluable por las fórmulas de Reiber cuando el valor de índice estuviese por encima de este punto de corte. Además del estudio clásico para establecer el punto de corte, se realizó un análisis ROC para ver si había concordancia entre el punto de corte establecido por la regla clásica y la curva ROC.

3.13.2 ELABORACIÓN DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA APLICACIÓN DE LAS FÓRMULAS DE REIBER

Como parte del segundo objetivo de esta tesis, se adaptaron las fórmulas de Reiber para que estas fuesen usadas con el kit de quimioluminiscencia de la casa comercial Vircell S.L. Para ello se usó la hoja de cálculo de Microsoft Excel para incluir las fórmulas necesarias para los cálculos. Además, se llevaron a cabo automatizaciones y reglas para facilitar la introducción de valores al usuario.

De esta manera, la evaluación de los resultados supondría un proceso más sencillo y disminuiría la probabilidad de errores humanos que podrían cometerse al introducir los datos relacionados con el paciente o con los datos del ensayo de quimioluminiscencia. Las diferentes secciones de la hoja de cálculo se describen a continuación:

- 1) **Menú principal:** mediante un clic, el usuario puede ingresar a cada una de las opciones de la hoja de cálculo como se muestra en la **Figura 53**.

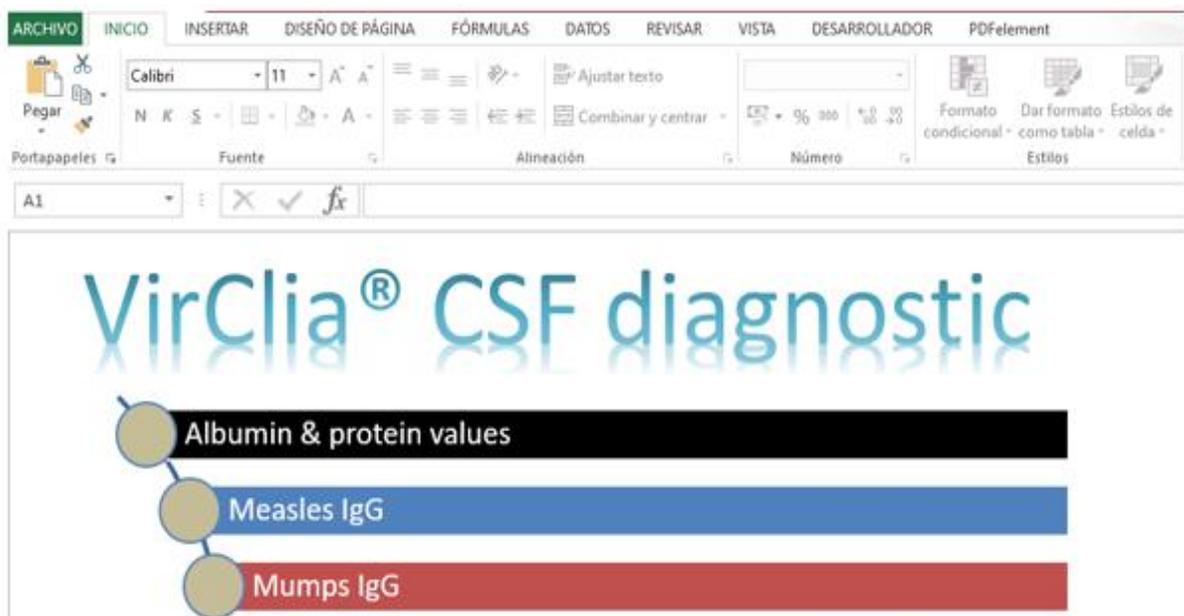


Figura 53. Menú principal de la hoja de cálculo Excel para el cálculo del índice de anticuerpos.

2) **Introducción de los valores de albúmina y proteínas:** en esta fase se introdujo la siguiente información:

- a. Número de identificación del paciente
- b. Edad
- c. Fecha
- d. Valor de Albúmina (g/L)
- e. Valor de IgG total (g/L)

Una imagen de lo que aparece en la pantalla se presenta en la **Figura 54**. Solamente las casillas sombreadas eran editables, limitando así la aparición de errores al introducir los datos.

VIRCLIA® CSF DIAGNOSTIC		vircell MICROBIOLOGISTS	
Patient data			
Sample ID			
Age			
Date			
Clinical chemistry			
Total protein	CSF	SERUM	GO TO MENU
Albumin (g/L)			
IgG (g/L)			
Comments			

Figura 54. Menú para insertar los valores comunes de cada paciente.

El usuario puede dirigirse en cualquier momento al menú principal usando la opción “GO TO MENU”. Toda la información introducida será almacenada para cada uno de los parámetros infecciosos a evaluar. Por motivos de seguridad solo los campos sombreados eran editables.

3) **Información adicional del ensayo:** la siguiente fase fue completar la información correspondiente al ensayo en el analizador automatizado así como incluir información adicional que ayudase al diagnóstico diferencial del paciente. La información que puede ser incluida es la siguiente:

- a. Lote del kit usado.
- b. Valores de RLU para la muestra de suero ensayada.
- c. Valores de índice para la muestra de suero ensayada.

- d. Valores de índice para la muestra de LCR ensayada.
- e. Xantocromía.
- f. Turbidez.
- g. Nivel de glucosa en suero y LCR.
- h. Recuento celular (PMN en mm³).
- i. Recuento celular (Linfocitos en mm³).
- j. Comentarios adicionales.

El resto de cálculos fueron realizados por la hoja de Excel siendo replicados a mano los mismos para verificar su validez. Un ejemplo de hoja de cálculo para el kit de Sarampión IgG se puede observar en la **Figura 55**.

VIRCLIA® CSF DIAGNOSTIC				Diferential diagnostic	
Sample ID	123456	Test	MEASLES	Xanthochromia	
Age	25	Lot	21C035002	<input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO	
Date	25/11/2021				
Clinical chemistry				Turbidity	
Total protein	CSF	SERUM		<input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO	
Albumin (g/L)	1.31	45.58			
IgG (g/L)	0.26	12.87			
	*INSERT VALUES IN g/L				
Antibody analysis				Glucose level (CSF)	
Serum	IgG				
Result serum (index)	Index	RLU Sample			
Assay 1:300	0.26	12			
If sample RLU (assay 1:300) > 20 --> Assay 1:400 must be performed					
Assay 1:400					
If sample RLU (assay 1:400) > 20 --> Assay 1:800 must be performed					
Assay 1:800					
Liquor	IgG				
CSF VirClix® antibody index	1.00				
			Galb (total)	0.03	28.73
			GlgG (total)	0.02	20.20
			Glin (IgG)	0.03	
			GlgGespec (IgG)	0.04	
			Antibody index IgG	1.83	
			Intrathecal antibody synthesis	YES	
			Pathologic AI range: ≥ 1,5		
					Glucose level (serum)
					PMN cell count (mm ³)
					Lymphocytes cell count (mm ³)

Figura 55. Hoja de cálculo para la introducción de los datos de quimioluminiscencia.

- 4) **Visualización de los diagramas de Reiber:** en esta fase del análisis, se pueden generar los diagramas de Reiber, para evaluar de una manera visual tanto el estado de la barrera hematoencefálica como la posible síntesis intratecal de inmunoglobulinas como se muestra en la siguiente página como **Figura 56**.

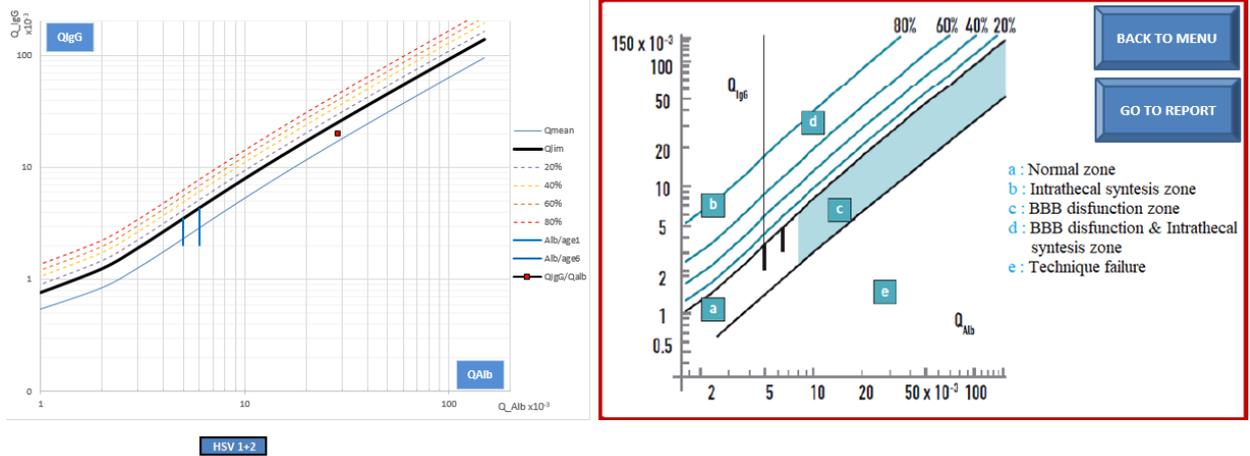


Figura 56. Diagrama de Reiber junto a su pictograma explicando las diferentes zonas del diagrama.

5) **Generación del informe final:** En esta fase se genera un informe incluyendo toda la información relevante referente al paciente de estudio como aparece en la **Figura 57** y **Figura 58**.

Patient data			
Sample ID	1811035331	Test	MEASLES
Age	0	Lot	21C035002
Date	00/01/1900		
Clinical chemistry			
	CSF	SERUM	
Total protein			
Albumin (g/L)	0.41	42.07	
IgG (g/L)	0.13	13.28	
			GO TO MENU GO TO REPORT
Antibody analysis			
			[Value e3]
Serum	IgG		Qalb (total) 0.01 9.63
Result serum (index)	Index	RLU Sample	QIgG (total) 0.01 9.56
Assay 1:300	0.36	12	Qlim (IgG) 0.01
If sample RLU (assay 1:300) > 20 --> Assay 1:400 must be performed			
Assay 1:400	0	0	QIgGespec (IgG) 0.04
If sample RLU (assay 1:400) > 20 --> Assay 1:800 must be performed			
Assay 1:800	0	0	Antibody Index IgG 4.91
			Intrathecal antibody synthesis YES
			Pathologic AI range: ≥1.5
Liquor	IgG		
CSF VirCia® antibody Index	1.00		

Figura 57. Informe final generado por la hoja de cálculo (1).

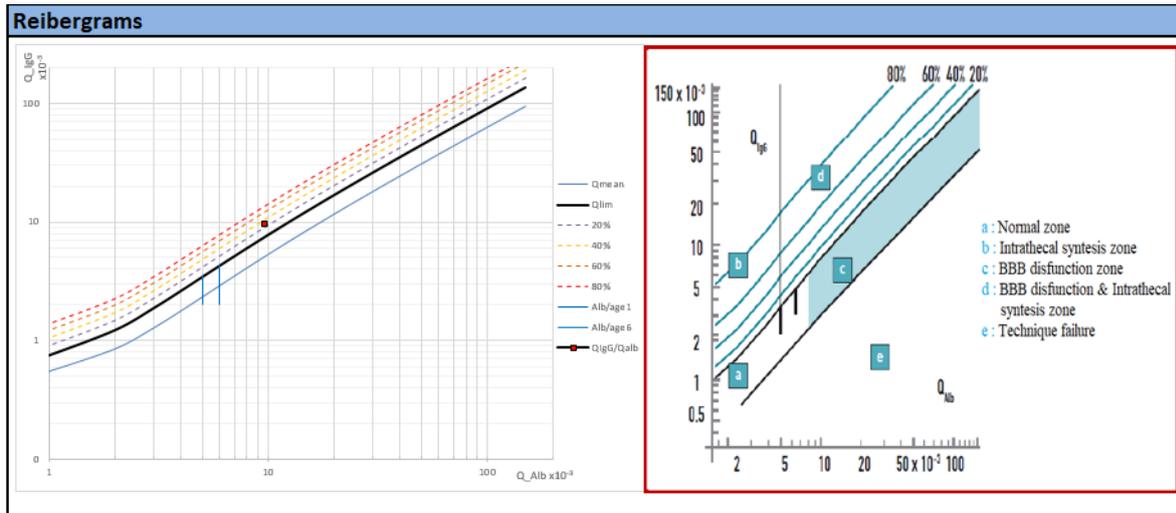


Figura 58. Informe final generado por la hoja de cálculo (2).

3.13.3 ELABORACIÓN Y ESTUDIO DE LOS DIAGRAMAS DE REIBER USANDO UN SOFTWARE LIBERADO PARA INVESTIGACIÓN

Se llevó a cabo un estudio de los diagramas de Reiber usando el programa *CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic (freeware V.4.63)*. Este software, es un programa en uso para investigación y validado por la misma universidad de Gottingen, el cual fue desarrollado por los doctores Hansotto Reiber y Werner Albaum, ambos pertenecientes a esta universidad.

Se trata de un software el cual puede ser adquirido de forma gratuita a través de la siguiente dirección web: <https://www.albaum.it/download.htm>. En este análisis se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros o variables:

- Edad del paciente.
- Valor de albúmina (LCR y suero).
- Cociente de albúmina (Q_{alb}).
- Concentración de IgG (LCR y suero).
- Cociente de IgG (Q_{IgG}).

Mediante el uso de estos diagramas, fue posible establecer la integridad de la barrera hematoencefálica de cada paciente a partir del estudio de la relación entre Q_{lgG} y Q_{alb} mediante el programa *CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic*. La pantalla principal del software *CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic* se muestra a continuación en la **Figura 59**.

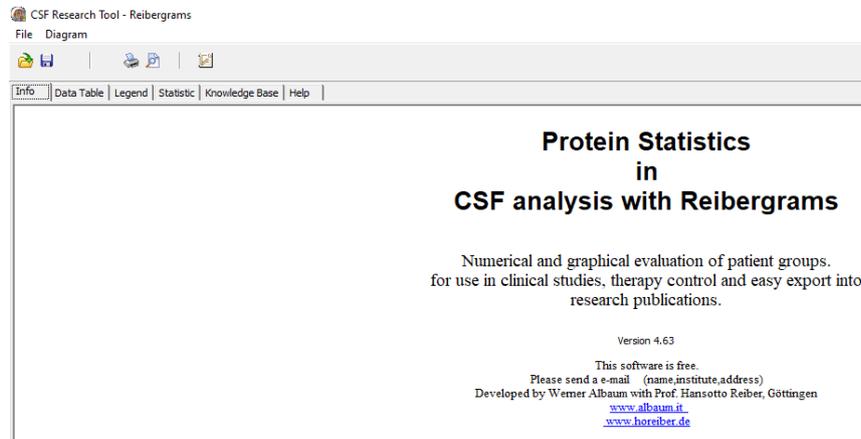


Figura 59. Software CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic (freeware V.4.63).

Los datos fueron introducidos en el software siguiendo las indicaciones del programa localizadas en la pestaña “Help” como aparece en la **Figura 60**.

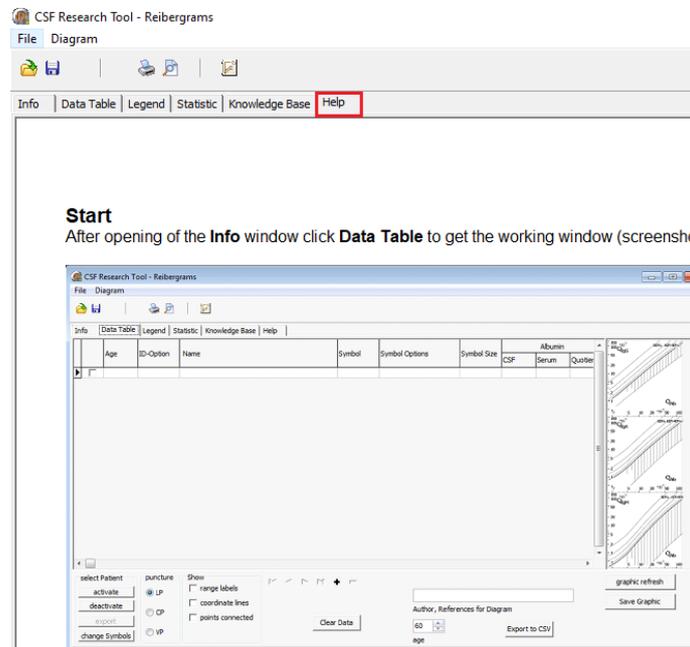


Figura 60. Pestaña “Help” que contiene la información de cómo usar el software.

Los diferentes diagramas de Reiber fueron generados a partir del software tras introducir los datos necesarios como se muestra en la **Figura 61**.

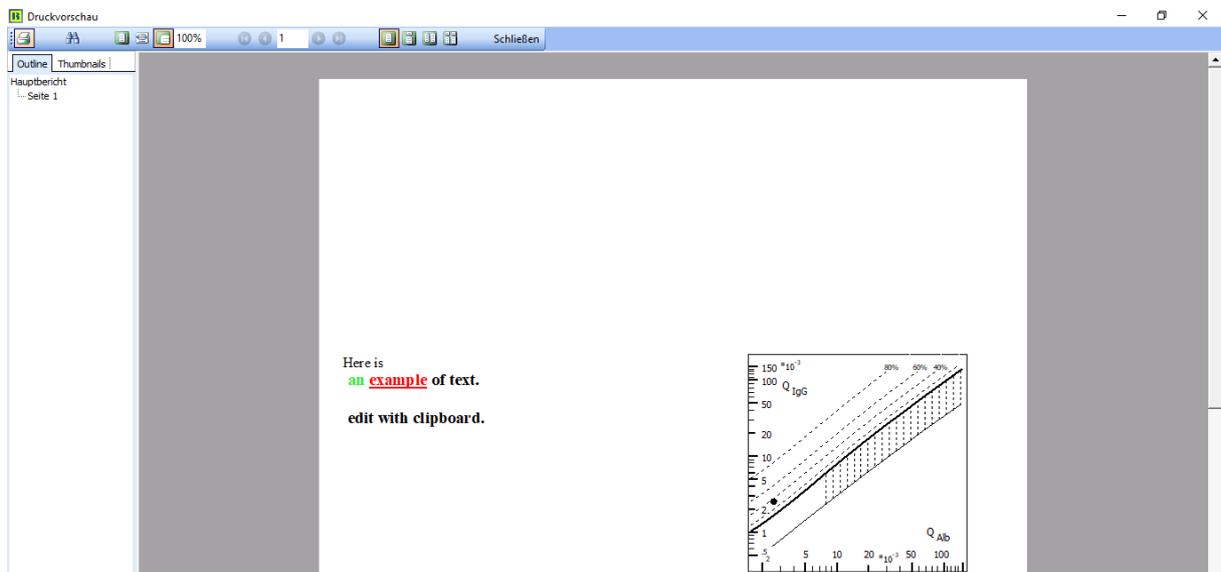


Figura 61. Diagramas de Reiber generados por el software Protein Statistic (freeware V.4.63).

Estos diagramas fueron almacenados en pdf para su posterior análisis junto a la estadística generada por el software Protein Statistic (freeware V.4.63).

3.13.4 ESTUDIO DE LAS FRECUENCIAS DE SÍNTESIS DE INMUNOGLOBULINAS

Con este estudio, se pretendía detectar si el paciente presentaba una síntesis intratecal de inmunoglobulinas basándonos en el valor de su fracción intratecal. En este caso, se estableció según indica Reiber, que el punto de corte con valor diagnóstico era el valor de Q_{lim} (teniendo en cuenta que la IgG IF debía ser mayor al 10%) o lo que es igual $Q_{media} \pm 3DS$. Los datos fueron representados usando el formato expuesto en la **Tabla 22**:

Tabla 22. Frecuencia de síntesis intratecal de inmunoglobulina.

NIVEL	NÚMERO	IgG
>3s	n (3)	Valor
>2s	n (2)	Valor
Número total	N	Valor

Tras introducir los datos de cada paciente en el programa *CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic (freeware V.4.63)*, se generaron las tablas de frecuencias dentro de la pestaña “Statistics” como aparece en la **Figura 62**.

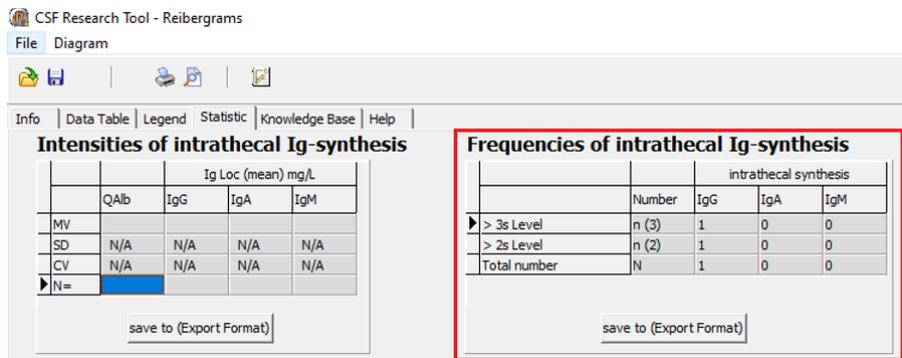


Figura 62. Valores de frecuencia de la disfunción sangre - LCR en la pestaña "statistic" dentro del software Protein Statistic freeware V.4.63

3.13.5 ESTUDIO DE LA FRECUENCIA DE LA DISFUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

Para poder caracterizar una disfunción de la barrera sangre – LCR, como puede ser una disminución de la tasa de renovación de LCR, se usó el cálculo del intervalo de referencia relacionado con la edad de Q_{Alb} usando la siguiente fórmula.

$$Q_{alb} = \left(4 + \frac{edad}{15}\right) \cdot 10^{-3}$$

Encontramos dos niveles diferentes que pueden ser usados como punto de corte, un nivel del 10% y un nivel del 20%, considerándose este último más fiable a la hora de emitir el diagnóstico, ya que valores por encima de estos niveles podrían estar indicando un mal funcionamiento de la barrera hematoencefálica.

El nivel del 10%: $Q_{alb} = \left(\left(4 + \frac{edad}{15}\right) \cdot 10^{-3}\right) \cdot 1.1$

El nivel del 20%: $Q_{alb} = \left(\left(4 + \frac{edad}{15}\right) \cdot 10^{-3}\right) \cdot 1.2$

Los datos fueron representados usando el siguiente formato de tabla como aparece en la **Tabla 23**.

Tabla 23. Frecuencia de disfunción de la barrera hematoencefálica.

NIVEL	NÚMERO	Q _{ALB} (FRECUENCIA)
> +10%	n (10)	Valor
> +20%	n (20)	Valor
Número total	N	Valor

Tras introducir los datos de cada paciente en el programa *CSF Research Tool Reibergrams – Protein Statistic (freeware V.4.63)*, se generaron las tablas de frecuencias dentro de la pestaña “Statistics” como se muestra en la siguiente página como **Figura 63**.

The screenshot shows the 'Statistics' tab of the CSF Research Tool - Reibergrams software. It contains the following data tables:

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction (highlighted in red)

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

Dataset to test the significance of mean values for IgLoc(mean)

	Mean (mg/L)			SD (mg/L)			Number of cases		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
Control group	0	0	0	1.81	0.41	0.14	500	500	500
Patient group				N/A	N/A	N/A	1		

Save Export Format options: HTML, SYLK, TXT, XML

Figura 63. Pestaña “Statistic” dentro del software Protein Statistic (freeware V.4.63).

3.13.6 EVALUACIÓN DEL TEST DISEÑADO, USANDO MUESTRAS DE UN CONTROL DE CALIDAD EXTERNO ACREDITADO DE ACUERDO A LA NORMATIVA ISO/IEC 17043:2010

Para la evaluación de esta nueva metodología, se usaron muestras de un control externo acreditado. En concreto, estas muestras fueron proporcionadas por el control de calidad INSTAND (Alemania). Todos los paneles ofrecidos por este laboratorio de referencia están acreditados según la normativa DIN EN ISO/IEC 17043:2010. Además, este programa de control de calidad proporciona todos los valores de referencia para llevar a cabo los cálculos del índice de anticuerpos.

1. Identificación de las muestras pareadas (LCR y suero).
2. Valores de IgG total.
3. Valores de albúmina.

Tras el análisis de las muestras en el analizador VirClia® Lotus, se realizaron los cálculos usando la hoja de Excel mediante la metodología citada en el apartado 3.13.2 "Elaboración de una hoja de cálculo para la aplicación de las fórmulas de Reiber". De la misma forma, los resultados fueron comprobados de forma manual usando las fórmulas citadas en el apartado 3.11.1 "determinación del índice de anticuerpos con el kit de virclia" para verificar su validez.

Finalmente, los resultados de las muestras de este control de calidad fueron enviados al organismo INSTAND para evaluación usando el formulario de reporte que se muestra en la **Figura 64**.

Group 463: Cerebrospinal Fluid Analysis 03 - MRZ Reaction (Date 3 - 2022)

Page 1

Deadline: May 20, 2022

Parameter	Default-Unit	Method	Reagent	Q lim (IgG) (E-3)	Sample 33
11 Measles specific quotient	E-3				
1 Measles virus IgG Antibody Index					
12 Rubella specific quotient	E-3				
2 Rubella virus IgG Antibody Index					
13 Varizella zoster specific quotient	E-3				
3 Varizella zoster virus IgG Antibody Index					
14 Herpes simplex specific quotient	E-3				
4 Herpes simplex virus IgG Antibody Index					
5 Interpretation of the report					Enter result according the key

Figura 64. Plantilla para el envío de los resultados al control de calidad INSTAND una vez se han realizado los ensayos con muestras ciegas.

3.13.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico, los datos fueron tratados con la hoja de cálculo de Microsoft Office Excel para ser procesados posteriormente con el programa R (versión 3.5.3). R es un entorno y lenguaje de programación con un enfoque al análisis estadístico. Además, en los cálculos estadísticos se usaron las librerías Vcd (versión 1.4-8) para el análisis Kappa y la librería GGLOT2 (versión 3.3.6) para generar las gráficas.

Lo primero que se llevó a cabo fue un análisis descriptivo de las variables de modo cualitativo, estableciendo las frecuencias y porcentajes tanto para la edad de los pacientes como para el sexo. Para ello nos ayudamos de tablas de contingencia 2 x 2. A continuación se utilizó el test de Shapiro-Wilks, para ver si había normalidad en la población de muestras usadas. Tras ello, se realizó el test exacto de Fisher para ver la homocedasticidad de dicha población. De esta forma, se pudo establecer si los individuos seropositivos o seronegativos por el método de referencia como era el ELISA de Enzygnost (Siemens), también lo eran por el método a validar, en este caso VirClia® monotest (Vircel S.L).

Para evaluar el test exacto de Fisher, se estableció que el p valor debía ser < 0.05 (α) para rechazar la hipótesis nula con un intervalo de confianza del 95%. Finalmente, se llevó a cabo el estudio de la concordancia entre metodologías usando un análisis *Kappa*, para más tarde, realizar un estudio de la correlación entre metodologías llevando a cabo un test de Pearson.

3.14 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN SOFTWARE PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LCR CUMPLIENDO CON EL REGLAMENTO SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO (UE) 2017/746 (IVDR)

El desarrollo y validación de un software que ayudara en el diagnóstico de este tipo de patologías constituía el tercer objetivo de esta tesis. Para el desarrollo se usó, en lugar del modelo en cascada el enfoque ágil. Este modelo permite que tareas de gran dimensión puedan escindirse en pequeños objetivos que pueden ser repetidos, mejorados e investigados a lo largo del ciclo de vida de un software como se muestra en la **Figura 65** en la siguiente página. Concretamente este enfoque se define como PDCA (Plan-Do-Check-Act) por sus siglas en inglés. Esta metodología (PDCA) ha demostrado ser útil en el testeo y validación de cualquier software en el ámbito científico (Domínguez-Patiño et al., 2015). Cada una de las fases fue desarrollada y ejecutada para poder

tener un software funcional en la ayuda con el diagnóstico de este tipo de patologías. A continuación, se explica en más detalle en que consistió cada una de las fases.

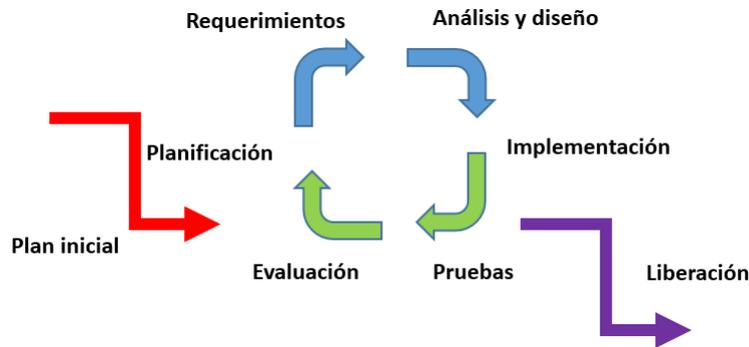


Figura 65. Algoritmo evaluación de un software mediante el modelo ágil iterativo.

P (Plan): consiste en planificar el desarrollo de un software que permita el manejo de datos y el cálculo del índice de anticuerpos, y así emitir un diagnóstico para el paciente. Dentro del modelo ágil se usó el método “*Scrum*”, la cual consiste en una técnica para la gestión de proyectos y desarrollo de software que se introdujo inicialmente en la década de 1990 por Ken Schwaber, Mike Beedle y Jef Sutherland. En esta metodología, se desarrollan lo que denominamos “Sprints” o etapas. En cada etapa, el equipo de trabajo se enfoca en realizar una tarea que está relacionada con las llamadas “historias de usuario”. Para tener una trazabilidad de los hitos completados, se llevó a cabo la creación de un “*backlog*” siguiendo el esquema que aparece en la Figura 66.

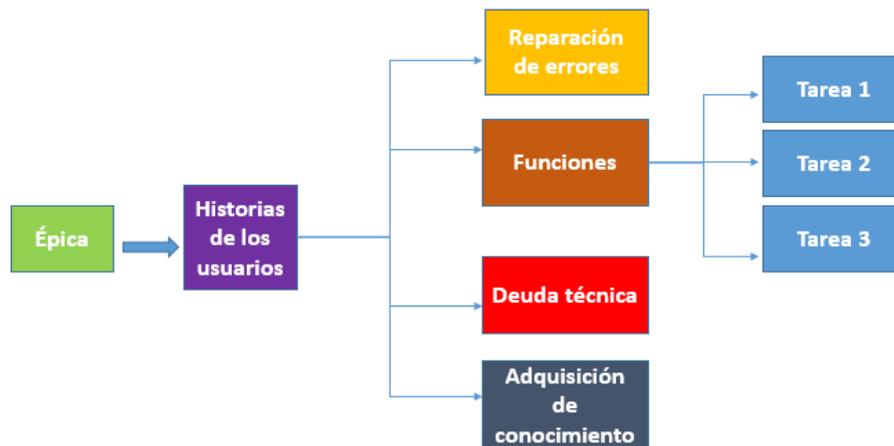


Figura 66. Backlog siguiendo el método de evaluación Scrum.

De acuerdo a la **Figura 66**, para el proyecto que nos ocupa, distinguimos diferentes fases:

- **Épica:** consiste en evaluar y validar un software que permita emitir un diagnóstico de pacientes con patologías infecciosas del SNC.
- **Historias de los usuarios:** se trata de obtener toda la información acerca de las necesidades del usuario, que deben ser tenidas en cuenta a la hora de establecer las características y opciones que les aportará el nuevo software.

Una vez iniciadas las tareas, se tuvo en cuenta la necesidad de completar las distintas fases según las necesidades durante el desarrollo:

- **Reparación de errores:** los errores que surjan durante el proyecto deben ser subsanados.
- **Deuda técnica:** acumulación de problemas, deficiencias o decisiones de diseño a corto plazo que pueden comprometer la calidad final del software a diseñar y que puedan limitar su mantenimiento y evolución en un futuro.
- **Adquisición de conocimiento:** consistirá en la formación y adquisición de conocimiento por parte del equipo de trabajo a lo largo de todo el proyecto.

Tras la fase de planificación, se siguió con la siguiente etapa del proyecto:

D (Diseño): en esta fase, se llevó a cabo el análisis, diseño y la implementación del proyecto. Además, la etapa de programación del software se produjo justo en esta fase. Para ello fue muy útil tener en cuenta la opinión del usuario y completar las etapas preparando una estimación de tiempo para su consecución. Un ejemplo de cómo se establecen estas etapas se muestra en la **Tabla 24**.

Tabla 24. “Sprints” y tiempo de consecución.

TAREAS	TIEMPO DE EJECUCIÓN (DÍAS) - <i>SPRINT</i>
TAREA 1	TIEMPO
TAREA 2	TIEMPO

En esta etapa se introdujo un diagrama de GANTT como se muestra en la **Figura 67** que ayudaría a seguir el desarrollo del proyecto y evaluar si el mismo se ajustaba a los tiempos establecidos por el equipo de desarrolladores. El proyecto de desarrollo del software dio comienzo en febrero de 2024.

TAREA	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE
Inicio de sesión	■										
Introducción de valores alfanuméricos	■										
Cálculos matemáticos automatizados	■										
Marcos donde introducir los datos	■										
Etiquetas de marcos		■									
Creación de base de datos		■									
Almacenamiento de datos en base de datos		■									
Filtros de búsqueda		■									
Generación de informe con datos del paciente			■								
Uso de datos de los marcos para crear el informe final del paciente			■								
Creación de gráficos			■								
Recopilación de datos de la base de datos para generar informes			■								
Recopilación de datos de la base de datos para generar gráficas de informes ya emitidos				■							
Extracción de datos procedentes del archivo XML del analizador				■							
Creación de ficheros con código <i>hash</i> para que estos no sean manipulados				■							
Uso de esos datos para el cálculo de las fórmulas de Reiber					■						
Verificación de los archivos <i>hash</i> y detectar si han sido manipulados					■						
Encriptación de la base de datos para que esta no pueda ser alterada					■						
Preparar interfaz						■					
Verificación y validación del software						■	■	■	■	■	■

Figura 67. Diagrama de GANTT que muestra el tiempo (días) en los que cada tarea fue completada.

C (Comprobación): se trata de las pruebas que se ocupan de garantizar que el producto final cumple los requisitos del proyecto y que los criterios establecidos se hayan alcanzado. En esta fase se lleva a cabo la validación formal del software para la ayuda en el diagnóstico de estas patologías. Durante esta validación pueden aparecer desviaciones respecto a los objetivos esperados que deben ser evaluados para saber si se continúa o no con la validación del programa.

A (Ajustar): tienen como objetivo revisar exhaustivamente el trabajo de la iteración o ciclo, es decir, se revisa toda la documentación y el ciclo del software para determinar que no hay ningún *bug*³ aparente o error durante el proceso de documentación. Para ello, en el caso que nos ocupa, el software fue instalado en un laboratorio con rutinas de trabajo diarias donde se llevaba a cabo un gran número de análisis de muestras. En esta fase el usuario experimentó si la usabilidad del programa era acorde a las necesidades recogidas durante el desarrollo de este proyecto. Además, en el caso de que apareciesen nuevas peticiones por parte del usuario, estas serían analizadas para ver la posibilidad de implementarlas en futuras versiones de software.

³ Se trata de un error de código o programación en un programa informático.



RESULTADOS



4. RESULTADOS

4.1 DESARROLLO DE UN KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SU UTILIZACIÓN EN LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS EN LCR FRENTE A LOS PRINCIPALES AGENTES RESPONSABLES DE NEUROPATÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

El desarrollo de un kit es un proceso largo y tedioso que involucra muchos aspectos metodológicos relacionados con el diseño y el rendimiento que ese kit debe tener una vez diseñado. Por ello a lo largo de la sección de resultados, se muestran los datos obtenidos tras las pruebas llevadas a cabo usando el kit de quimioluminiscencia de Vircell S.L en el diagnóstico de este tipo de patologías.

4.1.1 DESARROLLO DEL KIT DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA SARAMPIÓN Y VARICELA

El primer paso para el desarrollo de este kit fue la evaluación del test diseñado *in-silico* mediante el programa VirClia Lotus test designer V032.0.7. Para ello, se evaluó el protocolo automatizado tanto con pruebas colorimétricas como volumétricas, de acuerdo con lo descrito en el punto 3.12.2 de la metodología de esta tesis.

Las pruebas volumétricas mostraron que el método desarrollado *in-silico*, cumplió con lo establecido en la metodología, estableciendo que la diferencia máxima frente al volumen objetivo debía ser de $\pm 5 \mu\text{L}$. Los datos promedios de las cinco medidas realizadas se muestran en la **Tabla 25** y **Tabla 26**.

Tabla 25. Volúmenes dispensados por el método automatizado frente al volumen objetivo (referencia manual) para el test de sarampión IgG.

FASE	VOLUMEN ENSAYO (μL)	VOLUMEN OBJETIVO (μL)
Dispensación de calibrador	98 ± 1.30	100
Dispensación de muestra	97 ± 0.84	100
Dispensación de control negativo	95 ± 1.52	100
Dispensación de conjugado	98 ± 1.14	100
Dispensación de substratos	97 ± 1.48	100

En todas las fases los resultados estuvieron dentro de los límites establecidos ($\pm 5 \mu\text{L}$) para el kit de sarampión IgG.

RESULTADOS

Tabla 26. Volúmenes dispensados por el método automatizado frente al volumen objetivo (referencia manual) para el test de varicela IgG.

FASE	VOLUMEN ENSAYO (μL)	VOLUMEN OBJETIVO (μL)
Dispensación de calibrador	99 ± 1.23	100
Dispensación de muestra	96 ± 1.16	100
Dispensación de control negativo	97 ± 0.96	100
Dispensación de conjugado	98 ± 0.89	100
Dispensación de sustrato	99 ± 1.12	100

El mismo escenario tuvo lugar cuando se usó el kit de varicela, donde los resultados estuvieron dentro de los límites establecidos ($\pm 5 \mu\text{L}$).

Además, se llevaron a cabo pruebas colorimétricas para establecer la viabilidad de los test a desarrollar. Para dichas pruebas se tuvo en cuenta el volumen dispensado en cada fase del ensayo y la cantidad de color (medida en absorbancia) que debía generarse teniendo en cuenta la ley de Lambert-Beer. Los datos promedios de las cinco medidas realizadas durante esta prueba se muestran en la **Tabla 27** y **Tabla 28**.

Tabla 27. Densidades ópticas en relación a los volúmenes dispensados por el método automatizado para sarampión IgG.

FASE	DO DEL ENSAYO	DO OBJETIVO
Dispensación de calibrador	0.95 ± 0.09	1
Dispensación de muestra	0.44 ± 0.07	0.5
Dispensación de control negativo	0.43 ± 0.09	0.5
Dispensación de conjugado	0.47 ± 0.09	0.5
Dispensación de sustratos	0.98 ± 0.08	1

En todas las fases ensayadas los resultados estuvieron dentro de los límites establecidos (± 0.2 DO) para el kit de sarampión IgG. Los valores mostrados en la tabla (DO del ensayo) corresponden a la media de las cinco medidas evaluadas durante la consecución de estos ensayos.

Tabla 28. Densidades ópticas en relación con los volúmenes dispensados por el método automatizado de varicela IgG.

FASE	DO DEL ENSAYO	DO OBJETIVO
Dispensación de calibrador	0.93 ± 0.08	1
Dispensación de muestra	0.48 ± 0.07	0.5
Dispensación de control negativo	0.44 ± 0.09	0.5
Dispensación de conjugado	0.46 ± 0.08	0.5
Dispensación de substratos	0.97 ± 0.08	1

Al igual que ocurrió con el kit de sarampión, los resultados estuvieron dentro de los límites establecidos (± 0.2 DO) para el kit de varicela IgG.

Debido a que durante el desarrollo del proyecto se usaron muestras con diferentes concentraciones de inmunoglobulinas, fue necesario conocer cómo se comportarían las lecturas en RLU generadas por el analizador según las muestras ensayadas. Para ello, se llevaron a cabo una serie de ensayos usando muestras positivas de suero a diferentes diluciones. Los resultados para el kit de sarampión y varicela IgG Virclia® monotest se muestran en **Tabla 29** y **Tabla 30**.

Tabla 29. Valores de RLU obtenidos durante las pruebas de linealidad para una muestra de sarampión IgG positiva.

MUESTRA	LOTE	CALIBRADOR	CONTROL NEGATIVO	MUESTRA
Sarampión IgG 1:100	21054103	3.88	0.21	6.37
Sarampión IgG 1:200	21054103	4.03	0.23	4.32
Sarampión IgG 1:300	21054103	4.04	0.22	3.05
Sarampión IgG 1:400	21054103	4.06	0.21	2.48
Sarampión IgG 1:500	21054103	4.00	0.20	1.96
Sarampión IgG 1:600	21054103	4.12	0.18	1.57
Sarampión IgG 1:700	21054103	4.05	0.19	1.42
Sarampión IgG 1:800	21054103	4.08	0.19	1.28

Se pudo apreciar que las muestras generaban un valor de RLU menor conforme se incrementaba el factor de dilución. El estudio de esta disminución en RLU, nos estaría indicando que diluciones debían ser usadas para que la relación entre el factor de dilución y el valor de RLU fuese lineal.

RESULTADOS

Tabla 30. Valores de RLU obtenidos durante las pruebas de linealidad para una muestra de varicela IgG positiva.

MUESTRA	LOTE	CALIBRADOR	CONTROL NEGATIVO	MUESTRA
Varicela-zoster IgG 1.100	21089103	2.99	0.19	1.62
Varicela-zoster IgG 1.200	21089103	3.18	0.19	0.82
Varicela-zoster IgG 1.300	21089103	3.18	0.19	0.51
Varicela-zoster IgG 1.400	21089103	3.32	0.22	0.49
Varicela-zoster IgG 1.500	21089103	3.33	0.23	0.35
Varicela-zoster IgG 1.600	21089103	3.41	0.21	0.31
Varicela-zoster IgG 1.700	21089103	3.39	0.20	0.24
Varicela-zoster IgG 1.800	21089103	3.08	0.19	0.22

Lo mismo ocurrió para el kit de varicela. No obstante, los valores de RLU fueron mucho más bajos que los que se encontraron al usar el kit de sarampión.

Con los valores obtenidos en ambas pruebas, se llevó a cabo la representación gráfica de los datos en un gráfico de doble eje. Esto permitió establecer las diluciones donde el comportamiento de las muestras era lineal como se muestra en la **Figura 68**.

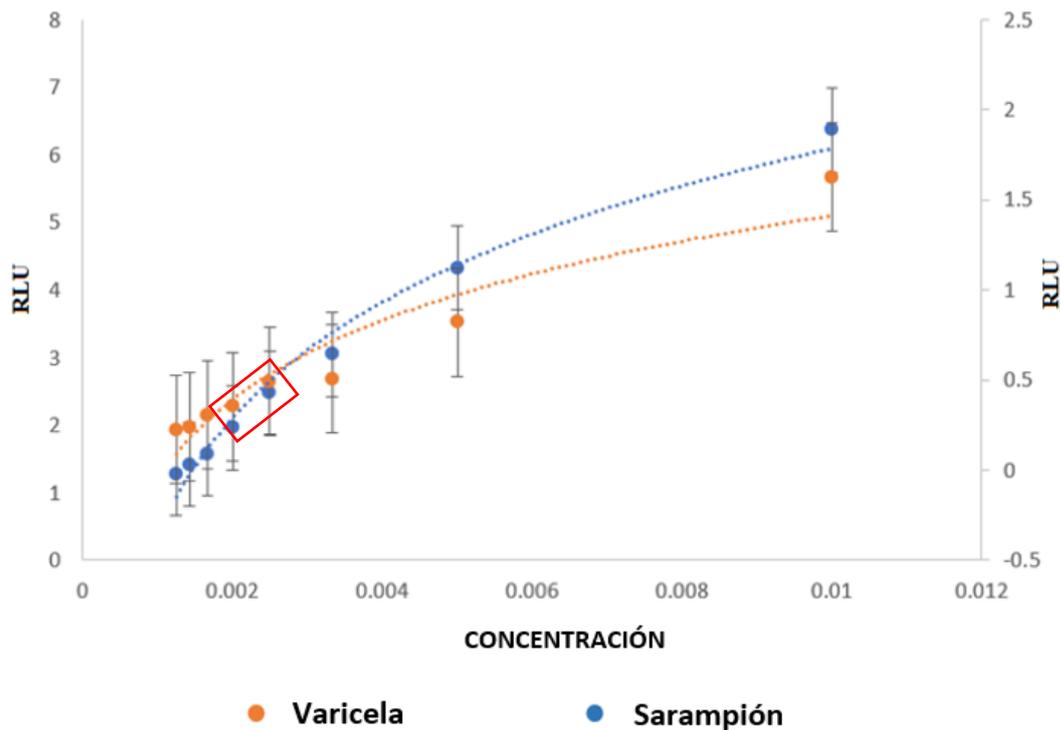


Figura 68. Representación de las RLU sobre un ajuste logarítmico durante las pruebas de linealidad para los kits de sarampión y varicela.

En la **Figura 68**, de izquierda a derecha, los diferentes puntos representan las diluciones usadas (dilución 1:100 a 1:800). A cada una de las diluciones se le representó su error típico basado en 3 medidas realizadas. En el eje de las ordenadas, se representó el valor de RLU obtenido frente al eje de abscisas donde se mostró la concentración obtenida para cada una de las diluciones. Se observó que, para ambos kits, la zona lineal corresponde a las diluciones comprendidas entre 1:300 y 1:400.

Una vez establecida la zona de linealidad para las muestras de suero, el siguiente paso consistió en determinar si el diseño del kit y su automatización, eran capaces de generar resultados reproducibles y repetitivos a lo largo del tiempo. Para ello, se llevaron a cabo ensayos para evaluar la precisión inter-ensayo e intra-ensayo a lo largo de un periodo de 20 días usando dos niveles de muestras, uno positivo y otro negativo, como se especifica en la CLSI EP15-A2 Y CLSI EP5-A2.

En la **Tabla 31** se representan las muestras usadas, indicando la naturaleza de la misma y su categorización.

Tabla 31. Identificación de las muestras para la prueba de precisión del kit de sarampión y varicela IgG.

IDENTIFICADOR	CÓDIGO MUESTRA	TIPO MUESTRA	CATEGORIZACIÓN
Muestra 1	HMN1071761 (A-108-075)	LCR	Positivo
Muestra 2	HMN1071761 (R-1105-042)	LCR	Negativo
Muestra 3	HMN1071760 (A-92-025)	LCR	Positivo
Muestra 4	HMN1071760 (R-1105-041)	LCR	Negativo

En la **Tabla 32** se muestra un resumen de los datos del estudio de precisión inter e intra-día por separado para cada muestra y kit donde se observa que todos los valores estuvieron por debajo del 20 % en cualquiera de las situaciones ensayadas. Los datos en bruto pueden ser consultados en el anexo III – Repetitividad y reproducibilidad.

Como se puede observar en la siguiente página en la **Tabla 32**, todos los valores de coeficiente de variación estuvieron por debajo del 20% en todas las muestras, cumpliendo con las especificaciones definidas para esta prueba.

Tabla 32. Resumen de los valores del estudio de precisión.

	Media	Precisión		Precisión entre-		Precisión entre día		Precisión intra-	
		SD	CV%	SD (S _{rr})	CV%	SD (S _{dd})	CV%	SD (S _τ)	CV%
Muestra 1	6.678	0.22	3.2	0.87	13.0	0.58	8.7	0.68	10.1
Muestra 2	0.557	0.03	5.0	0.09	15.7	0.04	8.0	0.08	14.3
Muestra 3	6.067	0.18	3.0	1.18	19.5	0.78	12.8	0.91	15.1
Muestra 4	0.882	0.02	2.6	0.13	14.3	0.07	7.6	0.11	12.4

Una vez obtenidos los datos del estudio de precisión, la siguiente fase fue determinar la sensibilidad y especificidad del kit. Para ello se usó una tabla de doble entrada con un intervalo de confianza requerido del 95% cuyo resumen de los resultados aparece en la **Tabla 33** y **Tabla 34**.

Tabla 33. Resultados del estudio de sensibilidad y especificidad. Comparación entre el método a evaluar (VirClia[®], Vircell) y el método de referencia (Enzygnost, Siemens) para sarampión IgG.

	REFERENCIA POSITIVA	REFERENCIA NEGATIVA
TEST POSITIVO	53	2
TEST NEGATIVO	7	48

En el caso del kit de VirClia[®] para sarampión, se obtuvieron 7 falsos negativos y 2 falsos positivos como se muestra en la **Tabla 33**.

Tabla 34. Resultados del estudio de sensibilidad y especificidad. Comparación entre el método a evaluar (VirClia, Vircell) y el método de referencia (Enzygnost, Siemens) para varicela IgG.

	REFERENCIA POSITIVA	REFERENCIA NEGATIVA
TEST POSITIVO	26	5
TEST NEGATIVO	3	45

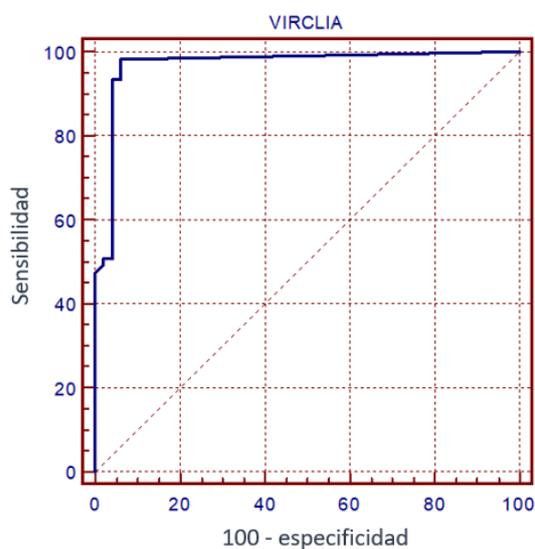
En el caso del kit de VirClia[®] para varicela, se obtuvieron 3 falsos negativos y 5 falsos positivos como se muestra en la **Tabla 34**. Por otro lado, en la **Tabla 35** se muestran los valores finales de sensibilidad y especificidad para cada uno de los kits ensayados de la casa comercial Vircell S.L, usando como punto de corte el valor de 1.5 para el índice de anticuerpos.

Tabla 35. Valores de sensibilidad y especificidad para el kit de sarampión y varicela VirClia IgG monotest.

	FÓRMULA	SARAMPIÓN	VARICELA
SENSIBILIDAD	$(VP/VP+FN) \times 100$	88%	90%
ESPECIFICIDAD	$(VN/VN+FP) \times 100$	96%	90%
VPP	$100 \times VP / (VP+FP)$	96%	84%
VPN	$100 \times VN/(VN+FN)$	87%	90%
LR+	Sensibilidad (%) / 100-especificidad (%)	22	9
LR-	100-sensibilidad (%) / especificidad (%)	0.125	0.111

Por otro lado, se realizó un análisis ROC para ver cuál era el valor más adecuado para establecer el punto de corte del índice de anticuerpos en ambos kits. Para ello se usó el programa estadístico Medcalc versión 5.00.017. En la **Figura 69** se puede observar el gráfico para la sensibilidad y especificidad para el kit de sarampión (A) y varicela (B) de la casa comercial Vircell S.L. Los datos brutos pueden ser consultados en el anexo IV y V – Curva ROC para sarampión y varicela.

(A)



(B)

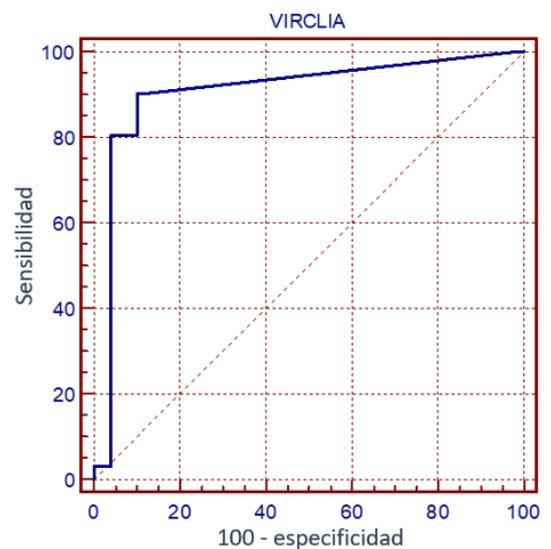


Figura 69. Representación gráfica de la curva ROC para el kit de (A) sarampión y (B) varicela IgG VirClia® monotest. En el eje Y se representa la sensibilidad y en el eje X se representa la especificidad como 1-especificidad, para que tanto sensibilidad como especificidad converjan en el mismo eje. Los valores obtenidos fueron de un 89% sensibilidad y 96% de especificidad para sarampión y un 84% de sensibilidad y 90% especificidad para varicela.

RESULTADOS

El análisis con el software de cálculo Medcalc, mostró que para tener el mejor balance sensibilidad – especificidad, el punto de corte debía establecerse en 1.3 en lugar de 1.5. Los resultados con este nuevo punto de corte se muestran en el diagrama de puntos en la **Figura 70** para el kit de sarampión (A) y varicela (B) de la casa comercial Vircell S.L.

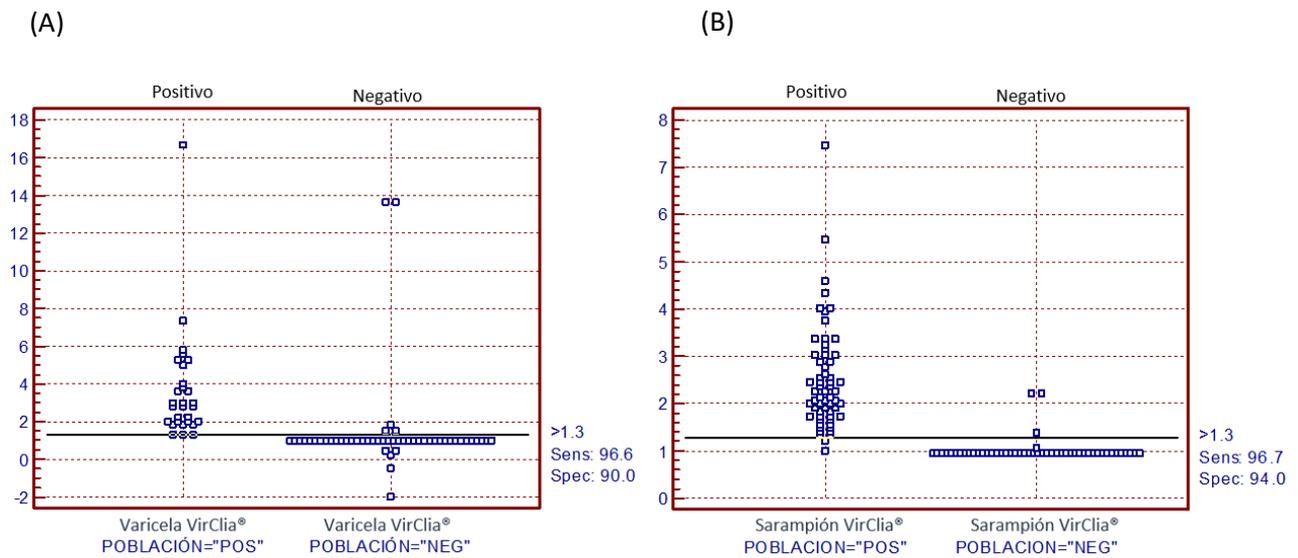


Figura 70. Diagrama de puntos para establecer el punto de corte óptimo para los kits de sarampión (A) y varicela (B) IgG Virclia monostest. La línea continua de color negro, muestra el punto de corte usado que equivale en este caso a 1.3 de índice de anticuerpos. Este valor es adimensional por lo que no presenta unidades.

Tanto la sensibilidad como la especificidad se situaron por encima del 90 % en ambos kits de diagnóstico cuando el punto de corte escogido referente al índice de anticuerpos era de 1.3. Concretamente la sensibilidad y especificidad fueron del 96.6 % y 90 % respectivamente para el kit de sarampión mientras que para el kit de varicela la sensibilidad y especificidad fue del 96.7 % y 94 % respectivamente.

Por otro lado, en la siguiente página en la **Tabla 36**, se muestra una comparación entre los valores de sensibilidad y especificidad cuando se usan diferentes puntos de corte. En nuestro caso, observamos como tanto la sensibilidad como la especificidad mejoran cuando se usa como punto de corte el valor de 1.3 en lugar del establecido por Reiber de 1.5.

Tabla 36. Sensibilidad y especificidad para el nuevo valor de punto de corte escogido para el kit de sarampión y varicela IgG.

TEST	PUNTO CORTE	SENSIBILIDAD	(95% C.I.)	ESPECIFICIDAD	(95% C.I.)
Sarampión	1.3	96.7	(86.3- 98.9)	94	(83.4- 98.7)
Varicela	1.3	96.6	(86.8 – 98.3)	90	(82.2- 98.9)
Sarampión	1.5	88.3	(77.4- 95.2)	96	(86.3- 99.4)
Varicela	1.5	89.7	(72.6 – 97.7)	90	(78.2- 96.6)

Puesto que se trataba de un kit nuevo para el diagnóstico de anticuerpos intratecales en LCR, se estudió la posible influencia de sustancias que pueden aparecer en la matriz del LCR y que pudieran interferir con el resultado de la prueba diagnóstica de acuerdo con la normal CLSI AP07-A2. Para ello se llevó a cabo el análisis de interferencias endógenas usando tres niveles de muestras como se indica en la **Tabla 37** y **Tabla 38**.

Tabla 37. Muestras usadas para el estudio de interferencias endógenas de sarampión.

MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	TIPO	CATEGORIZACIÓN
Muestra 1	A-108-075	LCR	Muestra positiva
Muestra 2	A-108-075-1	LCR	Muestra cut-off
Muestra 3	R-1105-043	LCR	Muestra negativa

Tabla 38. Muestras usadas para el estudio de interferencias endógenas de varicela.

MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	TIPO	CATEGORIZACIÓN
Muestra 1	A-92-025	LCR	Muestra positiva
Muestra 2	A-92-025-1	LCR	Muestra cut-off
Muestra 3	R-1105-043	LCR	Muestra negativa

La concentración de los interferentes se muestra en la **Tabla 39** y fue establecida según las indicaciones de la norma CLSI AP07-A2. Todas las cantidades de los interferentes usados fueron medidas en g/L.

RESULTADOS

Tabla 39. Sustancias interferentes endógenas con valores anormales en LCR.

COMPONENTE	VALORES ANORMALES EN LCR
Albúmina	50 g/L
Glucosa	1.2 g/L
Lactato	0.234 g/L
Inmunoglobulina IgG <i>Kappa</i>	0.15 g/L
Hemoglobina	8.5 g/L

En la **Tabla 40** y **Tabla 41** se muestran las medidas de RLU para las muestra positivas de LCR usando las distintas concentraciones de interferente para el kit de sarampión y varicela IgG de VirClia®. Como se puede observar, no hubo ningún efecto deletéreo sobre las RLU cuando se adicionaron los interferentes a concentraciones anormalmente elevadas.

Tabla 40. Resultados del estudio de interferencias endógenas para una muestra positiva en RLU de sarampión IgG.

MUESTRA POSITIVA	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	6.767	6.086	5.507	6.272	6.010	6.258
Resultado 2	6.330	6.298	6.108	6.984	6.107	6.264
Resultado 3	6.571	6.383	6.259	6.143	6.341	6.340
Media (RLU)	6.571	6.298	6.108	6.272	6.107	6.264

Tabla 41. Resultados del estudio de interferencias endógenas para una muestra positiva en RLU de varicela IgG.

MUESTRA POSITIVA	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	6.054	5.699	5.113	6.674	5.845	5.458
Resultado 2	5.768	5.468	5.110	6.190	6.333	6.077
Resultado 3	6.116	5.728	5.425	6.262	6.325	5.664
Media (RLU)	6.054	5.699	5.113	6.262	6.325	5.664

En la **Tabla 42** y **Tabla 43** se muestran las medidas de RLU para las muestras cut-off de LCR usando las distintas concentraciones de interferente para el kit de sarampión y varicela IgG. Como se puede observar, tampoco hubo ningún efecto anómalo sobre las RLU cuando se adicionaron los interferentes a estas concentraciones.

Tabla 42. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra cut-off de sarampión en RLU.

MUESTRA CUT-OFF	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	4.929	4.999	5.089	5.044	4.891	4.606
Resultado 2	4.735	4.968	4.774	5.544	4.760	4.706
Resultado 3	4.675	5.285	4.651	5.743	4.877	4.641
Media (RLU)	4.735	4.999	4.774	5.544	4.877	4.641

Tabla 43. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra cut-off de varicela en RLU.

MUESTRA CUT-OFF	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	3.701	3.981	4.136	4.290	3.636	4.022
Resultado 2	3.835	4.209	3.786	4.359	3.519	4.131
Resultado 3	3.696	3.893	3.756	3.598	4.073	3.501
Media (RLU)	3.701	3.981	3.786	4.290	3.636	4.022

En la siguiente página como **Tabla 44** y **Tabla 45** se muestran las medidas de RLU para las muestras negativas de LCR usando distintas concentraciones de interferente para el kit de sarampión y varicela IgG. De nuevo no se observó ninguna influencia negativa sobre las RLU cuando se adicionaron los interferentes a altas concentraciones no siendo estas compatibles con la vida del paciente. Esto hace que si no existe interferencia a estos niveles, no se debe producir interferencia cuando se testean muestras normales de un paciente el cual presente o no la infección.

RESULTADOS

Tabla 44. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra negativa de sarampión en RLU.

MUESTRA NEGATIVA	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	0.261	0.423	0.275	0.617	0.299	0.309
Resultado 2	0.302	0.391	0.291	0.596	0.296	0.260
Resultado 3	0.283	0.398	0.269	0.737	0.289	0.351
Media (RLU)	0.283	0.398	0.275	0.617	0.296	0.309

Tabla 45. Resultados del estudio de interferencias endógenas para la muestra negativa de varicela en RLU.

MUESTRA NEGATIVA	CONTROL	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Resultado 1	0.256	0.420	0.255	0.565	0.232	0.246
Resultado 2	0.281	0.417	0.274	0.659	0.240	0.249
Resultado 3	0.268	0.422	0.258	0.887	0.236	0.241
Media (RLU)	0.268	0.420	0.258	0.659	0.236	0.246

Finalizando el análisis de interferencias endógenas en g/L, se estudió el porcentaje de interferencia con respecto a estos analitos. En la **Tabla 46** y **Tabla 47** se muestran los resultados del estudio de interferencias endógenas para el kit de sarampión y varicela IgG.

Ningún interferente tuvo impacto en la reacción biológica. Como criterio de validación se estableció que el efecto del interferente sobre las RLU de la muestra no fuese superior a un $\pm 25\%$ para la muestra positiva y cut-off. En cambio, para la muestra negativa, se estableció que no hubiese cambio en su interpretación. De nuevo, estos criterios fueron establecidos acordes a los indicados por la norma CLSI-AP07-A2.

Tabla 46. Resultados del estudio de interferencias endógenas en porcentaje para cada interferente para el kit de sarampión IgG.

MUESTRA	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBIN	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Positiva	4%	7%	5%	7%	5%
Cut-off	6%	1%	17%	3%	2%
Negativa	No cambia la interpretación				

Tabla 47. Resultados del estudio de interferencias endógenas en porcentaje para cada interferente para el kit de varicela IgG.

MUESTRA	50 g/L ALBÚMINA	1.2 g/L GLUCOSA	8,5 g/L HEMOGLOBINA	0,234 g/L LACTATO	0,15 g/L IgG KAPPA
Positiva	6%	16%	3%	4%	6%
Cut-off	8%	2%	16%	2%	9%
Negativa	No cambia la interpretación				

Para poder determinar que señal correspondía a la reacción inmunológica y que señal era debida al fondo de la reacción, se llevó a cabo el análisis del límite de detección y límite de blanco. El límite de detección y límite de blanco suele realizarse en los test cuantitativos, pero no es obligatorio en los test cualitativos. En nuestro caso, y puesto que estamos midiendo unidades relativas de luminiscencia, se decidió llevar a cabo el estudio de ambas variables. Los resultados se muestran en la **Tabla 48** y **Tabla 49** para el kit de sarampión y varicela respectivamente. En ambos casos, los límites de detección y límite de blanco mostraron resultados bajos, lo que indica en el caso del límite de blanco, que el fondo generado por la reacción es pequeño y en el caso del límite de detección, que se pueden detectar cantidades muy bajas de anticuerpos.

RESULTADOS

Tabla 48. Valores de RLU y concentración del análisis del límite de blanco y detección para el kit de sarampión.

MUESTRA	DÍA	LOTE 1: 22054102		LOTE 2: 23054101	
		RLU	CONCENTRACIÓN	RLU	CONCENTRACIÓN
R-1105-041	Día 1	0.744	0.166	0.577	0.140
	Día 2	0.762	0.172	0.600	0.139
	Día 3	0.777	0.187	0.694	0.162
R-1105-043	Día 1	0.567	0.127	0.429	0.096
	Día 2	0.763	0.174	0.599	0.135
	Día 3	0.894	0.192	0.671	0.148
R-1105-044	Día 1	0.420	0.088	0.281	0.063
	Día 2	0.390	0.088	0.251	0.058
	Día 3	0.433	0.095	0.275	0.060
R-1105-045	Día 1	0.389	0.086	0.247	0.056
	Día 2	0.397	0.090	0.257	0.059
	Día 3	0.420	0.096	0.251	0.055

Límite de Blanco = 0.190 Concentración

Límite de detección = 0.266 Concentración

Tabla 49. Valores de RLU y concentración del análisis del límite de blanco y detección para el kit de varicela.

MUESTRA	DÍA	LOTE 1: 22089104		LOTE 2: 23089102	
		RLU	CONCENTRACIÓN	RLU	CONCENTRACIÓN
R-1105-041	Día 1	0.949	0.264	0.945	0.268
	Día 2	0.987	0.280	0.991	0.254
	Día 3	0.946	0.256	0.941	0.259
R-1105-043	Día 1	0.350	0.092	0.410	0.108
	Día 2	0.449	0.121	0.470	0.132
	Día 3	0.423	0.115	0.492	0.138
R-1105-044	Día 1	0.250	0.065	0.210	0.054
	Día 2	0.234	0.061	0.197	0.056
	Día 3	0.226	0.059	0.180	0.051
R-1105-045	Día 1	0.227	0.062	0.177	0.049
	Día 2	0.216	0.053	0.169	0.049
	Día 3	0.205	0.054	0.144	0.041

Límite de Blanco = 0.267 Concentración

Límite de Detección = 0.412 Concentración

Una vez evaluado el límite de blanco y detección para cada kit individual, se evaluaron las posibles reacciones cruzadas que podían aparecer durante su desarrollo.

Evaluación de reactividades cruzadas para el kit de sarampión IgG

Se ensayaron 7 muestras caracterizadas positivas frente a otros microorganismos (virus sincitial respiratorio y parotiditis). No se hallaron reacciones cruzadas frente a virus sincitial respiratorio (3 muestras testadas) y parotiditis (4 muestras testadas).

Evaluación de reactividades cruzadas para el kit de varicela IgG

Se ensayaron 9 muestras caracterizadas positivas frente a otros microorganismos (herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2, virus de Epstein-Barr VCA y citomegalovirus). No se hallaron reacciones cruzadas frente a herpes simplex tipo 1 (2 muestras testadas), herpes simplex tipo 2 (2 muestras testadas), virus de Epstein-Barr VCA (2 muestras testadas) y citomegalovirus (3 muestras testadas).

Otra de las pruebas realizadas a los kits de quimioluminiscencia de la marca Vircell S.L fue la comparación entre dos analizadores automatizados:

- VirClia® Thunderbolt (ref. TB00300-CL)
- VirClia® Lotus (ref. VCL-TS)

Para este estudio se usó el coeficiente de correlación de Pearson. Los resultados se muestran en la **Tabla 50** y **Tabla 51** para el kit de sarampión y varicela respectivamente.

Tabla 50. Resultados del estudio comparativo de los índices entre analizadores automatizados usando el coeficiente de correlación de Pearson para muestras de LCR para el kit de sarampión IgG.

MUESTRAS		VIRCLIA® (TB)			VIRCLIA® LOTUS		
		RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE	RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE
1	1810929589	8.39	3.84	0.89	4.69	2.59	0.70
2	1811006678	13.36	8.78	2.11	6.25	5.22	1.46
3	1811015450	10.52	4.15	1.02	5.09	2.75	0.75
4	1811016607	10.18	2.49	0.59	5.60	2.09	0.58
5	1811024151	15.89	5.68	1.00	6.15	3.09	0.86
6	1811025412	9.09	3.56	0.85	4.74	2.73	0.75
7	1811027391	16.82	10.70	2.29	7.13	6.93	1.77

RESULTADOS

MUESTRAS		VIRCLIA® (TB)			VIRCLIA® LOTUS		
		RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE	RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE
8	1811027501	11.21	6.14	1.43	5.34	4.22	1.09
9	1811030414	11.09	7.67	1.99	4.73	4.97	1.36
10	1811031086	14.91	1.98	0.47	8.13	1.73	0.35
11	1811033343	8.26	1.97	0.44	3.83	1.39	0.39
12	1811034847	8.71	9.41	2.27	4.15	5.50	1.37
13	1811054662	8.03	2.01	0.42	3.83	1.41	0.39
14	1811059975	12.94	4.63	1.02	4.63	2.36	0.66
15	1811061430	12.09	8.42	1.83	5.27	4.55	1.29
16	1811071593	15.75	4.60	0.96	6.26	3.08	0.83
17	1811078792	12.90	2.25	0.50	4.80	1.59	0.46
18	1811081006	11.77	4.21	0.95	6.00	2.88	0.85
19	1811094283	11.04	5.35	1.21	4.84	4.05	1.18
20	1811095378	12.27	6.39	1.49	5.27	4.98	1.43
21	1811096093	11.08	7.99	1.98	6.25	4.78	1.38
22	1811096563	10.79	3.84	0.86	4.47	2.62	0.75
23	1811096944	10.73	5.77	1.22	7.52	4.30	0.87
24	1811097102	10.35	7.61	1.69	7.13	5.51	1.13
25	1811098301	13.31	5.42	1.29	6.07	4.02	1.19
26	1900032251	12.66	3.40	0.74	6.05	2.41	0.68
27	1900032280	12.95	4.40	1.01	6.38	3.04	0.91
28	1900032352	14.35	7.66	1.68	7.12	4.54	1.27
29	1900035444	9.39	3.77	0.90	5.95	2.63	0.76
30	1900036003	10.90	6.33	1.47	5.75	3.74	1.02
31	1900036089	10.44	2.18	0.54	5.55	1.24	0.33
32	1900036091	16.04	8.36	1.39	6.18	4.38	1.21
33	1900036244	9.97	3.79	0.95	4.87	2.12	0.54
34	1900036367	4.68	4.01	0.91	1.62	1.36	0.37
35	1900037183	13.01	6.03	1.36	6.01	4.53	1.25
36	1900037205	10.28	3.17	0.66	4.59	1.38	0.41

MUESTRAS		VIRCLIA® (TB)			VIRCLIA® LOTUS		
		RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE	RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE
37	1900037247	14.15	9.16	2.03	6.78	5.60	1.70
38	1900037248	15.27	10.10	2.33	7.32	6.28	1.72
39	1900037282	9.53	4.70	1.26	5.34	3.21	1.03
40	1900037299	9.55	3.62	0.82	4.64	2.76	0.77
41	1900037369	10.66	2.42	0.60	4.77	1.91	0.55
42	1900037722	8.40	3.65	0.86	4.92	2.46	0.75
43	1900037982	9.57	4.36	0.95	6.48	2.74	0.72
44	1900038031	14.90	2.02	0.47	5.89	1.67	0.45
45	1900038063	10.38	5.64	1.36	5.29	3.79	1.17
46	1900038366	13.28	3.52	0.71	4.29	1.93	0.60
47	1900038401	9.59	1.43	0.33	5.28	1.28	0.34
48	1900038501	10.61	7.60	1.68	5.07	4.19	1.15
49	1900081755	15.14	2.55	0.46	7.78	1.61	0.39
50	1900081650	12.85	7.41	1.30	5.73	4.22	0.89
51	1900081489	15.82	9.71	1.64	7.37	4.77	1.03
52	1811231766	5.69	9.22	1.68	2.82	5.27	1.20
53	1900080546	10.84	2.02	0.37	5.59	1.29	0.28
54	1900080513	7.31	1.95	0.39	4.17	1.24	0.28
55	1900080598	12.32	3.60	0.69	6.24	2.60	0.63
56	1811210903	16.58	4.58	0.84	9.06	3.20	0.74
57	1900080789	6.10	3.84	0.72	4.01	2.71	0.63
58	1900080993	12.31	10.59	2.08	6.21	6.00	1.40
59	1900081084	8.06	2.08	0.38	3.66	1.52	0.37
60	1811006360	9.64	7.91	1.99	4.94	4.91	1.47

El coeficiente de correlación de Pearson obtenido fue de 0.95 lo que equivale a una correlación alta y positiva entre ambos analizadores cuando se usaron muestras de LCR para el kit de sarampión IgG.

$$\rho_{xy} = \frac{Cov(X,Y)}{\sqrt{Var(X) \times Var(Y)}} = 0.95$$

RESULTADOS

Tabla 51. Resultados del estudio comparativo de los índices entre analizadores automatizados usando el coeficiente de correlación de Pearson para muestras de LCR para el kit de varicela IgG.

MUESTRAS		VIRCLIA® (TB)			VIRCLIA® LOTUS		
		RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE	RLU SUERO	RLU LCR	ÍNDICE
1	1810844618	3.72	4.20	1.01	2.35	2.52	0.81
2	1811008076	10.45	7.83	2.00	6.65	5.16	1.41
3	1811008642	3.70	9.92	2.49	1.90	6.06	1.85
4	1811023724	5.71	6.36	1.75	3.06	5.38	1.44
5	1811025300	18.75	10.28	2.54	8.29	6.46	1.83
6	1811034141	8.57	5.71	1.39	3.07	2.82	0.76
7	1811035331	14.79	14.45	3.18	8.02	8.66	2.02
8	1900028531	8.59	5.08	1.21	5.60	4.02	1.17
9	1900029851	3.02	1.13	0.27	0.75	1.26	0.30
10	1900032251	17.18	5.08	1.24	7.45	3.78	1.18
11	1900035645	4.94	2.49	0.65	4.73	1.93	0.56
12	1900035740	11.68	4.82	1.22	5.83	4.79	1.07
13	1900036464	8.52	2.82	0.66	4.51	2.41	0.59
14	1900036578	16.85	4.69	1.08	7.38	3.26	0.91
15	1900037683	11.23	10.21	2.62	5.72	6.96	1.76
16	1900038378	7.54	3.69	0.89	4.92	3.97	0.93
17	1900039028	10.02	2.96	0.73	5.49	2.73	0.75
18	1950043592	19.09	16.89	4.04	9.89	9.40	2.31
19	1950058901	17.38	7.98	1.83	6.81	5.23	1.47
20	1900081545	21.78	14.43	3.44	9.38	7.41	1.67
21	1811236475	14.26	17.28	4.04	7.05	9.13	2.56
22	1900081416	14.85	6.14	1.48	6.62	3.96	1.35
23	1811228836	19.04	16.51	4.07	8.79	9.91	5.35
24	1900081263	8.13	2.99	0.74	4.37	2.40	3.83
25	1900080368	4.56	5.13	1.30	2.41	3.74	2.88
26	1811199569	0.96	3.91	1.00	0.32	3.07	2.05
27	1950074059	19.13	11.21	2.88	9.42	7.47	1.75
28	1811208762	12.40	7.90	2.10	6.80	6.11	2.89
29	1811006360	0.59	2.57	0.62	2.56	2.19	0.65

Por otro lado, cuando se usaron muestras de LCR para el kit de varicela IgG, el coeficiente de correlación de Pearson mostró un valor de 0.97 lo que equivale a una correlación alta y positiva entre ambos analizadores.

$$\rho_{xy} = \frac{Cov(X, Y)}{\sqrt{Var(X) \times Var(Y)}} = 0.97$$

Para analizar la correlación entre ambos analizadores se realizó un análisis de regresión lineal como se muestra en la **Figura 71** y **Figura 72**. Una vez analizada la correlación lineal para el kit de varicela y sarampión IgG, se observó que existía una buena correlación entre los sistemas automatizados VirClia® Lotus y VirClia® Thunderbolt, los cuales presentaron un $R^2 \geq 0,85$ en ambos casos.

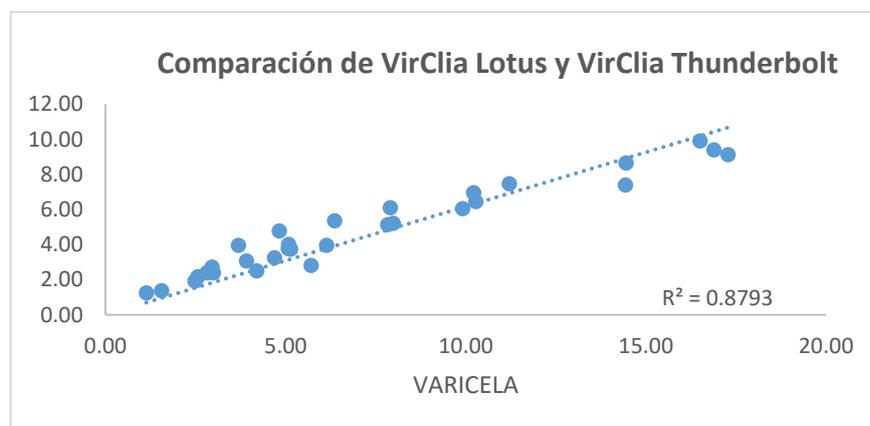


Figura 71. Correlación de muestras entre VirClia Lotus y VirClia Thunderbolt para el kit de varicela.

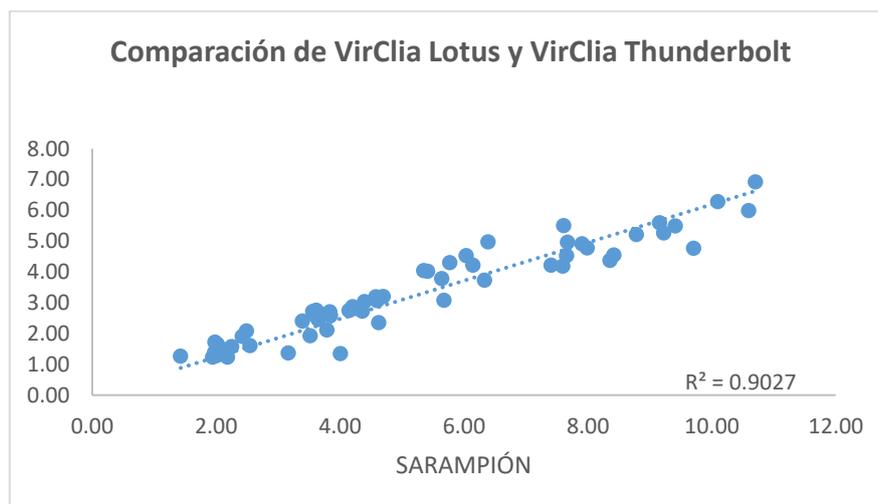


Figura 72. Correlación de muestras entre VirClia® Lotus y VirClia® Thunderbolt para el kit de sarampión.

El siguiente estudio realizado fue una comparación entre las tres casas comerciales usadas a lo largo de esta tesis las cuales fueron Vircell, Virion Serion y Siemens. Para ello se usó un diagrama de cajas y bigotes como se muestra en la **Figura 73**.

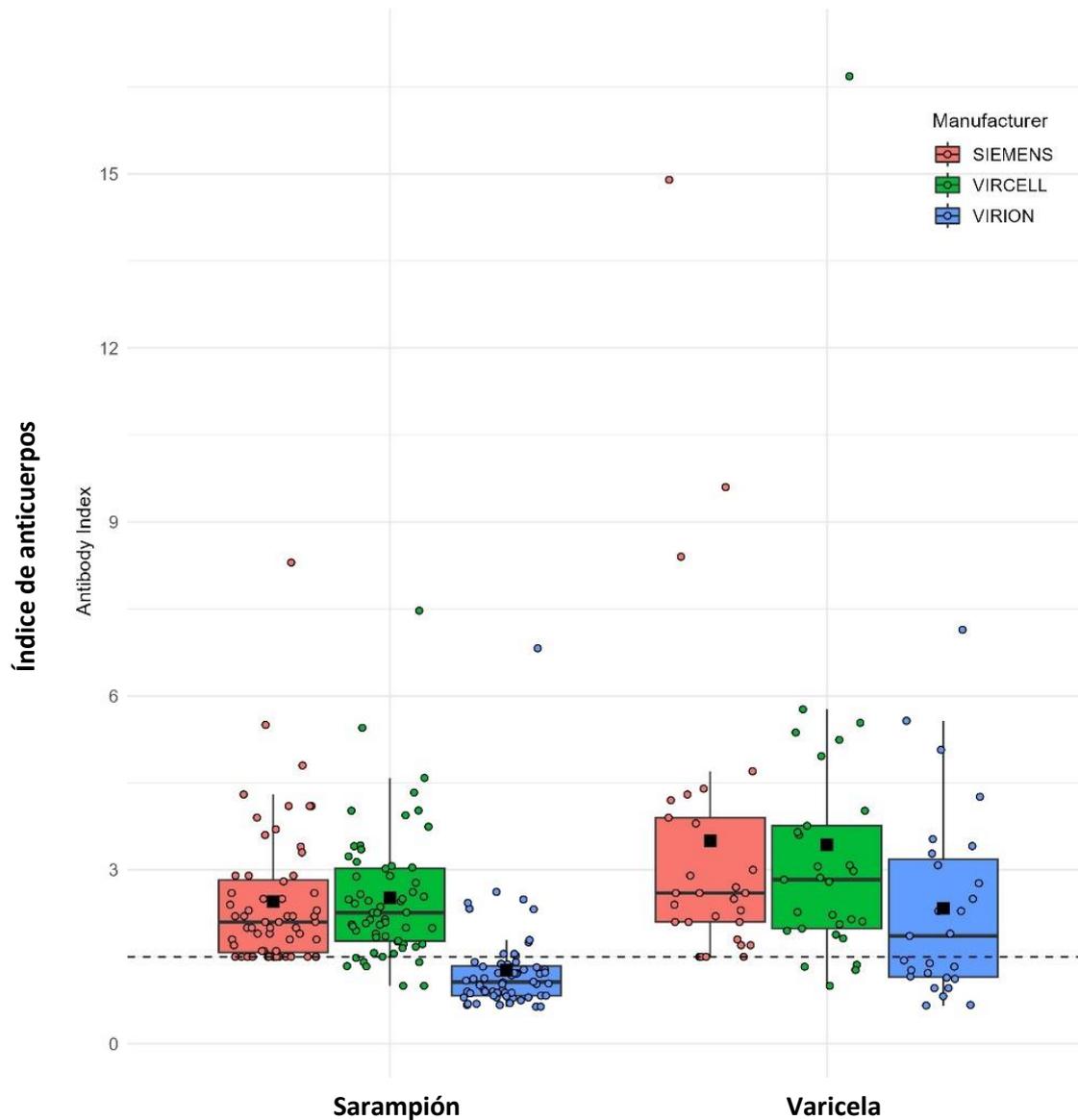


Figura 73. Diagrama de cajas y bigotes para el índice de anticuerpos comparando tres casas comerciales. Naranja (Siemens), Verde (Vircell) y azul (Virion Serion). Sarampión y varicela.

Como podemos observar, el rendimiento del kit de Siemens, Virion Serion y Vircell en muestras de varicela fue muy similar. Sin embargo, el kit de Virion Serion, clasificó casi todas las muestras de sarampión como negativas a diferencia de las otras dos casas comerciales.

Estos datos fueron incluidos en el estudio que avala la calidad de este trabajo bajo el título **“Detection of intrathecal IgG antibody for varicella and measles diagnosis by evaluation and comparison of a commercial IgG chemiluminescent immunoassay with two ELISAs”** en la revista *European Journal of clinical microbiology and infectious diseases* que se encuentra en el cuartil 1 (Q1) y el cual puede ser consultado en el siguiente enlace.

<https://doi.org/10.1007/s10096-024-04822-x>

Finalmente, se quiso estudiar si el mismo kit de quimioluminiscencia podía ser usado para el diagnóstico de neuropatías no infecciosas del SNC como la EM. Para ello, se analizaron 10 muestras pareadas (LCR y suero) de pacientes que habían sido diagnosticados con EM por el índice de Tibbling. Se consideró como un diagnóstico de EM cuando la muestra era positiva para al menos dos de los tres agentes virales estudiados (sarampión, rubeola y varicela). Usando el kit de VirClia®, se obtuvo un 90% de sensibilidad aun teniendo en cuenta el bajo número de muestras usadas para este análisis. Como se muestra en la **Tabla 52**, de las 10 muestras analizadas, 9 de ellas fueron positivas para al menos dos de los tres agentes patógenos evaluados (reacción MRZ) y solamente una muestra no fue positiva para ninguno de los tres microorganismos evaluados.

Tabla 52. Resultados de muestras de pacientes diagnosticados con EM según el índice de Tibbling y el índice de anticuerpos por VirClia®.

MUESTRA	TIBBLING	HERPES SIMPLE 1+2	SARAMPIÓN	RUBEOLA	VARICELA
		ÍNDICE DE ANTICUERPOS			
131093578	1	1.39	7.17	2.11	2.55
136050428	0.64	1.05	0.52	1.13	0.63
131095816	0.93	3.17	0.07	3.45	1.55
131095797	0.81	0.82	49.34	3.34	1.24
131095758	1	2.6	43.31	3.60	5.82
131095960	0.61	1.88	0.55	1.39	2.21
151057571	1.82	4.5	1.66	16.62	13.02
151057509	0.7	0.68	4.45	5.58	0.51
151988976	1.82	5	4.20	2.61	1.29
151057554	0.67	0.42	3.21	1.00	3.36

RESULTADOS

En nuestro caso, las muestras fueron analizadas tanto por el índice de Tibbling como usando el índice intratecal de anticuerpos, usando la técnica de quimioluminiscencia y la tecnología VirClia®. Todas las muestras presentaron un índice de Tibbling el cual las categorizaba como sugestivas de presentar EM, lo que correlacionaba con el hecho de que se trataba de pacientes con un diagnóstico positivo para EM emitido por el Hospital Virgen de las Nieves (Granada). En el anexo VII - informes del análisis de muestras de pacientes con EM, se muestran los resultados obtenidos por el laboratorio de análisis clínicos Ángel Méndez Soto (Granada) con el correspondiente cálculo del índice de Tibbling.

4.2 AJUSTE Y ADAPTACIÓN DEL MODELO TEÓRICO DESARROLLADO POR REIBER AL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

4.2.1 APLICACIÓN DEL MÉTODO VIRCLIA MONOTEST USANDO MUESTRAS DE UN CONTROL DE CALIDAD EXTERNO (INSTAND)

Una vez diseñado el método y adaptado a las plataformas automatizadas, para evaluar la efectividad del mismo, se usaron muestras de un control de calidad externo (INSTAND) cuyos resultados eran desconocidos desde un inicio. Las muestras fueron recibidas periódicamente y, tras los ensayos, los resultados fueron enviados al organismo competente para su correspondiente revisión. Los controles en los que se participó se muestran en la **Tabla 53**.

Tabla 53. Fechas de participación en el organismo de control INSTAND.

FECHA	CERTIFICADO DE SUPERACIÓN
Mayo 2022	Exitoso (ver anexo VI)
Mayo 2023	
Mayo 2024	

El resultado de participación en estos controles se incluye como anexo VI - Certificados de participación en el control de calidad instand. En todas las participaciones el resultado fue satisfactorio lo que significa que mediante el uso del kit de la marca comercial Vircell S.L fue posible emitir un diagnóstico certero para cada una de las muestras recibidas.

4.2.2 ESTUDIO DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS Y SU CORRELACIÓN CON LOS DIAGRAMAS DE REIBER PARA MUESTRAS USADAS EN LOS KITS SARAMPIÓN IgG Y VARICELA IgG

Una de las herramientas usadas para evaluar la integridad de la barrera hematoencefálica y la producción de anticuerpos intratecales son los diagramas de Reiber. En nuestro caso, se incluyeron todos los pacientes con resultado positivo de síntesis intratecal para evaluar la correlación entre el resultado de los kits de sarampión IgG y varicela IgG frente a su diagrama de Reiber correspondiente.

Como se puede apreciar en la **Figura 74** y **Figura 75** la mayoría de los pacientes sufría de una disfunción de la barrera hematoencefálica. Si bien esta disfunción puede estar originada por una infección en el SNC o cualquier otra alteración de este espacio, no todos los pacientes con un índice intratecal de anticuerpos positivo mostraron signos de producción intratecal de anticuerpos según los diagramas de Reiber.

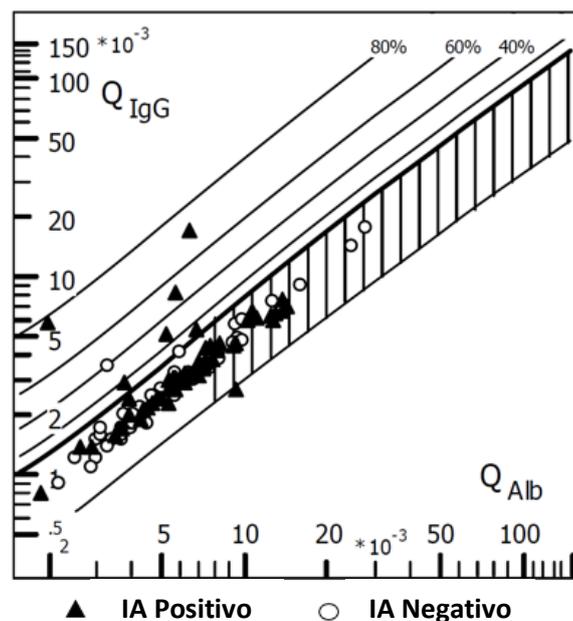


Figura 74. Diagrama de Reiber para muestras con AI positivo para el kit de sarampión IgG. Las muestras consideradas positivas según el índice de anticuerpos aparecen representadas en el gráfico como (▲).

Fuente: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-024-04822-x>

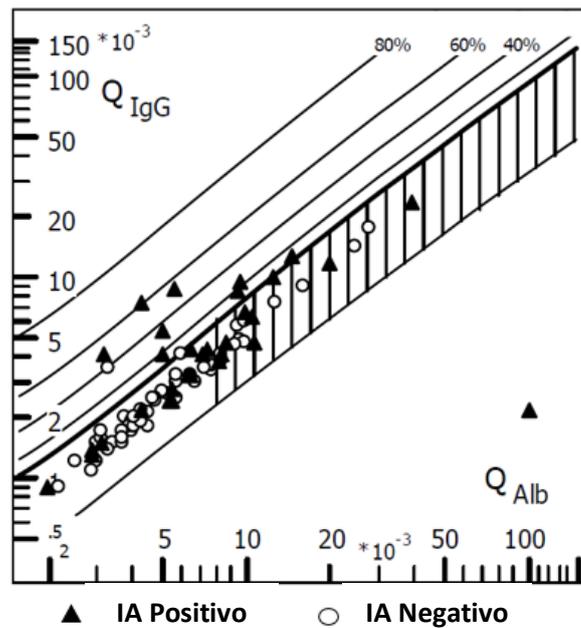


Figura 75. Diagrama de Reiber para muestras con AI positivo para el kit de VZV IgG. Las muestras consideradas positivas según el índice de anticuerpos aparecen representadas en el gráfico como (▲).

Fuente: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-024-04822-x>

También se estudió con qué frecuencia un paciente presentaba síntesis intratecal de anticuerpos con una probabilidad del 99%. Para ello se tomó como criterio que la fracción intratecal fuese superior al 0% con referencia a Q_{lim} como límite del intervalo de referencia relevante para el diagnóstico, es decir, cuando $Q_{IgG} > Q_{lim}$. Para una comparación estadística fiable de los grupos, podría ser suficiente referirse a los límites de producción más dos desviaciones estándar, no obstante, en estadística se suelen usar las tres desviaciones estándar como regla general.

En la **Tabla 54** se muestran las frecuencias de los pacientes los cuales, según el límite establecido de dos o tres desviaciones estándar, podían ser susceptibles de presentar una síntesis intratecal de anticuerpos. Independientemente de si usamos dos o tres desviaciones estándar para establecer la separación entre si hubo o no producción intratecal, no se apreciaron variaciones significativas en los porcentajes referidos a la frecuencia.

Tabla 54. Frecuencia de síntesis intratecal con respecto al total de muestras para sarampión IgG. Se usaron dos niveles que incluyen la media más dos desviaciones estándar y la media más tres desviaciones estándar.

PARÁMETRO	SÍNTESIS INTRATECAL IgG
>3 desviaciones estándar	6 %
>2 Desviaciones estándar	7 %
Total	60

Se llevó a cabo el mismo estudio para las muestras de varicela, no observándose variaciones significativas en los porcentajes referidos a la frecuencia respecto al número de pacientes con posibilidad de presentar una síntesis intratecal de anticuerpos. Los datos se muestran en la **Tabla 55**.

Tabla 55. Frecuencia de síntesis intratecal con respecto al total de muestras para varicela IgG. Se usaron dos niveles que incluyen la media más dos desviaciones estándar y la media más tres desviaciones estándar.

PARÁMETRO	SÍNTESIS INTRATECAL IgG
>3 desviaciones estándar	8 %
>2 Desviaciones estándar	10 %
Total	29

4.2.3 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN DE MUESTRAS

Para esta tesis se llevó a cabo un estudio retrospectivo con muestras pareadas de pacientes con indicios de neuropatías infecciosas del SNC y pacientes a los que se les había practicado una punción lumbar pero que finalmente no presentaron ninguna patología relacionada con la afectación del SNC por microorganismos infecciosos. El número total de casos se muestra en la **Tabla 56**.

Tabla 56. Tabla de datos de los pacientes analizados con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC según la edad.

ESTADO DEL SNC	NÚMERO DE CASOS
Afectación del SNC por patologías infecciosas	89
Sin afectación del SNC por patologías infecciosas	50

Se realizó un estudio para ver que porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC aparecía en nuestra población de estudio. Los datos referentes a esta población se representan en la **Figura 76**.

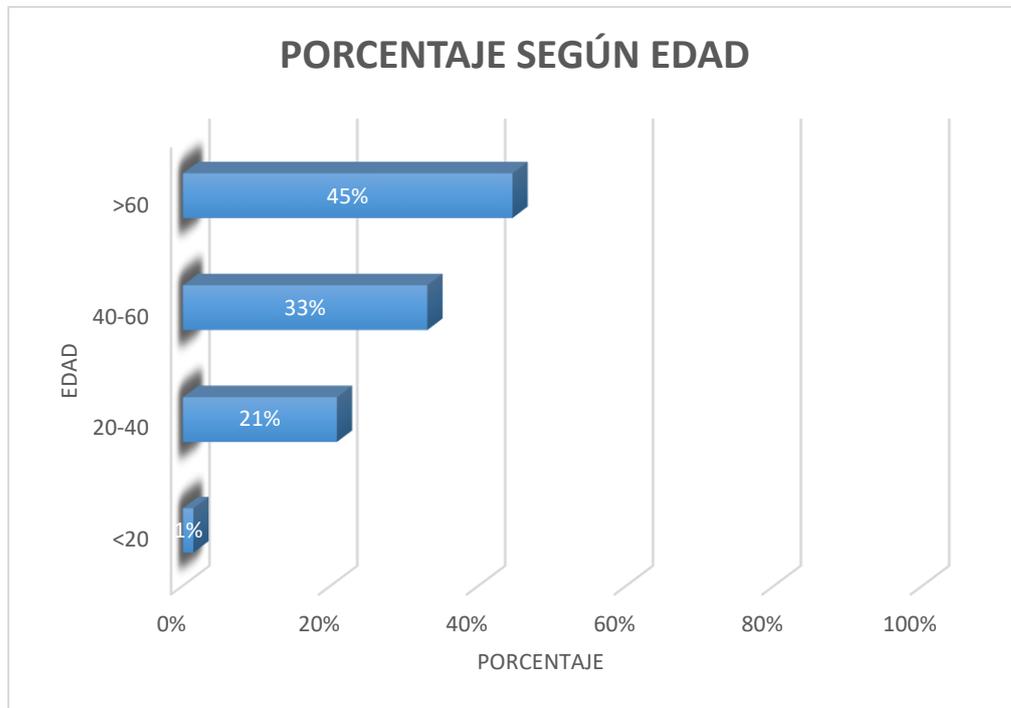


Figura 76. Porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC clasificados según la edad. En el eje de ordenadas encontramos los grupos de edad de los pacientes. En el eje de abscisas el porcentaje de casos con sintomatología compatible con una infección del SNC.

Como se muestra en la **Figura 77**, el 45 % de los pacientes con una sintomatología compatible de presentar una neuropatía infecciosa del SNC eran mayores a 60 años. En cambio, para edades comprendidas entre 40 y 60 años, el porcentaje fue del 33 %. Este porcentaje se redujo hasta un 21 % para aquellos con edades entre 20 y 40 y solamente aquellos menores a 20 años de edad presentaron un porcentaje del 1 %. Estos datos indican que como se indicó al inicio de esta tesis, la edad es uno de los factores de riesgo que parecen tener más importancia a la hora de sufrir o no estas neuropatías infecciosas del SNC. En este caso, a medida que se incrementaba la edad, el porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC también aumentaba.

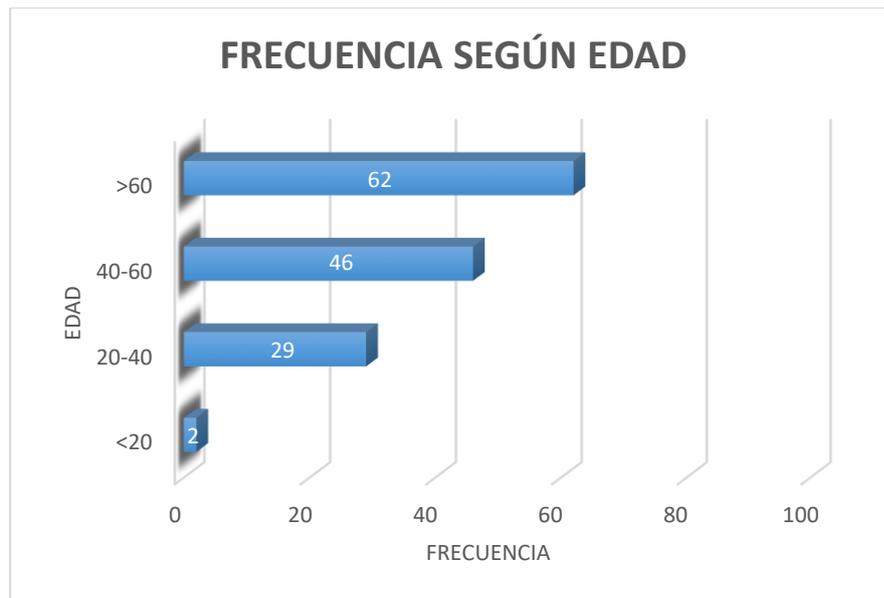


Figura 77. Frecuencia de los pacientes con sintomatología compatible con una infección del SNC clasificados según la edad. En el eje de ordenadas encontramos los grupos de edad de los pacientes. En el eje de abscisas la frecuencia de casos con sintomatología compatible con una patología infecciosa según la edad.

Como podemos observar en la **Figura 77**, la mayoría de los pacientes, en concreto 62 de ellos, se situaron en el rango de edad mayor a 60 años. El segundo grupo con mayor número de personas fue el grupo que se situaba en el rango de edad entre 40 y 60 años con 46 afectados, seguido de 29 pacientes para el rango de edades comprendidas entre 20 y 40 años. Finalmente, el grupo con menor volumen fue el correspondiente a los pacientes con menos de 20 años del cual solo dos personas presentaron síntomas compatibles con una posible patología infecciosa del SNC.

En este estudio retrospectivo también se analizó el género de los pacientes. Los datos se muestran en la siguiente página como **Tabla 57**.

Tabla 57. Análisis de la frecuencia y porcentaje de sexo según la edad.

SEXO	NÚMERO DE CASOS
Hombre	65
Mujer	74

El mayor número de pacientes con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC abarcaba a mujeres, seguido del grupo de los hombres.

En la **Figura 78** se muestra un gráfico con la frecuencia de datos según el género del paciente. En este caso, se tuvo en cuenta la frecuencia de casos positivos frente al número de casos que presentó cada género.

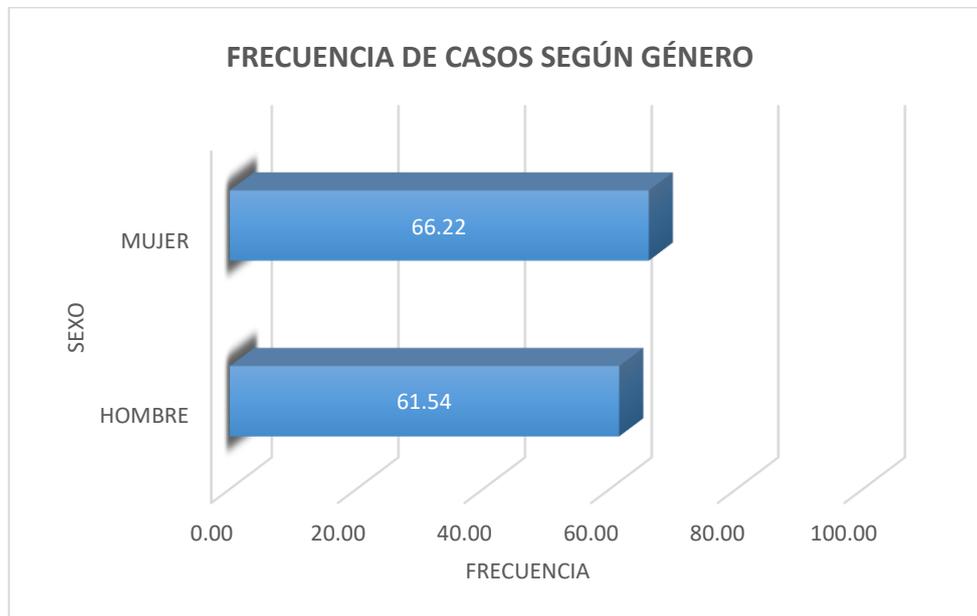


Figura 78. Frecuencia de los pacientes con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC clasificados según el género. En el eje de ordenadas encontramos el sexo de los pacientes. En el eje de abscisas la frecuencia de casos con sintomatología compatible con una patología infecciosa según el género.

En el caso de la frecuencia de casos según el género, se observó que dentro del grupo de las mujeres, teniendo en cuenta el total de casos, el 66.22 % fueron positivos, mientras que dentro del grupo formado por hombres, del total de casos el 61.54 % fueron positivos, no habiendo una diferencia significativa en cuanto a padecer este tipo de patologías según el sexo del paciente.

De la misma forma, se evaluó el porcentaje de hombres y mujeres que presentaban signos clínicos compatibles con una neuropatía infecciosa del SNC, con respecto al total de muestras usadas en este estudio (139 muestras) según el género.. Se observó una mayor incidencia en el grupo de mujeres que en el de hombres, siendo el porcentaje de casos positivos con respecto al total de casos evaluados de un 53 % para el grupo de las mujeres y un 47 % para el grupo de los hombres. Los resultados se muestran en la siguiente página en la **Figura 79**.

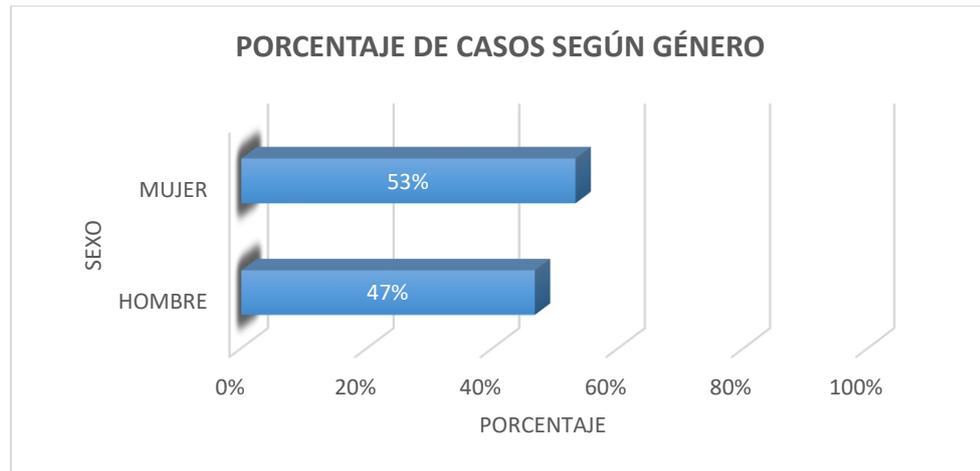


Figura 79. Porcentaje de los pacientes con sintomatología compatible con una infección del SNC clasificados según el género. En el eje de ordenadas encontramos el sexo de los pacientes. En el eje de abscisas el porcentaje de casos con sintomatología compatible con una patología infecciosa según el género.

No obstante, ambos porcentajes estaban muy cercanos, indicando que la probabilidad de sufrir este tipo de neuropatías infecciosas del SNC, no parecía estar tan relacionada al hecho de pertenecer a un género u otro y sí que, observando las gráficas de la afectación por edades, la probabilidad de sufrir este tipo de patologías, parecía estar más relacionado con el factor de riesgo de la edad. Otro dato a evaluar fue el número de casos positivos respecto al grupo de edad estudiado, usando como test predicativo el kit de referencia Enzygnost de Siemens. Los datos se muestran en la **Figura 80**.

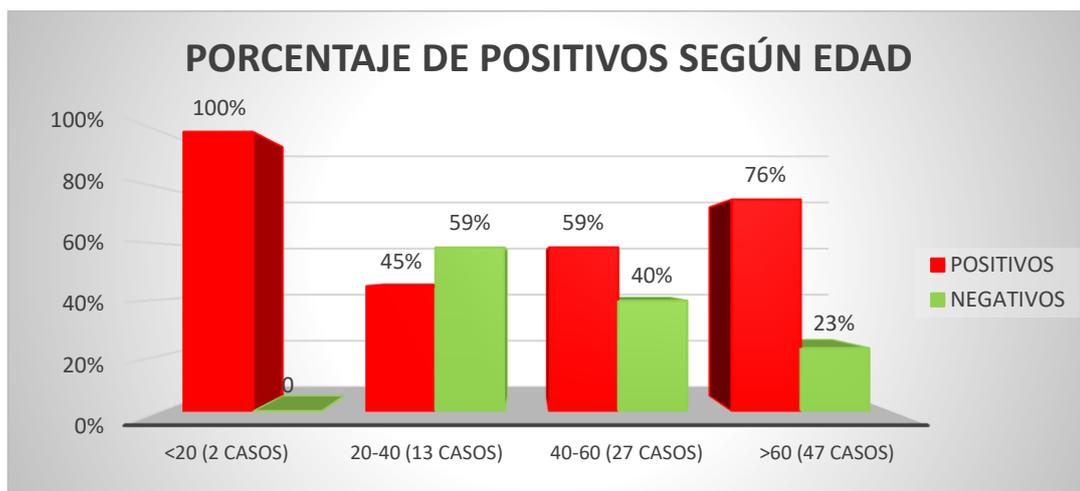


Figura 80. Porcentaje de positivos con respecto al total de casos por grupo de edad. En el eje de ordenadas encontramos el porcentaje de pacientes con resultado positivo usando el kit de VirClia® monotest. En el eje de abscisas los grupos de edad.

RESULTADOS

Se pudo observar que el grupo de edad con una mayor tasa de positivos fue el de menor a 20 años con un 100% de casos positivos reportados con respecto al total por grupo de edad, seguido del grupo de edad por encima de los 60 años con un 76 % de casos positivos reportados. A continuación el grupo de edad 40 – 60 años reportó un 59 % de casos positivos y, finalmente, el grupo comprendido entre 20 – 40 años, con un 45 % de casos positivos con respecto al total por grupo de edad.

Para terminar el estudio descriptivo, se evaluó el porcentaje de casos positivos según el género de los pacientes. Tras esta evaluación, se pudo observar que la mayoría de los pacientes que presentaron sintomatología compatible con una neuropatía infecciosa del SNC fueron positivos para alguno de los microorganismos ensayados. Tanto en hombres como mujeres, el porcentaje de positividad fue similar siendo este un 62 % para hombres frente a un 66 % para mujeres. Los resultados se muestran en la **Figura 81**.

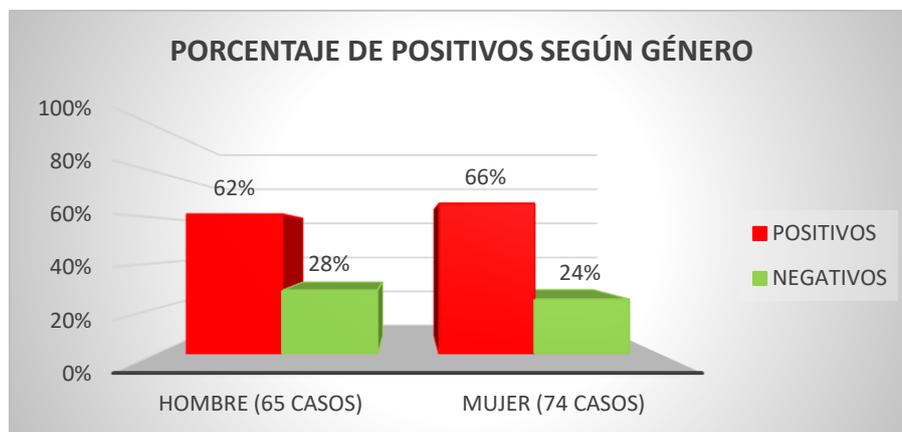


Figura 81. Gráfico donde se muestra el porcentaje de positivos frente al total de pacientes según el género.

Otro de los estudios llevados a cabo fue evaluar como el usar un distinto punto de corte afectaba a la concordancia entre la técnica usada como técnica de referencia (Siemens) y la nueva técnica evaluada (Vircell S.L). Los resultados se pueden observar en la **Tabla 58** y **Tabla 59**.

Tabla 58. Concordancia entre el número de casos positivos para Vircell y Siemens usando como punto de corte para el índice de anticuerpos el valor de 1.5.

	SIEMENS	VIRCELL
POSITIVOS SARAMPIÓN	60	54
POSITIVOS VARICELA	29	26

Tabla 59. Número de casos positivos para Vircell y Siemens usando como punto de corte para el índice de anticuerpos el valor de 1.3.

	SIEMENS	VIRCELL
POSITIVOS SARAMPIÓN	60	59
POSITIVOS VARICELA	29	28

Cuando el punto de corte se redujo de 1.5 a 1.3 para el IA, mejoró la concordancia entre la casa comercial Vircell y la casa comercial Siemens, aumentando el número de casos positivos reportados.

4.2.4 COMPARACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE QUIMIOLUMINISCENCIA FRENTE A UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO ESTABLECIDO Y VALIDADO EN EL MERCADO

Cualquier técnica serológica necesita un estándar de oro con el que compararse para poder evaluar su funcionamiento. En nuestro caso, las dos casas comerciales usadas en este estudio, Virion Serion ELISA *classic* y VirClia®, fueron evaluadas frente al kit con más tiempo en el mercado como era el kit de ELISA Enygnost de Siemens. Para esta comparación se llevaron a cabo diferentes análisis:

1. Estudio de la normalidad de la población usando el test de Saphiro – Wilks.
2. Estudio de la asociación entre variables usando el test exacto de Fisher.
3. Estudio de la correlación entre métodos usando el test de correlación de Pearson.

4.2.5 ESTUDIO DE LA NORMALIDAD DE LA POBLACIÓN DE MUESTRAS USANDO EL TEST DE SHAPIRO-WILKS

Para establecer si había normalidad o no en las muestras usadas, se usó el test de Shapiro-Wilks. Para ello se estudió tanto la hipótesis nula como la hipótesis variable a ensayar, tal como se muestra en la siguiente página en la **Tabla 60**.

Tabla 60. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para sarampión IgG VirClia monotest.

SARAMPIÓN IgG VIRCLIA MONOTEST	
H ₀	Existe normalidad en la población de muestras seleccionada
H ₁	No existe normalidad en la población de muestras seleccionada
α	< 0.05
Shaphiro-Wilks p valor	1.17 x 10 ⁻⁶
Conclusión	No existe normalidad en la población de muestras

RESULTADOS

El resultado arrojado por el test de Shaphiro-Wilks, rechazaba la hipótesis nula, estableciendo que no había normalidad para el conjunto de muestras usado con un p valor menor a 0.05. El mismo test fue aplicado para el kit de varicela IgG. Los resultados se muestran en la **Tabla 61**.

Tabla 61. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para varicela IgG VirClia monotest.

VARICELA IgG VIRCLIA MONOTEST	
H ₀	Existe normalidad en la población de muestras seleccionada
H ₁	No existe normalidad en la población de muestras seleccionada
α	< 0.05
Shaphiro-Wilks p valor	3.96×10^{-7}
Conclusión	No existe normalidad en la población de muestras

El resultado arrojado por el test de Shaphiro-Wilks, rechazaba la hipótesis nula, estableciendo que no había condición de normalidad para el conjunto de muestras usado con un p valor menor a 0.05.

Puesto que el objetivo era comparar ambas casas comerciales frente al kit de referencia, se aplicó el mismo test estadístico a la casa comercial Virion Serion para los kits de sarampión y varicela. Los resultados se muestran en la **Tabla 62** y **Tabla 63**.

Tabla 62. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para sarampión IgG Virion Serion ELISA.

SARAMPIÓN IgG VIRION SERION ELISA	
H ₀	Existe normalidad en la población de muestras seleccionada
H ₁	No existe normalidad en la población de muestras seleccionada
α	< 0.05
Shaphiro-Wilk p valor	2.49×10^{-12}
Conclusión	No existe normalidad en la población de muestras

El resultado arrojado por el test de Shaphiro-Wilks, rechazaba la hipótesis nula, estableciendo que no había condición de normalidad para el conjunto de muestras usado con un p valor menor a 0.05.

Tabla 63. Evaluación del test Shaphiro-Wilks para varicela IgG Virion Serion ELISA.

VARICELA IgG VIRION SERION ELISA	
H ₀	Existe normalidad en la población de muestras seleccionada
H ₁	No existe normalidad en la población de muestras seleccionada
α	< 0.05
Shaphiro-Wilks p valor	5.68×10^{-9}
Conclusión	No existe normalidad en la población de muestras

Finalmente, para el kit de varicela de Virion Serion, se observó que las muestras tampoco seguían una distribución normal, mostrando un p valor menor a 0.05.

Habiendo evaluado que la población de muestras no seguía una distribución normal, usamos el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras apareadas que nos permitiría comparar la categorización de las muestras por el test a evaluar y su referencia.

Usando el test de Wilcoxon se observó que evaluando el kit de sarampión de Virion Serion frente al kit de Siemens, el resultado para el p valor fue de 5.21×10^{-11} . Esto nos estaba indicando que existía una diferencia estadísticamente significativa entre los dos kits de diagnóstico en cuanto a los resultados obtenidos. En otras palabras, la hipótesis nula (que establece que no hay diferencias entre los kits) podía ser rechazada con un nivel de confianza del 95%. Esto nos sugiere que las mediciones entre los dos kits no eran equivalentes, siendo esta diferencia significativa desde un punto de vista estadístico.

A diferencia de lo que ocurría con el kit de sarampión de Virion Serion, el resto de kits evaluados como el de varicela de Virion Serion, el kit de sarampión y el kit de varicela de la casa comercial Vircell, mostraron un p valor superior a 0.05, siendo estos valores de 0.08, 0.26 y 0.15 respectivamente.

Debido a esto, puesto que el p valor fue mayor a 0.05, se estableció que no se había encontrado una diferencia estadísticamente significativa entre los kits evaluados y el kit de referencia, en este caso el kit de Siemens. Por lo tanto, conociendo esta información, no se pudo rechazar la hipótesis nula, lo que implicaba que no había suficiente evidencia para afirmar que los resultados generados entre los kits a evaluar y el kit de referencia eran diferentes.

Teniendo esto en cuenta, podríamos pensar que las diferencias observadas entre los kits a evaluar y el kit de referencia, podían haber sido generadas por el azar y no necesariamente a una variación real entre los diferentes métodos de diagnóstico usados a lo largo de esta tesis.

Una vez descartada la normalidad de las muestras y evaluado el test no paramétrico de Wilcoxon, el siguiente paso fue estudiar la asociación entre las variables usando el test exacto de Fisher.

4.2.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE VARIABLES CUALITATIVAS FRENTE A UN TEST COMERCIAL VALIDADO USANDO EL TEST EXACTO DE FISHER

El test exacto de Fisher nos va a permitir establecer la relación entre dos variables, en este caso entre los kits diagnósticos a evaluar. El resultado de este test nos estará indicando si existe asociación entre las variables a evaluar, es decir, ser positivo o negativo por el test a evaluar y por el test de referencia, usando el test de Enzygnost (Siemens) como test de predicativo. Los resultados para el test de sarampión y varicela usando el kit de VirClia® se muestran en la **Tabla 64** y **Tabla 65**.

Tabla 64. Evaluación del test exacto de Fisher para sarampión IgG VirClia monotest

SARAMPIÓN IgG VIRCLIA MONOTEST	
H ₀	No existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
H ₁	Existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
α	< 0.05
Fisher <i>p</i> valor	2.2 · 10 ⁻¹⁶
Conclusión	Existe asociación entre variables

El resultado del estadístico test de Fisher, mostró que había una asociación entre las variables. Se rechazó por tanto la hipótesis nula (H₀) usando un nivel de significancia de α < 0.05.

Tabla 65. Evaluación del test exacto de Fisher para varicela IgG VirClia monotest.

VARICELA IgG VIRCLIA MONOTEST	
H ₀	No existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
H ₁	Existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
α	< 0.05
Fisher <i>p</i> valor	8.941 · 10 ⁻¹³
Conclusión	Existe asociación entre variables

El mismo resultado fue obtenido para el test de Fisher cuando se usó el kit de varicela, mostrando que había una asociación entre las variables, es decir, ser positivo por Vircell y ser positivo por Siemens. Se rechazó por tanto la hipótesis nula (H₀) usando un nivel de significancia de α < 0.05.

Los resultados para el test de sarampión y varicela usando el kit de Virion Serion ELISA classic se muestran en la **Tabla 66** y **Tabla 67** respectivamente.

Tabla 66. Evaluación del test exacto de Fisher para sarampión IgG Virion Serion ELISA.

SARAMPIÓN IgG VIRION SERION ELISA	
H ₀	No existe asociación entre variables (ser positivo por Virion Serion ELISA <i>classic</i> y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
H ₁	Existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
α	< 0.05
Fisher <i>p</i> valor	0.281
Conclusión	No existe asociación entre variables

El resultado del estadístico test de Fisher, mostró que no había una asociación entre las variables, es decir, ser positivo por Virion Serion ELISA *classic* y ser positivo por Siemens. Se acepta por tanto la hipótesis nula (H₀) usando un nivel de significancia de $\alpha < 0.05$.

Tabla 67. Evaluación del test exacto de Fisher para varicela IgG Virion Serion ELISA.

VARICELA IgG VIRION SERION ELISA	
H ₀	No existe asociación entre variables (ser positivo por Virion Serion ELISA <i>classic</i> y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
H ₁	Existe asociación entre variables (ser positivo por VirClia monotest y ser positivo por la referencia, Enzygnost Siemens)
α	< 0.05
Fisher <i>p</i> valor	$2.12 \cdot 10^{-4}$
Conclusión	Existe asociación entre variables

El resultado obtenido para el test de Fisher cuando se usó el kit de varicela mostró que había una asociación entre las variables, es decir, ser positivo por Virion Serion y ser positivo por Siemens. Se rechaza por tanto la hipótesis nula (H₀) usando un nivel de significancia de $\alpha < 0.05$.

4.2.7 ESTUDIO DE LA CONCORDANCIA USANDO EL TEST KAPPA DE COHEN

Para evaluar la concordancia entre las variables, cualitativas en este caso, es decir, concordancia entre pacientes positivos y pacientes negativos por ambas metodologías, se usó el test Kappa de Cohen. La interpretación de los resultados para este test, se muestra en la **Tabla 68**.

Tabla 68. Interpretación del test Kappa de Cohen

KAPPA	GRADO DE CONCORDANCIA
<0	Sin concordancia
0.0 – 0.2	Insignificante
0.2 – 0.4	Baja
0.4 – 0.6	Moderada
0.6 – 0.8	Buena
0.8 – 1.0	Muy buena

Los resultados para los dos test comerciales se muestran en la **Tabla 69** y **Tabla 70**.

Tabla 69. Resultados del test de Kappa de Cohen para sarampión IgG VirClia® monotest y sarampión IgG Virion Serion ELISA.

TEST	KAPPA	INTERPRETACIÓN	SE(σ)	IC
VirClia	0.84	Muy buena concordancia	0.05	0.73 – 0.94
Virion Serion	0.07	Concordancia insignificante	0.06	-0.04 – 0.20

Referente al sarampión, se observó que la concordancia para el kit de Vircell con respecto a la referencia (Siemens) tuvo una muy buena concordancia a diferencia del kit de Virion Serion, donde la concordancia fue insignificante.

Tabla 70. Resultados del test de Kappa de Cohen para varicela IgG VirClia monotest y varicela IgG Virion Serion ELISA.

TEST	KAPPA	INTERPRETACIÓN	SE(σ)	IC
VirClia	0.79	Buena concordancia	0.07	0.64 – 0.93
Virion Serion	0.43	Concordancia moderada	0.11	0.22 – 0.64

En el caso de la varicela, la casa comercial Vircell tuvo buena concordancia mientras que en Virion Serion la concordancia fue moderada con respecto a la técnica de referencia (Siemens).

4.2.8 ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN USANDO EL COEFICIENTE DE PEARSON

Se estudió la dependencia lineal de los resultados de ambas casas comerciales (VirClia® y Virion Serion) frente a la técnica que se estableció como referencia, Enzygnost Siemens. Este coeficiente de correlación nos va a permitir evaluar el grado de asociación entre dos variables, en este caso ser positivo por la técnica de referencia y ser positivo por la técnica que se pretende evaluar. Los resultados se muestran en la **Tabla 71** y **Tabla 72**.

Tabla 71. Resultados del coeficiente de Pearson para sarampión IgG VirClia monotest y sarampión IgG Virion Serion ELISA.

CASA COMERCIAL	COEFICIENTE DE PEARSON	INTERPRETACIÓN
VirClia®	0.83	Asociación positiva
Virion Serion	0.77	Asociación positiva

Tabla 72. Resultados del coeficiente de Pearson para varicela IgG VirClia monotest y varicela IgG Virion Serion ELISA.

CASA COMERCIAL	COEFICIENTE DE PEARSON	INTERPRETACIÓN
VirClia®	0.90	Asociación positiva
Virion Serion	0.61	Asociación positiva

Como muestran los resultados, en ambas casas comerciales (VirClia® y Virion Serion) hubo una asociación positiva para los resultados de la población de pacientes estudiada frente al método de referencia (Enzygnost Siemens), tanto cuando se usó el kit de sarampión como el de varicela.

4.2.9 IMPLANTACIÓN DE UN ALGORITMO PARA EL ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON SÍNTOMAS COMPATIBLES CON PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DEL SNC

Los algoritmos diagnósticos son usados para guiar al facultativo y facilitar la toma de decisiones a la hora de realizar un diagnóstico sobre un paciente con sintomatología compatible con la infección que se busca. En nuestro caso, este algoritmo buscaba decidir que pacientes deberían ser evaluados buscando una posible infección del SNC, en concreto, la detección de anticuerpos intratecales frente a un patógeno específico. El algoritmo se muestra en la **Figura 82** a continuación.

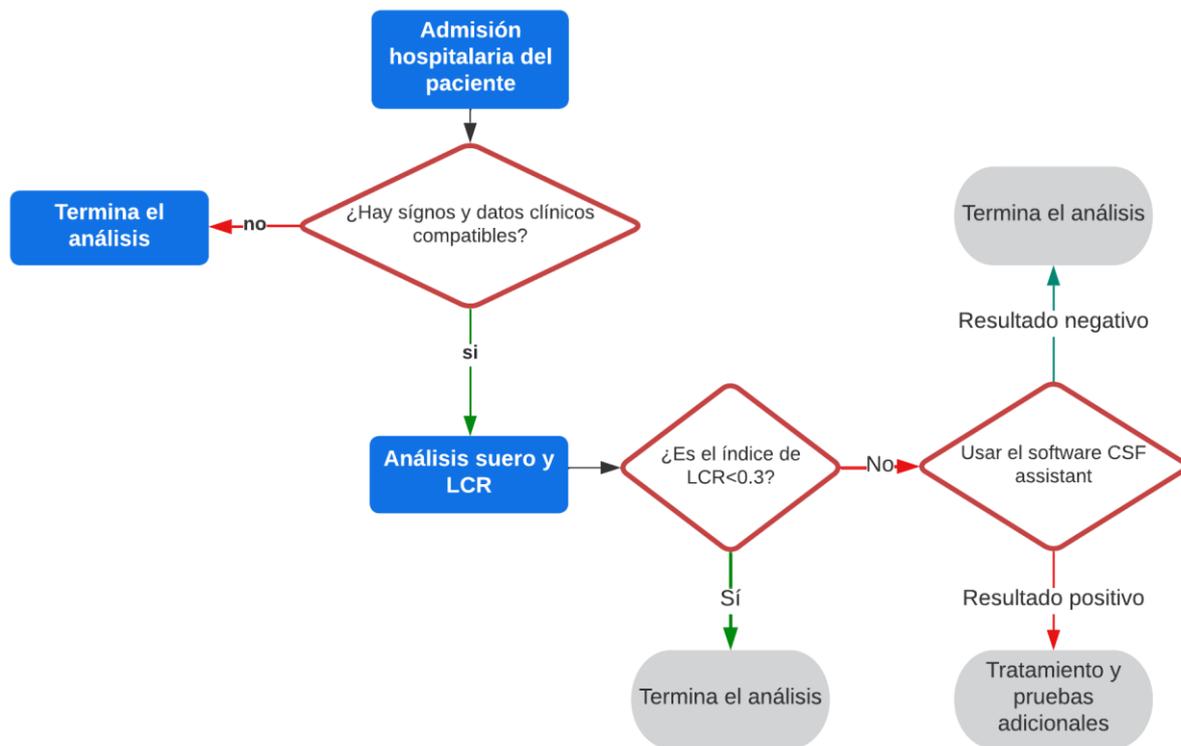


Figura 82. Algoritmo de diagnóstico para la detección de anticuerpos intratecales para el kit de VirClia®

Encontramos varias situaciones donde la muestra puede ser considerada negativa:

- 1) No hay síntomas compatibles con un cuadro de patología infecciosa del SNC.
- 2) El índice de anticuerpos para la muestra de LCR ensayada presenta un valor de índice de anticuerpos por debajo del valor de punto de corte establecido (punto de corte = 0.3).
- 3) El análisis de las muestras pareadas de LCR y suero usando las fórmulas de Reiber presenta un valor de índice intratecal de anticuerpos menor a 1.5.

En el caso del punto 2, para establecer el valor que categorizaría a una muestra como negativa basada en el índice de anticuerpos de la muestra de LCR, se usó la metodología clásica donde se usa el valor de la desviación estándar multiplicado por 3, y esto, sumado al valor promedio generado por el conjunto de pacientes negativos. En nuestro caso, se usó un conjunto de 50 muestras sin evidencia de producción intratecal. Los resultados se muestran a continuación en la **Tabla 73.**

Tabla 73. Elección del valor de cut-off según el valor de índice de anticuerpos en LCR.

Nº DE MUESTRAS	VALOR MEDIO ÍNDICE	VALOR MEDIO + 3DS	VALOR DEL CUT-OFF
50	0.292	0.08	0.3

Finalmente, la regla incluida en el algoritmo diagnóstico para categorizar una muestra de LCR como negativa para este tipo de patologías fue que el índice de anticuerpos estuviese por debajo de 0.3. De la misma forma, para contrastar la elección de este valor, se llevó a cabo un análisis ROC usando el índice de anticuerpos del LCR de la población de muestras estudiada. Los resultados se muestran en la **Tabla 74**.

Tabla 74. Población de muestras analizada para establecer el punto de corte para el índice de anticuerpos de LCR.

	Nº DE MUESTRAS
POBLACIÓN POSITIVA	89
POBLACIÓN NEGATIVA	50
AREA DEBAJO DE LA CURVA	0.961
SE	0.015
IC 95%	[0.914 - 0.987]

Los valores de sensibilidad y especificidad según el punto de corte elegido para el índice de anticuerpos de LCR se muestran en la **Figura 83**.

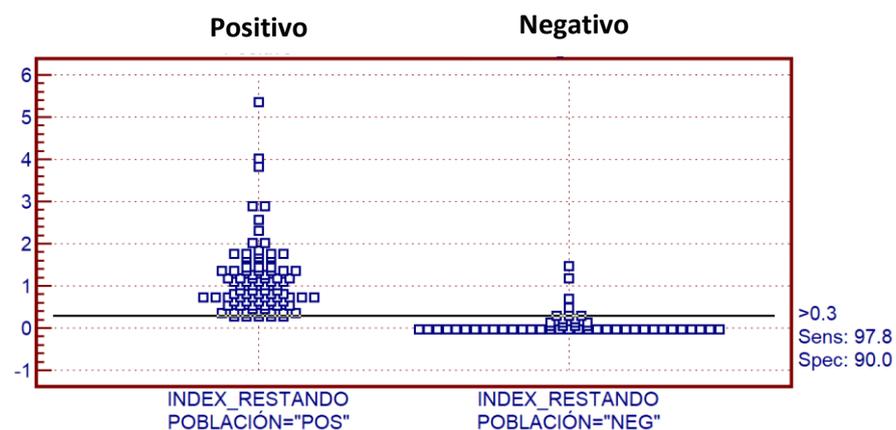


Figura 83. Diagrama de puntos donde se muestran los valores de sensibilidad y especificidad para el punto de corte elegido para el índice de anticuerpos de LCR usando muestras negativas de sarampión y varicela.

En este diagrama de puntos se observa que si el punto de corte para el índice de anticuerpos de la muestra de LCR se situaba en 0.3, la sensibilidad obtenida era del 97.8 % mientras que la especificidad era del 90 %. En la **Figura 84** se muestra el gráfico de la curva ROC donde se establece, para la población estudiada, cual es el punto de corte para la muestra de LCR donde se optimiza el rendimiento del kit en base a conseguir el mejor balance entre sensibilidad y especificidad.

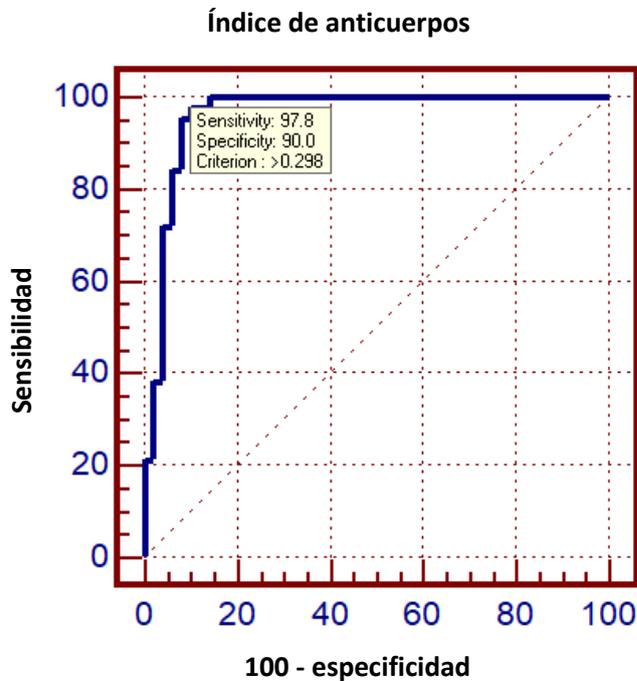


Figura 84. Curva ROC donde se representa la sensibilidad y especificidad para el punto de corte escogido de 0.3 para el índice de anticuerpos.

De nuevo, la elección del valor de 0.3 para el cut-off, arrojó un balance entre sensibilidad y especificidad del 97% y 90% respectivamente (Ver anexo II – Estudio del punto de corte para muestras negativas de LCR).

4.3 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN SOFTWARE PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LCR CUMPLIENDO CON EL REGLAMENTO SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO (UE) 2017/746 (IVDR)

4.3.1 FASE DE PLANIFICACIÓN

Para el desarrollo y evaluación del software, se usó el enfoque definido como PDCA por sus siglas en inglés - *Plan-Do-Check-Act* -. El primer paso fue planificar los requisitos y objetivos del proyecto.

Los objetivos del proyecto eran los siguientes:

1. Crear un software interactivo que permitiese el cálculo de la concentración de anticuerpos intratecales a partir de muestras pareadas de LCR y suero.
2. Que el software pudiera ser usado de forma independiente por el usuario o de manera automatizada conectado al sistema de información de los laboratorios (SIL).

De la misma forma, el proyecto presentaba unos requisitos que había que cumplir:

1. El software debía estar validado como un dispositivo médico, ya que, hacía cálculos e interpretaciones para emitir diagnósticos.
2. El software debía ser fácil de usar y emitir informes lo más completos posibles para facilitar el diagnóstico de los pacientes con estas patologías.

Para estudiar las necesidades que los usuarios iban a tener y que darían lugar al diseño final de este software, se utilizó el recurso “Historia de los usuarios”, donde se recogen las peticiones y necesidades que estos van a solicitar para desarrollar el software final en base a esta información. A continuación, se detallan cada una de las historias de los ocho usuarios entrevistados. Cada uno, presentaba perfiles de trabajo distintos, lo que ayudó a dar una visión más objetiva de lo que se necesitaba implementar en el nuevo software.

- **Historia 1: Técnico de laboratorio (H01):** quiero un sistema que permita introducir los datos de una manera fácil y rápida.
- **Historia 2: Técnico de laboratorio (H02):** quiero un sistema que me permita realizar los cálculos para el índice de anticuerpos automáticamente sin necesidad de realizarlos de forma manual.
- **Historia 3: Facultativo (H03):** quiero un software que me permita tener trazabilidad de los resultados emitidos a los pacientes.
- **Historia 4: Jefe de servicio (H04):** quiero un software que me genere un informe completo donde se incluyan los datos relevantes usados para emitir el diagnóstico.
- **Historia 5: Facultativo (H05):** quiero un software que me permita evaluar de forma numérica y visual el estado de la barrera hematoencefálica del paciente.
- **Historia 6: Jefe de servicio (H06):** quiero un software que me permita rescatar información de pacientes cuyas muestras ya fueron ensayadas, para poder evaluarlos nuevamente si es necesario.

- **Historia 7: Técnico de laboratorio (H07):** quiero un software que use los datos emitidos por el analizador para el cálculo de las fórmulas de Reiber.
- **Historia 8: Facultativo (H08):** quiero un software que proteja los datos de los pacientes para que estos no puedan ser manipulados.

Usando la información recabada a partir de las historias de los usuarios, se generaron las funciones que debía cumplir el nuevo software:

Funciones que debería incluir el producto según la historia 1 (H01):

1. Inicio de sesión.
2. Introducción de valores alfanuméricos.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 2 (H02):

1. Cálculos matemáticos automatizados.
2. Marcos donde introducir los datos.
3. Etiquetas de marcos.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 3 (H03):

1. Creación de base de datos.
2. Almacenamiento de datos en una base de datos.
3. Filtros de búsqueda.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 4 (H04):

1. Generación de informe con datos del paciente.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 5 (H05):

1. Creación de gráficos.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 6 (H06):

1. Recopilación de datos de la base de datos para generar informes ya emitidos.
2. Recopilación de datos de la base de datos para generar gráficas de informes ya emitidos.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 7 (H07):

1. Extracción de datos procedentes del archivo XML del analizador.
2. Uso de esos datos para el cálculo de las fórmulas de Reiber.

Funciones que debería incluir el producto según la historia 8 (H08):

1. Creación de ficheros con código único (*hash*⁴) para que estos no sean manipulados.
2. Posibilidad de que el software coteje los archivos *hash* y detectar si han sido manipulados.
3. Encriptación de la base de datos para que esta no pueda ser alterada.

4.3.2 FASE DE DISEÑO

En esta fase se llevó a cabo el desarrollo del software teniendo en cuenta la información recopilada en la fase de planificación usando el lenguaje de programación *C-Sharp*. Se usó este lenguaje al ser una herramienta poderosa, versátil y fácil de aprender que permite el desarrollo de aplicaciones y programas informáticos. Para ello se establecieron las etapas que definían cada tarea y su tiempo de consecución.

En la **Tabla 75** en la siguiente página, se muestran los días que fueron necesarios para la consecución de cada tarea. En cada fase, hubo reuniones periódicas con el equipo de desarrollo para solventar posibles dudas y problemas que iban surgiendo conforme avanzaba el proyecto. Esta manera de trabajar forma parte de la metodología ágil, la cual permite que el desarrollo de aplicaciones o programas informáticos se lleve a cabo de una manera controlada y efectiva.

⁴ El código hash hace referencia a una función o algoritmo que genera claves únicas que representan a un archivo, documento o registro.

Tabla 75. Etapas y tiempo de consecución.

TAREA	DESCRIPCIÓN	Nº DE DÍAS
1	Inicio de sesión	5
2	Introducción de valores alfanuméricos	5
3	Cálculos matemáticos automatizados	10
4	Marcos donde introducir los datos	10
5	Etiquetas de marcos	5
6	Creación de base de datos	10
7	Almacenamiento de datos en base de datos	5
8	Filtros de búsqueda	5
9	Generación de informe con datos del paciente	10
10	Uso de datos de los marcos para crear el informe final del paciente	10
11	Creación de gráficos	5
12	Recopilación de datos de la base de datos para generar informes	5
13	Recopilación de datos de la base de datos para generar gráficos de informes ya emitidos	5
14	Extracción de datos procedentes del archivo XML del analizador	5
15	Uso de esos datos para el cálculo de las fórmulas de Reiber	10
16	Creación de ficheros con código <i>hash</i> para que estos no sean manipulados	10
17	Verificación de los archivos <i>hash</i> y detectar si han sido manipulados	10
18	Encriptación de la base de datos para que esta no pueda ser alterada	5
19	Preparar interfaz	20
TOTAL		150 DÍAS

4.3.3 FASE DE COMPROBACIÓN.

En esta fase es donde se llevó a cabo la validación del producto en conjunto. Para ello se usaron diferentes protocolos de validación.

- **IOPQ:** Protocolo donde se definen que pruebas de verificación se van a realizar (**por la extensión del documento, no se incluye como anexo en esta tesis. En caso de necesidad está disponible para su revisión**).
- **IIO PQ:** Protocolo donde se documenta el resultado de las pruebas indicadas en el informe IOPQ (**por la extensión del documento, no se incluye como anexo en esta tesis. En caso de necesidad está disponible para su revisión**).

La redacción y revisión de estos protocolos, certifican que el software reúne todos los requisitos para que este sea usado de forma segura y en rutina en los laboratorios.

4.3.4 FASE DE AJUSTE

La última fase del proyecto consistió en verificar exhaustivamente el software, para ello el mismo fue instalado durante un periodo de tres meses en el departamento de control de calidad de la empresa Vircell. Durante este periodo, se fueron ensayando periódicamente muestras cuyo índice de anticuerpos era conocido, además de los controles periódicos del control de calidad externo INSTAND, los cuales son evaluados periódicamente.

Finalmente, se revisó toda la documentación del software para determinar que no hubiese ningún error documental que afectase a su validación y puesta en vigor en el mercado. Este software está disponible bajo demanda y registrado como **VirClia® - CSF assistant (versión 1.0)**. La pantalla principal de este software de diagnóstico se muestra en la **Figura 85**.

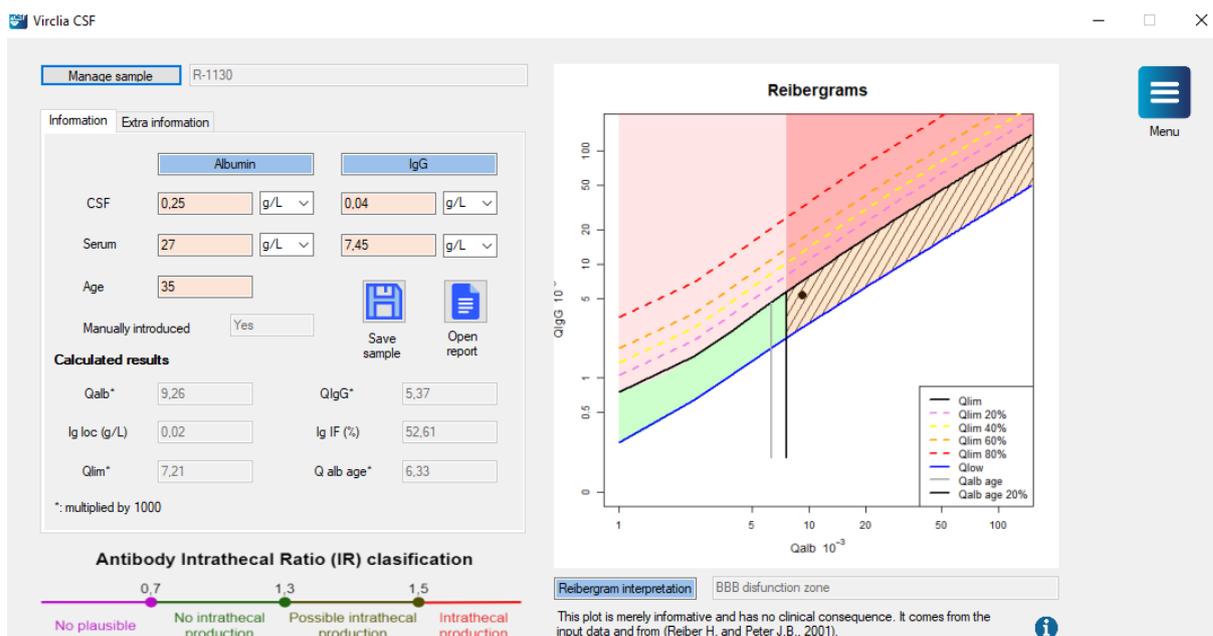


Figura 85. Pantalla principal del software VirClia - CSF assistant (version 1.0)



DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Las neuropatías infecciosas del SNC afectan tanto a países desarrollados como países en vías de desarrollo siendo la población más afectada los niños y la población geriátrica (Seth, 2017). Son muchos los estudios donde se aborda el diagnóstico de las patologías del SNC desde el punto de vista clínico y sintomático en este tipo de pacientes. No obstante, estas patologías plantean una serie de desafíos que hay que tener en cuenta a la hora de emitir un diagnóstico certero, ya que se trata de pacientes con graves problemas de salud y la mortalidad y morbilidad en este tipo de infecciones es elevada.

Los casos más comunes de neuropatías infecciosas que afectan al SNC pueden agruparse en meningitis y encefalitis. Se estima que la morbilidad y mortalidad de dichas patologías puede alcanzar el 30% a nivel mundial. Podríamos distinguir que existe por un lado, una problemática desde el punto de vista de conocimiento de cómo es la patogénesis de este tipo de microorganismos causantes de estas infecciones y, por otro lado, las limitaciones metodológicas, que también dificultan el diagnóstico temprano de estas patologías. Referente a las limitaciones intrínsecas de los microorganismos causantes, encontramos que los síntomas de este tipo de infecciones son muy inespecíficos. Además, el hecho de contar con un mecanismo de defensa como es la barrera hematoencefálica que impide el paso de determinadas sustancias, entre ellas algunos antimicrobianos, no ayuda a combatir estas patologías con los recursos farmacológicos habituales. A esto debemos añadir la dificultad o limitación metodológica como es el uso de pruebas invasivas, al ser infecciones que se localizan en zonas muy delicadas del cuerpo.

El hecho de que los microorganismos se encuentren en un medio poco propicio para su desarrollo y proliferación, como es el LCR, hace que las técnicas usadas tengan que poseer una sensibilidad suficiente como para poder detectar al patógeno. Es por ello que, debido a estas dificultades en el diagnóstico, se requiere de un enfoque multifactorial ya que solamente con los signos clínicos no se puede determinar la presencia de este tipo de patologías y su agente causal (McGill et al., 2017). Por tanto, debido a los problemas y desafíos que aparecen en el diagnóstico de estas infecciones, es muy importante hacer un análisis pormenorizado del LCR.

El LCR, es un fluido que tiene la categoría de ser estéril por definición. Para su estudio, existen nuevas tecnologías, como la PCR y algoritmos que incorporan secuenciación de genes y proteínas, además de las técnicas tradicionales como el cultivo celular. Todas estas tecnologías tienen ventajas y desventajas en la detección temprana de dichas patologías infecciosas. No obstante, no existe

ninguna metodología definitiva que se use como único elemento diagnóstico para la detección de este tipo de infecciones, por lo que el diagnóstico diferencial es el más adecuado.

El objetivo principal de esta tesis era comprobar si las técnicas de quimioluminiscencia podían ayudar en el diagnóstico de pacientes con neuropatías infecciosas del SNC mediante el desarrollo de un kit y un software que permitieran el diagnóstico de una forma segura y rápida para poder implantar un tratamiento adecuado.

Hoy en día, los inmunoensayos son muy usados para la detección de muchos tipos de infecciones. En el caso de la detección de anticuerpos, estos inmunoensayos han evolucionado mucho desde que apareció, a finales de 1950, el que podemos considerar el padre de estos análisis diagnósticos, el Radio-inmunoensayo (Yalow & Berson, 1960).

Para este proyecto, se prestó especial atención a la quimioluminiscencia (CLIA). Esta técnica consiste en un inmunoensayo donde la etiqueta, denominada como indicador de la reacción, es una molécula luminiscente (Cinquanta et al., 2017). Esta metodología, muestra ventajas frente a otras enzimo-inmunoensayos como el ELISA, como son por ejemplo, presentar un mayor rango dinámico de medida, una mayor intensidad de señal, ausencia de emisiones que pueden interferir en la lectura (esto genera una mayor especificidad), una mayor estabilidad de los reactivos y conjugados, menor consumo de reactivos y una mayor versatilidad al poder combinar esta técnica con un gran número de parámetros infecciosos (The Immunoassay Handbook, 2013).

Estas características atribuidas a la quimioluminiscencia, han podido ser corroboradas a lo largo de esta tesis, por ejemplo, en los resultados obtenidos para los dos microorganismos de estudio como han sido varicela y sarampión, los cuales han mostrado una mayor sensibilidad y especificidad cuando se usó la técnica de quimioluminiscencia frente al ensayo de ELISA, resultados que concuerdan con lo encontrado por otros autores (Chen et al., 2018).

Puesto que el kit de quimioluminiscencia de la casa comercial Vircell para varicela y sarampión era capaz de detectar inmunoglobulinas de clase IgG en suero y plasma humano, se pensó en la posibilidad de detección de esta misma clase de inmunoglobulinas en muestras de LCR.

Sin embargo, una de las dificultades del proyecto radicaba en la baja cantidad de anticuerpos que aparecen en LCR, al no ser este un medio adecuado para la proliferación de bacterias y virus (Shamier et al., 2021). En este aspecto, el hecho de que la quimioluminiscencia presente una mayor sensibilidad y especificidad que los ensayos de ELISA, avalaba el seguir adelante con este proyecto,

ya que había kits en el mercado de ELISA para detección de anticuerpos en LCR, los cuales presentaban un rendimiento aceptable.

Para ver como se comportaba el ensayo de quimioluminiscencia con este tipo de muestras, se realizaron estudios de saturación para detectar donde se encontraba la zona lineal que permitiese, en caso de diluciones adicionales, tener una reducción significativa en RLU que posibilitaran el cálculo correcto de la concentración de anticuerpos intratecales. Los resultados obtenidos usando la tecnología de quimioluminiscencia junto al formato monotest de VirClia®, mostraron un gran potencial diagnóstico, permitiendo la obtención de un diagnóstico rápido y certero para este tipo de pacientes.

Para el caso de los ensayos como el ELISA, la necesidad de usar controles comunes para cada ensayo genera que se acumulen muestras para que la técnica sea rentable. Además de esto, debido a que la extracción de LCR requiere de una intervención invasiva por ser necesaria una punción lumbar, el número de muestras que llegan al laboratorio no es muy elevado y por ende, los resultados terminan demorándose aún más. Este hecho se elimina con el kit de VirClia® monotest, donde los controles son individuales por monodosis, lo que unido a la mayor rapidez de obtención del resultado final, 50 minutos para VirClia® frente a 95 minutos generalmente para la técnica de ELISA, hacen que la técnica de quimioluminiscencia presente características más ventajosas para el diagnóstico de este tipo de infecciones.

El otro gran hito que se ha materializado como resultado de esta tesis, era la posibilidad de automatización de la técnica de quimioluminiscencia. Hoy en día, hay una gran necesidad en los hospitales y laboratorios privados de que los resultados de los análisis estén disponibles lo antes posible para de esta forma poder comenzar sin demora con el tratamiento del paciente. Esto requiere que las técnicas puedan incluirse en plataformas automatizadas, ya que debido al volumen de muestras manejadas por los hospitales, es inviable realizar el diagnóstico de forma manual. En todo esto, hay que tener en cuenta el factor del error humano que puede aparecer, tanto a la hora de realizar la técnica, como a la hora de transcribir o reportar los resultados.

Por lo tanto, son muchas las ventajas cuando la técnica se automatiza como por ejemplo, una mayor eficiencia y rapidez del diagnóstico, permitiendo que los resultados estén disponibles de una forma más rápida para el facultativo. Además, hay una mayor precisión y consistencia que no puede ser alcanzada cuando las técnicas se realizan de forma manual. Otra de las ventajas, es que se reducen los costes de la técnica sin la necesidad de tener que prescindir de trabajadores. De acuerdo con lo encontrado por Al Naam y sus colaboradores, la automatización no simplemente mejora la

productividad del laboratorio, si no que permite redefinir las funciones del personal, evitando que el tiempo de estos trabajadores se malgaste en labores repetitivas y tediosas donde un analizador puede hacerlo de forma más rápida y precisa, permitiendo que el técnico aplique este tiempo en otras tareas (Al Naam et al., 2022). En definitiva, esta automatización en los laboratorios, permite que se ofrezca al paciente un mejor servicio, se reduzcan los errores humanos y, además, permite un mejor uso de los recursos tanto humanos como materiales de cada hospital. Por todo ello, en este proyecto se decidió adaptar la técnica de quimioluminiscencia a las plataformas automatizadas comercializadas por Vircell como son VirClia® y VirClia® Lotus.

Además de las ventajas de la automatización, se evaluaron otros beneficios de los kits de quimioluminiscencia de la casa comercial Vircell, en concreto, las monodosis incluidas en el kit de VirClia® presentan la ventaja de contener todos los reactivos para su uso en una pequeña tira de plástico que contiene ocho pocillos, de los cuales tres pocillos de reacción, están recubiertos del antígeno o anticuerpo de captura y el resto de pocillos contienen los reactivos líquidos necesarios para el ensayo. El que todos los reactivos estén contenidos en la misma tira, ayuda a reducir la huella ecológica de este producto y, además, como se mencionó anteriormente, tiene como punto a su favor que los controles están incluidos dentro de la misma monodosis, haciendo a estos únicos para esa muestra y ensayo. Tras los ensayos realizados, se observó que no existían diferencias significativas entre las dos plataformas automatizadas donde se había adaptado esta metodología (VirClia® y VirClia® Lotus).

En concreto, en esta tesis se abordó la automatización tanto a nivel del desarrollo de la técnica como del reporte y transmisión de los resultados. Ambos objetivos fueron conseguidos gracias a la posibilidad de automatización de la técnica en estos dos analizadores y al desarrollo de un software que permitía tanto el manejo e interpretación de los resultados, como el envío de los mismos al sistema de información del laboratorio (SIL).

También se llevó a cabo una comparación entre dos casas comerciales usando dos tipos de kits de diagnóstico, el kit de Vircell (España) y el kit de Virion Serion (Alemania). Como kit de referencia se usó el kit de ELISA de Siemens Enzygnost (Alemania) con el cual las muestras habían sido ensayadas inicialmente en el hospital de procedencia (Hospital-Pflege, Frankfurt, Alemania). Nuestra población objetivo estaba compuesta de 139 pacientes, con un rango de edad que oscilaba entre los 19 y 95 años, 89 de ellos sospechosos de presentar alguna patología infecciosa relacionada con el SNC. Los principales microorganismos que se estudiaron fueron el virus del sarampión y el virus de la varicela.

A todos los pacientes se les evaluó su diagrama de Reiber de forma individual para estudiar la situación de su barrera hematoencefálica, además de la posible síntesis intratecal de inmunoglobulinas IgG (ver anexo I – Diagramas de Reiber para la población estudiada). Además de estos digramas de Reiber, a cada paciente se le calculó el índice de anticuerpos intratecales, de acuerdo con las fórmulas de Reiber, donde a partir de un índice de anticuerpos con un valor de 1.5, se consideraba que el paciente presentaba una síntesis intratecal de anticuerpos y, por tanto, una posible neuropatía del SNC.

En nuestros resultados, se observó una mejor sensibilidad y especificidad para la técnica de quimioluminiscencia en comparación con el ensayo de ELISA, cuando se evaluó el diagnóstico de infecciones del SNC para el virus de la varicela y del sarampión. La concordancia entre el monotest de VirClia® y el método ELISA Virion Serion se analizó frente a la prueba de referencia (Enzygnost) mediante el coeficiente kappa de Cohen (κ) que mostró un valor de 0.84 para la IgG del sarampión (error estándar = 0.052; intervalo de confianza [IC] del 95% = 0.73 – 0.94) y un valor de 0.79 para IgG específica del virus de la varicela (error estándar = 0.07; intervalo de confianza [IC] del 95% = 0.64 – 0.93) respectivamente para VirClia® frente a Siemens.

El coeficiente kappa de Cohen (κ), mostró un valor de 0.07 para la IgG específica del virus del sarampión (error estándar = 0.06; intervalo de confianza [IC] del 95% = -0.04 - 0,20 y un valor de 0.43 para la IgG específica del virus de la varicela (error estándar = 0.11; intervalo de confianza [IC] del 95% = 0.22 - 0,64 respectivamente para Virion Serion frente a Siemens. La correlación entre los IA se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r). Los valores obtenidos para el coeficiente de correlación de Pearson para el virus del sarampión y la varicela IgG fueron $r = 0.83$ y 0.90 respectivamente para VirClia monotest y 0.77 y 0.61 respectivamente para Virion Serion ELISA. Se excluyeron dos muestras de la correlación Virion Serion porque se superó el límite de cuantificación. En estos resultados se usó el punto de corte establecido por Reiber y Peter (2001).

Puesto que uno de los objetivos de esta tesis era la adaptación de los kits de quimioluminiscencia usados para suero y plasma a muestras de LCR, usando el estudio ROC, se observó que la sensibilidad y especificidad del kit de VirClia® podía verse mejorada modificando el punto de corte establecido por Reiber y Peter (2001). Este nuevo punto de corte fue establecido en 1.3. Usando este nuevo punto de corte, tanto la sensibilidad como la especificidad del kit de VirClia® se veía mejorada. Los resultados pueden observarse en la **Tabla 76**.

Tabla 76. Comparación entre el punto de corte establecido por Reiber & Peter (2001) y el optimizado usando el kit de VirClia® de la casa comercial Vircell para varicela zoster y sarampión.

TÉCNICA	SARAMPIÓN		VARICELA ZOSTER	
	Reiber	VirClia®	Reiber	VirClia®
PUNTO DE CORTE	1.5	1.3	1.5	1.3
SENSIBILIDAD	89 %	97 %	84 %	97 %
ESPECIFICIDAD	96 %	94 %	90 %	90 %

En la siguiente página como **Figura 86**, se representó un diagrama de puntos que nos permitió visualizar y organizar los valores de los índices de anticuerpos de manera clara y comparativa. Esta representación gráfica fue útil para cotejar los resultados obtenidos con el kit VirClia® con los resultados de la prueba Enzygnost (Siemens), facilitando la clasificación de las muestras de acuerdo con el índice de anticuerpos (IA) establecido por Reiber y Peter en 2001, cuyo valor de referencia es 1.5.

Al examinar el diagrama de puntos, se observó que un total de 89 muestras presentaron un IA superior a 1.5, lo que indica un resultado positivo. En contraste, 50 muestras tuvieron un IA inferior a 1.5, por lo que se consideraron negativas. Esta comparación gráfica no solo nos proporcionó una herramienta efectiva para identificar las tendencias entre ambas pruebas, sino que también permitió evaluar de manera más precisa la concordancia entre los métodos utilizados, ayudando a determinar la fiabilidad de los resultados obtenidos en el diagnóstico.

En resumen, el diagrama de puntos es un recurso fundamental para la interpretación de los valores obtenidos en las pruebas de anticuerpos, permitiendo realizar comparaciones entre diferentes métodos y facilitando la clasificación de las muestras en base a criterios clínicamente establecidos. Este tipo de análisis es crucial para validar la precisión de los kits de diagnóstico y su aplicabilidad en entornos de laboratorio.

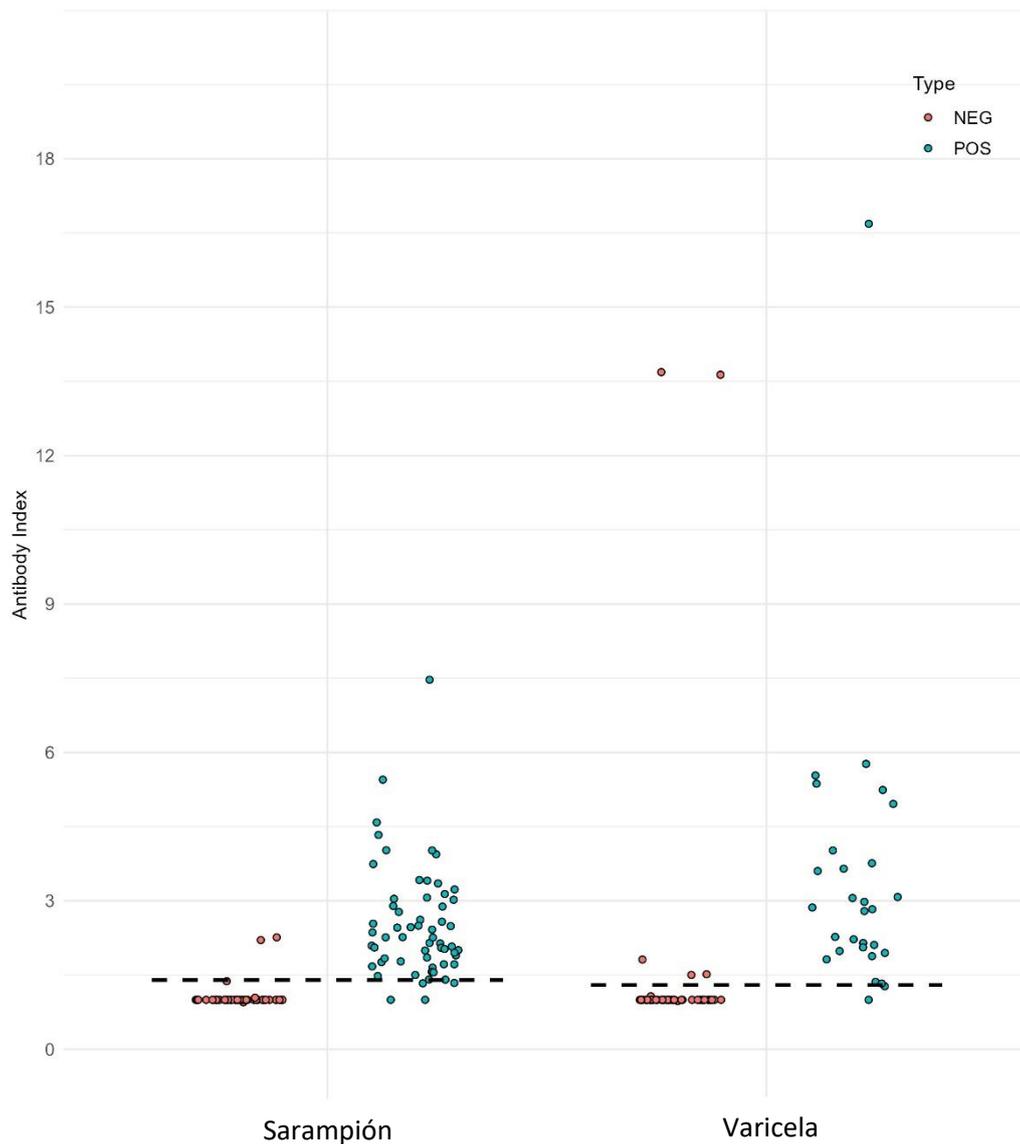


Figura 86. Diagrama de puntos donde se muestran las nubes de puntos (valor del índice de anticuerpos) para las muestras ensayadas con los kits de Vircell para sarampión y varicela.

Los datos comparativos obtenidos durante esta tesis entre la técnica de ELISA respecto a la de CLIA, muestran una consonancia con numerosos estudios, como el llevado a cabo por Speletas y colaboradores (Speletas et al., 2020), donde se comparaban dos ensayos de quimioluminiscencia frente a tres ensayos de ELISA para el SARS-Cov-2. Los resultados, al igual que ocurre con los resultados obtenidos en esta tesis, arrojaron una mejor sensibilidad y especificidad para la técnica de quimioluminiscencia. Los mismos resultados fueron encontrados por el equipo de Chang y colaboradores en 2020, donde compararon tres metodologías como son ELISA, CLIA y ECLIA, estas dos últimas basadas en la quimioluminiscencia, observándose que las dos técnicas que usaron

DISCUSIÓN

quimioluminiscencia fueron más específicas y exactas para la detección de antígenos y anticuerpos (Chang et al., 2020).

Por otro lado, en el análisis bivariante que se llevó a cabo, usando tablas de contingencia (datos agrupados 2 x 2) de los 60 pacientes para sarampión, la técnica de quimioluminiscencia presentó 7 falsos negativos y 2 falsos positivos, mientras que la técnica de ELISA tuvo 49 falsos negativos y 5 falsos positivos. De la misma forma, se realizó el mismo estudio para el kit de varicela, donde la técnica de quimioluminiscencia presentó 3 falsos negativos y 5 falsos positivos frente a la técnica de ELISA que tuvo 13 falsos negativos y 7 falsos positivos.

En el caso de la casa comercial Virion Serion, los resultados para sensibilidad y especificidad obtenidos se muestran en la **Tabla 77**.

Tabla 77. Valores de sensibilidad y especificidad para el kit de la casa comercial Virion Serion usando el punto de corte establecido por Reiber & Peter, 2001 para varicela zoster y sarampión.

TÉCNICA	SARAMPIÓN	VARICELA ZOSTER
	Reiber/Virion Serion	Reiber/Virion Serion
PUNTO DE CORTE	1.5	1.5
SENSIBILIDAD	18%	55%
ESPECIFICIDAD	90%	86%

Revisando la bibliografía observamos que Reiber y Lange, estudiaron los IA de 150 pacientes estableciendo que la síntesis intratecal se producía cuando el valor de este índice era superior a 1.5. No obstante, en 2001, los mismos autores establecieron que un IA superior a 1.4 era sugestivo de presentar una producción intratecal de anticuerpos (Reiber & Lange, 1991).

Debido a estos hallazgos y con el estudio de los datos obtenidos en esta tesis, se evaluó la posibilidad de establecer una regla para el punto de corte en los kits de VirClia® tal como muestra la **Figura 87**.

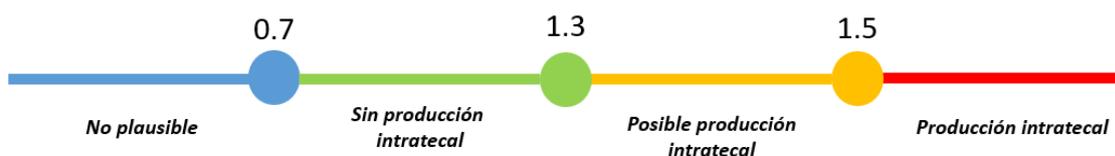


Figura 87. Nueva clasificación para el kit de quimioluminiscencia de VirClia® donde se introduce otro cut-off para muestras con posible producción intratecal.

En este tipo de patologías es muy importante minimizar al máximo los falsos positivos, pero sobre todo los falsos negativos (alto valor predictivo negativo). Es por ello que se requiere de un diagnóstico diferencial exhaustivo, ya que, no basta con aplicar la clásica triada donde el paciente presenta fiebre, dolor de cabeza y rigidez de cuello, como se pudo observar en un estudio llevado a cabo por Vande Beek y colaboradores en 2004, donde de 696 casos de meningitis evaluados en el estudio, solamente un 44 % de los episodios cumplieron con esta tríada, indicando la baja sensibilidad de la misma para diagnosticar este tipo de patologías (Van de Beek et al., 2004).

La finalidad de este diagnóstico diferencial fue evaluar si la patología infecciosa tenía un origen viral o bacteriano, ya que esto va a suponer la administración o no de antibióticos al paciente para combatir la infección. Hoy en día, en la mayoría de los casos, se administran cefalosporinas de tercera generación y en los casos de meningitis bacterianas también se combina con dexametasona, un corticoesteroide que ayuda a reducir la inflamación. El uso de este corticoesteroide demostró, con evidencias de clase III, que no aumenta el riesgo de muerte de los pacientes a los que se les administraba el fármaco, según un estudio llevado a cabo en 258 pacientes (Boelman et al., 2013).

Otra de las cuestiones a estudiar a la hora de evaluar el kit comercial VirClia® en esta tesis, fue el análisis de sus prestaciones analíticas. En concreto, repetitividad y reproducibilidad fueron evaluadas como medida de rendimiento para este kit siguiendo las normas establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio por sus siglas en inglés (CLSI) usando 4 muestras, de las cuales 2 de ellas fueron negativas, mientras que las otras 2 eran positivas a diferente nivel.

Los límites establecidos para este estudio fueron que el coeficiente de variación del ensayo debía ser menor al 20%, encontrándose para ambos parámetros (sarampión y varicela) que el coeficiente se mantuvo por debajo de lo establecido, demostrando por tanto, el buen rendimiento del kit. En el caso de la muestra positiva, se examinó de manera cuantitativa su coeficiente de variación. De esta forma, se pretendía evitar efectos indeseados en la interpretación de la muestra ya que, el valor de esta oscilaba en torno al valor del calibrador del kit. En la fórmula de interpretación del kit, el valor de RLU de la muestra se divide entre el valor de RLU del calibrador generando así el resultado del índice y, por tanto, estableciendo la positividad o negatividad de la misma.

Con respecto a la muestra negativa, lo que se evaluaba sobre todo era que no hubiese un cambio en la interpretación de la muestra, es decir, que esta permaneciese como muestra negativa en cualquiera de las situaciones establecidas.

DISCUSIÓN

En este caso, los escenarios estudiados fueron los siguientes:

- Precisión intra - ensayo
- Precisión entre - ensayo
- Precisión intra - días
- Precisión entre - días

En el caso de Virion Serion, la reproducibilidad declarada en sus instrucciones de uso dejó ver que los valores estaban por debajo del 20% si usáramos la misma norma establecida por la CLSI. No obstante, este fabricante solo declara tres niveles de muestras como aparece en la **Tabla 78** y **Tabla 79**.

Tabla 78. Coeficientes de variación para varicela usando el kit de Virion Serion.

MUESTRA	VALOR MEDIO (DO)	CV (%) INTRAENSAYO	CV (%) INTER ENSAYO
Muestra 1	0.870	2.8	3.8
Muestra 2	1.190	9.2	3.7
Muestra 3	2.472	2.5	2.7

Tabla 79. Coeficientes de variación para sarampión usando el kit de Virion Serion.

MUESTRA	VALOR MEDIO (DO)	CV (%) INTRAENSAYO	CV (%) INTER ENSAYO
Muestra 1	0.166	2.9	3.6
Muestra 2	0.450	1.9	5.9
Muestra 3	1.144	1.7	5.5

De igual modo, se llevó a cabo el estudio de interferencias por posibles sustancias endógenas que pudieran afectar durante la consecución del ensayo de quimioluminiscencia. Para este estudio, se usaron sustancias que podrían estar presentes en el LCR, pero a concentraciones muy superiores a la normalidad.

En nuestro caso, y tras los ensayos realizados, no se encontraron interferencias en los resultados respecto a las sustancias ensayadas a las concentraciones que se indican a continuación:

- Albúmina 50 g/L
- Glucosa 1.2 g/L
- Hemoglobina 8,5 g/L
- Lactato 0,234 g/L
- IgG Kappa 0,15 g/L

Además de estas sustancias interferentes, otro motivo que podía dar lugar a resultados anómalos eran las reacciones cruzadas con otros microorganismos. Estas reacciones inespecíficas son una de los problemas a los que se enfrentan los kits de diagnóstico en el mercado. El hecho de que no se produjera ninguna reacción positiva frente a ninguno de los agentes patógenos ensayados, ponía en valor la especificidad del kit de quimioluminiscencia que se pretendía usar para el diagnóstico de este tipo de neuropatías infecciosas del SNC.

Todos los estudios llevados a cabo a lo largo de esta tesis, propiciaron que la documentación para ambos kits, VARICELLA-ZOSTER VIRCLIA® IgG MONOTEST y MEASLES VIRCLIA® IgG MONOTEST, fuera enviada para su aprobación por las autoridades sanitarias españolas para obtener el marcado CE como producto para diagnóstico in-vitro para muestras de LCR.

Otro de los objetivos de este trabajo, era estudiar como este ensayo de quimioluminiscencia correlacionaba con otros métodos usados en el diagnóstico de este tipo de patologías. En concreto se hizo una comparación con el diagrama de Reiber, ya que este método puede ayudar a evaluar el estado de la barrera hematoencefálica y establecer si hay síntesis de anticuerpos intratecales basándose en los coeficientes de albúmina e IgG entre el LCR y el suero.

En nuestro caso de estudio, se observó que muchas de las muestras las cuales habían obtenido un resultado positivo para el IA, o lo que es lo mismo, una respuesta positiva para la síntesis intratecal de anticuerpos en LCR, no se correspondían con los resultados emitidos por el diagrama de Reiber.

Este escenario ya fue estudiado anteriormente por Reiber en 1998 el cual observó que un IA elevado podría aparecer junto a un patrón proteico de LCR normal. En este caso, el diagrama de Reiber no estaría dando una imagen fidedigna del diagnóstico del paciente, mientras que el análisis del IA, sí que estaría proporcionando una fuente de información especial y a veces la única, para el

diagnóstico correcto de las infecciones del SNC, demostrando que el IA tiene una enorme sensibilidad en estos casos.

Una limitación del método establecido por Reiber fue estudiada durante la consecución de esta tesis. El problema fundamental residía en que puesto que para establecer el ratio de anticuerpos entre LCR y suero se lleva a cabo un cociente entre ambas matrices, en casos donde el paciente no tenía o presentaba unas concentraciones muy bajas de anticuerpos de tipo IgG tanto en LCR como en suero, esto podía dar lugar a falsos positivos cuando se seguían estrictamente las fórmulas establecidas por este autor. Para eliminar este efecto, se aplicó un algoritmo diagnóstico donde se tenía en cuenta el valor del índice obtenido para la muestra de LCR, no postulando muestras con índices menores a 0.3 para ser evaluadas por las fórmulas de Reiber y categorizándolas las mismas como negativas.

Hay que tener en cuenta que el IA, además de significar la presencia de anticuerpos intratecales, puede indicar la presencia de una inflamación aguda o crónica, lo que se denomina "cicatriz inmunológica" por inflamación previa del tejido cerebral, también puede estar indicando una producción de inmunoglobulinas o una respuesta inmune local de células B en ciertos subgrupos de pacientes (Orlovska-Waast et al., 2019; Wright et al., 2012). Por este motivo, este tipo de patologías requieren de un diagnóstico diferencial ya que no hay solamente una herramienta diagnóstica que defina la patología del paciente de una manera exacta y precisa.

También se quiso estudiar como este tipo de patologías afectaban a los diferentes grupos de edad de la población seleccionada. Como muestra la **Figura 88**, se observó que el porcentaje de casos de infecciones donde el SNC se veía afectado fue mayor en personas adultas que en jóvenes. Donde se puede ver que el 45% de los casos sospechosos de presentar una neuropatía infecciosa del SNC correspondían a personas que se encontraban por encima de los 60 años de edad. El siguiente grupo fue el comprendido entre los 40 y 60 años, el cual suponía el 33% de los casos sospechosos de presentar una patología infecciosa del SNC, seguido del grupo de entre 20 y 40 años con un 21% de los casos y, finalmente, el grupo de menos de 20 años de edad que supuso un porcentaje inferior al 1%.

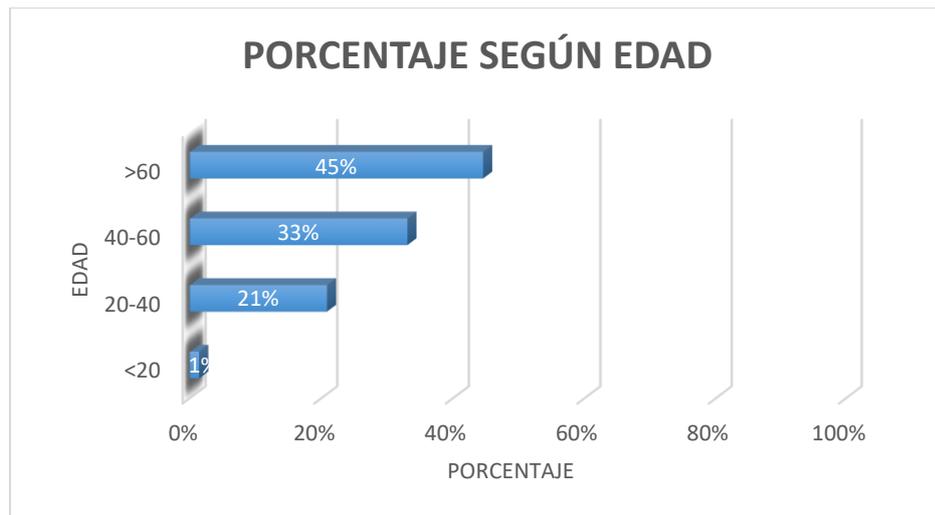
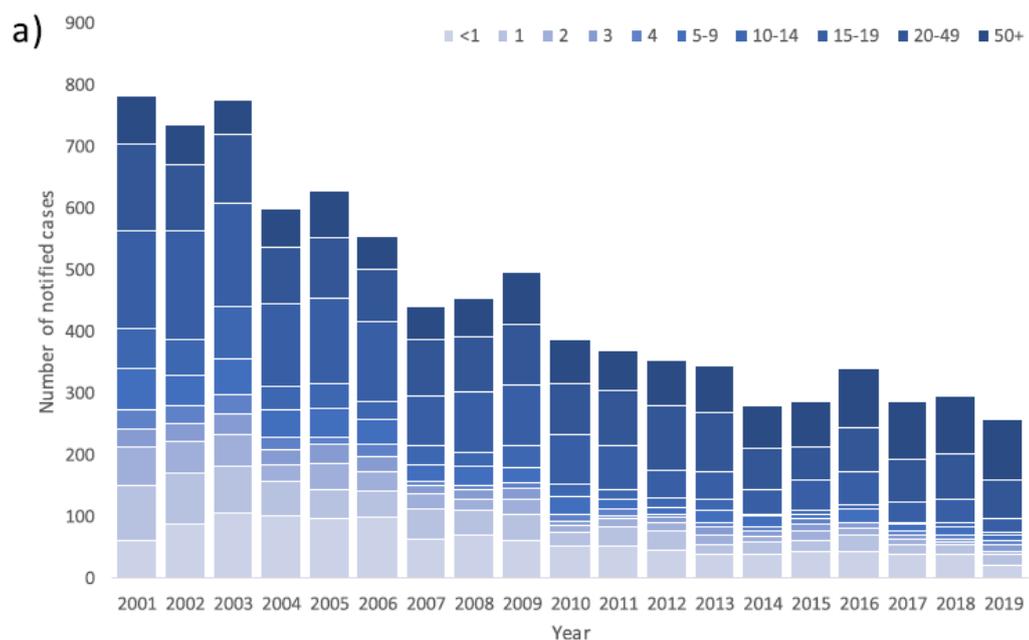


Figura 88. Porcentaje de pacientes con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC clasificados según la edad. En el eje de ordenadas encontramos los grupos de edad de los pacientes. En el eje de abscisas el porcentaje de casos con sintomatología compatible con una patología infecciosa según la edad.

Esta estratificación de edades, concuerda con el estudio llevado a cabo por Gruhn y sus colaboradores (2022), donde se evaluaron los parámetros epidemiológicos y económicos clave para la meningitis en Alemania, encontrando que los mayores porcentajes de casos notificados correspondían a personas por encima de los 50 años de edad como se muestra en la **Figura 89**.



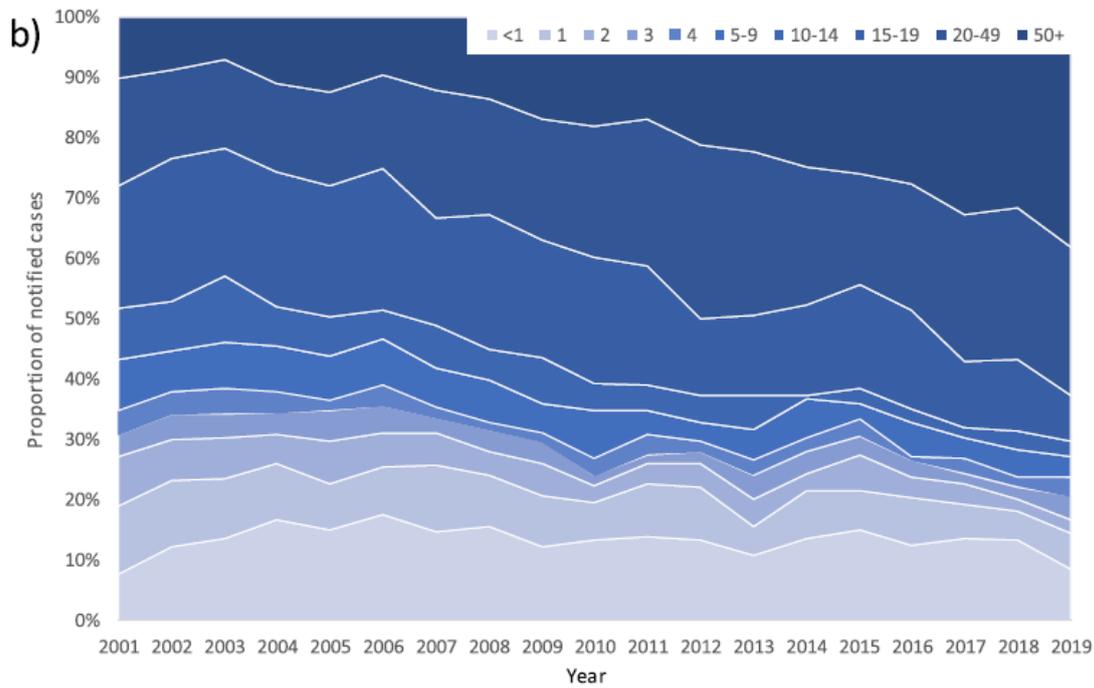


Figura 89. Número (a) y proporción (b) de casos notificados por año y edad según SurvStat@RKI 2.0.

Fuente: 10.1016/j.vaccine.2022.02.043

En el estudio llevado a cabo por Gruhn se observaron dos hechos:

- 1) La situación en las últimas dos décadas había mejorado considerablemente con respecto al número de casos de meningitis reportados desde 2001. Actualmente la incidencia de casos con respecto a 2001 (0.95) por cada 100.000 habitantes es de 0.31.
- 2) A pesar de que la estratificación de casos en personas mayores se ha mantenido, sí que ha habido una importante reducción en la incidencia desde 2001 en niños con edades comprendidas entre 1 y 4 años. De la misma forma, se produjo una reducción en la incidencia en niños menores de 1 año desde 2006.

En el caso de esta tesis, no fue posible hacer un seguimiento pormenorizado de los pacientes con estas patologías debido a las restricciones que las leyes de protección de datos (GDPR) imponen y la dificultad para realizar el seguimiento de estos en un país extranjero. No obstante, dada la positividad de los pacientes tras los resultados obtenidos, asumimos que las complicaciones reportadas en otros estudios como sordera, disfunción neurológica o problemas psicomotores, pudieron estar presentes en muchos de estos pacientes.

Este tipo de problemas generados tras un episodio de meningitis o encefalitis son comunes. En un estudio llevado a cabo por Huang et al. (2020) se encontró que un 3.7% de los pacientes que habían tenido un resultado positivo para meningitis, habían sufrido un infarto y un 14.6% de los casos positivos, habían sufrido lo que se conoce como Síndrome de Water-house Friderichsen (SWF), que consiste en una disfunción de las glándulas suprarrenales.

Además de las complicaciones mencionadas, lo que preocupa en este tipo de patologías es su alta tasa de mortalidad. Según el Centro para Control y Prevención de Enfermedades, las tasas de mortalidad para este tipo de patologías oscilan entre un 10 y un 15%, pudiendo llegar hasta un 20% en pacientes que sufren de meningococemia o septicemia meningococica. Estos datos concuerdan con lo encontrado por Gruhn et al. (2022), donde la tasa de mortalidad en la población alemana se situó en el 8.8 y 15.8%, siendo el mayor factor de riesgo la edad de los pacientes. Esto también está en línea con lo estudiado por Hellenbrand et al. (2013), donde las tasas de mayor mortalidad se daban en pacientes con avanzada edad.

Estos datos fueron contrastados por los publicados por la Sociedad Española de Neurología (SEN), la cual establece que la tasa de mortalidad para este tipo de patologías en España se sitúa alrededor de un 10% dejando a pacientes con secuelas en un 20% de los casos. En la mayoría de los casos, en torno al 90%, como se mencionó al inicio de esta tesis, los agentes causantes de este tipo de patologías son de origen vírico. Como se menciona en el estudio llevado a cabo por Reusken et al. (2019) los patógenos más comunes para los que se solicita el IA para un paciente con sospecha de meningitis o encefalitis son herpes, varicela, sarampión y el virus de la encefalitis por garrapatas. Es por ello que, en este estudio se prestó especial atención a dos de los virus más comunes causantes de este tipo de patologías como son la varicela y el sarampión.

En nuestros datos, usando la tecnología de quimioluminiscencia, se observó que una gran parte de los pacientes que acudieron al hospital con sintomatología compatible con una patología infecciosa del SNC fueron positivos para varicela y sarampión. En concreto, 54 pacientes de 60 tuvieron un IA positivo para sarampión y 26 pacientes de 29 para varicela, cuando se usó el punto de corte establecido por Reiber. En cambio, cuando se usó el punto de corte optimizado tras los estudios ROC llevados a cabo, 59 pacientes de 60 tuvieron un IA positivo para sarampión y 28 pacientes de 29 para varicela, demostrando una mejora en el diagnóstico de estas patologías.

En la **Figura 90** en la siguiente página se muestra el diagnóstico emitido para los pacientes evaluados en este estudio y que fueron incluidos en la publicación a la que dio lugar la consecución de esta tesis. Como se ha mencionado a lo largo de este manuscrito, son muchas las pruebas necesarias

DISCUSIÓN

para emitir un diagnóstico definitivo en este tipo de patologías, siendo finalmente el facultativo el que debe emitir un dictamen basado en los resultados de todas estas pruebas, donde a veces, incluso no es posible establecer un diagnóstico definitivo (García et al., 2024). En la **Figura 90** podemos observar que se remarcan cuatro valores porcentuales los cuales podrían corresponder a lo siguiente:

- Enfermedad inflamatoria del SNC (11.5 %)
- Infección viral del SNC (10.07 %)
- Diagnóstico no emitido (25.17 %)
- Otros (20.86 %)

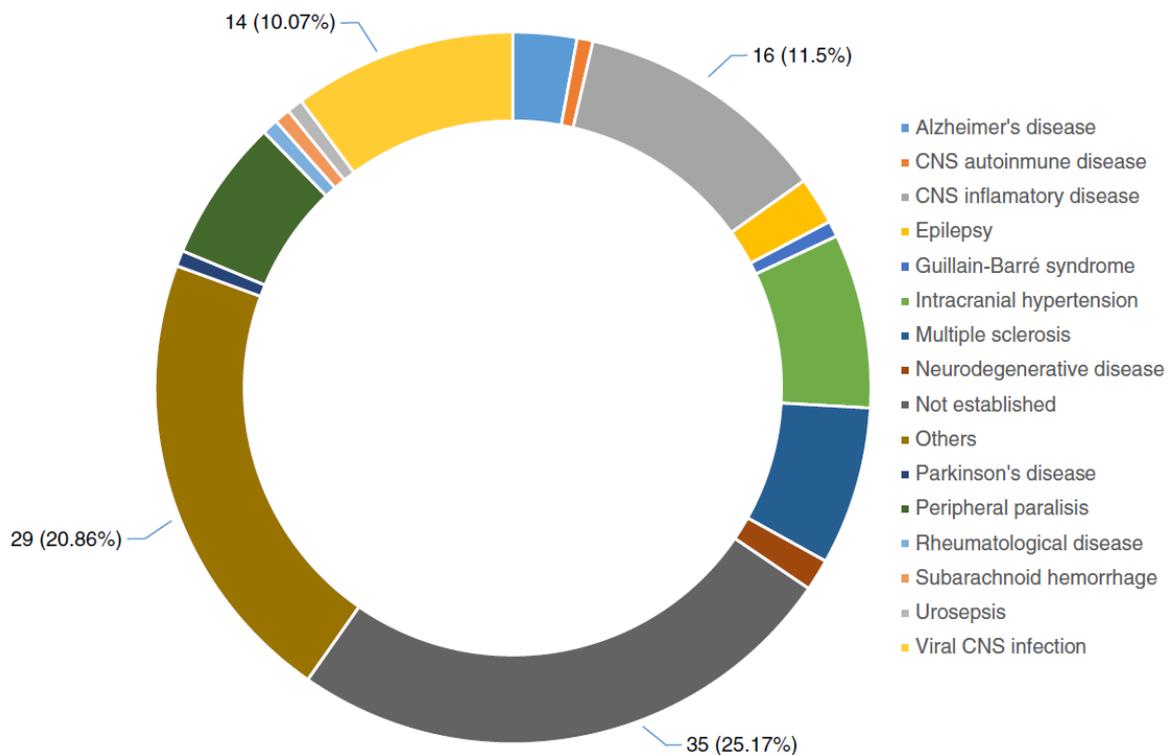


Figura 90. Gráfico de anillos donde se representa el diagnóstico final de los pacientes evaluados en este estudio.

No obstante, dada la buena sensibilidad y especificidad alcanzada por la técnica serológica usando quimioluminiscencia y como se muestra en otros estudios, como el realizado por Shamier et al. (2021) la serología puede ser una alternativa en aquellos casos donde la PCR no es viable, como en el caso de infecciones crónicas o donde la PCR muestra un bajo rendimiento.

En el caso de varicela, Shamier y sus colaboradores, observaron que un IA positivo (producción intratecal) aparecía hasta en el 80% de los casos, mientras que la PCR resultaba no ser una herramienta de diagnóstico útil debido a que el resultado podía verse afectado por otros factores como son, el uso de antiretrovirales, el grado de eliminación del virus por el paciente y las reactivaciones que afectan al rendimiento de esta técnica. Esto hace que el porcentaje de positividad para la PCR de varicela oscile entre 26.5 y 80%. En el caso del sarampión, Shamier y sus colaboradores, encontraron una situación similar. Se observó la presencia de anticuerpos de clase IgG en LCR en hasta el 88% de los casos estudiados mientras que la PCR presentó tasas de positividad muy bajas debido a la falta de liberación extracelular del genoma viral, lo que dificulta su detección.

La misma situación ha sido reportada para otros microorganismos donde la PCR no es una herramienta que aporte buenos resultados que permitan emitir un diagnóstico certero para este tipo de neuropatías, como es el caso de agentes como los flavivirus. Esto es debido a que la eliminación del virus se produce de forma muy rápida antes o después de la aparición de los síntomas neurológicos, por lo tanto, puede que una vez se tome la muestra para realizar la PCR, el genoma viral ya no sea detectable en la mayoría de los pacientes (Granerod et al., 2010; Reusken et al., 2019). Nuestros resultados van en línea con los encontrados por Shamier y colaboradores postulando a la quimioluminiscencia como un importante candidato para el diagnóstico de este tipo de infecciones.

En la consecución de esta tesis, también se tuvo la oportunidad de analizar si los kits de la casa comercial Vircell S.L eran capaces de detectar anticuerpos de tipo IgG en muestras de LCR extraídas mediante punción lumbar cuyos pacientes luego habían sido diagnosticados con EM. Según diversos estudios, existe la posibilidad de que infecciones por el virus del Epstein-Barr (Feki et al., 2018) pueden generar una transformación de los linfocitos B CD19 en linfocitos inmortales con la capacidad de producir inmunoglobulinas de tipo IgG de forma crónica en estos pacientes (Kuenz et al., 2008).

En este tipo de pacientes, el estándar de oro es el uso de la técnica de isoelectroenfoque e inmunofijación para la detección de bandas oligoclonales en muestras de LCR obtenidas por punción lumbar. No obstante, hay casos donde pacientes que presentan esta patología, muestran resultados de BOC negativos (Tagajdid et al., 2011). En estos casos puede ser muy interesante llevar a cabo la reacción MRZ usando la técnica de quimioluminiscencia. Este marcador MRZ, por sus siglas en inglés *Measles, Rubella, Zoster*, muestra una alta especificidad y un elevado valor predictivo positivo (Feki et al., 2018; Hottenrott et al., 2015; Jarius et al., 2017). Es cierto que la reacción MRZ

puede presentarse en otro tipo de patologías reumáticas que afectan al SNC (lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjogren o granulomatosis de Wegener) pero la probabilidad de presentar un índice de anticuerpos positivo frente al menos dos de los tres agentes patógenos, es mucho menor en comparación con los pacientes con EM. Por esta razón, este marcador puede ser muy útil en el diagnóstico de este tipo de patología.

Los resultados obtenidos al ensayar las muestras pareadas mostraron, que de los 10 pacientes analizados, 9 presentaron una reacción positiva frente al menos 2 de los 3 parámetros de la reacción MRZ. Esto concuerda con lo encontrado por otros autores poniendo en valor el uso de este marcador para el diagnóstico de pacientes con sospechas de EM (Feki et al., 2018; Hottenrott et al., 2015; Jarius et al., 2017).

Otro aspecto que se tuvo en cuenta durante el desarrollo de esta tesis fue como la implementación de la quimioluminiscencia, automatización y el uso de un software de gestión de resultados, podría mejorar el diagnóstico y reducir los costes en este tipo de patologías. Hoy en día, uno de los problemas que aparece en los hospitales es la gran cantidad de muestras que son ensayadas a diario. Si tales muestras no pueden ser ensayadas en el hospital donde se reciben, estas se externalizan, con el incremento de coste que esto implica y la demora en la obtención de los resultados. La automatización también reduce la necesidad de tener a numerosas personas entrenadas en las diferentes técnicas que se llevan a cabo en los hospitales. Además, se ocupa de los procesos más laboriosos, mejorando la precisión y exactitud con la que se llevan a cabo los mismos. Esto ha hecho que cada vez sea más necesario que las técnicas estén automatizadas en los laboratorios, de forma que se agilice la obtención de resultados y reduzcan los costes de los análisis.

Nuestros resultados muestran que el ensayo para la detección de anticuerpos intratecales puede ser automatizado permitiendo generar una mayor cantidad de resultados en un menor tiempo, siendo el tiempo medio de obtención del primer resultado de 1 hora. Todo esto, manteniendo unos estándares de calidad avalados por la sensibilidad y especificidad obtenidos, como se muestra en la siguiente página en la **Tabla 80** y plasmados en el estudio publicado en la revista científica *European Journal of Clinical microbiology and Infectious diseases* bajo el título ***“Detection of intrathecal IgG antibody for varicella and measles diagnosis by evaluation and comparison of a commercial IgG chemiluminescent immunoassay with two ELISAs”*** el cual puede ser consultado usando el siguiente enlace:

<https://doi.org/10.1007/s10096-024-04822-x>

Tabla 80. Tabla donde se muestra la especificidad y sensibilidad para los test de varicela y sarampión usando como punto de corte 1.3 para el índice de anticuerpos.

TEST	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
SARAMPIÓN	97%	94%
VARICELA	97%	90%

El hecho de no tener que acumular muestras o externalizarlas, mejora el flujo de trabajo, la eficiencia y el gasto económico para el laboratorio. Este hecho fue observado por Wilde & Suankratay en el diagnóstico de la meningitis tuberculosa usando los tests de antígeno. Estos test ofrecían un buen rendimiento y un diagnóstico rápido que podría dar lugar a ventajas frente a otras técnicas más laboriosas llevadas a cabo manualmente (Wilde & Suankratay, 2007).

El proceso de automatización está bien establecido en el campo del diagnóstico y se espera que continúe su crecimiento en los próximos años. Según el estudio llevado a cabo por Expert Market Research («Global Laboratory Automation Market Report and Forecast 2023-2028»), el mercado de automatización de laboratorios alcanzó un valor de 5.58 billones de dólares en 2022. Se espera que este crecimiento anual compuesto (CAGR) sea del 5.50% en el periodo comprendido entre 2023 y 2028.

Todo esto, unido a la llegada de la inteligencia artificial a los laboratorios, supondrá una revolución en lo que se conoce por sus siglas en inglés (TLA) Total Laboratory Automation. Además, se reducirá el tiempo en el que se empezará a aplicar la terapia necesaria a estos pacientes con patologías graves, así como la ya mencionada reducción de los costes de tener al paciente hospitalizado, sin olvidar lo más importante, que un diagnóstico rápido y certero puede salvar la vida del paciente.

El coste de las patologías infecciosas del SNC requiere de especial atención, ya que, muchos de estos microorganismos dejan graves secuelas en los pacientes que pueden dar lugar a aumentar el tiempo de estancia en las camas de los hospitales. En el estudio llevado a cabo por Barrett (2014), bajo el título “Economic Burden of West Nile Virus in the United States”, se detalla el coste que tuvieron los pacientes hospitalizados por el virus del Nilo Occidental entre 1999 y 2012, que ascendió a una cifra de 778 millones de dólares, lo que equivale a 56 millones de dólares por año.

Además, en una revisión llevada a cabo en 2013 se observó que investigadores del Johns Hopkins descubrieron que las multas y costes asociados a errores en el diagnóstico ascendieron a 38.8 billones de dólares entre 1986 y 2010 (Saber Tehrani et al., 2013)

Todos estos problemas metodológicos y errores asociados al diagnóstico podrían reducirse si este tipo de ensayos se automatizan o lo que es lo mismo, se integran en las cadenas de laboratorios, donde las muestras entran en un circuito para ser analizadas sin intervención del usuario.

En este proyecto, el desarrollo de un software validado como un dispositivo médico, ha sido uno de los grandes hitos. Son varios los estudios donde se presenta que un software puede mejorar el tiempo en el que los resultados son reportados al paciente, como el estudio llevado a cabo por Swancutt y colaboradores, donde observaron que la notificación automática de resultados a los pacientes a través de un software de gestión, podía disminuir el tiempo que estos pasaban en consulta (Swancutt et al., 2017).

En nuestro caso, el software diseñado, permitió que los resultados generados por el analizador fueran tratados internamente por el software, realizando los cálculos correspondientes y transmitiendo, en última instancia, el resultado directamente al facultativo en el transcurso de una hora. Para acelerar la liberación de este software de diagnóstico, se optó por el modelo de validación ágil en lugar del modelo tradicional en cascada. Este modelo en cascada para validar un software lo propuso por primera vez Winston W. Royce y lo publicó en su artículo "Managing the Development of Large Software Systems" en 1970 (Royce, 2021). Royce proponía un enfoque estructurado y secuencial para desarrollar un software donde se incluía una fase de revisión y validación después de completar cada etapa del desarrollo. Aunque este modelo en cascada ha sentado las bases para otros modelos de desarrollo y validación de software, tiene algunas desventajas como son la rigidez del modelo, que sigue una secuencia lineal de actividades, lo que requiere terminar una fase para pasar a la siguiente, su falta de capacidad de respuesta ante errores tempranos, que impide que estos errores puedan ser detectados en fases iniciales del desarrollo y su falta de adaptación frente a cambios cuando el desarrollo del software se lleva a cabo en sectores cambiantes. Todas estas desventajas, hacen que este modelo esté quedando en desuso (Larman & Basili, 2003).

Aunque el uso del método en cascada puede ser más cómodo para los programadores en la etapa inicial del desarrollo, debido a que las pruebas se realizan a posteriori una vez la aplicación se ha desarrollado, el método ágil permite el testeado en fases más tempranas para poder cubrir deficiencias encontradas durante el desarrollo o posibles modificaciones requeridas por cambios en las necesidades del usuario evitando que el proyecto se alargue por culpa de estos errores o nuevos requerimientos (Irsandi et al., 2020). Esta metodología ágil, se centra en aportar valor lo más rápido posible a nuevas implementaciones, en lugar de un desarrollo largo y tedioso. Además, este enfoque ágil establece que el proceso de desarrollo de software debe tener una

retroalimentación procedente del usuario el cual es el que interacciona con el software. Para ello, esta metodología promueve la liberación del software desarrollado, debidamente testeado, de una manera ágil y frecuente. En concreto, dentro del modelo ágil, se usó la metodología *Scrum*, lo que propició un desarrollo y validación en un menor tiempo, manteniendo no obstante, los estándares de calidad necesarios para la validación de este software de diagnóstico.

De acuerdo a lo observado por Azanha y colaboradores en su estudio llevado a cabo en 2017, el enfoque de validación ágil, usando la metodología *Scrum*, ofrece ventajas frente al método en cascada. Una de estas ventajas es, una mejor planificación del proyecto y, por tanto, un mejor control de los requerimientos para el diseño del nuevo software (Azanha et al., 2017). En nuestro estudio, esto se tradujo en un menor tiempo de desarrollo del programa con una mayor calidad en la entrega del proyecto final. Este software fue desarrollado y evaluado en un plazo de 11 meses, el mismo tiempo que hubiese supuesto el método en cascada pero, con la salvedad de que a esos 11 meses de trabajo, le hubiese seguido la correspondiente fase de modificaciones en caso de surgir alguna anomalía en el software durante su testeo.

Tras el estudio realizado durante esta tesis, podemos decir que el uso de la quimioluminiscencia puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de neuropatías infecciosas del SNC presentando una buena sensibilidad y especificidad cuando se usan muestras de LCR. Este hecho, unido a las características de la tecnología monodosis, la posibilidad de automatización y el uso de un software para el manejo de los resultados, hacen que esta metodología se postule como una alternativa viable a otros enzimo-inmunoensayos presentes en el mercado para el diagnóstico de neuropatías infecciosas del SNC.



CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

Los resultados presentados y discutidos en esta Tesis permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. La técnica de quimioluminiscencia ha demostrado tener buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de pacientes con neuropatías infecciosas del SNC.
2. La técnica de quimioluminiscencia permite su adaptación en plataformas automatizadas, mejorando la eficiencia y efectividad de los kits en el diagnóstico de neuropatías infecciosas del SNC cuando usamos muestras de LCR.
3. El desarrollo y adaptación de un kit de quimioluminiscencia usado para muestras de plasma y suero permite además la detección de anticuerpos cuando se usan muestras de LCR aun cuando la cantidad de anticuerpos presentes en este tipo de muestra sea baja.
4. Los diagramas de Reiber permiten evaluar si el paciente presenta una disfunción de la barrera hematoencefálica. No obstante, infecciones activas o reinfecciones pueden verse enmascaradas por esta disfunción y llevar a un diagnóstico erróneo.
5. La adaptación de las fórmulas de Reiber a la técnica de quimioluminiscencia, se postula como una ayuda al diagnóstico de pacientes con neuropatías infecciosas del SNC y EM. Estos resultados siempre deben ir acompañados de otras técnicas diagnósticas que apoyen el diagnóstico final del paciente.
6. El algoritmo de diagnóstico desarrollado para la técnica de quimioluminiscencia permite disminuir el tiempo para emitir el diagnóstico del paciente así como reducir el número de falsos positivos por las limitaciones del método de Reiber.
7. El desarrollo y validación de un software usando el modelo ágil en lugar del modelo en cascada, permite un desarrollo más rápido y eficiente, disminuyendo el tiempo de desarrollo y liberación del software.
8. El uso de un software para el manejo de datos (VirClia CSF assistant) permite disminuir el porcentaje de errores humanos así como facilitar el diagnóstico para el facultativo.



BIBLIOGRAFÍA



7. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Al Naam, Y. A., Elsafi, S., Al Jahdali, M. H., Al Shaman, R. S., Al-Qurouni, B. H., & Al Zahrani, E. M. (2022). The impact of total automaton on the clinical laboratory workforce: A case study. *Journal of Healthcare Leadership*, 14, 55-62. <https://doi.org/10.2147/JHL.S362614>
- [2]. Andersson, M., Alvarez-Cermeño, J., Bernardi, G., Cogato, I., Fredman, P., Frederiksen, J., Fredrikson, S., Gallo, P., Grimaldi, L. M., & Grønning, M. (1994). Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: A consensus report. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 57(8), 897-902. <https://doi.org/10.1136/jnnp.57.8.897>
- [3]. Aneja, S., & Sharma, S. (2019). Diagnosis and management of acute encephalitis in children. *Indian Journal of Pediatrics*, 86(1), 70-75. <https://doi.org/10.1007/s12098-018-2775-0>
- [4]. Antonio, M., Hakeem, I., Awine, T., Secka, O., Sankareh, K., Nsekpong, D., Lahai, G., Akisanya, A., Egere, U., Enwere, G., Zaman, S. M. A., Hill, P. C., Corrah, T., Cutts, F., Greenwood, B. M., & Adegbola, R. A. (2008). Seasonality and outbreak of a predominant *Streptococcus pneumoniae* serotype 1 clone from The Gambia: Expansion of ST217 hypervirulent clonal complex in West Africa. *BMC Microbiology*, 8, 198. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-198>
- [5]. Azanha, A., Argoud, A. R. T. T., Camargo Junior, J. B. de, & Antonioli, P. D. (2017). Agile project management with Scrum: A case study of a Brazilian pharmaceutical company IT project. *International Journal of Management Projects in Business*, 10(1), 121-142. <https://doi.org/10.1108/IJMPB-06-2016-0054>
- [6]. Barrett, A. D. T. (2014). Economic burden of West Nile virus in the United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(3), 389-390. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0009>
- [7]. Beaman, M. H. (2018). Community-acquired acute meningitis and encephalitis: A narrative review. *Medical Journal of Australia*, 209(10), 449-454. <https://doi.org/10.5694/mja17.01073>
- [8]. Bennetto, L. (2004). Inflammatory/post-infectious encephalomyelitis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 75(90001), 22i-22ii. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.034256>
- [9]. Benninger, F., & Steiner, I. (2017). CSF in acute and chronic infectious diseases. *Handbook of Clinical Neurology*, 146, 187-206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804279-3.00012-5>

- [10]. Berek, K., Hegen, H., Auer, M., Zinganell, A., Di Pauli, F., & Deisenhammer, F. (2020). Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in Neuroborreliosis are specific for *Borrelia burgdorferi*. *PLOS ONE*, 15(9), e0239453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239453>
- [11]. Biller, J., & Ferro, J. (Eds.). (2014). Neurologic aspects of systemic disease part III. (1st ed., Vol. 121). Elsevier. Philadelphia, PA.
- [12]. Boelman, C. G., Brouwer, M. C., & van de Beek, D. (2013). Adjunctive dexamethasone in adults with meningococcal meningitis. *Neurology*, 80(19), 1818-1819. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000430451.92743.a5>
- [13]. Bonnan, M. (2016). Intrathecal Immunoglobulin Synthesis in MS—A Complete Reappraisal. *In Intech e-books* (Vol. 3).
- [14]. Boucher, A., Herrmann, J. L., Morand, P., Buzelé, R., Crabol, Y., Stahl, J. P., & Mailles, A. (2017). Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 47(3), 221-235. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.02.003>
- [15]. Breuer, J., Grose, C., Norberg, P., Tipples, G., & Schmid, D. S. (2010). A proposal for a common nomenclature for viral clades that form the species varicella-zoster virus: Summary of VZV Nomenclature Meeting 2008, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, 24-25 July 2008. *Journal of General Virology*, 91(Pt 4), 821-828. <https://doi.org/10.1099/vir.0.017814-0>
- [16]. Britton, P. N., Eastwood, K., Brew, B. J., Nagree, Y., & Jones, C. A. (2015). Consensus guidelines for the investigation and management of encephalitis. *Medical Journal of Australia*, 202(11), 576-577. <https://doi.org/10.1111/imj.12749>
- [17]. Browne, P., Chandraratna, D., Angood, C., Tremlett, H., Baker, C., Taylor, B. V., & Thompson, A. J. (2014). Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*, 83(11), 1022-1024. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000000768>
- [18]. Buchanan, R., & Bonthius, D. J. (2012). Measles virus and associated central nervous system sequelae. *Seminars in Pediatric Neurology*, 19(3), 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2012.02.003>
- [19]. Cabrera, C. M. (2022). Oligoclonal bands: An immunological and clinical approach. *Advances in Clinical Chemistry*, 109, 129-163. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2022.03.004>

- [20]. Chadwick, D. R. (2005). Viral meningitis. *British Medical Bulletin*, 75-76(1), 1-14. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldh057>
- [21]. Chang, L., Zhao, J., Guo, F., Ji, H., Zhang, L., Jiang, X., & Wang, L (2020). Comparative evaluation and measure of accuracy of ELISAs, CLIAs, and ECLIAs for the detection of HIV infection among blood donors in China. *Journal of Immunology Research*. Article 2164685. <https://doi.org/10.1155/2020/2164685>
- [22]. Chen, D., Zhang, Y., Xu, Y., Shen, T., Cheng, G., Huang, B., Ruan, X., & Wang, C. (2018). Comparison of chemiluminescence immunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay and passive agglutination for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 14, 1091-1097. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S159227>
- [23]. Cinquanta, L., Fontana, D. E., & Bizzaro, N. (2017). Chemiluminescent immunoassay technology: What does it change in autoantibody detection?. *Autoimmunity Highlights*, 8(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s13317-017-0097-2>
- [24]. Cinque, P., Cleator, G. M., Weber, T., Monteyne, P., Sindic, C. J., & van Loon, A. M. (1996). The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: A consensus report. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 61(4), 339-345. <https://doi.org/10.1136/jnnp.61.4.339>
- [25]. Conly, J. M., & Ronald, A. R. (1983). Cerebrospinal fluid as a diagnostic body fluid. *American Journal of Medicine*, 75(1B), 102-108. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90080-3](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90080-3)
- [26]. Contreras, D. (2005). Bases moleculares de la Neuroinmunología (II). El reibergrama y su uso en Neuroinmunología. *Revista de Neurología*, 77, 3-4.
- [27]. Cook, S. D. (2006). Handbook of multiple sclerosis (4th ed.). *CRC Press*, Boca Raton.
- [28]. Costerus, J. M., Brouwer, M. C., Bijlsma, M. W., & van de Beek, D. (2017). Community-acquired bacterial meningitis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 30(1), 135-141. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000335>
- [29]. Dobson, R., & Giovannoni, G. (2019). Multiple sclerosis – a review. *European Neurology*, 26(1), 27-40. <https://doi.org/10.1111/ene.13819>

- [30]. Domínguez-Gil, M., Artero, A., Oteo, J. A., & Eiros, J. M. (2020). Virología: diagnóstico sintromico de meningitis y encefalitis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38(Supl 1), 19-23.
- [31]. Domínguez-Patiño, J., Martínez, A. R., Romero, R. J., Chávez, M. C., Patiño, M. L. D., & Alemán, R. M. M. (2015). Scientific software installation testing using a plan-do-check-act methodology: A case study. *Journal of Software Engineering and Applications*, 9(3), 64-78. <https://doi.org/10.17265/1934-7375/2015.03.010>
- [32]. Duintjer Tebbens, R. J., Pallansch, M. A., Chumakov, K. M., Halsey, N. A., Hovi, T., Minor, P. D., Modlin, J. F., Patriarca, P. A., Sutter, R. W., Wright, P. F., Wassilak, S. G. F., Cochi, S. L., Kim, J.-H., & Thompson, K. M. (2013). *Expert review on poliovirus immunity and transmission*. *Risk Analysis*, 33(4), 544-605. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2012.01864.x>
- [33]. Feigin, R. D., McCracken, G. H., Jr, & Klein, J. O. (1992). Diagnosis and management of meningitis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 11(9), 785-814. <https://doi.org/10.1097/00006454-199209000-00039>
- [34]. Feki, S., Gargouri, S., Mejdoub, S., Dammak, M., Hachicha, H., Hadiji, O., Feki, L., Hammami, A., Mhiri, C., Karray, H., & Masmoudi, H. (2018). The intrathecal polyspecific antiviral immune response (MRZ reaction): A potential cerebrospinal fluid marker for multiple sclerosis diagnosis. *Journal of Neuroimmunology*, 321, 66-71. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.05.015>
- [35]. Felgenhauer, K., & Reiber, H. (1992). The diagnostic significance of antibody specificity indices in multiple sclerosis and herpes virus induced diseases of the nervous system. *Clinical Investigations*, 70(1), 28-37. <https://doi.org/10.1007/BF00422934>
- [36]. Freedman, M., Thompson, E., Deisenhammer, F., Giovannoni, G., Grimsley, G., & Keir, G. (2005). Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: A consensus statement. *Archives of Neurology*, 62(6), 865-870. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.6.865>
- [37]. García, R., Jiménez-Valera, M., Ruiz-Buck, D., Sanchez, C., Rojas, A., Schütz, M. H., Rojas, J., & Hunfeld, K.-P. (2024). Detection of intrathecal IgG antibody for varicella and measles diagnosis by evaluation and comparison of a commercial IgG chemiluminescent immunoassay with two ELISAs. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 43(1), 233-243. <https://doi.org/10.1007/s10096-024-04822-x>

- [38]. Gershon, A. A., Takahashi, M., Seward, J. F., Plotkin, S., Orenstein, W., & Offit, P. (2011). Varicella zoster virus infection. *In Vaccines* (5th ed., pp. 915-958)
- [39]. Global laboratory automation market report and forecast 2023-2028. (n.d.). *Expert Market Research*. <http://www.expertmarketresearch.com/reports/laboratory-automation-market>
- [40]. Granerod, J., Cunningham, R., Zuckerman, M., Mutton, K., Davies, N. W. S., Walsh, A. L., Ward, K. N., Hilton, D. A., Ambrose, H. E., Clewley, J. P., Morgan, D., Lunn, M. P., Solomon, T., Brown, D. W. G., & Crowcroft, N. S. (2010). Causality in acute encephalitis: Defining aetiologies. *Epidemiology and Infection*, 138(6), 783-800. <https://doi.org/10.1017/S0950268810000725>
- [41]. Gray, L. D., & Fedorko, D. P. (1992). Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(2), 130-145. <https://doi.org/10.1128/CMR.5.2.130>
- [42]. Gruhn, S., Witte, J., Greiner, W., Damm, O., Dietzsch, M., Kramer, R., & Knuf, M. (2022). Epidemiology and economic burden of meningococcal disease in Germany: A systematic review. *Vaccine*, 40(13), 1932-1947. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.02.043>
- [43]. Hanson, K. E. (2016). The first fully automated molecular diagnostic panel for meningitis and encephalitis: How well does it perform, and when should it be used? *Journal of Clinical Microbiology*, 54(9), 2222-2224. <https://doi.org/10.1128/JCM.01255-16>
- [44]. Harrison, L. H., Trotter, C. L., & Ramsay, M. E. (2009). Global epidemiology of meningococcal disease. *Vaccine*, 27 Suppl 2, B51-63. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.04.063>
- [45]. Harvala, H., & Simmonds, P. (2016). Viral meningitis: Epidemiology and diagnosis. *Lancet Infectious Diseases*, 16(11), 1211-1212. [10.1016/S1473-3099\(16\)30221-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30221-3)
- [46]. Hottenrott, T., Dersch, R., Berger, B., Rauer, S., Eckenweiler, M., Huzly, D., & Stich, O. (2015). The intrathecal, polyspecific antiviral immune response in neurosarcoidosis, acute disseminated encephalomyelitis and autoimmune encephalitis compared to multiple sclerosis in a tertiary hospital cohort. *Journal of Neurology*, 262(1), 85-94. <https://doi.org/10.1186/s12987-015-0024-8>
- [47]. Huang, L., Heuer, O. D., Janßen, S., Häckl, D., & Schmedt, N. (2020). Clinical and economic burden of invasive meningococcal disease: Evidence from a large German claims database. *PLOS ONE*, 15(1), e0228020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228020>

- [48]. Irsandi, J. S., Fitri, I., & Nathasia, N. D. (2020). Sistem Informasi Pemasaran dengan Penerapan CRM (Customer Relationship Management) Berbasis Website menggunakan Metode Waterfall dan Agile. *Jurnal Teknologi Informasi dan Komunikasi*, 5(4), 346. <https://doi.org/10.35870/jtik.v5i4.192>
- [49]. Izurieta, H. S. (1997). Postlicensure effectiveness of varicella vaccine during an outbreak in a child care center. *JAMA*, 278(18), 1495-1499. <https://doi.org/10.1001/jama.1997.03550180045035>
- [50]. Jarius, S., Eichhorn, P., Franciotta, D., Petereit, H. F., Akman-Demir, D., Wick, M., & Wildemann, B. (2017). The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: Re-evaluation and structured review of the literature. *Journal of Neurology*, 264(3), 453-466. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8360-4>
- [51]. Johnson, R. T. (1999). Nervous system viruses. In A. D. McLachlan, T. H. G. & S. B. (Eds.), *Encyclopedia of Virology* (pp. 1013-1020). Elsevier, Amsterdam.
- [52]. Joshi, P. (2016). Multiple strokes associated with herpes simplex virus type-2 infection: Case report. *Journal of Neurovirology*, 22(2), 251-253. <https://doi.org/10.1007/s13365-015-0385-4>
- [53]. Kabat, E., & Freedman, D. (1950). A study of the crystalline albumin, gamma globulin and total protein in the cerebrospinal fluid of 100 cases of multiple sclerosis and in other diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 29(1), 55-64. <https://doi.org/10.1097/00000441-195001000-00009>
- [54]. Khatib, U., van de Beek, D., Lees, J. A., & Brouwer, M. C. (2017). Adults with suspected central nervous system infection: A prospective study of diagnostic accuracy. *Journal of Infection*, 74(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.09.007>
- [55]. Kim, K. (2008). Mechanisms of microbial traversal of the blood-brain barrier. *Nature Reviews Microbiology*, 6(8), 625-634. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1952>
- [56]. Kobelt, G., Thompson, A., Berg, J., Gannedahl, M., & Eriksson, J. (2017). New insights into the burden and costs of multiple sclerosis in Europe. *Multiple Sclerosis Journal*, 23(8), 1123-1136. <https://doi.org/10.1177/1352458517694432>

- [57]. Kohil, A., Jemmieh, S., Smatti, M. K., & Yassine, H. M. (2021). Viral meningitis: An overview. *Archives of Virology*, 166(2), 335-345. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04891-1>
- [58]. Kothur, K., Wienholt, L., Brilot, F., & Dale, R. C. (2016). CSF cytokines/chemokines as biomarkers in neuroinflammatory CNS disorders: A systematic review. *Cytokine*, 77, 227-237. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.10.001>
- [59]. Kuenz, B., Lutterotti, A., Ehling, R., Gneiss, C., Haemmerle, M., Rainer, C., Deisenhammer, F., Schocke, M., Berger, T., & Reindl, M. (2008). Cerebrospinal fluid B cells correlate with early brain inflammation in multiple sclerosis. *PLOS ONE*, 3(7), e2559. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002559>
- [60]. Larman, C., & Basili, V. R. (2003). Iterative and incremental development: A brief history. *IEEE Computer*, 36(6), 47-56.
- [61]. Leimkugel, J., Adams Forgor, A., Gagneux, S., Pflüger, V., Flierl, C., Awine, E., Naegeli, M., Dangy, J.-P., Smith, T., Hodgson, A., & Pluschke, G. (2005). An outbreak of serotype 1 *Streptococcus pneumoniae* meningitis in northern Ghana with features that are characteristic of *Neisseria meningitidis* meningitis epidemics. *Journal of Infectious Diseases*, 192(2), 192-199. <https://doi.org/10.1086/431151>
- [62]. Link, H., & Huang, Y.-M. (2006). Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: An update on methodology and clinical usefulness. *Journal of Neuroimmunology*, 180, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.07.006>
- [63]. Link, H., & Tibbling, G. (1977). Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 37, 397-401. <https://doi.org/10.1080/00365517709091498>
- [64]. Liyanage, N. P. M., Fernando, S., Malavige, G. N., Mallikahewa, R., Sivayogan, S., Jiffry, M. T. M., & Vitarana, T. (2007). Seroprevalence of varicella zoster virus infections in Colombo district, Sri Lanka. *Indian Journal of Medical Sciences*, 61(3), 128-134.
- [65]. Logan, S. A. E., & MacMahon, E. (2008). Viral meningitis. *BMJ*, 336(7634), 36-40. <https://doi.org/10.1136/bmj.39409.673657.AE>

- [66]. Lolekha, S., Tanthiphabha, W., Sornchai, P., Kosuwan, P., Sutra, S., Warachit, B., Chup-Upprakarn, S., Hutagalung, Y., Weil, J., & Bock, H. L. (2001). Effect of climatic factors and population density on varicella zoster virus epidemiology within a tropical country. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64(3-4), 131-136. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2001.64.131>
- [67]. Magaz, M. de L. M., Wainsztein, V., Maritano, J., Gutiérrez, M. N., Binder, F., Ferreyro, B. L., Angriman, F., & Waisman, G. (2015). Clinical characteristics of adult patients with herpetic meningoencephalitis: A nested case control study. *Revista Chilena de Infectología*, 32(3), 266-271. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000400002>
- [68]. Mailles, A., Stahl, J.-P., & Bloch, K. C. (2017). Update and new insights in encephalitis. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(9), 607-613. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.05.002>
- [69]. Markus Reind, V. G. (2012). B cells accumulate in the cerebrospinal fluid in inflammatory neurological diseases. *Journal of Neuroinflammation*, 3(1). <https://doi.org/10.4172/2157-7099.S1-001>
- [70]. McGill, F., Griffiths, M. J., & Solomon, T. (2017). Viral meningitis: Current issues in diagnosis and treatment. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 30(2), 248-256. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000355>
- [71]. Misbah, S. (2017). Progressive multi-focal leucoencephalopathy – driven from rarity to clinical mainstream by iatrogenic immunodeficiency: Progressive multi-focal leucoencephalopathy. *Clinical and Experimental Immunology*, 188(3), 342-352. <https://doi.org/10.1111/cei.12948>
- [72]. Napier, M. D., Poole, C., Satten, G. A., Ashley-Koch, A., Marrie, R. A., & Williamson, M. (2016). Heavy metals, organic solvents, and multiple sclerosis: An exploratory look at gene-environment interactions. *Environmental Health Perspectives*, 71(1), 26-34. <https://doi.org/10.1080/19338244.2014.937381>
- [73]. Navarro Marí, J. M., Pérez Ruiz, M., & Vicente Anza, D. (2010). Diagnóstico de laboratorio de las meningitis linfocitarias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(Supl 1), 56-61.
- [74]. Negrini, B., Kelleher, K. J., & Wald, E. R. (2000). Cerebrospinal fluid findings in aseptic versus bacterial meningitis. *Pediatrics*, 105(2), 316-319. <https://doi.org/10.1542/peds.105.2.316>

- [75]. Neshar, L., Hadi, C. M., Salazar, L., Wootton, S. H., Garey, K. W., Lasco, T., Luce, A. M., & Hasbun, R. (2016). Epidemiology of meningitis with a negative CSF Gram stain: Under-utilization of available diagnostic tests. *Epidemiology and Infection*, 144(1), 189-197. <https://doi.org/10.1017/S0950268815000850>
- [76]. O'Brien, K. L., Wolfson, L. J., Watt, J. P., Henkle, E., Deloria-Knoll, M., McCall, N., Lee, E., Mulholland, K., Levine, O. S., Cherian, T., & Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. (2009). Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: Global estimates. *Lancet*, 374(9693), 893-902. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61204-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61204-6)
- [77]. Orlovska-Waast, S., Köhler-Forsberg, O., Brix, S. W., Nordentoft, M., Kondziella, D., Krogh, J., & Benros, M. E. (2019). Cerebrospinal fluid markers of inflammation and infections in schizophrenia and affective disorders: A systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine*, 24(6), 869-887. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0220-4>
- [78]. Palacios, N., Alonso, A., Brønnum-Hansen, H., & Ascherio, A. (2011). Smoking and increased risk of multiple sclerosis: Parallel trends in the sex ratio reinforce the evidence. *Annals of Epidemiology*, 21(7), 536-542. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2011.03.001>
- [79]. Pérez Martínez, A., Molina Cabañero, J. C., Quintero Calcaño, V., de Vicente Aymat, A., & de la Torre Espí, M. (2001). Utilidad del score de Boyer modificado para el diagnóstico diferencial de las meningitis bacterianas y víricas. *Anales de Pediatría (Barcelona)*, 55(1), 15-19. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(01\)77619-9](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(01)77619-9)
- [80]. Pulido, M. R., Moreno-Martínez, P., González-Galán, V., Fernández Cuenca, F., Pascual, A., Garnacho-Montero, J., et al.; MagicBullet Working Group. (2018). Application of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel for rapid identification of the causative agents of ventilator associated pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(12), 1213.e1-1213.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.06.001>.
- [81]. Purves, D., & Platt, M. (2019). La barrera hematoencefálica. En J. H. Schwartz, & M. A. W. (Eds.), *Neurociencia* (5.a ed., pp. 101-120). Elsevier, Madrid.
- [82]. Quagliarello, V. J., & Scheld, W. M. (1993). New perspectives on bacterial meningitis. *Clinical Infectious Diseases*, 17(4), 603-608; quiz 609-610. <https://doi.org/10.1093/clinids/17.4.603>

- [83]. Reguera, R. (2014). Interpretación del líquido cefalorraquídeo. *Revista de Neurología*, 12, 30-33. [https://doi.org/10.1016/s1696-2818\(14\)70164-7](https://doi.org/10.1016/s1696-2818(14)70164-7)
- [84]. Reiber, H. (1994). Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF)—a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *Journal of Neurological Sciences*, 122(2), 189-203. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(94\)90298-4](https://doi.org/10.1016/0022-510x(94)90298-4)
- [85]. Reiber, H. (1998). Cerebrospinal fluid—Physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases. *Multiple Sclerosis*, 4(3), 99-107. <https://doi.org/10.1177/135245859800400302>
- [86]. Reiber, H., & Lange, P. (1991). Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: Sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clinical Chemistry*, 37(7), 1153-1160. <https://doi.org/10.1093/clinchem/37.7.1153>
- [87]. Reiber, H., & Peter, J. B. (2001). Cerebrospinal fluid analysis: Disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of Neurological Sciences*, 184(2), 101-122. [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(00\)00501-3](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(00)00501-3)
- [88]. Reusken, C., Boonstra, M., Rugebregt, S., Scherbeijn, S., Chandler, F., Avšič-Županc, T., Vapalahti, O., Koopmans, M., & GeurtsvanKessel, C. H. (2019). An evaluation of serological methods to diagnose tick-borne encephalitis from serum and cerebrospinal fluid. *Journal of Clinical Virology*, 120, 78-83. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2019.09.009>
- [89]. Rosenstein, N. E., Perkins, B. A., Stephens, D. S., Popovic, T., & Hughes, J. M. (2001). Meningococcal disease. *New England Journal of Medicine*, 344(18), 1378-1388. <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441807>
- [90]. Royce, W. W. (2021). Managing the development of large software systems (1970). In N. de Neve & L. S. Smith (Eds.), *Ideas That Created the Future* (pp. 321-332). *The MIT Press*.
- [91]. Saber Tehrani, A. S., Lee, H., Mathews, S. C., Shore, A., Makary, M. A., Pronovost, P. J., & Newman-Toker, D. E. (2013). 25-Year summary of US malpractice claims for diagnostic errors 1986-2010: An analysis from the National Practitioner Data Bank. *BMJ Quality & Safety*, 22(8), 672-680. <https://doi.org/10.1136/bmjqs-2012-001550>

- [92]. Saraya, A. W., Wacharapluesadee, S., Petcharat, S., Sittidetboripat, N., Ghai, S., Wilde, H., & Hemachudha, T. (2016). Normocellular CSF in herpes simplex encephalitis. *BMC Research Notes*, 9(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-1922-9>
- [93]. Schiess, N., Groce, N. E., & Dua, T. (2021). The impact and burden of neurological sequelae following bacterial meningitis: A narrative review. *Microorganisms*, 9(5), 900. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050900>
- [94]. Seth, R. (2017). Rapid and accurate diagnosis of acute pyogenic meningitis due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* using a multiplex PCR assay. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(9), FC01-FC04. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28114.10532>
- [95]. Shamier, M. C., Bogers, S., Yusuf, E., van Splunter, M., Ten Berge, J. C. E. M., Titulaer, M., van Kampen, J. J. A., & GeurtsvanKessel, C. H. (2021). The role of antibody indexes in clinical virology. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(9), 1207-1211. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.03.015>
- [96]. Sindic, C. J., Monteyne, P., & Laterre, E. C. (1994). Occurrence of oligoclonal IgM bands in the cerebrospinal fluid of neurological patients: An immunoaffinity-mediated capillary blot study. *Journal of Neurological Sciences*, 124(2), 215-219. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(94\)90329-8](https://doi.org/10.1016/0022-510x(94)90329-8)
- [97]. Smith, J. A., & Ross, W. D. (2017). The works of Aristotle. *Clarendon Press*.
- [98]. Spector, R., Snodgrass, S. R., & Johanson, C. E. (2015). A balanced view of the cerebrospinal fluid composition and functions: Focus on adult humans. *Experimental Neurology*, 273, 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.07.027>
- [99]. Speletas, M., Kyritsi, M. A., Vontas, A., Theodoridou, A., Chrysanthidis, T., Hatzianastasiou, S., Petinaki, E., & Hadjichristodoulou, C. (2020). Evaluation of two chemiluminescent and three ELISA immunoassays for the detection of SARS-CoV-2 IgG antibodies: Implications for disease diagnosis and patients' management. *Frontiers in Immunology*, 11, Article 609242. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.609242>
- [100]. Spreer, A., & Nau, R. (2015). Liquordiagnostik bei erregerbedingten neurologischen Erkrankungen. *Fortschritte der Neurologie Psychiatrie*, 83(2), 109-122. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1398932>

- [101]. Steiner, I., Budka, H., Chaudhuri, A., Koskiniemi, M., Sainio, K., Salonen, O., & Kennedy, P. G. E. (2010). Viral meningoencephalitis: A review of diagnostic methods and guidelines for management. *European Journal of Neurology*, 17(8), 999-e57. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.02970.x>
- [102]. Strebel, P. M., & Orenstein, W. A. (2019). Measles. *The New England Journal of Medicine* 381(4), 349-357. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1905181>
- [103]. Swancutt, D., Joel-Edgar, S., Allen, M., Thomas, D., Brant, H., Bengner, J., Byng, R., & Pinkney, J. (2017). Not all waits are equal: An exploratory investigation of emergency care patient pathways. *BMC Health Services Research*, 17(1), 436. <https://doi.org/10.1186/s12913-017-2349-2>
- [104]. Tagajdid, M. R., Bouaiti, M., Dami, A., El Machtani Idrissi, S., Bouhassain, S., Ouzzif, Z., Derouiche, M., Bourazza, A., & Tellal, S. (2011). Intérêt de l'immunofixation du couple LCR/sérum dans le diagnostic des maladies inflammatoires du système nerveux central. *Neurology*, 167(3), 225-230. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2010.10.001>
- [105]. Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., Correale, J., Fazekas, F., Filippi, M., Freedman, M. S., Fujihara, K., Galetta, S. L., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Marrie, R. A., Miller, A. E., Miller, D. H., Montalban, X., ... Cohen, J. A. (2018). Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurology*, 17(2), 162-173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
- [106]. Thomson, R. B., Jr, & Bertram, H. (2001). Laboratory diagnosis of central nervous system infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 15(4), 1047-1071. [https://doi.org/10.1016/s0891-5520\(05\)70186-0](https://doi.org/10.1016/s0891-5520(05)70186-0)
- [107]. Tumani, H., Deisenhammer, F., Giovannoni, G., Gold, R., Hartung, H. P., Hemmer, B., Hohlfeld, R., Otto, M., Stangel, M., Wildemann, B., & Zettl, U. K. (2011). Revised McDonald criteria: The persisting importance of cerebrospinal fluid analysis. *Annals of Neurology*, 70(3), 520-520. <https://doi.org/10.1002/ana.22508>
- [108]. Van de Beek, D. (2011). Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: A multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infectious Diseases*, 10(12), 835-844. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70222-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70222-X)

- [109]. Van de Beek, D., Cabellos, C., Dzunpova, O., Esposito, S., Klein, M., Kloek, A. T., Leib, S. L., Mourvillier, B., Ostergaard, C., Pagliano, P., Pfister, H. W., Read, R. C., Sipahi, O. R., Brouwer, M. C., & ESCMID Study Group for Infections of the Brain (ESGIB). (2016). ESCMID guideline: Diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clinical Microbiology and Infection*, 22 Suppl 3, S37-62. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.01.007>
- [110]. Van de Beek, D., de Gans, J., Spanjaard, L., Weisfelt, M., Reitsma, J. B., & Vermeulen, M. (2004). Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *New England Journal of Medicine*, 351(18), 1849-1859. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa040845>
- [111]. Van Everbroeck, B., Green, A. J. E., Pals, P., Martin, J. J., & Cras, P. (1999). Decreased levels of amyloid- β 1-42 in cerebrospinal fluid of Creutzfeldt–Jakob disease patients. *Journal of Alzheimers Disease*, 1(6), 419-424. <https://doi.org/10.3233/jad-1999-1606>
- [112]. Venkatesan, A., & Murphy, O. C. (2018). Viral encephalitis. *Neurologic Clinics*. 36(4), 705-724. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2018.07.001>
- [113]. Wall, E. C., Chan, J. M., Gil, E., & Heyderman, R. S. (2021). Acute bacterial meningitis. *Current Opinion of Neurology*, 34(3), 386-395. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000934>
- [114]. Wang, L.-P., Yuan, Y., Liu, Y.-L., Lu, Q.-B., Shi, L.-S., Ren, X., Zhou, S.-X., Zhang, H.-Y., Zhang, X.-A., Wang, X., Wang, Y.-F., Lin, S.-H., Zhang, C.-H., Geng, M.-J., Li, J., Zhao, S.-W., Yi, Z.-G., Chen, X., Yang, Z.-S., ... Chinese Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Etiology of Acute Meningitis and Encephalitis Surveillance Study Team. (2022). Etiological and epidemiological features of acute meningitis or encephalitis in China: A nationwide active surveillance study. *The Lancet Regional Health – Western Pacific* 20(100361), 100361. <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100361>
- [115]. Watt, J. P., Wolfson, L. J., O'Brien, K. L., Henkle, E., Deloria-Knoll, M., McCall, N., Lee, E., Levine, O. S., Hajjeh, R., Mulholland, K., Cherian, T., & Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. (2009). Burden of disease caused by Haemophilus influenzae type b in children younger than 5 years: Global estimates. *Lancet*, 374(9693), 903-911. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61203-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61203-4)
- [116]. Weisfelt, M., de Gans, J., van der Poll, T., & van de Beek, D. (2006). Pneumococcal meningitis in adults: New approaches to management and prevention. *Lancet Neurology*, 5(4), 332-342. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70409-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70409-4)

- [117]. Wild, D. (2013). *The Immunoassay Handbook* (4th ed.). Elsevier. Oxford, UK.
- [118]. Wilde, H., & Suankratay, C. (2007). There is need for antigen-based rapid diagnostic tests to identify common acute tropical illnesses. *Tropical Medicine & International Health*, 14(4), 254-258. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8305.2006.00094.x>
- [119]. Wilkins, R. H. (1964). Neurosurgical classic—XXII. *Journal of Neurosurgery*, 21, 724-733. <https://doi.org/10.3171/jns.1964.21.8.0724>
- [120]. Woollam, D. H. (1957). The historical significance of the cerebrospinal fluid. *Brain*, 80(2), 91-114. <https://doi.org/10.1017/s0025727300021025>
- [121]. Wright, B. L. C., Lai, J. T. F., & Sinclair, A. J. (2012). Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: A practical review. *Journal of Neurology*, 259(8), 1530-1545. <https://doi.org/10.1007/s00415-012-6413-x>
- [122]. Wunrow, H. Y., & Bender, R. G. (2023). Global, regional, and national burden of meningitis and its aetiologies, 1990–2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Neurology*, 22(8), 685-711. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(23\)00195-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(23)00195-3)
- [123]. Yalow, R. S., & Berson, S. A. (1960). Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *Journal of Clinical Investigation*, 39(7), 1157-1175. <https://doi.org/10.1172/JCI104130>
- [124]. Zis, P., Stritsou, P., Angelidakis, P., & Tavernarakis, A. (2016). Herpes simplex virus type 2 encephalitis as a cause of ischemic stroke: Case report and systematic review of the literature. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(2), 335-339. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.10.002>



ANEXOS

8. ANEXOS

ANEXO I. DIAGRAMAS DE REIBER

1) ID del paciente: 1811006360

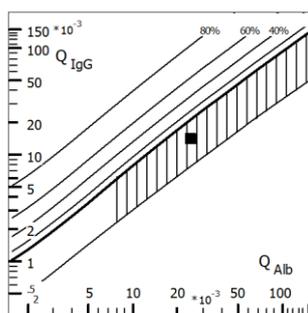
Edad: 51

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
1060.00	141.00	42.89	9.78

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 24.7 y cociente de IgG = 14.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (sin disfunción de la barrera hematoencefálica y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

2) ID del paciente: 1811006360

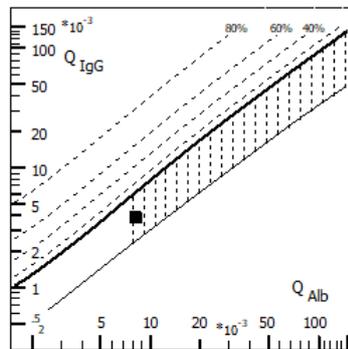
Edad: 85

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
227.00	40.00	27.27	10.51

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.3 y cociente de IgG = 3.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera hematoencefálica pero sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

3) **ID del paciente: 1811006766**

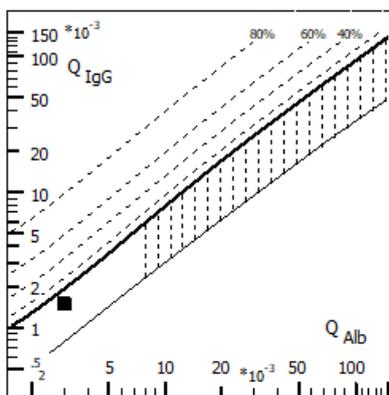
Edad: 60

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
103.00	31.30	34.31	20.91

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3 y cociente de IgG = 1.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

4) ID del paciente: 1811007365

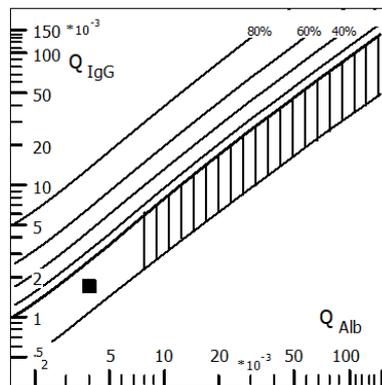
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
164.00	19.90	40.93	11.44

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4 y cociente de IgG = 1.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

5) **ID del paciente: 1811007395**

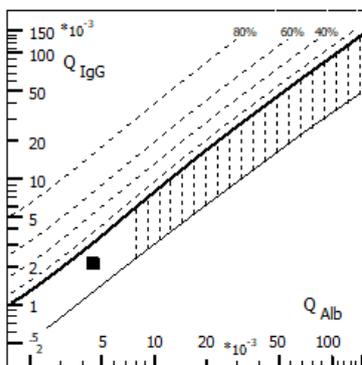
Edad: 37

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
215.00	27.70	46.36	13.03

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.6 y cociente de IgG = 2.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

6) **ID del paciente: 1811007486**

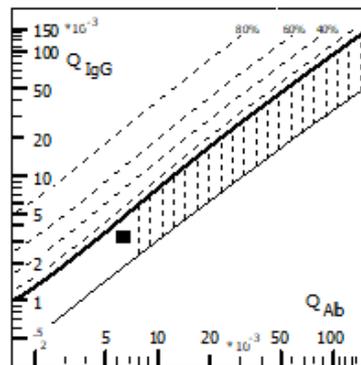
Edad: 46

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
286.00	33.50	44.12	10.28

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.5 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

7) **ID del paciente: 1811009461**

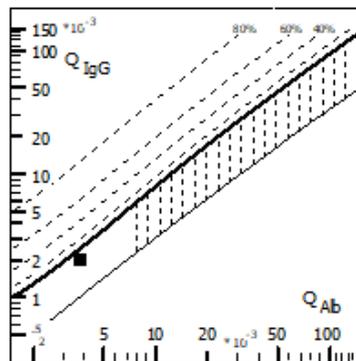
Edad: 41

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
187.00	24.60	48.60	12.45

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.8 y cociente de IgG = 2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
▶ N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
▶ > 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
▶ > +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

8) **ID del paciente: 1811010171**

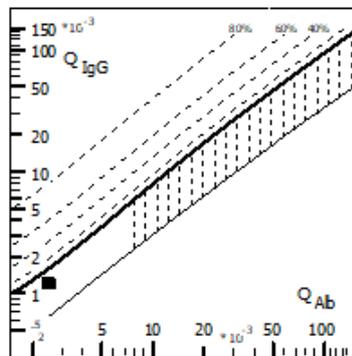
Edad: 37

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
104.00	14.50	41.46	12.10

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.5 y cociente de IgG = 1.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

9) **ID del paciente: 1811011440**

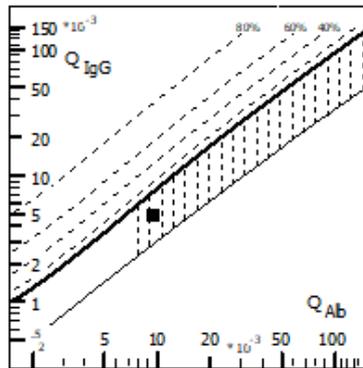
Edad: 78

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
297.00	41.20	30.77	8.37

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.7 y cociente de IgG = 4.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

10) ID del paciente: 1811011582

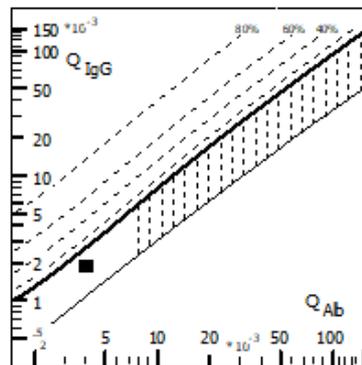
Edad: 45

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
185.00	28.10	45.93	14.85

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4 y cociente de IgG = 1.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

11) ID del paciente: 1811012036

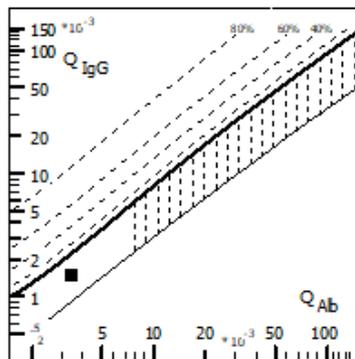
Edad: 36

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
157.00	21.60	46.51	14.24

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.4 y cociente de IgG = 1.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

12) ID del paciente: 1811012694

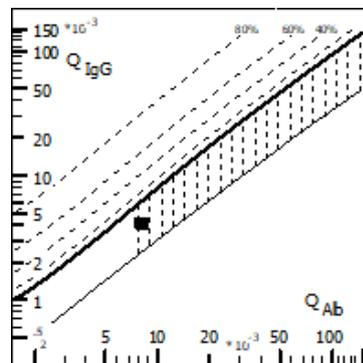
Edad: 55

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
352.00	39.20	43.19	9.31

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.2 y cociente de IgG = 4.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

13) ID del paciente: 1811012753

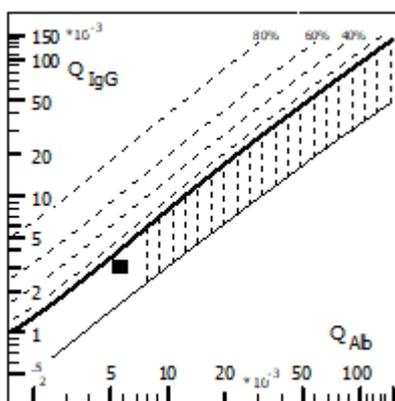
Edad: 42

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
237.00	34.20	41.56	11.39

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.7 y cociente de IgG = 3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

14) ID del paciente: 1811013337

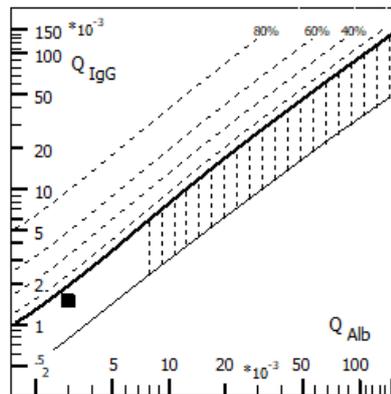
Edad: 36

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
153.00	11.00	41.90	7.39

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.7 y cociente de IgG = 1.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

15) ID del paciente: 1811029818

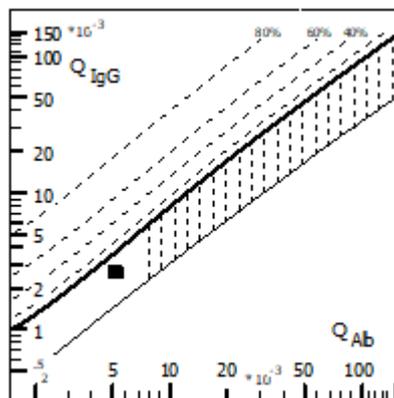
Edad: 58

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
1811029818	1811029818	1811029818	1811029818

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.3 y cociente de IgG = 2.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
► N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

16) ID del paciente: 1811029836

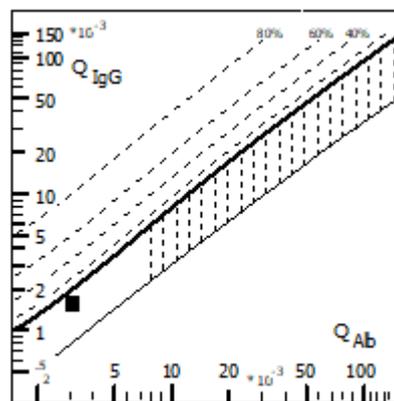
Edad: 35

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
136.00	15.20	43.25	9.71

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.1 y cociente de IgG = 1.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

17) ID del paciente: 1811037150

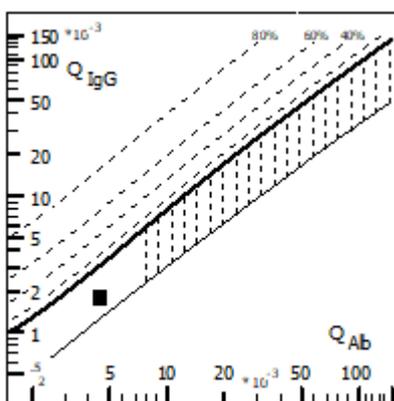
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
176.00	15.20	38.08	8.25

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.6 y cociente de IgG = 1.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

18) ID del paciente: 1811037917

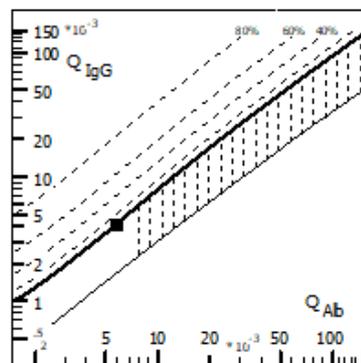
Edad: 34

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
239.00	54.40	40.12	12.98

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6 y cociente de IgG = 4.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero no disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

19) ID del paciente: 1811054176

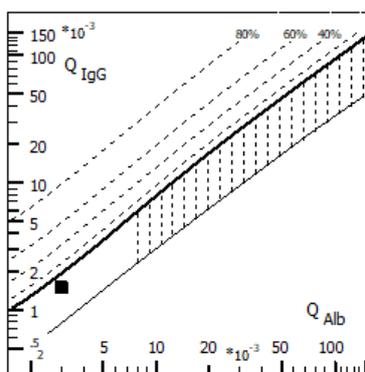
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
1140.00	93.70	41.12	5.30

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 27.7 y cociente de IgG = 17.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

20) ID del paciente: 1811077565

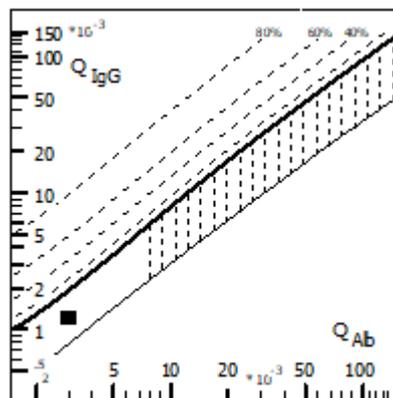
Edad: 79

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
100.00	8.60	33.64	7.05

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3 y cociente de IgG = 1.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

21) ID del paciente: 1811086221

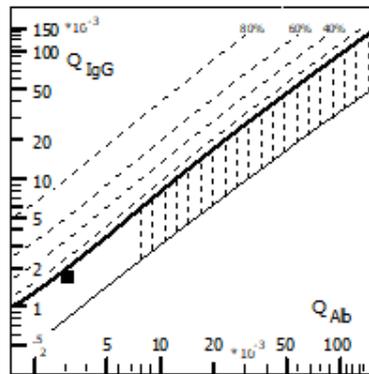
Edad: 35

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
133.00	21.30	43.03	12.85

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.1 y cociente de IgG = 1.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

22) ID del paciente: 1811086408

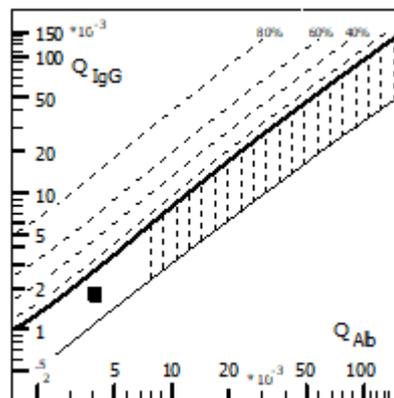
Edad: 31

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
164.00	15.70	40.35	8.90

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.1 y cociente de IgG = 1.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

23) ID del paciente: 1811096765

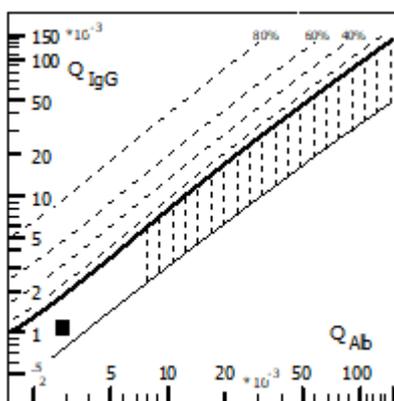
Edad: 44

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
121.00	10.60	42.29	9.39

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.9 y cociente de IgG = 1.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

24) ID del paciente: 1900031107

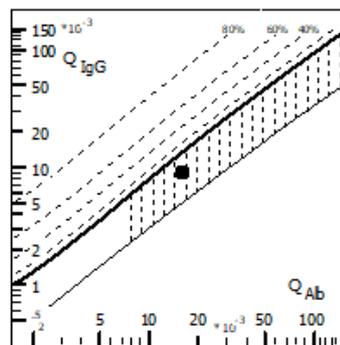
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
628.00	92.40	38.99	10.32

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 16.1 y cociente de IgG = 9. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

25) ID del paciente: 1900035523

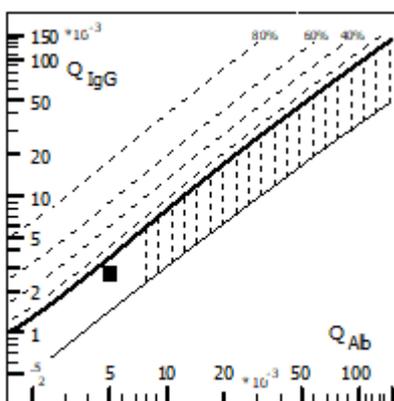
Edad: 26

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
200.00	28.50	38.95	10.48

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.1 y cociente de IgG = 2.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

26) ID del paciente: 1900035547

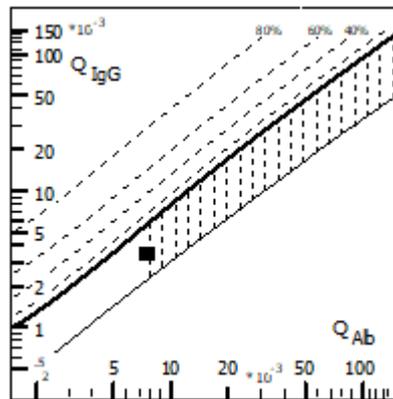
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
272.00	24.00	35.28	6.99

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.7 y cociente de IgG = 3.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

27) ID del paciente: 1900035562

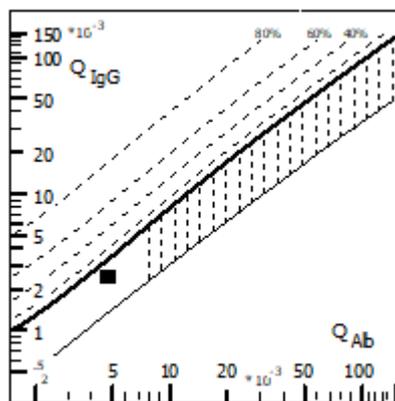
Edad: 31

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
238.00	26.80	50.07	10.82

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.8 y cociente de IgG = 2.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
		IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
► N=									
save to (Export Format)					save to (Export Format)				
Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction									
	Number	QAlb - frequencies							
► > +10 % Level	n (10)								0
> +20 % Level	n (20)								0
Total number	N								1
save to (Export Format)									

28) ID del paciente: 1900035564

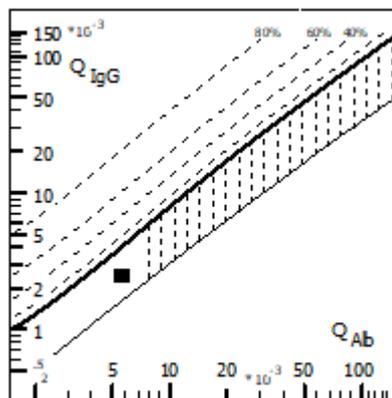
Edad: 71

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
258.00	27.90	44.46	11.09

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.8 y cociente de IgG = 2.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

29) ID del paciente: 1900035578

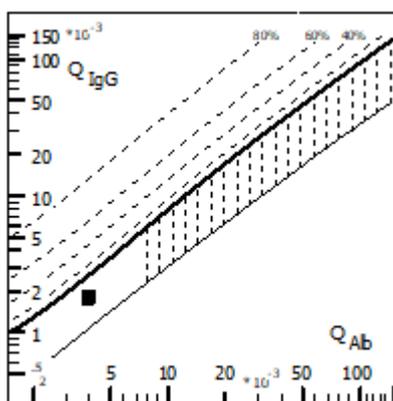
Edad: 75

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
172.00	23.40	44.37	13.00

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.9 y cociente de IgG = 1.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

30) ID del paciente: 1900035604

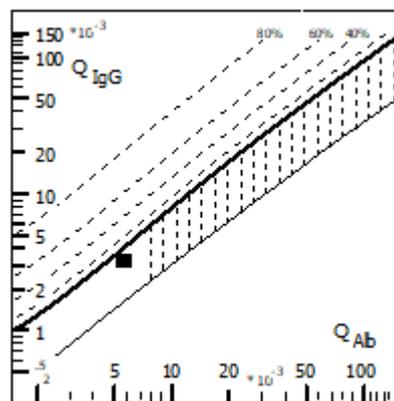
Edad 70

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
253.00	41.90	43.37	12.70

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.8 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

31) ID del paciente: 1900035609

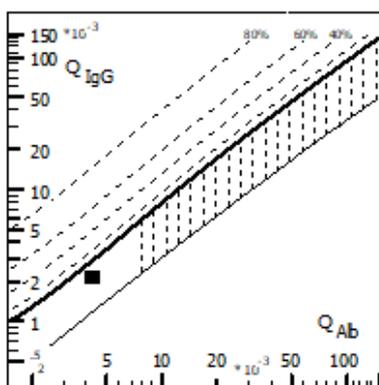
Edad: 37

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
206.00	19.10	48.00	8.58

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.3 y cociente de IgG = 2.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
▶ N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
▶ > 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
▶ > +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

32) ID del paciente: 1900035618

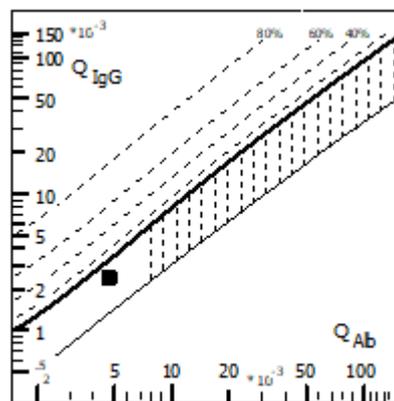
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
220.00	20.10	45.57	8.52

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.8 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

33) ID del paciente: 1900035637

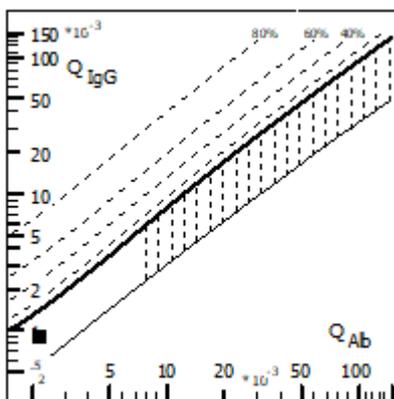
Edad: 24

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
112.00	11.90	50.59	12.80

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.2 y cociente de IgG = 0.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

34) ID del paciente: 1900035651

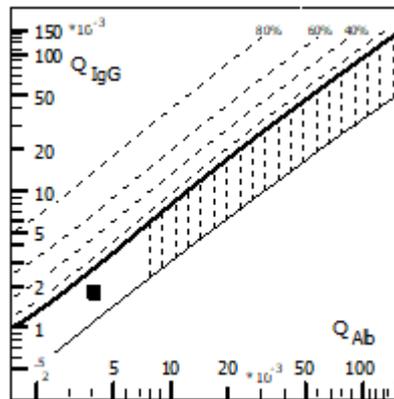
Valores de albúmina e IgG:

Edad: 41

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
220.00	17.10	53.36	9.59

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.1 y cociente de IgG = 1.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

35) ID del paciente: 1900035706

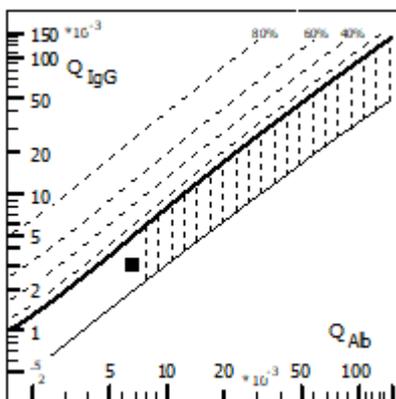
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
258.00	34.30	38.25	11.32

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.7 y cociente de IgG = 3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

36) ID del paciente: 1900036497

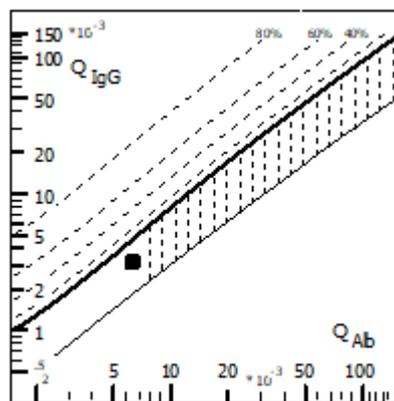
Edad: 75

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
275.00	33.80	42.70	10.72

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.4 y cociente de IgG = 3.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

37) ID del paciente: 1900036501

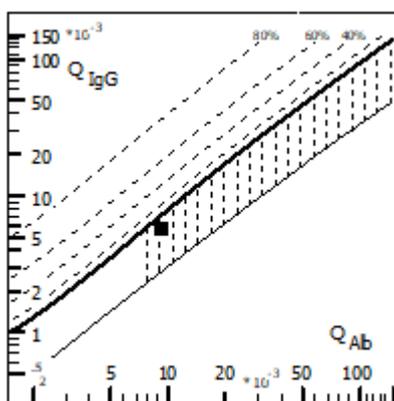
Edad: 36

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
444.00	68.70	47.48	12.01

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.4 y cociente de IgG = 5.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

38) ID del paciente: 1900037270

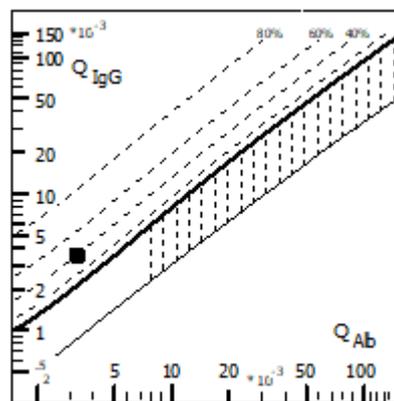
Edad: 36

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
125.00	32.20	38.20	9.15

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.3 y cociente de IgG = 3.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

39) ID del paciente: 1900037692

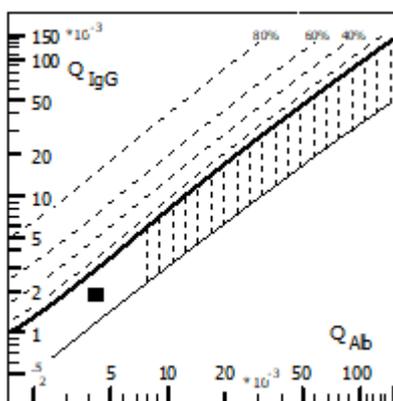
Edad: 48

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
182.00	20.30	41.86	10.64

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.3 y cociente de IgG = 1.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

40) ID del paciente: 1900038470

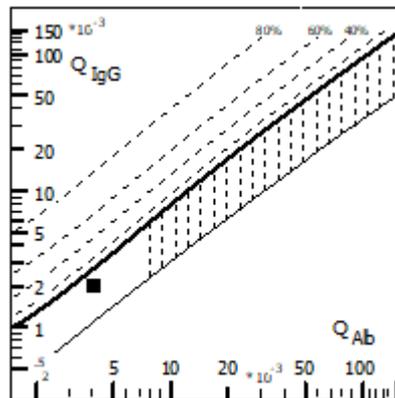
Edad: 50

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
169.00	23.40	41.52	11.47

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.1 y cociente de IgG = 2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

41) ID del paciente: 1900038503

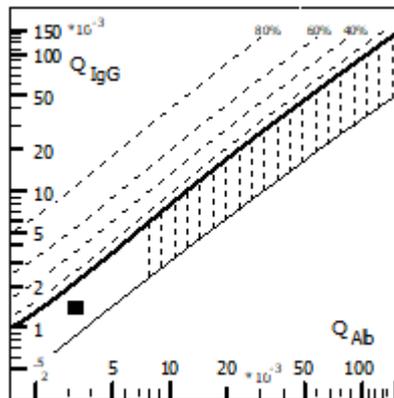
Edad: 78

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
131.00	22.00	39.99	15.38

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.3 y cociente de IgG = 1.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

42) ID del paciente: 1900038563

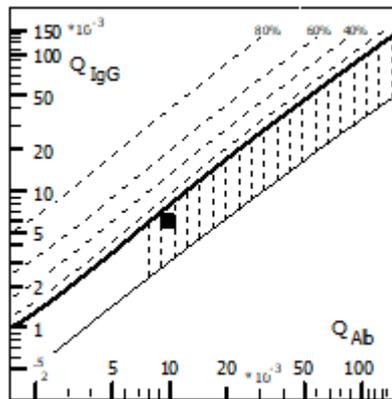
Edad: 66

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
413.00	62.80	41.22	10.33

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10 y cociente de IgG = 6.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

43) ID del paciente: 1900038950

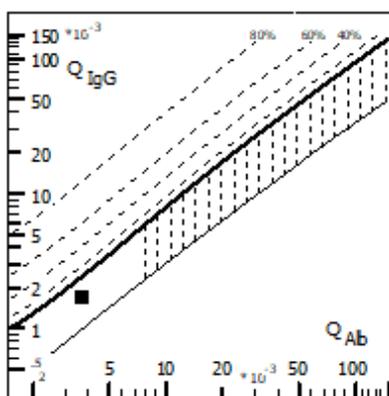
Edad: 26

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
166.00	17.10	44.88	10.00

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.7 y cociente de IgG = 1.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

44) ID del paciente: 1900038953

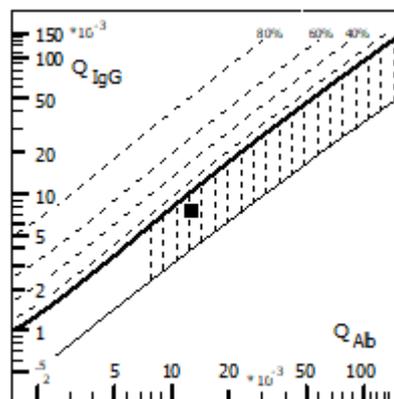
Edad: 66

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
506.00	60.20	39.56	8.06

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 12.8 y cociente de IgG = 7.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

45) ID del paciente: 1900038970

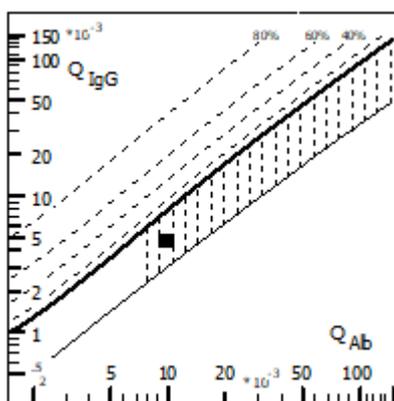
Edad: 69

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
397.00	62.00	39.20	13.21

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10.1 y cociente de IgG = 4.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

46) ID del paciente: 1900039046

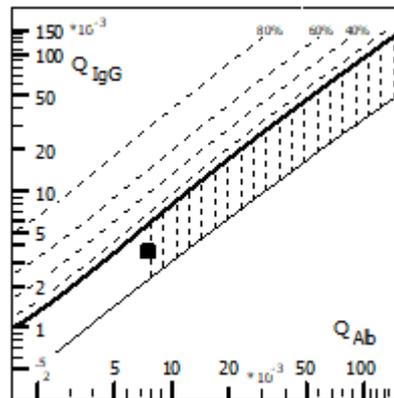
Edad: 87

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
276.00	39.10	36.05	10.89

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.7 y cociente de IgG = 3.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

47) ID del paciente: 1900039054

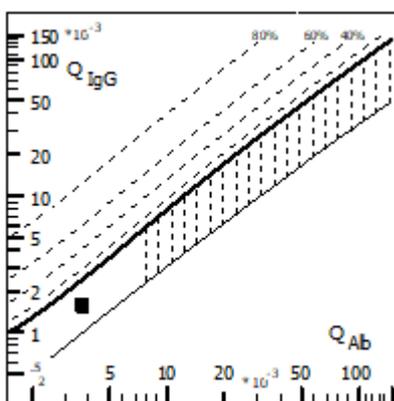
Edad: 25

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
146.00	17.40	39.11	10.61

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.7 y cociente de IgG = 1.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

48) ID del paciente: 1950057577

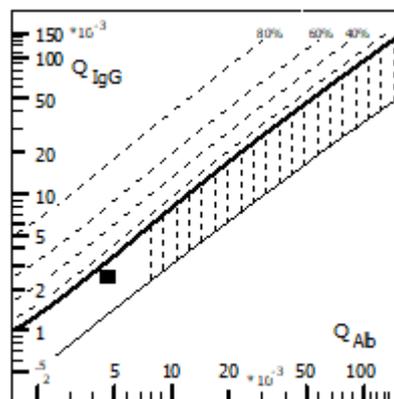
Edad: 46

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
171.00	32.60	36.31	12.83

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.7 y cociente de IgG = 2.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

49) ID del paciente: 1950057759

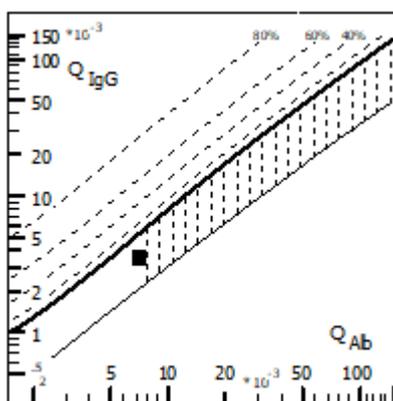
Edad: 30

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
335.00	37.40	46.49	10.83

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.2 y cociente de IgG = 3.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

50) ID del paciente: 1950063286

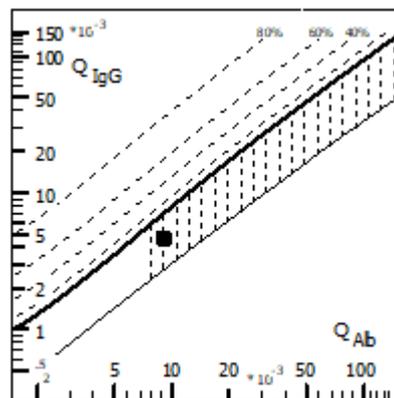
Edad: 55

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
418.00	64.10	45.41	14.07

Resultado AI: Negativo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.2 y cociente de IgG = 4.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero sí disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

51) ID del paciente: 1810844618

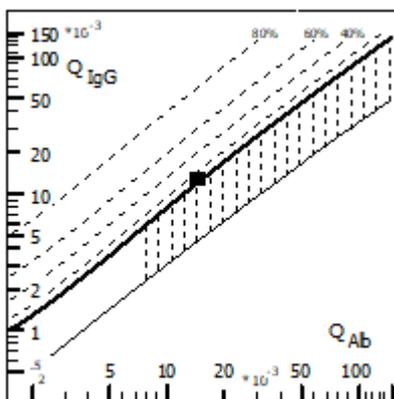
Edad: 53

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
630.00	162.00	42.66	12.72

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 14.8 y cociente de IgG = 12.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 4 (con disfunción de la barrera y producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) y disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

52) ID del paciente: 1811008076

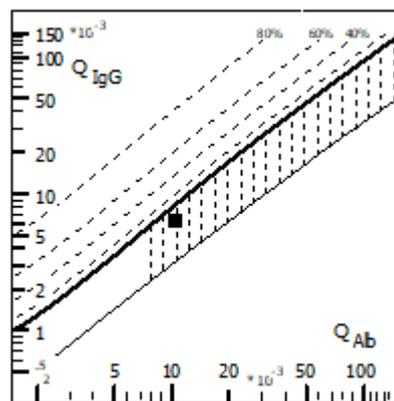
Edad: 78

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
262.00	62.40	24.69	9.98

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10.6 y cociente de IgG = 6.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

53) ID del paciente: 1811008642

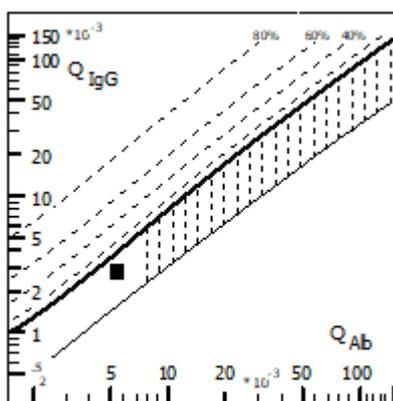
Edad: 78

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
234.00	33.00	42.81	11.86

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.5 y cociente de IgG = 2.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

54) ID del paciente: 1811023724

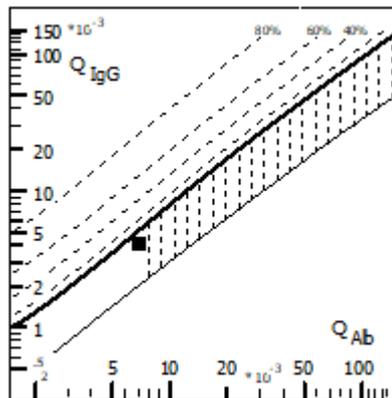
Edad: 35

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
290.00	55.90	40.70	13.75

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.1 y cociente de IgG = 4.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

55) ID del paciente: 1811025300

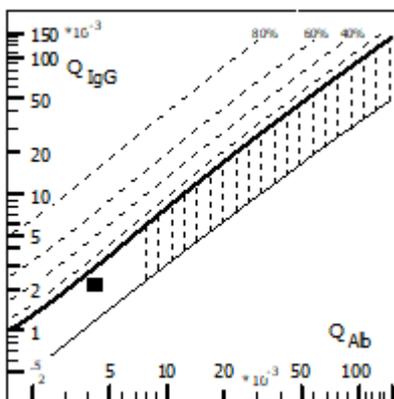
Edad: 68

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
139.00	30.50	32.13	14.13

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.3 y cociente de IgG = 2.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

56) ID del paciente: 1811034141

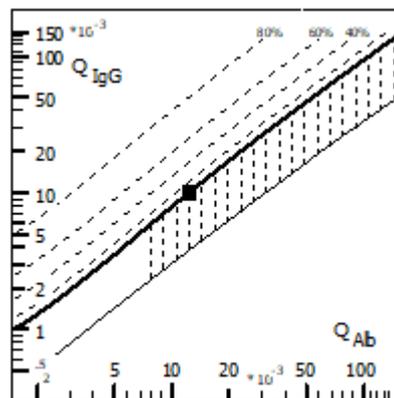
Edad: 62

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
535.00	111.00	42.07	11.11

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 12.7 y cociente de IgG = 10. Esto sitúa a este paciente en la zona 4 (con disfunción de la barrera y producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) y disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

57) ID del paciente: 1811035331

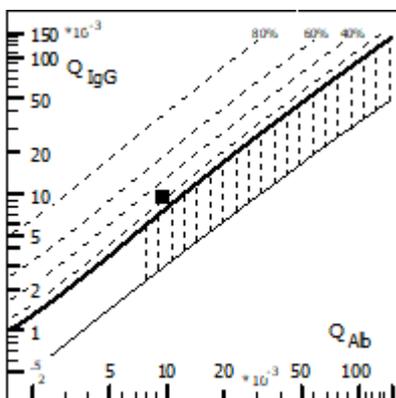
Edad: 32

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
405.00	127.00	42.07	13.28

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.6 y cociente de IgG = 9.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 4 (con disfunción de la barrera y producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) y disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

58) ID del paciente: 1811199569

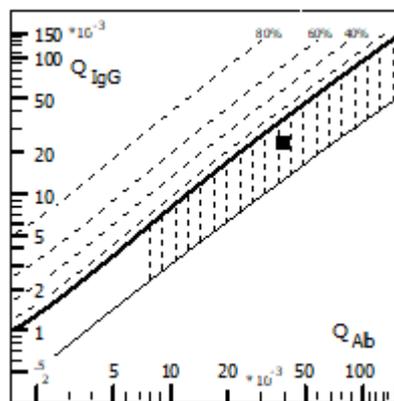
Edad: 41

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
1670.00	257.00	42.57	10.77

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 39.2 y cociente de IgG = 23.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

59) ID del paciente: 1811208762

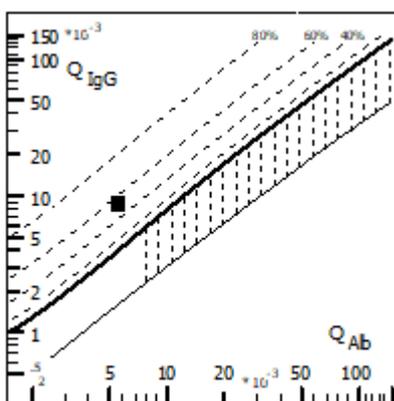
Edad: 26

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
170.00	109.00	30.54	12.49

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.6 y cociente de IgG = 8.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero no disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

60) ID del paciente: 1811228836

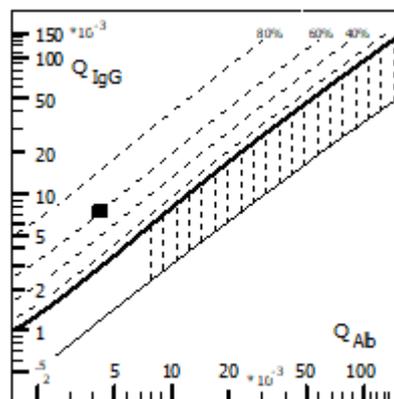
Edad: 45

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
211.00	93.10	49.22	12.41

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.3 y cociente de IgG = 7.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero no disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

61) ID del paciente: 1811236475

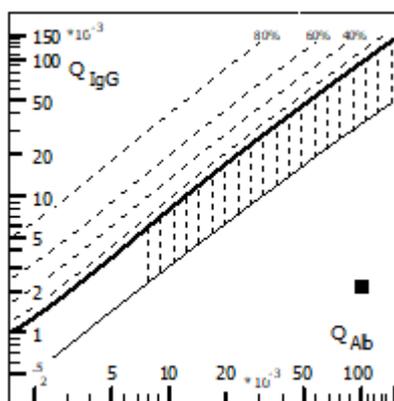
Edad: 46

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
4030.00	91.30	39.30	41.08

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 102.5 y cociente de IgG = 2.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 5 (posible error de la técnica).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero sí disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
		Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

62) ID del paciente: 1811236668

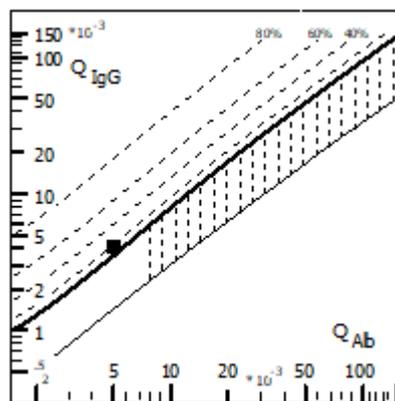
Edad: 19

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
251.00	68.60	49.21	16.76

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.1 y cociente de IgG = 4.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero no disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

63) ID del paciente: 1900028531

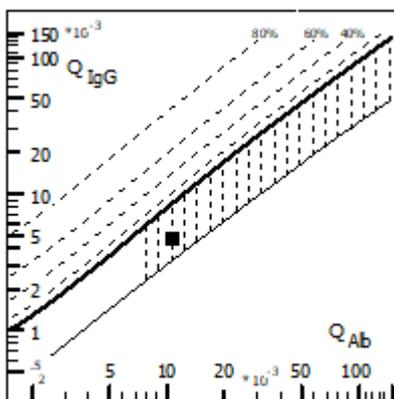
Edad: 95

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
345.00	50.20	32.02	10.66

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10.8 y cociente de IgG = 4.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

64) ID del paciente: 1900028547

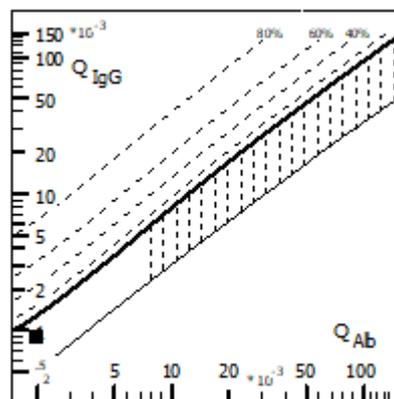
Edad: 43

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
88.00	12.80	44.92	13.88

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2 y cociente de IgG = 0.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

65) ID del paciente: 1900028597

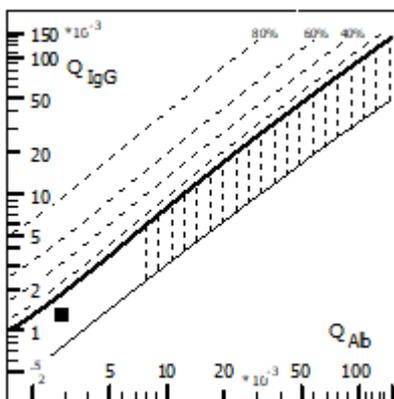
Edad: 32

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
127.00	13.70	44.20	10.35

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.9 y cociente de IgG = 1.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

66) ID del paciente: 1900029851

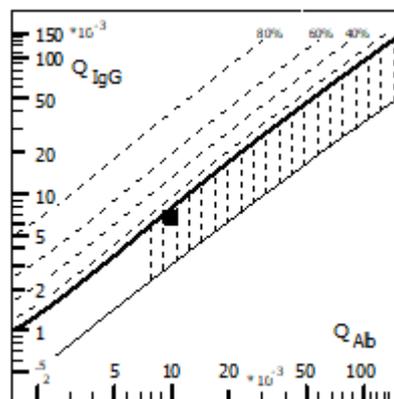
Edad: 45

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
391.00	72.80	39.29	10.80

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10 y cociente de IgG = 6.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

67) ID del paciente: 1900032251

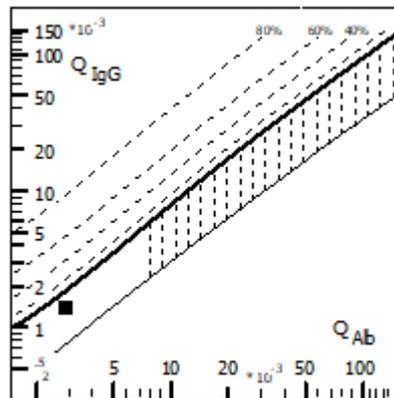
Edad: 64

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
118.00	33.80	40.53	23.92

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.9 y cociente de IgG = 1.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
		IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									
save to (Export Format)					save to (Export Format)				
Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction									
	Number	QAlb - frequencies							
> +10 % Level	n (10)	0							
> +20 % Level	n (20)	0							
Total number	N	1							
save to (Export Format)									

68) ID del paciente: 1900035645

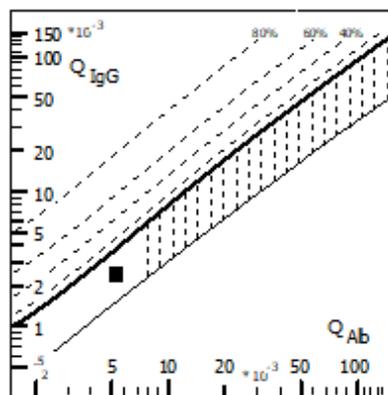
Edad: 56

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
281.00	28.50	51.81	11.75

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.4 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

69) ID del paciente: 1900035740

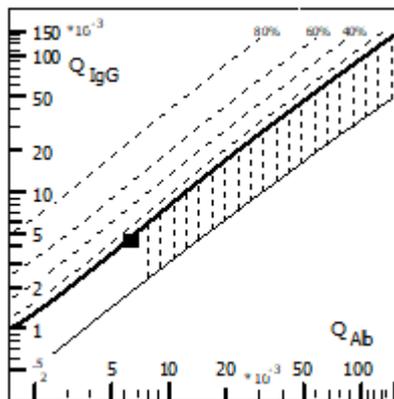
Edad: 48

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
310.00	24.40	48.01	5.60

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.5 y cociente de IgG = 4.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

70) ID del paciente: 1900036464

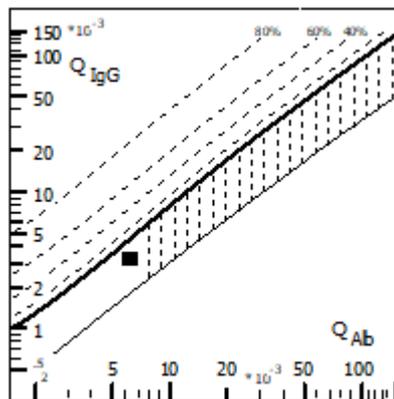
Edad: 59

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
306.00	40.50	48.76	12.21

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.3 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

71) ID del paciente: 1900036578

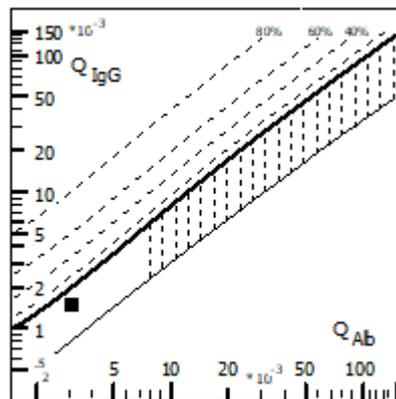
Edad: 19

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
125.00	13.50	39.94	9.16

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.1 y cociente de IgG = 1.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									
save to (Export Format)					save to (Export Format)				
Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction									
	Number	QAlb - frequencies							
> +10 % Level	n (10)			0					
> +20 % Level	n (20)			0					
Total number	N			1					
save to (Export Format)									

72) ID del paciente: 1900037683

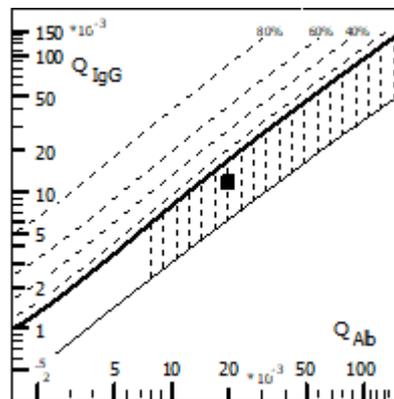
Edad: 42

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
910.00	107.00	45.56	9.05

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 20 y cociente de IgG = 11.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

73) ID del paciente: 1900038378

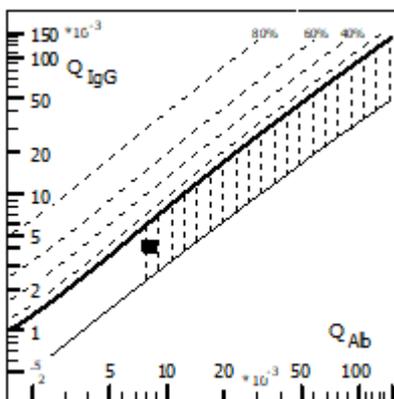
Edad: 84

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
256.00	65.40	31.28	16.08

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.2 y cociente de IgG = 4.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

74) ID del paciente: 1900039028

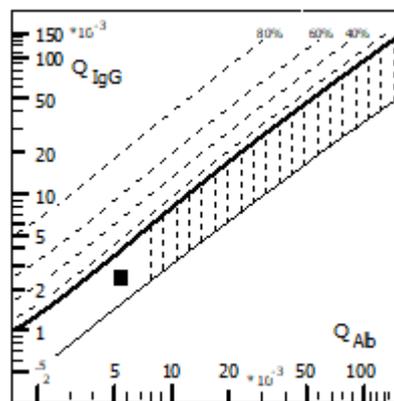
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
215.00	22.60	38.85	9.44

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.5 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
		IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

75) ID del paciente: 1900080368

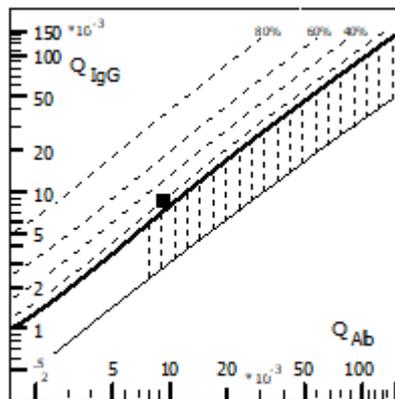
Edad: 70

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
371.00	55.70	39.62	6.50

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.4 y cociente de IgG = 8.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 4 (con disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis					
		Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM	
MV					> 3s Level	n (3)	1	0	0	
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	1	0	0	
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0	
N=										

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

76) ID del paciente: 1900081416

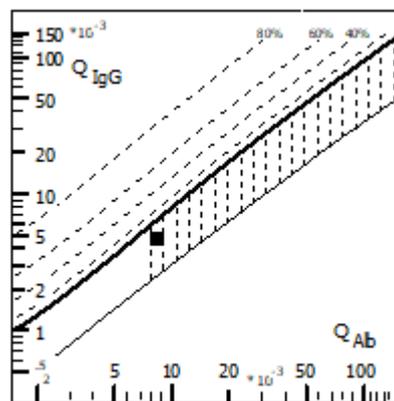
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
366.00	48.30	42.56	10.04

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.6 y cociente de IgG = 4.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

77) ID del paciente: 1900081545

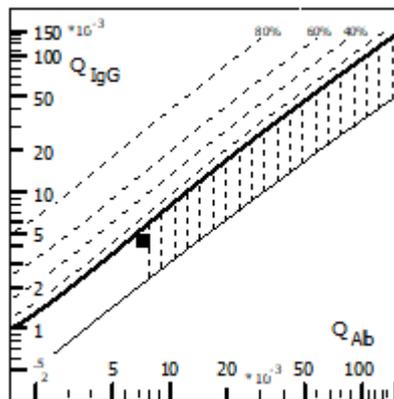
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
371.00	43.60	49.82	9.91

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.4 y cociente de IgG = 4.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
		Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

78) ID del paciente: 1950043592

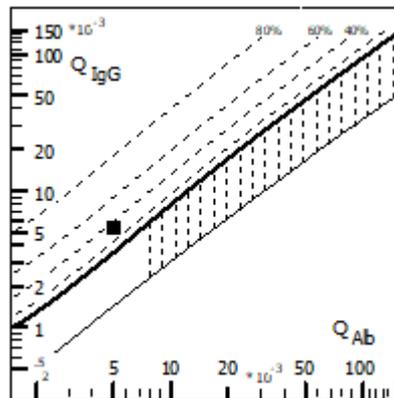
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
189.00	69.70	37.37	12.81

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.1 y cociente de IgG = 5.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

79) ID del paciente: 1950058901

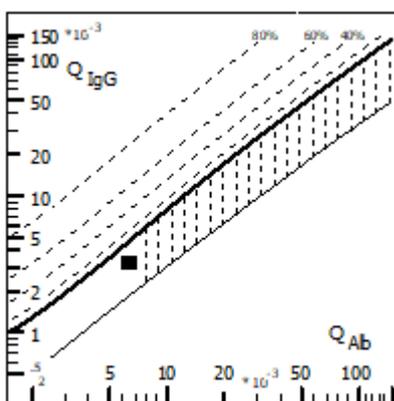
Edad: 87

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
256.00	27.60	39.31	8.30

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.5 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

80) ID del paciente: 1950074059

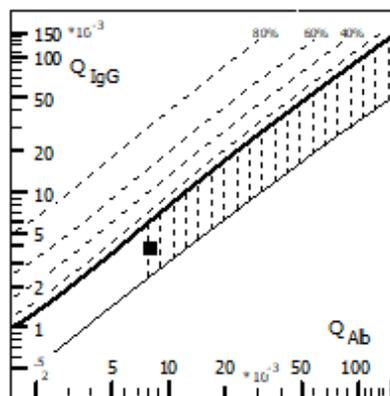
Edad: 81

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
236.00	50.80	29.11	13.37

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.1 y cociente de IgG = 3.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

81) ID del paciente: 1900035740

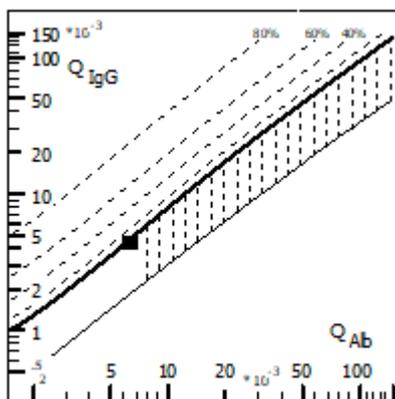
Edad: 48

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
310.00	24.40	48.01	5.60

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.5 y cociente de IgG = 4.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

82) ID del paciente: 1810929589

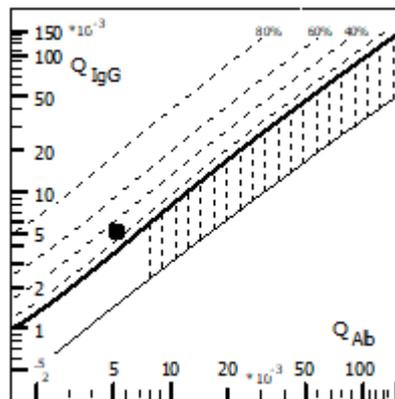
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
243.00	51.20	45.44	9.95

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.3 y cociente de IgG = 5.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

83) ID del paciente: 1811006678

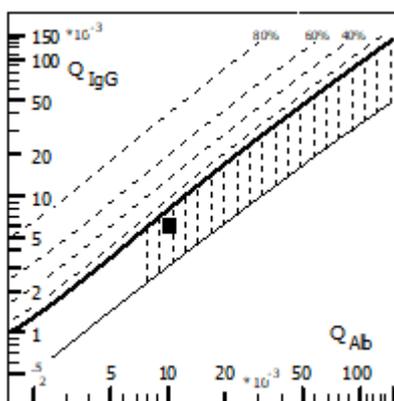
Edad: 77

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
387.00	55.90	36.96	9.14

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10.5 y cociente de IgG = 6.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

84) ID del paciente: 1811015450

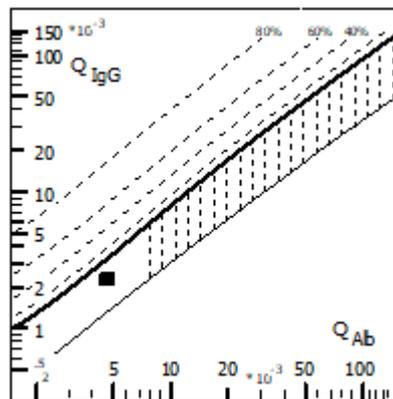
Edad: 89

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
212.00	20.90	44.78	9.16

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.7 y cociente de IgG = 2.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

85) ID del paciente: 1811016607

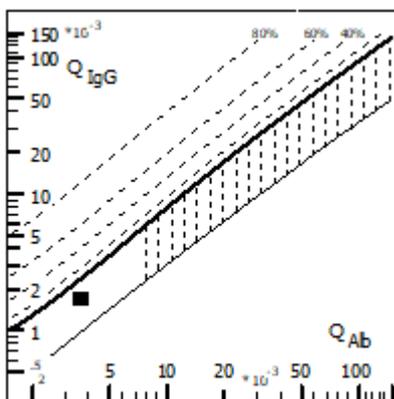
Edad: 62

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
146.00	18.90	41.07	10.84

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.6 y cociente de IgG = 1.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

86) ID del paciente: 1811024151

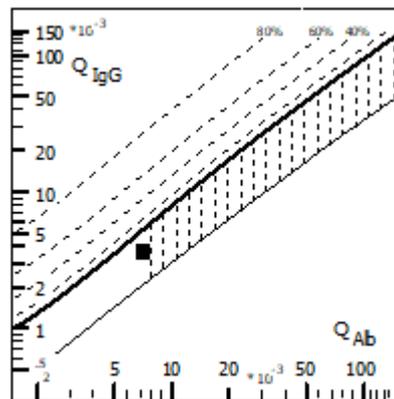
Edad: 67

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
368.00	33.50	50.72	9.28

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.3 y cociente de IgG = 3.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

87) ID del paciente: 1811025412

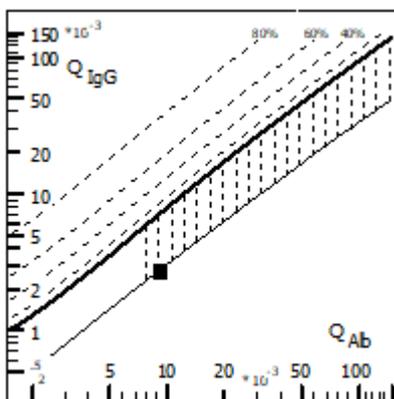
Edad: 86

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
306.00	45.00	32.70	16.8

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.4 y cociente de IgG = 2.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

88) ID del paciente: 1811027391

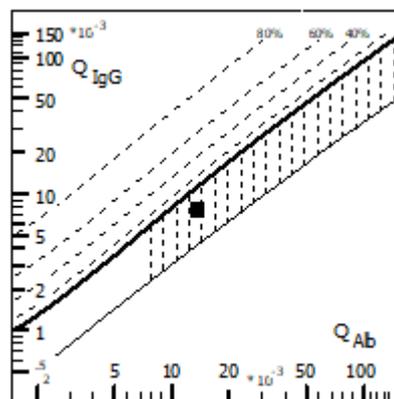
Edad: 30

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
402.00	76.60	28.79	10.11

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 14 y cociente de IgG = 7.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

89) ID del paciente: 1811027501

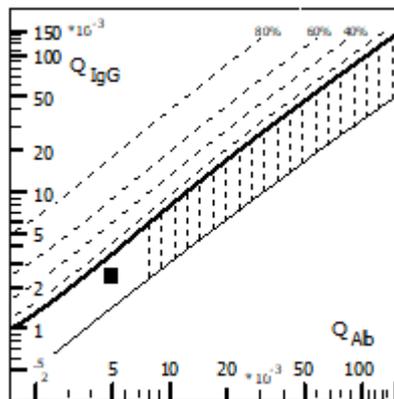
Edad: 85

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
202.00	28.50	40.06	12.11

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

90) ID del paciente: 1811030414

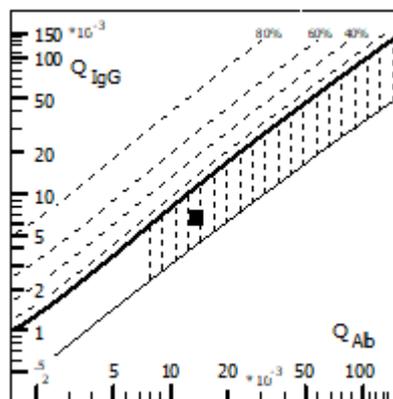
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
599.00	69.20	43.19	10.14

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 13.9 y cociente de IgG = 6.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

91) ID del paciente: 1811031086

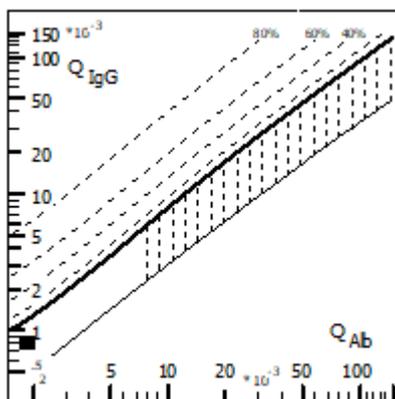
Edad: 32

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
84.00	7.70	44.69	9.62

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 1.9 y cociente de IgG = 0.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

92) ID del paciente: 1811033343

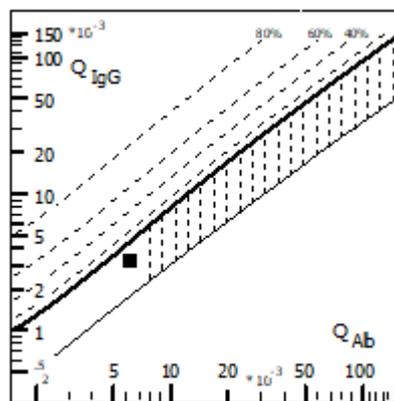
Edad: 44

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
255.00	27.40	41.21	8.29

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.2 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

93) ID del paciente: 1811034847

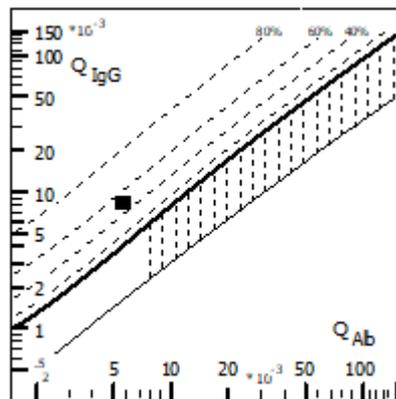
Edad: 57

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
244.00	68.00	42.78	8.13

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.7 y cociente de IgG = 8.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
		IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	1	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	1	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									
save to (Export Format)					save to (Export Format)				
Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction									
	Number	QAlb - frequencies							
> +10 % Level	n (10)			0					
> +20 % Level	n (20)			0					
Total number	N			1					
save to (Export Format)									

94) ID del paciente: 1811054662

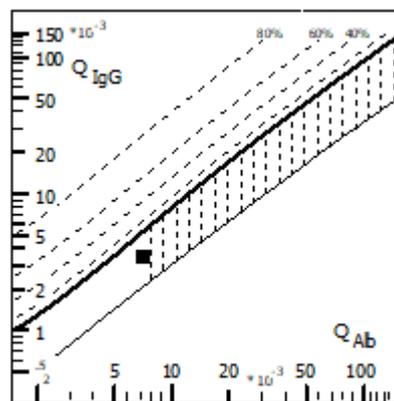
Edad: 64

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
317.00	41.60	43.13	12.16

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.3 y cociente de IgG = 3.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

95) ID del paciente: 1811059975

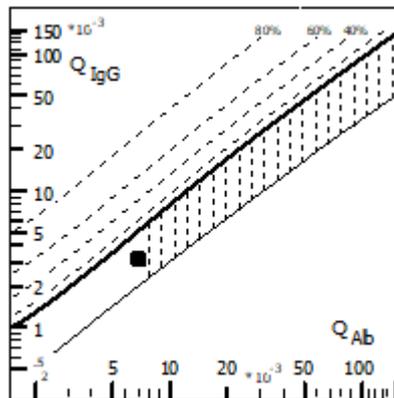
Edad: 64

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
279.00	35.60	40.65	11.29

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.9 y cociente de IgG = 3.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

96) ID del paciente: 1811061430

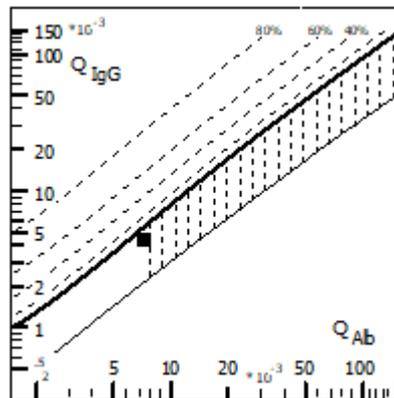
Edad: 63

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
305.00	43.00	41.24	9.68

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.4 y cociente de IgG = 4.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

97) ID del paciente: 1811071593

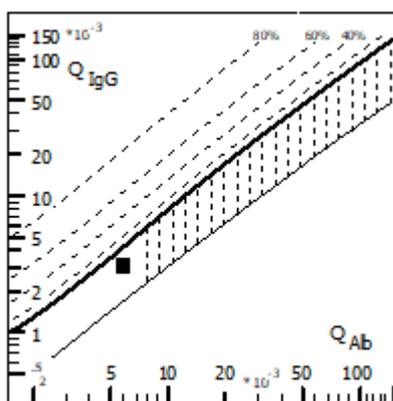
Edad: 42

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
199.00	29.70	33.37	9.68

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6 y cociente de IgG = 3.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

98) ID del paciente: 1811073199

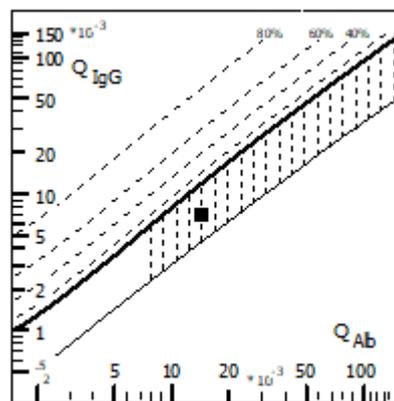
Edad: 84

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
505.00	73.10	34.94	10.26

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 14.5 y cociente de IgG = 7.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L		
		IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

99) ID del paciente: 1811078792

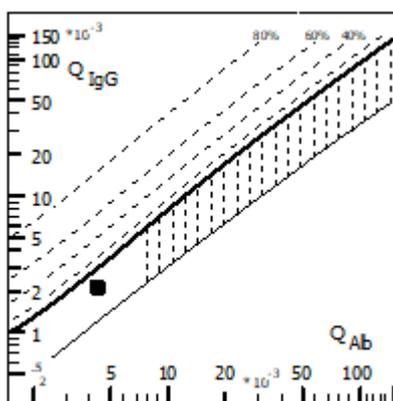
Edad: 85

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
198.00	26.00	44.95	12.16

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.4 y cociente de IgG = 2.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

100) **ID del paciente: 1811081006**

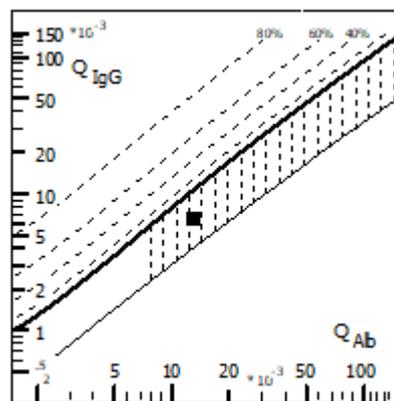
Edad: 82

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
547.00	47.40	41.33	7.2

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 13.2 y cociente de IgG = 6.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

101) **ID del paciente: 1811094283**

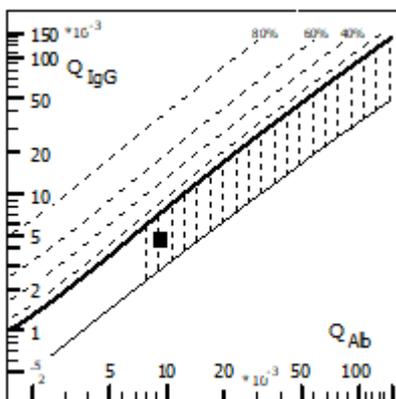
Edad: 71

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
335.00	45.30	35.60	9.87

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.4 y cociente de IgG = 4.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

102) ID del paciente: 1811095378

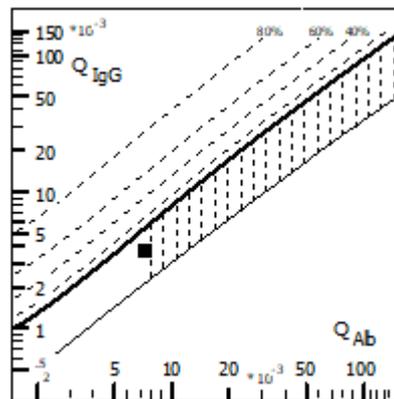
Edad: 58

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
312.00	36.00	42.21	9.73

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.4 y cociente de IgG = 3.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

103) **ID del paciente: 1811096093**

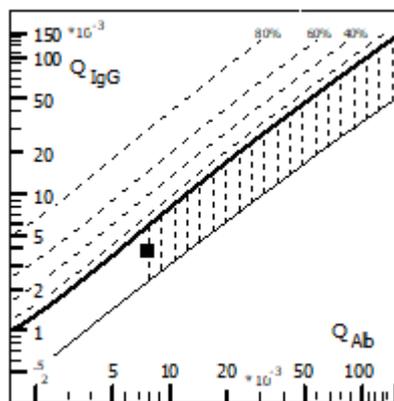
Edad: 82

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
282.00	49.80	35.99	13

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.8 y cociente de IgG = 3.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis					
		Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM	
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0	
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0	
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0	
N=										

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

104) ID del paciente: 1811096563

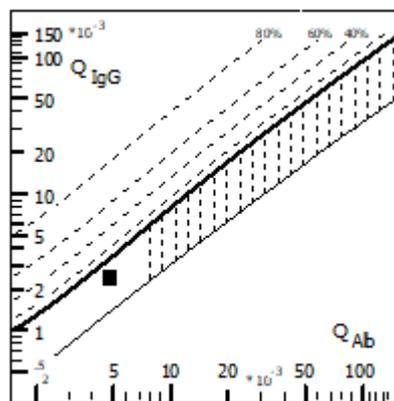
Edad: 71

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
220.00	36.80	44.62	15.5

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.9 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

105) **ID del paciente: 1811096944**

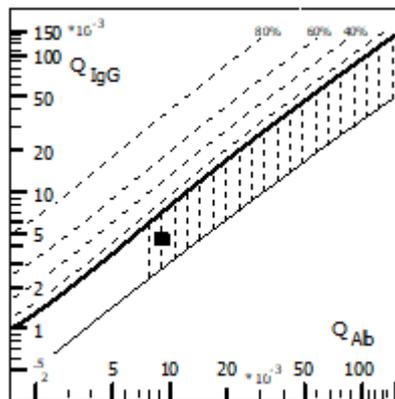
Edad: 66

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
368.00	54.10	39.54	12.07

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 9.3 y cociente de IgG = 4.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero sí disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis					
		Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM	
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0	
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0	
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0	
N=										

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

106) ID del paciente: 1811097102

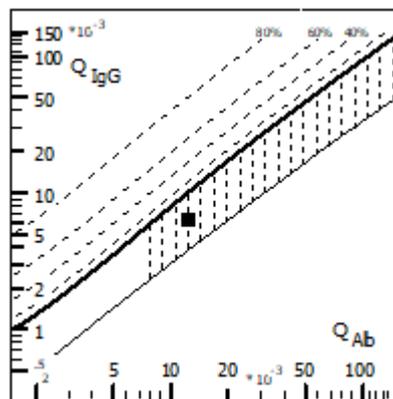
Edad: 66

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
439.00	79.50	34.96	12.66

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 12.6 y cociente de IgG = 6.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

107) **ID del paciente: 1811098301**

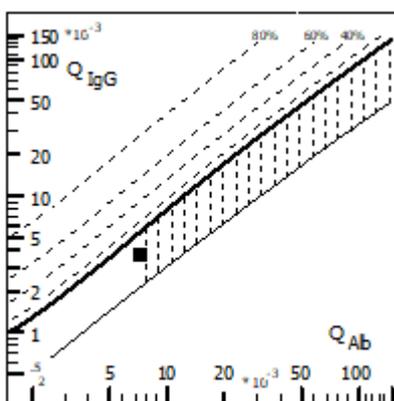
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
284.00	45.00	38.46	12.19

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.4 y cociente de IgG = 3.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

108) **ID del paciente: 1811210903**

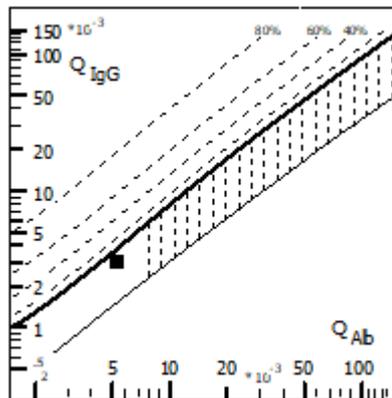
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
172.00	27.10	31.63	8.99

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.4 y cociente de IgG = 3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

109) **ID del paciente: 1811231766**

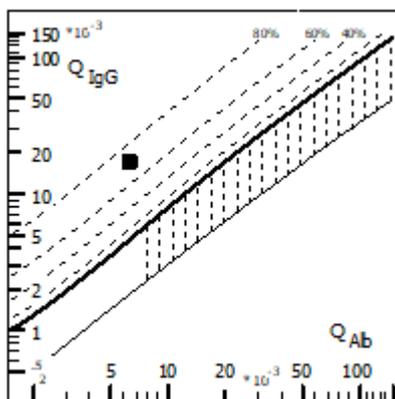
Edad: 20

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
258.00	239.00	40.56	13.97

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.4 y cociente de IgG = 17.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) y disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

110) ID del paciente: 1900032251

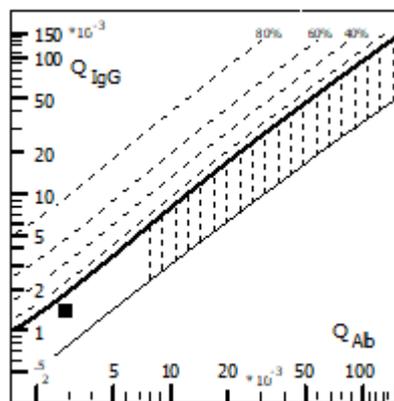
Edad: 64

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
118.00	33.80	40.53	23.92

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.9 y cociente de IgG = 1.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

111) **ID del paciente: 1900032280**

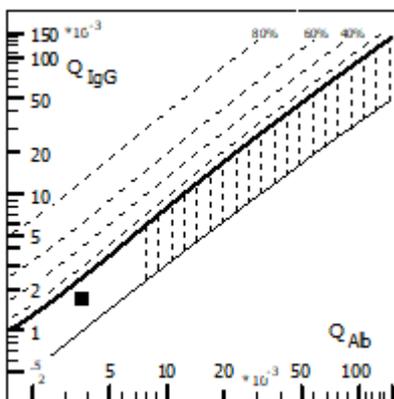
Edad: 74

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
165.00	20.90	44.64	12.62

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.7 y cociente de IgG = 1.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

112) ID del paciente: 1900032352

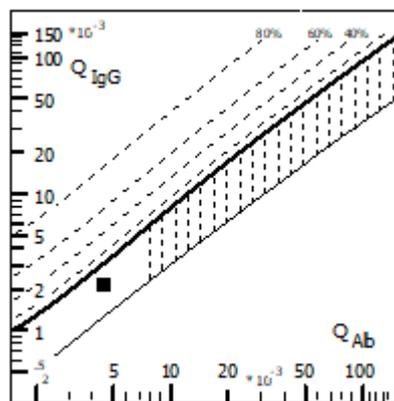
Edad: 71

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
178.00	22.40	38.54	10.1

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.6 y cociente de IgG = 2.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

113) **ID del paciente: 1900035444**

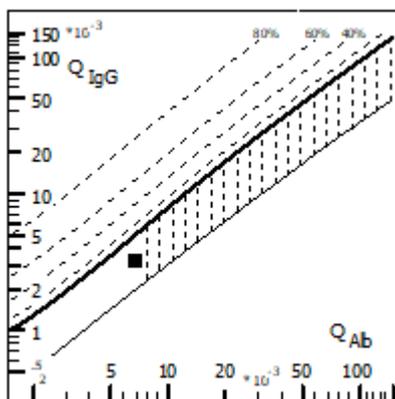
Edad: 51

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
300.00	31.00	44.09	9.34

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.8 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

114) ID del paciente: 1900036003

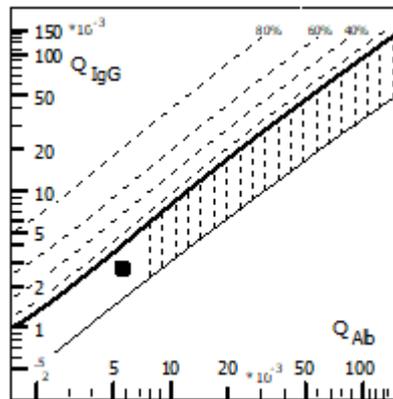
Edad: 46

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
228.00	27.40	40.34	10.09

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.7 y cociente de IgG = 2.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis				
	QAlb	Ig Loc (mean) mg/L				intrathecal synthesis			
		IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0
N=									

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

115) **ID del paciente: 1900036089**

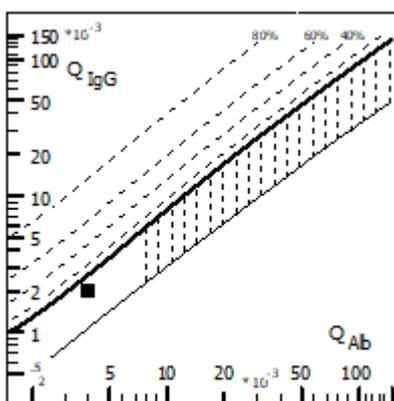
Edad: 21

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
162.00	24.40	41.16	12.13

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.9 y cociente de IgG = 2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

116) ID del paciente: 1900036091

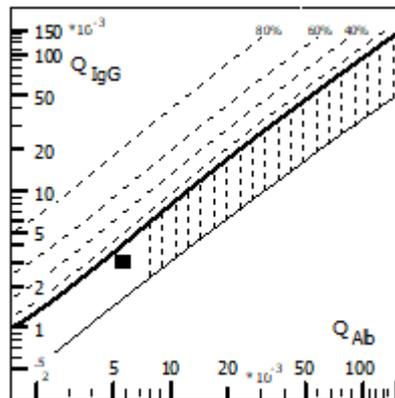
Edad: 75

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
275.00	38.00	47.66	12.48

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.8 y cociente de IgG = 3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

117) **ID del paciente: 1900036163**

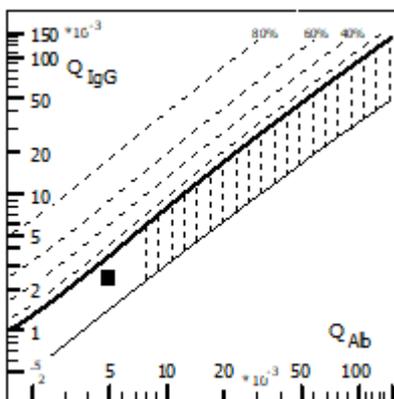
Edad: 52

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
221.00	17.70	44.01	7.29

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

118) ID del paciente: 1900036244

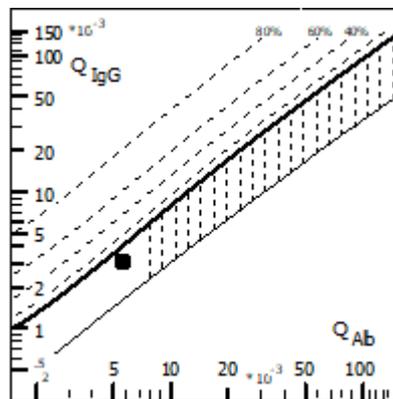
Edad: 56

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
285.00	24.70	48.99	7.95

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.8 y cociente de IgG = 3.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) ni tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
▶ N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
▶ > 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
▶ > +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

119) **ID del paciente: 1900036367**

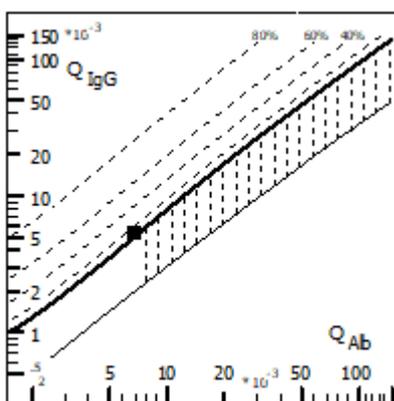
Edad: 24

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
305.00	46.30	45.04	8.5

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.8 y cociente de IgG = 5.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) y disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

120) **ID del paciente: 1900037183**

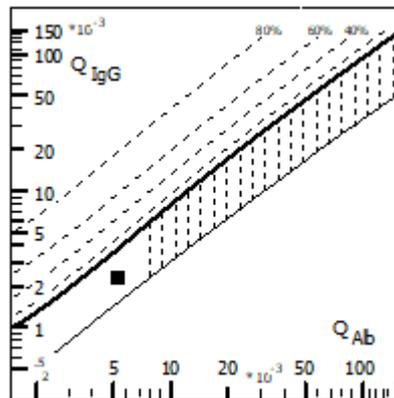
Edad: 71

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
226.00	25.60	41.98	11.04

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.4 y cociente de IgG = 2.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

121) **ID del paciente: 1900037205**

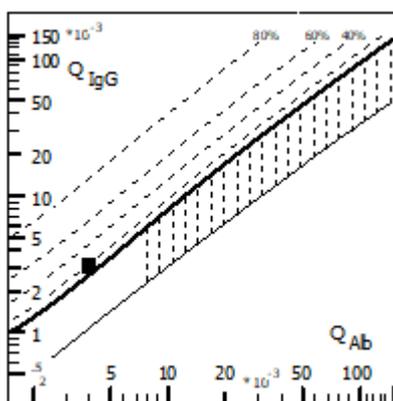
Edad: 37

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
144.00	14.20	36.96	5.8

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.9 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero no disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

122) ID del paciente: 1900037247

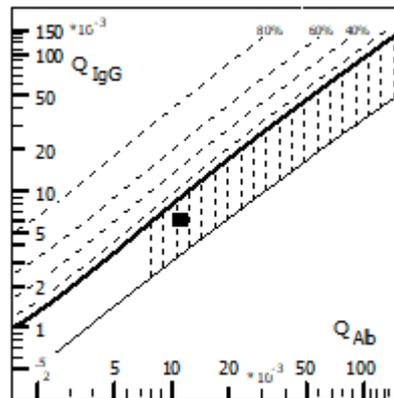
Edad: 73

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
417.00	38.10	37.36	6.15

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 11.2 y cociente de IgG = 6.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis					
		Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM	
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0	
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0	
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0	
N=										

save to (Export Format)

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

123) **ID del paciente: 1900037248**

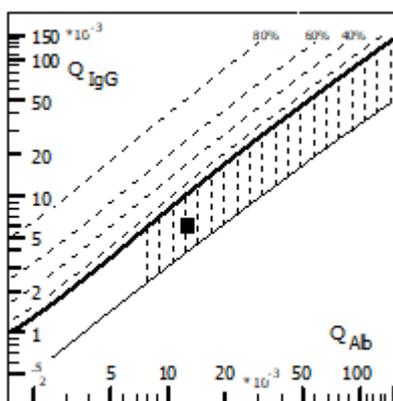
Edad: 77

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
564.00	58.40	44.05	9.67

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 12.8 y cociente de IgG = 6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

124) **ID del paciente: 1900037282**

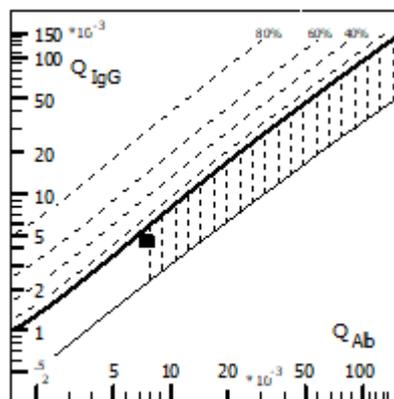
Edad: 50

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
362.00	38.20	47.43	8.58

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7.6 y cociente de IgG = 4.5. Esto sitúa a este paciente en la zona (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

125) **ID del paciente: 1900037299**

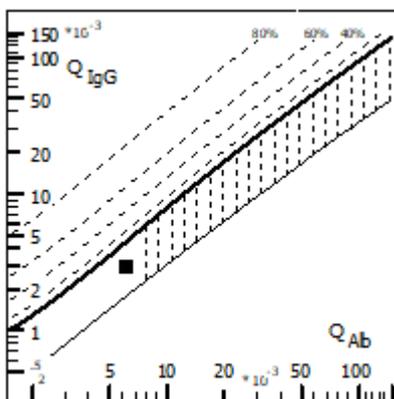
Edad: 52

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
269.00	30.20	43.35	10.48

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.2 y cociente de IgG = 2.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

126) ID del paciente: 1900037369

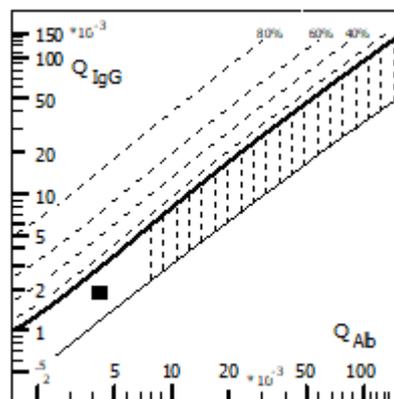
Edad: 65

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
207.00	23.20	47.62	12.19

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 4.3 y cociente de IgG = 1.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis					Frequencies of intrathecal Ig-synthesis					
		Ig Loc (mean) mg/L					intrathecal synthesis			
	QAlb	IgG	IgA	IgM		Number	IgG	IgA	IgM	
MV					> 3s Level	n (3)	0	0	0	
SD	N/A	N/A	N/A	N/A	> 2s Level	n (2)	0	0	0	
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	Total number	N	1	0	0	
N=					save to (Export Format)					

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction		
	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1
save to (Export Format)		

127) **ID del paciente: 1900037722**

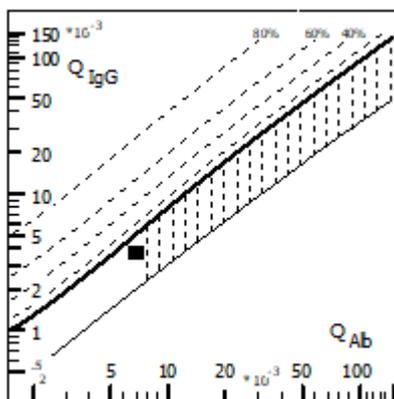
Edad: 61

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
316.00	38.00	45.06	10.36

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7 y cociente de IgG = 3.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

128) ID del paciente: 1900037982

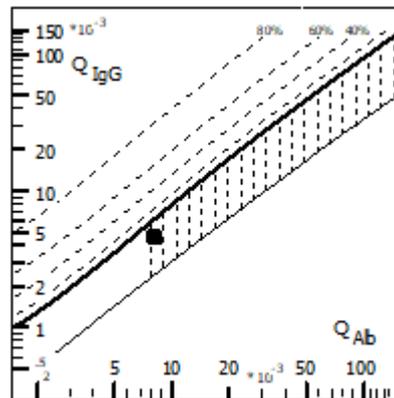
Edad: 85

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
335.00	41.90	40.84	9.17

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.2 y cociente de IgG = 4.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

129) **ID del paciente: 1900038031**

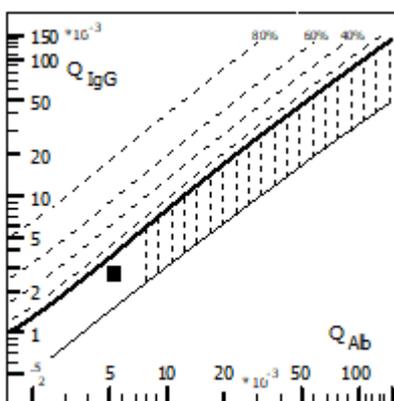
Edad: 63

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
229.00	31.10	42.39	11.71

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.4 y cociente de IgG = 2.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

130) ID del paciente: 1900038063

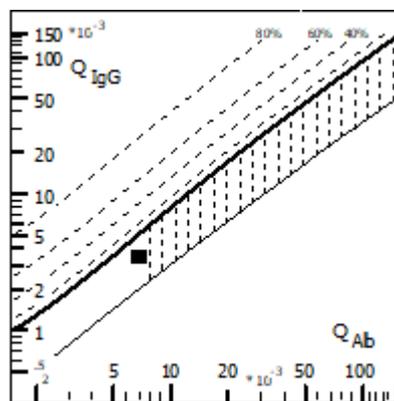
Edad: 81

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
288.00	25.20	41.21	7.51

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7 y cociente de IgG = 3.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

131) **ID del paciente: 1900038366**

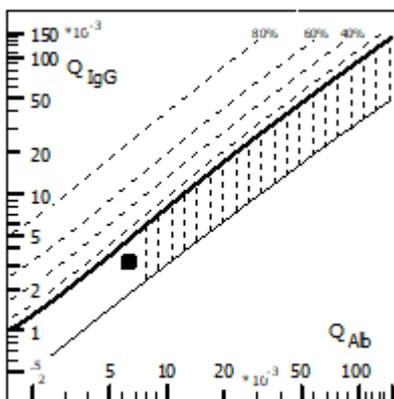
Edad: 84

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
249.00	33.50	38.95	10.48

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.4 y cociente de IgG = 3.2. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

132) ID del paciente: 1900038401

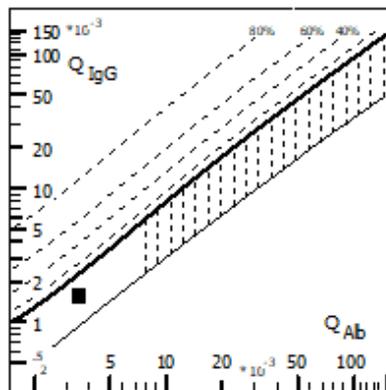
Edad: 62

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
120.00	12.20	34.69	7.87

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.5 y cociente de IgG = 1.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

133) **ID del paciente: 1900038501**

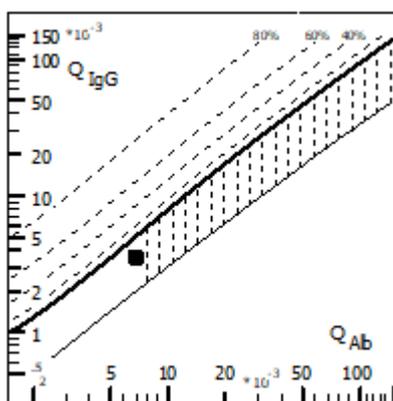
Edad: 78

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
264.00	27.30	37.51	7.88

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 7 y cociente de IgG = 3.5. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

134) ID del paciente: 1900080513

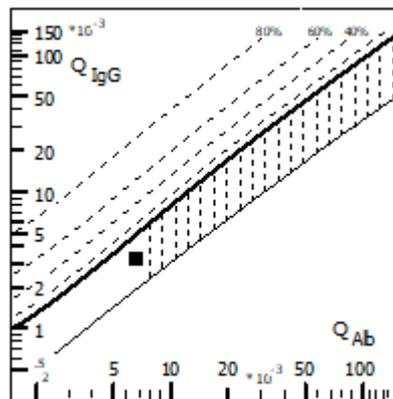
Edad: 82

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
289.00	29.60	42.98	8.96

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 6.7 y cociente de IgG = 3.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

135) **ID del paciente: 1900080546**

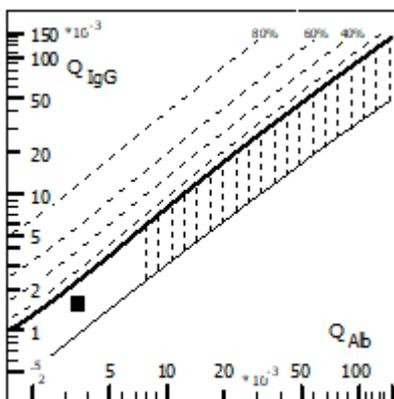
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
159.00	12.00	45.87	7.66

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.5 y cociente de IgG = 1.6. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

136) ID del paciente: 1900080598

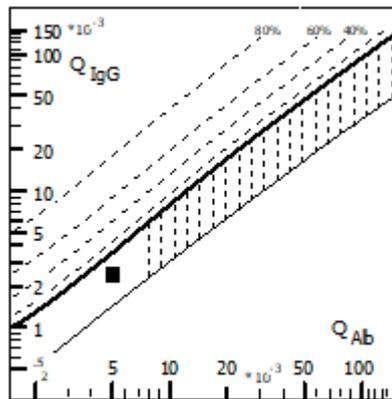
Edad: 58

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
234.00	32.20	45.61	13.52

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.1 y cociente de IgG = 2.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

137) **ID del paciente: 1900080789**

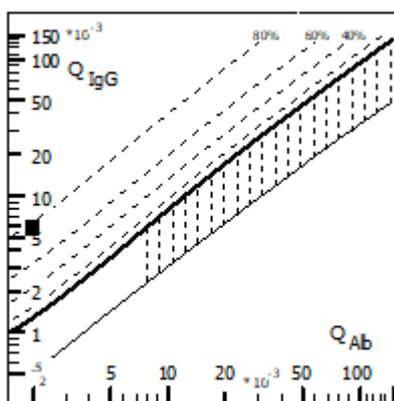
Edad: 28

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
73.00	85.00	36.42	14.63

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2 y cociente de IgG = 5.8. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

138) **ID del paciente: 1900080993**

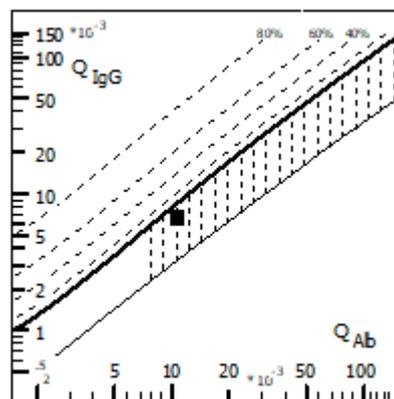
Edad: 75

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
299.00	91.80	27.80	13.63

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 10.8 y cociente de IgG = 6.7. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	1
Total number	N	1

save to (Export Format)

139) **ID del paciente: 1900081084**

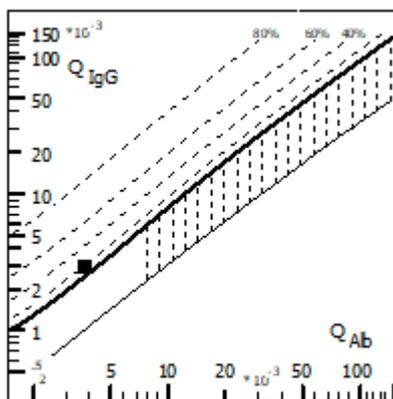
Edad: 33

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
176.00	28.00	46.54	9.55

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 3.8 y cociente de IgG = 2.9. Esto sitúa a este paciente en la zona 3 (sin disfunción de la barrera y con producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 1) pero sin disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	intrathecal synthesis			
	Number	IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	1	0	0
> 2s Level	n (2)	1	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

140) ID del paciente: 1900081489

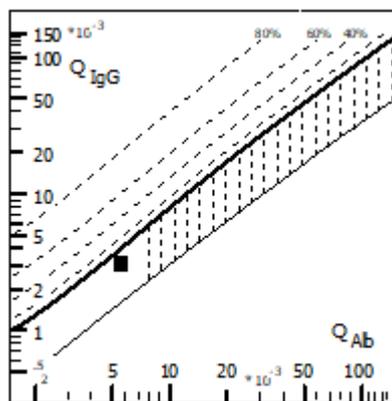
Edad: 53

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
261.00	44.40	46.51	14.52

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 5.6 y cociente de IgG = 3.1. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	0
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

141) **ID del paciente: 1900081650**

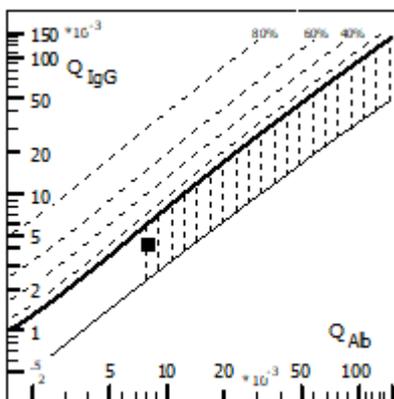
Edad: 49

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
361.00	55.60	44.47	12.91

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 8.1 y cociente de IgG = 4.3. Esto sitúa a este paciente en la zona 2 (con disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) pero si disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 1).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

142) ID del paciente: 1900081755

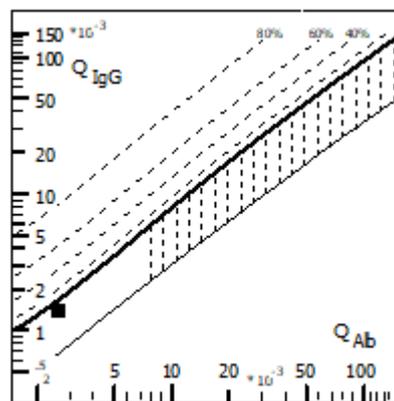
Edad: 46

Valores de albúmina e IgG:

LCR Alb (mg/l)	LCR IgG (mg/l)	Suero Alb (g/l)	Suero IgG (g/l)
110.00	17.30	41.91	12.05

Resultado AI: Positivo

Reibergrama del paciente: Cociente de albúmina = 2.6 y cociente de IgG = 1.4. Esto sitúa a este paciente en la zona 1 (sin disfunción de la barrera y sin producción intratecal de IgG).



Análisis de datos: El paciente no presentaba síntesis intratecal de acuerdo a la tabla de frecuencias (valor igual a 0) y tampoco disfunción de la barrera hematoencefálica (valor igual a 0).

Intensities of intrathecal Ig-synthesis

	Ig Loc (mean) mg/L			
	QAlb	IgG	IgA	IgM
MV				
SD	N/A	N/A	N/A	N/A
CV	N/A	N/A	N/A	N/A
N=				

save to (Export Format)

Frequencies of intrathecal Ig-synthesis

	Number	intrathecal synthesis		
		IgG	IgA	IgM
> 3s Level	n (3)	0	0	0
> 2s Level	n (2)	0	0	0
Total number	N	1	0	0

save to (Export Format)

Frequencies of Blood-CSF barrier dysfunction

	Number	QAlb - frequencies
> +10 % Level	n (10)	1
> +20 % Level	n (20)	0
Total number	N	1

save to (Export Format)

ANEXO II. ESTUDIO DEL PUNTO DE CORTE PARA MUESTRAS NEGATIVAS DE LCR

POSITIVE GROUP = POBLACIÓN="POS"

Sample size = 89

NEGATIVE GROUP = POBLACIÓN="NEG"

Sample size = 50

Area under the ROC curve = 0.961

Standard error = 0.015

95% Confidence interval = 0.914 to 0.987

Criterion	Sens. (95% C.I.)	Spec. (95% C.I.)	+LR	-LR
> 0.001	100.0 (100.0-100.0)	44.0 (30.0- 58.7)	1.79	0.00
> 0.009	100.0 (100.0-100.0)	48.0 (33.7- 62.6)	1.92	0.00
> 0.01	100.0 (100.0-100.0)	50.0 (35.5- 64.5)	2.00	0.00
> 0.013	100.0 (100.0-100.0)	52.0 (37.4- 66.3)	2.08	0.00
> 0.015	100.0 (100.0-100.0)	54.0 (39.3- 68.2)	2.17	0.00
> 0.022	100.0 (100.0-100.0)	58.0 (43.2- 71.8)	2.38	0.00
> 0.028	100.0 (100.0-100.0)	60.0 (45.2- 73.6)	2.50	0.00
> 0.031	100.0 (100.0-100.0)	62.0 (47.2- 75.3)	2.63	0.00
> 0.036	100.0 (100.0-100.0)	66.0 (51.2- 78.8)	2.94	0.00
> 0.053	100.0 (100.0-100.0)	68.0 (53.3- 80.5)	3.13	0.00
> 0.057	100.0 (100.0-100.0)	70.0 (55.4- 82.1)	3.33	0.00
> 0.063	100.0 (100.0-100.0)	72.0 (57.5- 83.8)	3.57	0.00

ANEXOS

> 0.081	100.0 (100.0-100.0)	74.0 (59.7- 85.4)	3.85	0.00
> 0.128	100.0 (100.0-100.0)	76.0 (61.8- 86.9)	4.17	0.00
> 0.135	100.0 (100.0-100.0)	78.0 (64.0- 88.5)	4.55	0.00
> 0.144	100.0 (100.0-100.0)	80.0 (66.3- 90.0)	5.00	0.00
> 0.177	100.0 (100.0-100.0)	82.0 (68.6- 91.4)	5.56	0.00
> 0.209	100.0 (100.0-100.0)	84.0 (70.9- 92.8)	6.25	0.00
> 0.253	100.0 (100.0-100.0)	86.0 (73.3- 94.2)	7.14	0.00
> 0.28	97.8 (92.1- 99.7)	86.0 (73.3- 94.2)	6.98	0.03
> 0.285	97.8 (92.1- 99.7)	88.0 (75.7- 95.4)	8.15	0.03
> 0.298 *	97.8 (92.1- 99.7)	90.0 (78.2- 96.6)	9.78	0.02
> 0.301	96.6 (90.5- 99.3)	90.0 (78.2- 96.6)	9.66	0.04
> 0.329	95.5 (88.9- 98.7)	90.0 (78.2- 96.6)	9.55	0.05
> 0.336	95.5 (88.9- 98.7)	92.0 (80.7- 97.7)	11.94	0.05
> 0.341	94.4 (87.4- 98.1)	92.0 (80.7- 97.7)	11.80	0.06
> 0.35	93.3 (85.9- 97.5)	92.0 (80.7- 97.7)	11.66	0.07
> 0.369	92.1 (84.5- 96.8)	92.0 (80.7- 97.7)	11.52	0.09
> 0.37	91.0 (83.0- 96.0)	92.0 (80.7- 97.7)	11.38	0.10
> 0.388	89.9 (81.7- 95.3)	92.0 (80.7- 97.7)	11.24	0.11
> 0.39	88.8 (80.3- 94.5)	92.0 (80.7- 97.7)	11.10	0.12
> 0.393	87.6 (79.0- 93.7)	92.0 (80.7- 97.7)	10.96	0.13
> 0.407	86.5 (77.6- 92.8)	92.0 (80.7- 97.7)	10.81	0.15

> 0.447	85.4 (76.3- 92.0)	92.0 (80.7- 97.7)	10.67	0.16
> 0.462	84.3 (75.0- 91.1)	92.0 (80.7- 97.7)	10.53	0.17
> 0.483	84.3 (75.0- 91.1)	94.0 (83.4- 98.7)	14.04	0.17
> 0.537	83.1 (73.7- 90.2)	94.0 (83.4- 98.7)	13.86	0.18
> 0.546	82.0 (72.5- 89.4)	94.0 (83.4- 98.7)	13.67	0.19
> 0.555	80.9 (71.2- 88.5)	94.0 (83.4- 98.7)	13.48	0.20
> 0.576	79.8 (69.9- 87.5)	94.0 (83.4- 98.7)	13.30	0.22
> 0.594	78.7 (68.7- 86.6)	94.0 (83.4- 98.7)	13.11	0.23
> 0.603	77.5 (67.4- 85.7)	94.0 (83.4- 98.7)	12.92	0.24
> 0.63	75.3 (65.0- 83.8)	94.0 (83.4- 98.7)	12.55	0.26
> 0.665	74.2 (63.8- 82.9)	94.0 (83.4- 98.7)	12.36	0.27
> 0.684	73.0 (62.6- 81.9)	94.0 (83.4- 98.7)	12.17	0.29
> 0.696	71.9 (61.4- 80.9)	94.0 (83.4- 98.7)	11.99	0.30
> 0.699	71.9 (61.4- 80.9)	96.0 (86.3- 99.4)	17.98	0.29
> 0.723	70.8 (60.2- 79.9)	96.0 (86.3- 99.4)	17.70	0.30
> 0.74	69.7 (59.0- 79.0)	96.0 (86.3- 99.4)	17.42	0.32
> 0.746	68.5 (57.8- 78.0)	96.0 (86.3- 99.4)	17.13	0.33
> 0.747	67.4 (56.7- 77.0)	96.0 (86.3- 99.4)	16.85	0.34
> 0.75	65.2 (54.3- 75.0)	96.0 (86.3- 99.4)	16.29	0.36
> 0.751	64.0 (53.2- 73.9)	96.0 (86.3- 99.4)	16.01	0.37
> 0.755	62.9 (52.0- 72.9)	96.0 (86.3- 99.4)	15.73	0.39

ANEXOS

> 0.759	61.8 (50.9- 71.9)	96.0 (86.3- 99.4)	15.45	0.40
> 0.773	60.7 (49.7- 70.9)	96.0 (86.3- 99.4)	15.17	0.41
> 0.813	59.6 (48.6- 69.8)	96.0 (86.3- 99.4)	14.89	0.42
> 0.826	58.4 (47.5- 68.8)	96.0 (86.3- 99.4)	14.61	0.43
> 0.851	57.3 (46.4- 67.7)	96.0 (86.3- 99.4)	14.33	0.44
> 0.862	56.2 (45.3- 66.7)	96.0 (86.3- 99.4)	14.04	0.46
> 0.866	55.1 (44.1- 65.6)	96.0 (86.3- 99.4)	13.76	0.47
> 0.89	53.9 (43.0- 64.6)	96.0 (86.3- 99.4)	13.48	0.48
> 0.908	52.8 (41.9- 63.5)	96.0 (86.3- 99.4)	13.20	0.49
> 0.914	51.7 (40.8- 62.4)	96.0 (86.3- 99.4)	12.92	0.50
> 0.933	50.6 (39.8- 61.3)	96.0 (86.3- 99.4)	12.64	0.51
> 1.017	49.4 (38.7- 60.2)	96.0 (86.3- 99.4)	12.36	0.53
> 1.028	48.3 (37.6- 59.2)	96.0 (86.3- 99.4)	12.08	0.54
> 1.03	47.2 (36.5- 58.1)	96.0 (86.3- 99.4)	11.80	0.55
> 1.069	46.1 (35.4- 57.0)	96.0 (86.3- 99.4)	11.52	0.56
> 1.094	44.9 (34.4- 55.9)	96.0 (86.3- 99.4)	11.24	0.57
> 1.13	43.8 (33.3- 54.7)	96.0 (86.3- 99.4)	10.96	0.59
> 1.149	42.7 (32.3- 53.6)	96.0 (86.3- 99.4)	10.67	0.60
> 1.167	41.6 (31.2- 52.5)	96.0 (86.3- 99.4)	10.39	0.61
> 1.168	40.4 (30.2- 51.4)	96.0 (86.3- 99.4)	10.11	0.62
> 1.177	39.3 (29.1- 50.3)	96.0 (86.3- 99.4)	9.83	0.63

> 1.18	38.2 (28.1- 49.1)	96.0 (86.3- 99.4)	9.55	0.64
> 1.181	38.2 (28.1- 49.1)	98.0 (89.3- 99.7)	19.10	0.63
> 1.187	37.1 (27.1- 48.0)	98.0 (89.3- 99.7)	18.54	0.64
> 1.2	36.0 (26.1- 46.8)	98.0 (89.3- 99.7)	17.98	0.65
> 1.207	34.8 (25.0- 45.7)	98.0 (89.3- 99.7)	17.42	0.66
> 1.248	33.7 (24.0- 44.5)	98.0 (89.3- 99.7)	16.85	0.68
> 1.265	32.6 (23.0- 43.3)	98.0 (89.3- 99.7)	16.29	0.69
> 1.295	31.5 (22.0- 42.2)	98.0 (89.3- 99.7)	15.73	0.70
> 1.35	30.3 (21.0- 41.0)	98.0 (89.3- 99.7)	15.17	0.71
> 1.364	29.2 (20.1- 39.8)	98.0 (89.3- 99.7)	14.61	0.72
> 1.369	28.1 (19.1- 38.6)	98.0 (89.3- 99.7)	14.04	0.73
> 1.382	27.0 (18.1- 37.4)	98.0 (89.3- 99.7)	13.48	0.75
> 1.4	25.8 (17.1- 36.2)	98.0 (89.3- 99.7)	12.92	0.76
> 1.415	24.7 (16.2- 35.0)	98.0 (89.3- 99.7)	12.36	0.77
> 1.427	23.6 (15.2- 33.8)	98.0 (89.3- 99.7)	11.80	0.78
> 1.439	22.5 (14.3- 32.6)	98.0 (89.3- 99.7)	11.24	0.79
> 1.462	21.3 (13.4- 31.3)	98.0 (89.3- 99.7)	10.67	0.80
> 1.466	21.3 (13.4- 31.3)	100.0 (100.0-100.0)		0.79
> 1.47	20.2 (12.5- 30.1)	100.0 (100.0-100.0)		0.80
> 1.67	19.1 (11.5- 28.8)	100.0 (100.0-100.0)		0.81
> 1.703	18.0 (10.6- 27.5)	100.0 (100.0-100.0)		0.82

ANEXOS

> 1.716	16.9 (9.8- 26.3)	100.0 (100.0-100.0)	0.83
> 1.75	15.7 (8.9- 25.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.84
> 1.761	14.6 (8.0- 23.7)	100.0 (100.0-100.0)	0.85
> 1.772	13.5 (7.2- 22.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.87
> 1.822	12.4 (6.3- 21.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.88
> 1.828	11.2 (5.5- 19.7)	100.0 (100.0-100.0)	0.89
> 1.845	10.1 (4.7- 18.3)	100.0 (100.0-100.0)	0.90
> 2.018	9.0 (4.0- 17.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.91
> 2.05	7.9 (3.2- 15.5)	100.0 (100.0-100.0)	0.92
> 2.307	6.7 (2.5- 14.1)	100.0 (100.0-100.0)	0.93
> 2.56	5.6 (1.9- 12.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.94
> 2.88	4.5 (1.3- 11.1)	100.0 (100.0-100.0)	0.96
> 2.89	3.4 (0.7- 9.5)	100.0 (100.0-100.0)	0.97
> 3.83	2.2 (0.3- 7.9)	100.0 (100.0-100.0)	0.98
> 4.01	1.1 (0.2- 6.1)	100.0 (100.0-100.0)	0.99
> 5.35	0.0 (0.0- 0.0)	100.0 (100.0-100.0)	1.00

Sens. = Sensitivity

Spec. = Specificity

+LR = Positive likelihood ratio

-LR = Negative likelihood ratio

ANEXO III. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Valores en RLU del estudio de precisión para la muestra positiva de sarampión IgG - HMN1071761 (A-108-075).

REPLICA	FECHA	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU
1	22/05/2023	0.599	0.592	0.596	0.547	0.527	0.537
2	23/05/2023	0.680	0.676	0.678	0.516	0.527	0.522
3	24/05/2023	0.611	0.620	0.616	0.513	0.475	0.494
4	26/05/2023	0.617	0.581	0.599	0.519	0.479	0.499
5	30/05/2023	0.568	0.542	0.555	0.505	0.492	0.499
6	31/05/2023	0.657	0.659	0.658	0.526	0.497	0.512
7	01/06/2023	0.560	0.507	0.534	0.482	0.515	0.499
8	02/06/2023	0.538	0.562	0.550	0.577	0.369	0.473
9	05/06/2023	0.551	0.568	0.560	0.582	0.558	0.570
10	06/06/2023	0.675	0.629	0.652	0.501	0.487	0.494
11	07/06/2023	0.581	0.582	0.582	0.581	0.560	0.571
12	09/06/2023	0.712	0.697	0.705	0.554	0.574	0.564
13	13/06/2023	0.646	0.690	0.668	0.546	0.539	0.543
14	14/06/2023	0.588	0.586	0.587	0.513	0.521	0.517
15	15/06/2023	0.563	0.581	0.572	0.507	0.504	0.506
16	16/06/2023	0.541	0.565	0.553	0.510	0.537	0.524
17	19/06/2023	0.653	0.587	0.620	0.638	0.702	0.670
18	20/06/2023	0.728	0.706	0.717	0.392	0.405	0.399
19	21/06/2023	0.532	0.505	0.519	0.409	0.415	0.412
20	22/06/2023	0.643	0.559	0.601	0.534	0.223	0.379
	MEDIA	0.612	0.600	0.606	0.523	0.495	0.509
	DESVIACIÓN	0.060	0.059	0.057	0.055	0.094	0.065
	CV	10%	10%	9%	11%	19%	13%

Valores en RLU del estudio de precisión para la muestra negativa de sarampión IgG- HMN1071761 (R-1105-042).

REPLICA	FECHA	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU
1	22/05/2023	7.134	7.268	7.201	6.595	6.606	6.601
2	23/05/2023	7.397	7.244	7.321	6.264	6.387	6.326
3	24/05/2023	7.071	7.751	7.411	5.771	5.748	5.760
4	26/05/2023	7.726	6.856	7.291	5.883	5.896	5.890
5	30/05/2023	7.080	7.479	7.280	6.198	6.304	6.251
6	31/05/2023	7.625	7.277	7.451	6.206	6.971	6.589
7	01/06/2023	7.233	7.624	7.429	6.109	6.310	6.210
8	02/06/2023	6.712	7.360	7.036	5.959	6.715	6.337
9	05/06/2023	7.410	6.701	7.056	5.864	5.706	5.785
10	06/06/2023	7.207	7.006	7.107	5.678	5.686	5.682
11	07/06/2023	6.614	6.804	6.709	5.652	6.061	5.857
12	09/06/2023	7.298	7.335	7.317	5.806	6.121	5.964
13	13/06/2023	7.698	7.937	7.818	6.247	6.384	6.316
14	14/06/2023	7.438	7.189	7.314	6.039	6.275	6.157
15	15/06/2023	6.981	7.312	7.147	6.014	5.930	5.972
16	16/06/2023	6.422	6.509	6.466	6.271	6.512	6.392
17	19/06/2023	7.659	7.224	7.442	6.332	6.219	6.276
18	20/06/2023	7.285	7.567	7.426	5.728	5.560	5.644
19	21/06/2023	7.651	7.397	7.524	5.491	5.434	5.463
20	22/06/2023	7.569	7.442	7.506	6.394	6.455	6.425
	MEDIA	7.261	7.264	7.262	6.025	6.164	6.095
	DESVIACIÓN	0.371	0.353	0.296	0.289	0.408	0.328
	CV	5%	5%	4%	5%	7%	5%

Valores en RLU del estudio de precisión para una muestra positiva para varicela IgG - HMN1071760 (A-92-025).

REPLICA	FECHA	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU
1	22/05/2023	1.102	1.094	1.098	0.894	0.898	0.896
2	23/05/2023	1.029	1.029	1.029	0.856	0.879	0.868
3	24/05/2023	1.053	1.105	1.079	0.768	0.786	0.777
4	26/05/2023	0.960	0.999	0.980	0.774	0.831	0.803
5	30/05/2023	0.973	1.020	0.997	0.811	0.818	0.815
6	31/05/2023	0.956	1.006	0.981	0.848	0.825	0.837
7	01/06/2023	0.980	0.954	0.967	0.756	0.762	0.759
8	02/06/2023	0.888	0.987	0.938	0.755	0.713	0.734
9	05/06/2023	0.914	0.867	0.891	0.781	0.785	0.783
10	06/06/2023	0.907	0.904	0.906	0.749	0.665	0.707
11	07/06/2023	0.923	0.912	0.918	0.839	0.767	0.803
12	09/06/2023	0.972	0.969	0.971	0.905	0.846	0.876
13	13/06/2023	0.963	1.007	0.985	0.821	0.827	0.824
14	14/06/2023	0.990	1.009	1.000	0.806	0.844	0.825
15	15/06/2023	0.939	0.944	0.942	0.770	0.734	0.752
16	16/06/2023	0.801	0.808	0.805	0.828	0.857	0.843
17	19/06/2023	1.046	1.106	1.076	0.924	0.866	0.895
18	20/06/2023	1.042	1.020	1.031	0.764	0.777	0.771
19	21/06/2023	0.859	0.816	0.838	0.743	0.681	0.712
20	22/06/2023	0.865	0.923	0.894	0.682	0.718	0.700
	MEDIA	0.958	0.974	0.966	0.804	0.794	0.799
	DESVIACIÓN	0.075	0.085	0.078	0.061	0.066	0.060
	CV	8%	9%	8%	8%	8%	8%

Valores en RLU del estudio de precisión para una muestra negativa para varicela IgG - HMN1071760 (R-1105-041).

REPLICA	FECHA	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU	RESULTADO 1	RESULTADO 2	MEDIA RLU
1	22/05/2023	7.217	7.118	7.168	5.899	5.355	5.627
2	23/05/2023	7.115	7.159	7.137	5.866	5.868	5.867
3	24/05/2023	7.597	7.011	7.304	5.324	4.884	5.104
4	26/05/2023	7.109	6.632	6.871	5.070	5.387	5.229
5	30/05/2023	7.062	7.310	7.186	5.873	5.626	5.750
6	31/05/2023	7.355	7.233	7.294	5.006	4.940	4.973
7	01/06/2023	7.437	7.624	7.531	5.228	5.253	5.241
8	02/06/2023	6.786	6.832	6.809	5.242	4.148	4.695
9	05/06/2023	6.807	6.465	6.636	5.038	4.938	4.988
10	06/06/2023	5.834	6.499	6.167	4.920	5.165	5.043
11	07/06/2023	6.401	6.336	6.369	5.327	5.445	5.386
12	09/06/2023	7.149	7.263	7.206	5.586	5.564	5.575
13	13/06/2023	6.884	7.141	7.013	5.654	5.682	5.668
14	14/06/2023	7.328	6.876	7.102	5.756	5.591	5.674
15	15/06/2023	6.520	6.879	6.700	5.187	5.016	5.102
16	16/06/2023	5.513	5.722	5.618	5.674	4.726	5.200
17	19/06/2023	6.915	6.829	6.872	5.379	5.674	5.527
18	20/06/2023	7.228	7.040	7.134	5.411	4.659	5.035
19	21/06/2023	6.941	6.696	6.819	5.031	4.937	4.984
20	22/06/2023	6.514	6.666	6.590	4.528	4.457	4.493
	MEDIA	6.886	6.867	6.876	5.350	5.166	5.258
	DESVIACIÓN	0.522	0.420	0.447	0.368	0.458	0.367
	CV	8%	6%	7%	7%	9%	7%

ANEXO IV. CURVA ROC PARA SARAMPIÓN

POSITIVE GROUP = POBLACIÓN="POS"

Sample size = 60

NEGATIVE GROUP = POBLACIÓN="NEG"

Sample size = 50

Area under the ROC curve = 0.963

Standard error = 0.018

95% Confidence interval = 0.909 to 0.990

Criterion	Sens. (95% C.I.)	Spec. (95% C.I.)	+LR	-LR
≥ 0.949	100.0 (100.0-100.0)	0.0 (0.0- 0.0)	1.00	
> 0.949	100.0 (100.0-100.0)	2.0 (0.3- 10.7)	1.02	0.00
> 1	96.7 (88.4- 99.5)	92.0 (80.7- 97.7)	12.08	0.04
> 1.043	96.7 (88.4- 99.5)	94.0 (83.4- 98.7)	16.11	0.04
$> 1.334 *$	95.0 (86.1- 98.9)	94.0 (83.4- 98.7)	15.83	0.05
> 1.341	93.3 (83.8- 98.1)	94.0 (83.4- 98.7)	15.56	0.07
> 1.376	93.3 (83.8- 98.1)	96.0 (86.3- 99.4)	23.33	0.07
> 1.407	91.7 (81.6- 97.2)	96.0 (86.3- 99.4)	22.92	0.09
> 1.41	90.0 (79.5- 96.2)	96.0 (86.3- 99.4)	22.50	0.10
> 1.481	88.3 (77.4- 95.2)	96.0 (86.3- 99.4)	22.08	0.12
> 1.501	86.7 (75.4- 94.0)	96.0 (86.3- 99.4)	21.67	0.14
> 1.554	85.0 (73.4- 92.9)	96.0 (86.3- 99.4)	21.25	0.16

ANEXOS

> 1.566	83.3 (71.5- 91.7)	96.0 (86.3- 99.4)	20.83	0.17
> 1.65	81.7 (69.6- 90.5)	96.0 (86.3- 99.4)	20.42	0.19
> 1.674	80.0 (67.7- 89.2)	96.0 (86.3- 99.4)	20.00	0.21
> 1.718	76.7 (64.0- 86.6)	96.0 (86.3- 99.4)	19.17	0.24
> 1.762	75.0 (62.1- 85.3)	96.0 (86.3- 99.4)	18.75	0.26
> 1.776	73.3 (60.3- 83.9)	96.0 (86.3- 99.4)	18.33	0.28
> 1.837	71.7 (58.6- 82.5)	96.0 (86.3- 99.4)	17.92	0.30
> 1.854	70.0 (56.8- 81.1)	96.0 (86.3- 99.4)	17.50	0.31
> 1.898	68.3 (55.0- 79.7)	96.0 (86.3- 99.4)	17.08	0.33
> 1.953	66.7 (53.3- 78.3)	96.0 (86.3- 99.4)	16.67	0.35
> 1.996	65.0 (51.6- 76.9)	96.0 (86.3- 99.4)	16.25	0.36
> 2.003	63.3 (49.9- 75.4)	96.0 (86.3- 99.4)	15.83	0.38
> 2.028	61.7 (48.2- 73.9)	96.0 (86.3- 99.4)	15.42	0.40
> 2.053	60.0 (46.5- 72.4)	96.0 (86.3- 99.4)	15.00	0.42
> 2.057	58.3 (44.9- 70.9)	96.0 (86.3- 99.4)	14.58	0.43
> 2.077	56.7 (43.2- 69.4)	96.0 (86.3- 99.4)	14.17	0.45
> 2.094	55.0 (41.6- 67.9)	96.0 (86.3- 99.4)	13.75	0.47
> 2.14	53.3 (40.0- 66.3)	96.0 (86.3- 99.4)	13.33	0.49
> 2.149	51.7 (38.4- 64.8)	96.0 (86.3- 99.4)	12.92	0.50
> 2.207	51.7 (38.4- 64.8)	98.0 (89.3- 99.7)	25.83	0.49
> 2.258	50.0 (36.8- 63.2)	98.0 (89.3- 99.7)	25.00	0.51

> 2.262	48.3 (35.2- 61.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.52
> 2.266	46.7 (33.7- 60.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.53
> 2.362	45.0 (32.1- 58.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.55
> 2.419	43.3 (30.6- 56.8)	100.0 (100.0-100.0)	0.57
> 2.459	41.7 (29.1- 55.1)	100.0 (100.0-100.0)	0.58
> 2.467	40.0 (27.6- 53.5)	100.0 (100.0-100.0)	0.60
> 2.491	38.3 (26.1- 51.8)	100.0 (100.0-100.0)	0.62
> 2.499	36.7 (24.6- 50.1)	100.0 (100.0-100.0)	0.63
> 2.539	35.0 (23.1- 48.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.65
> 2.579	33.3 (21.7- 46.7)	100.0 (100.0-100.0)	0.67
> 2.617	31.7 (20.3- 45.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.68
> 2.777	30.0 (18.9- 43.2)	100.0 (100.0-100.0)	0.70
> 2.884	28.3 (17.5- 41.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.72
> 2.896	26.7 (16.1- 39.7)	100.0 (100.0-100.0)	0.73
> 3.022	25.0 (14.7- 37.9)	100.0 (100.0-100.0)	0.75
> 3.042	23.3 (13.4- 36.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.77
> 3.066	21.7 (12.1- 34.2)	100.0 (100.0-100.0)	0.78
> 3.138	20.0 (10.8- 32.3)	100.0 (100.0-100.0)	0.80
> 3.231	18.3 (9.5- 30.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.82
> 3.352	16.7 (8.3- 28.5)	100.0 (100.0-100.0)	0.83
> 3.408	15.0 (7.1- 26.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.85

ANEXOS

> 3.421	13.3 (6.0- 24.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.87
> 3.744	11.7 (4.8- 22.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.88
> 3.942	10.0 (3.8- 20.5)	100.0 (100.0-100.0)	0.90
> 4.02	8.3 (2.8- 18.4)	100.0 (100.0-100.0)	0.92
> 4.023	6.7 (1.9- 16.2)	100.0 (100.0-100.0)	0.93
> 4.333	5.0 (1.1- 13.9)	100.0 (100.0-100.0)	0.95
> 4.585	3.3 (0.5- 11.6)	100.0 (100.0-100.0)	0.97
> 5.449	1.7 (0.3- 9.0)	100.0 (100.0-100.0)	0.98
> 7.469	0.0 (0.0- 0.0)	100.0 (100.0-100.0)	1.00

Sens. = Sensitivity

Spec. = Specificity

+LR = Positive likelihood ratio

-LR = Negative likelihood ratio

ANEXO V. CURVA ROC PARA VARICELA

POSITIVE GROUP = POBLACIÓN="POS"

Sample size = 29

NEGATIVE GROUP = POBLACIÓN="NEG"

Sample size = 50

Area under the ROC curve = 0.955

Standard error = 0.028

95% Confidence interval = 0.883 to 0.989

Criterion	Sens. (95% C.I.)	Spec. (95% C.I.)	+LR	-LR
>=0.976	100.0 (100.0-100.0)	0.0 (0.0- 0.0)	1.00	
> 0.976	100.0 (100.0-100.0)	2.0 (0.3- 10.7)	1.02	0.00
> 1	100.0 (100.0-100.0)	88.0 (75.7- 95.4)	8.33	0.00
> 1.072	100.0 (100.0-100.0)	90.0 (78.2- 96.6)	10.00	0.00
> 1.273*	96.6 (82.2- 99.4)	90.0 (78.2- 96.6)	9.66	0.04
> 1.329	93.1 (77.2- 99.0)	90.0 (78.2- 96.6)	9.31	0.08
> 1.363	89.7 (72.6- 97.7)	90.0 (78.2- 96.6)	8.97	0.11
> 1.502	89.7 (72.6- 97.7)	92.0 (80.7- 97.7)	11.21	0.11
> 1.516	89.7 (72.6- 97.7)	94.0 (83.4- 98.7)	14.94	0.11
> 1.814	89.7 (72.6- 97.7)	96.0 (86.3- 99.4)	22.41	0.11
> 1.818	86.2 (68.3- 96.0)	96.0 (86.3- 99.4)	21.55	0.14
> 1.882	82.8 (64.2- 94.1)	96.0 (86.3- 99.4)	20.69	0.18

ANEXOS

> 1.948	79.3 (60.3- 92.0)	96.0 (86.3- 99.4)	19.83	0.22
> 1.986	75.9 (56.5- 89.7)	96.0 (86.3- 99.4)	18.97	0.25
> 2.06	72.4 (52.8- 87.2)	96.0 (86.3- 99.4)	18.10	0.29
> 2.109	69.0 (49.2- 84.7)	96.0 (86.3- 99.4)	17.24	0.32
> 2.148	65.5 (45.7- 82.0)	96.0 (86.3- 99.4)	16.38	0.36
> 2.224	62.1 (42.3- 79.3)	96.0 (86.3- 99.4)	15.52	0.40
> 2.272	58.6 (38.9- 76.5)	96.0 (86.3- 99.4)	14.66	0.43
> 2.794	55.2 (35.7- 73.5)	96.0 (86.3- 99.4)	13.79	0.47
> 2.832	51.7 (32.5- 70.5)	96.0 (86.3- 99.4)	12.93	0.50
> 2.866	48.3 (29.5- 67.5)	96.0 (86.3- 99.4)	12.07	0.54
> 2.98	44.8 (26.5- 64.3)	96.0 (86.3- 99.4)	11.21	0.57
> 3.058	41.4 (23.5- 61.1)	96.0 (86.3- 99.4)	10.34	0.61
> 3.078	37.9 (20.7- 57.7)	96.0 (86.3- 99.4)	9.48	0.65
> 3.604	34.5 (18.0- 54.3)	96.0 (86.3- 99.4)	8.62	0.68
> 3.65	31.0 (15.3- 50.8)	96.0 (86.3- 99.4)	7.76	0.72
> 3.761	27.6 (12.8- 47.2)	96.0 (86.3- 99.4)	6.90	0.75
> 4.019	24.1 (10.3- 43.5)	96.0 (86.3- 99.4)	6.03	0.79
> 4.96	20.7 (8.0- 39.7)	96.0 (86.3- 99.4)	5.17	0.83
> 5.241	17.2 (5.9- 35.8)	96.0 (86.3- 99.4)	4.31	0.86
> 5.368	13.8 (4.0- 31.7)	96.0 (86.3- 99.4)	3.45	0.90
> 5.535	10.3 (2.3- 27.4)	96.0 (86.3- 99.4)	2.59	0.93

> 5.769	6.9 (1.0- 22.8)	96.0 (86.3- 99.4)	1.72	0.97
> 7.353	3.4 (0.6- 17.8)	96.0 (86.3- 99.4)	0.86	1.01
> 13.634	3.4 (0.6- 17.8)	98.0 (89.3- 99.7)	1.72	0.99
> 13.686	3.4 (0.6- 17.8)	100.0 (100.0-100.0)		0.97
> 16.684	0.0 (0.0- 0.0)	100.0 (100.0-100.0)		1.00

Sens. = Sensitivity

Spec. = Specificity

+LR = Positive likelihood ratio

-LR = Negative likelihood ratio

ANEXO VI. CERTIFICADOS DE PARTICIPACIÓN EN EL CONTROL DE CALIDAD
INSTAND



CERTIFICATE

Survey of 20 May 2022

You have fulfilled the requirements of the External Quality Assessment with the following analysis

Cerebrospinal Fluid Analysis 03 - MRZ Reaction (463):

Validity 12 months:

- Measles virus IgG Antibody Index
- Rubella virus IgG Antibody Index
- Varizella zoster virus IgG Antibody Index
- Herpes simplex virus IgG Antibody Index

(R) analysis is subject to the RIBBIX

Participant:
4040
Vircell, S.L.
Director General Al. Rojas Gonzalez
Parque Tecnológico de ciencias de la salud
avicena 8
18016 Granada

Düsseldorf, 28 June 2022

Handwritten signature of Prof. Dr. med. Michael Spannagl.

Prof. Dr. med. Michael Spannagl
(Head of Reference Institution)



Handwritten signature of Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Manfred Uhr.

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Manfred Uhr
(Auditor)

4040

INSTAND
Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung
in medizinischen Laboratorien e.V.
Ulmenr. 20 | 40223 Düsseldorf



CERTIFICATE

Survey of 19 May 2023

You have fulfilled the requirements of the External Quality Assessment with the following analysis

Cerebrospinal Fluid Analysis 03 - MRZ Reaction (463):

Validity 12 months:

Measles virus IgG Antibody Index
 Rubella virus IgG Antibody Index
 Varizella zoster virus IgG Antibody Index
 Herpes simplex virus IgG Antibody Index
 Interpretation of the report

(If) analysis is subject to the RIBÄK

Participant:
 4040
 Vircell, S.L.
 Director General A.L. Rojas Gonzalez
 Parque Tecnológico de ciencias de la salud
 avicena 8
 18016 Granada

Düsseldorf, 15 June 2023


 Prof. Dr. med. Michael Spornagl
 (Head of Reference Institution)




 Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Manfred Uhr
 (Adjuver)



CERTIFICATE

Survey of 10 May 2024

You have fulfilled the requirements of the External Quality Assessment with the following analysis

Cerebrospinal Fluid Analysis 03 - MRZ Reaction (463):

Validity 12 months:

- Measles virus IgG Antibody Index
- Rubella virus IgG Antibody Index
- Varicella zoster virus IgG Antibody Index
- Herpes simplex virus IgG Antibody Index

(R) analysis is subject to the RMRK

Customer:
10014040
Viracell, S.L.
Director General AL Rojas Gonzalez
Parque Tecnológico de ciencias de la salud
znicana 8
18016 Granada

Düsseldorf, 20 June 2024


Prof. Dr. med. Michael Spannagl
(Head of Reference Institution)




Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Manfred Uhr
(Akteur)

ANEXO VII. INFORMES DEL ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE



Paciente: 022 , 023
 Análisis: 8219578 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	* 1.00	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 5.8 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	1340 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	19.0 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.4 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 024 , 025
 Análisis: 8219579 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	0.64	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 1.9 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	* 611 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	18.4 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	3.8 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 026 , 027
 Análisis: 8219580 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	* 0.93	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 10.0 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	* 1590 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	29.0 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.3 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 028 , 029
 Análisis: 8219581 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	0.81	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	3.9 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	872 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	27.6 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	5.0 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 030 , 031
 Análisis: 8219582 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	* 1.00	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 6.4 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	1370 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	19.6 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.2 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 032 , 033
Análisis: 8219583 del 16/Ene/2024
Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
Entidad: PARTICULAR (MS)
Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	0.61	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	2.8 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	935 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	20.5 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.2 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 034 , 035
 Análisis: 8219584 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	* 1.82	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 7.2 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	1030 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	15.4 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.0 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 036 , 037
 Análisis: 8219585 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	0.70	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	3.7 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	1300 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	18.0 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.4 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 038 , 039
 Análisis: 8219586 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	* 1.82	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	* 11.4 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	1230 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	20.4 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.0 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL



Paciente: 040 , 041
 Análisis: 8219587 del 16/Ene/2024
 Procedencia: LABORATORIO ANGEL MENDEZ
 Entidad: PARTICULAR (MS)
 Fecha de validación: 22/Ene/2024

Análisis de Líquidos y Exudados

	Valor hallado	Valor de referencia
(i) Índice de Tibbling	0.67	< 0.85
(i) IgG LCR (Técnica Nefelometría)	3.1 mg/dL	2.0 - 4.0 mg/dL
(i) IgG suero (Técnica Nefelometría)	927 mg/dL	680 - 1530 mg/dL
(i) Albúmina (Técnica Nefelometría)	20.9 mg/dL	15 - 35 mg/dL
(i) Albúmina suero (Técnica Nefelometría)	4.2 g/dL	3.2 - 5.0 g/dL

FE DE ERRATAS

Finalizada la tesis doctoral, titulada: “detección de biomarcadores en muestras de líquido cefalorraquídeo en pacientes con patologías infecciosas del sistema nervioso central usando ensayos de quimioluminiscencia” realizada por Rafael García Cobo y dirigida por María Manuela Jiménez Valera, se advirtió un error en la fórmula para definir la sensibilidad del equipo diagnóstico evaluado. Por tanto, se ha considerado pertinente su rectificación en la presente fe de erratas.

$$\text{Sensibilidad (\%)} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}} \times 100$$