

Contribución de la detección de bandas oligoclonales (BOC) en LCR para la confirmación del diagnóstico en esclerosis múltiple (EM)

**Robinson Agramonte MA, Guzmeli V, Martínez Benítez M,
Infante Velázquez E, Galvizo Sánchez RJ, Ochoa Zaldívar M, Robinson Agramonte JE**

RESUMEN

Introducción: La presencia de bandas oligoclonales de IgG en el LCR continúa siendo la alteración inmunológica de mayor utilidad para el diagnóstico de la esclerosis múltiple. El método que ha mostrado mayor sensibilidad para su detección es el de focalización isoeléctrica en agarosa seguido de inmunofijación con IgG específica. **Objetivo:** El trabajo estuvo dirigido a la asimilación y validación del método para la detección de BOC en nuestro laboratorio. **Pacientes y métodos.** Se evaluaron muestras de LCR y suero de pacientes con el diagnóstico de EM definida (EMCD) según los criterios de Posser y sujetos controles neurológicos y no neurológicos, para determinar la presencia de BOC en estos fluidos. El mismo incluyen dos etapas: La asimilación del método y su validación (internal y externa). La validación interna del método contempló la evaluación de la sensibilidad, especificidad, ensayos de precisión y concordancia. La validación externa incluyó la evaluación a ciegas de muestras controles referenciadas desde un laboratorio de referencia internacional para este sistema de diagnóstico. Otros análisis estuvieron dirigidos a evaluar la contribución del estudio a la confirmación del diagnóstico clínico e inmunológico. **Resultados:** La prevalencia de BOC obtenida en el grupo EMCD fue de 78.13%. Los resultados mostraron una sensibilidad del método de 78.13% y una eficacia global de 89.02%, un valor predictivo de positividad de 92.58% todo esto concordante con lo reportado por otros grupos. El ensayo mostró además una sensible contribución a la confirmación del diagnóstico inmunológico (40%) y clínico (10.12%), confirmando su potencialidad como pilar diagnóstico en EM. **Conclusión:** nuestros resultados avalan que la detección de BOC continúa siendo un elemento de valor en la confirmación del diagnóstico clínico en enfermedades neurológicas y de manera particular en EM.

Palabras clave: múltiple esclerosis, bandas oligoclonales, líquido cefalorraquídeo, focalización isoeléctrica.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(1):

**Contribution of the detection of oligoclonal bands (OCB)
in CSF for the confirmation of the diagnosis in multiple sclerosis (MS)**

ABSTRACT

Introduction: The presence of oligoclonal bands of IgG in the CSF continues being the immunologic alteration of greater usefulness for the diagnosis of the multiple sclerosis. The method that has shown greater sensitivity for its detection is the isoelectric focalization in agarose followed by immunofixation with specific IgG. **Objective:** The work was directed to the assimilation and validation of the method for the detection of OCB in our laboratory. **Patients and methods.** Samples of CSF and serum of patients with the diagnosis of defined EM were evaluated according to Posser's criteria and control subjects neurological and nonneurological, to determine the presence of OCB in these fluids. The method includes two stages: The assimilation of it and its validation (internal and external). The internal validation of the method contemplated the evaluation of sensitivity, specificity, precision and agreement tests. The external validation included an evaluation without information of control samples sent from a reference international laboratory for this system of diagnosis. Other analyses were directed to evaluate the contribution from this study's to the confirmation of the clinical and immunological diagnosis. **Results:** The prevalence of OCB obtained in EMCD group was of 78.13%. The results showed a sensitivity of method of 78.13% and a global effectiveness of 89.02%, a predictive value of 92.58% positivity, in accordance with reported by other groups. The test showed in addition a sensible contribution to the confirmation of the immunological diagnosis (40%) and clinical (10.12%), confirming its potentiality like diagnosis support in EM. **Conclusion:** Our results enhance that the detection of OCB continues being an element of great value in the confirmation of clinical diagnose in neurological diseases and particularly way in EM.

Key words: Multiple sclerosis, oligoclonal bands, cerebrospinal fluid, isoelectric focalization.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(1):

1. Departamento de Neuroinmunología, Centro Internacional de Restauración Neurológica, Ciudad Habana, Cuba.
2. Laboratorio de Bioquímica Instituto Carlos J Finlay, Ciudad Habana, Cuba.
3. Hospital Universitario Dr. Carlos J Finlay. Ciudad de la Habana, Cuba

Correspondencia:

Dra. María Robinson Agramonte

Dpto. Neuroinmunología, CIREN. Ave. 25 No. 15805/158 y 160. Cubanacán, Playa. Ciudad Habana, Cuba. CP 11300
Correo electrónico: maria.robinson@infomed.sld.cu

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante primaria, autoinmune y órgano-específica, del sistema nervioso central (SNC), que aparece entre los 20 y los 40 años de edad. Se define clínicamente como un trastorno caracterizado por episodios recurrentes concretos de déficit neurológico, atribuibles a lesiones de la sustancia blanca. En la actualidad es el más frecuente de los trastornos desmielinizantes y en nuestra población la incidencia alcanza cifras de aproximadamente 10 a 15 afectados por 100,000 habitantes. Afecta a las mujeres con una frecuencia que duplica la incidencia en los hombres y constituye la mayor causa de discapacidad de origen neurológico en el adulto joven.¹⁻⁵

La respuesta inmune humoral intratecal y de manera particular la detección de IgG oligoclonal en LCR constituye el signo patológico más frecuente en el SNC de pacientes con EM, y es a su vez uno de los tres pilares más importantes desde el punto de vista diagnóstico en esta entidad.^{6,7}

La demostración de síntesis intratecal de IgG puede ser identificada tanto por el incremento del índice IgG como por la detección de BOC en el LCR, la detección de esta última permite la identificación de respuesta intratecal oligoclonal cuando otros métodos, incluyendo determinaciones cuantitativas, están en el rango de normalidad.⁸⁻¹⁰

En la actualidad el método de mayor sensibilidad para la detección de BOC lo constituye el método de focalización isoelectrónica en agarosa (FIE), útil para separar las especies moleculares sobre la base de su punto isoelectrónico seguida de inmunofijación con el Ac. específico.^{11,12} Otras técnicas electroforéticas con tinción de azul Comassie y tinción de plata han sido utilizadas con algunas desventajas, entre otras, de la alta toxicidad de los reactivos y la necesidad de concentrar el LCR.¹³ Como quiera, la práctica clínica necesita de métodos más sensibles y reproducibles, la FIE deviene hoy día como una técnica sensible, de alta resolución y valor de discriminación para la caracterización de los anticuerpos de heterogeneidad restringida. A partir de estas consideraciones, en este trabajo nos propusimos evaluar la eficacia del método en la confirmación del diagnóstico clínico e inmunológico del LCR.

MATERIAL Y MÉTODO

Se evaluaron muestras de pacientes diagnosticados como EM clínicamente definida (EMCD) de acuerdo con los criterios de Posser,¹⁴ pacientes con enfermedades neurológicas no-EM (NEM) (CIDP, epilepsia, ELA, distonía, PPE leucoencefalopatía, mielitis transversa, síndrome de Guillain-Barré,

espondilopatía cervical, esquizofrenia catatónica, síndrome paraneoplásico) y sujetos controles no neurológicos (CNN), sometidos a intervenciones quirúrgicas por patologías no neurológicas (hernia discal, adenoma prostático, varicocele) y que requirieron de la aplicación de anestesia raquídea. No hubo antecedente de enfermedades autoinmunes, inflamatorias u orgánica crónica con repercusión sobre el SNC.

Obtención de las muestras

Se obtuvieron 2 mL de LCR de pacientes y controles por punción lumbar, previa asepsia de la región. El LCR se sometió a un examen de rutina (aspecto y celularidad) y se excluyeron aquellas muestras con más de 500 eritrocitos/ μ L. La muestra de suero se obtuvo a partir de 3 mL de sangre venosa obtenida por punción antecubital. Se centrifugó a 350 G por 10 min a TA y se congeló a -80 °C hasta su procesamiento.

- **Determinación de proteínas.** Se determinó la concentración de IgG en LCR y suero de todos los sujetos. La determinación se realizó por técnica de inmunodifusión radial simple de Manzini, de rutina en nuestro laboratorio. Los valores se expresaron en mg/L.
- **Detección de BOC de IgG en LCR.** Se desarrolló el método de FIE en agarosa, seguido de inmunofijación con IgG utilizando un AcMC de conejo anticadena pesada de IgG humana conjugado con peroxidasa (DAKO). Se utilizó como sustrato el 9-aminoethylcarbazol. Las muestras de LCR y suero se evaluaron de manera simultánea.

Para el análisis de los resultados se tuvieron en cuenta las siguientes definiciones operacionales:

1. **Verdaderos positivos (VP).** Pacientes con BOC positivas y diagnóstico de EMCD.
2. **Verdaderos negativos (VN).** Pacientes con BOC negativas no diagnosticados como EMCD.
3. **Falsos positivos (FP).** Pacientes con BOC positivas no diagnosticados como EMCD.
4. **Falsos negativos (FN).** Pacientes con BOC negativas diagnosticados como EMCD.
5. **Prevalencia (P).** Por ciento de positividad de BOC en los grupos estudiados.
6. **Sensibilidad (S).** Frecuencia con la cual la prueba es positiva en una enfermedad en particular calculada como la proporción $VP/(VP+FN) \times 100$.
7. **Especificidad (E).** Frecuencia con la cual la prueba es negativa en un grupo control y se calculará como la proporción $VN/(VN+FP) \times 100$.
8. **Valor predictivo positivo (VPP).** Equivale a la probabilidad de que los individuos con una prue-

- ba positiva tengan realmente la enfermedad. VPP = VP/VP+FP x 100.
9. **Valor predictivo negativo (VPN).** La probabilidad condicional de que los individuos con una prueba negativa no tengan realmente la enfermedad. VPN = VN/VN + FN x 100.
 10. **Zona gris.** Zona alrededor del valor de discriminación donde los resultados pueden ser dudosos o no reproducibles. El ancho de la zona gris se definió como los límites de concentración entre los que de 5 a 95% de los resultados son positivos. Mientras más estrecha sea la zona gris mayor será la precisión.
 11. **Concordancia.** Se basó en el análisis de correlación o concordancia de los resultados obtenidos por métodos diferentes frente a un mismo panel de muestras. Se aplicó el Índice Kappa (κ).
 12. **Eficacia global (EG).** Se definió como la capacidad general de un ensayo para detectar correctamente todos los positivos y los negativos: EG = (VP + VN) / VP + FP + FN + VN.¹⁵

Desarrollo del método de FIE

La figura 1 muestra el diagrama de flujo general aplicado para el desarrollo del método de FIE en agarosa e inmunofijación con IgG.

El método desarrollado fue el de FIE en agarosa utilizando un gel típico de agarosa en la superficie de una placa de Gel Bond (Pharmacy Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweeding), (0.25 g agarosa IEF, 3.0 g sorbitol, 22.5 mL glicerol 87%, ampholine, pH 3.5-10.0 for IEF/Pharmalyte 3-10 for IEF, Amersham Pharmacia Biotech, AB). Se evaluaron muestras pareadas de LCR y suero. Los controles positivos referenciados utilizados para la validación externa (ínter laboratorio) del método fueron obtenidos y enviados desde el laboratorio de Neuroquímica, de la Universidad de Göttingen, Alemania. La focalización se realizó siguiendo el método desarrollado en dicho laboratorio. Una vez realizada la inmunotransferencia se realizó la inmunofijación con anti-IgG humana/peroxidasa de conejo, específico para cadenas Gamma (DAKO). Se reveló con 9-aminoethylcarbazol. Los resultados se determinaron por visualización de las bandas de IgG. Se consideró como positiva, la presencia de al menos dos bandas en LCR y no en suero.



Figura 1. Diagrama de flujo del método de FIE en agarosa e inmunofijación para la detección de BOC en LCR.

- **Interpretación de los resultados.** Se siguió la recomendación del grupo de expertos europeos, que considera la restricción de las bandas oligoclonales en el LCR, pero no en el suero como indicativo de síntesis intratecal.¹⁶ A partir de estos elementos se describen varios patrones de positividad y negatividad para las bandas que tenidos en cuenta se consideraron como:

Positivo

1. Presencia de dos o más bandas en LCR y no en suero.
2. Bandas en ambos fluidos pero mayor cantidad en el LCR que en suero.

Negativo

1. Ausencia de BOC en LCR y suero.
2. Presencia de menos de dos bandas en LCR.
3. Igual cantidad de BOC en LCR y suero.

Validación del método

La figura 2 muestra el diagrama de flujo seguido en la validación del método, la validación interna del método incluyó la evaluación de réplicas de diluciones de las muestras de LCR y suero obtenidas de cada uno de los sujetos. Se evaluó:

- Sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y eficacia global.
- Valor de discriminación y ancho de la zona gris.
- Estudios de concordancia.

La validación externa incluyó la precisión ínter laboratorio de un estudio de concordancia de los resultados obtenidos a partir de la evaluación a ciegas de muestras controles de LCR referenciadas provenientes del laboratorio de referencia para este sistema diagnóstico (laboratorio de Neuroquímica, Universidad de Göttingen, Alemania).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra la distribución de pacientes según el diagnóstico clínico y el rango de edad.

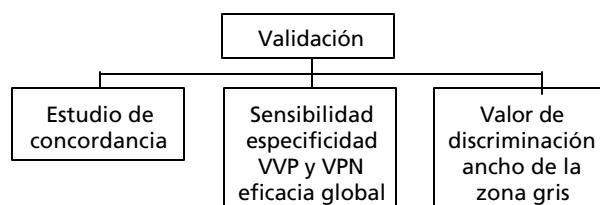


Figura 2. Diagrama de flujo de la validación del método de FIE en nuestro laboratorio.

Tabla 1
Distribución de pacientes incluidos en cada grupo según el diagnóstico clínico

Grupos diagnósticos	EMCD	NEM	CNN
Total de sujetos evaluados	n = 32	n = 38	n = 12
Rango de edad	29-71 años	19-62 años	20-84 años

Tabla 2
BOC de Inmunoglobulina G en LCR detectada en cada grupo

Grupos de referencia	FIE	EMCD	Control NEM/CNN	Total
BOC+		25	2	27
BOC-		7	36/12	55
Total		32	50	82

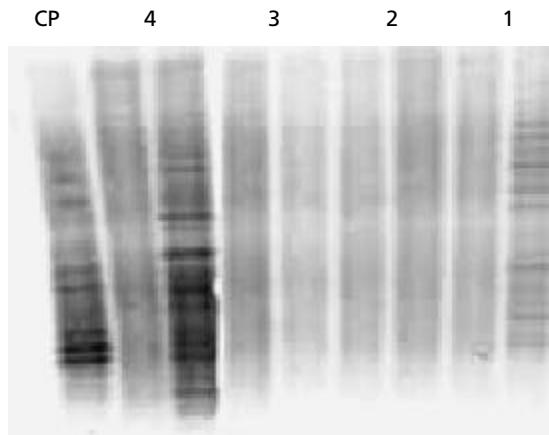


Figura 3. FIE realizada en nuestro laboratorio. De derecha a izquierda las bandas corresponden a cuatro pares de muestras pareadas de LCR y suero de pacientes evaluados. Y el control positivo. Casos positivos: pacientes 1 y 4.

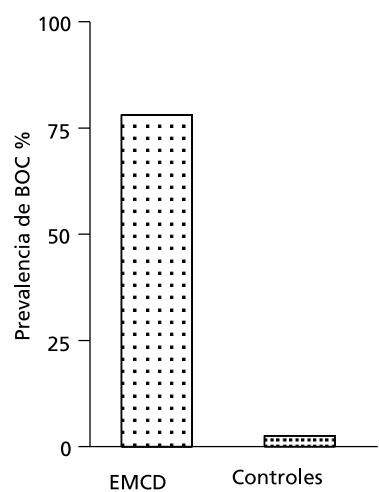


Figura 4. Prevalencia de BOC+ obtenida en este estudio en los grupos, EMCD y NEM.

Resultado del método de desarrollo

La tabla 2 muestra la positividad de las BOC obtenida en cada grupo. Del total de pacientes con EMCD evaluados, 25 de 32 presentaron BOC positiva y siete fueron BOC negativa. La prevalencia obtenida para este grupo fue de 78.13%. En el grupo de pacientes NEM, dos presentaron BOC positiva y 36 BOC negativa para una prevalencia de 2.63%. El grupo CNN mostró en todos los casos BOC negativas, para 0% de prevalencia (Tabla 2 y Figura 4).

El patrón de BOC obtenido en la generalidad de los casos fue el de la presencia de BOC en LCR y no en suero. El patrón de BOC en LCR y suero (imagen en espejo) se observó en un solo caso. La figura 3 muestra un gel de FIE obtenido en nuestro laboratorio.

Validación interna del método

La sensibilidad de la detección de BOC en el grupo con el diagnóstico de EMCD en la población estudiada fue de 78.13%, mientras que la especificidad varió según el grupo control considerado, tomando el grupo NEM fue de 94.7%. El VPP de la detección de BOC observado por el método para las muestras evaluadas con respecto al diagnóstico clínico de EMCD fue de 92.3%, mientras que el valor predictivo negativo fue de 87.3%. De 83.8% con respecto al grupo control neurológico y de 63.15% con respecto al grupo CNN.

El análisis de la eficacia global del ensayo como medida de la eficiencia del método para la correcta detección de todos los casos positivos y negativos fue de 87.14% con respecto al grupo NEM y 84.09% con respecto al grupo CNN.

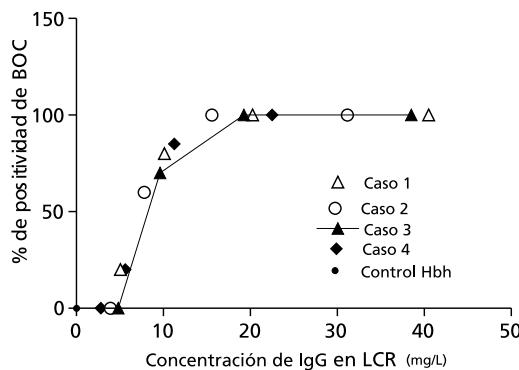


Figura 5. Ensayo de precisión del método de FIE en agarosa e inmunofijación para la detección de BOC en LCR. Ancho de la zona gris (5-95%) y valor de discriminación (50%). Hbh: control de hemoglobina humana.

Ensayo de precisión

El ensayo de precisión estuvo basado en el análisis del ancho de la zona gris y valor de discriminación. Para ello se realizaron réplicas de diluciones de cinco muestras pareadas de LCR y suero positivas, un control positivo de referencia y un control negativo en un mismo ensayo (precisión intraensayo) y en ensayos realizados en diferentes días (precisión interensayo). El valor de discriminación correspondió a 50% de los resultados positivos, mientras que la positividad de las BOC detectada en las muestras positivas estuvo en el rango de concentración de IgG (10-40 mg/L), en concordancia con el rango óptimo de concentración de IgG reportado para este método. (Figura 5).

Estudio de concordancia

Otro aspecto tenido en cuenta en la validación interna del método fue el estudio de la concordan-

cia, como una medida adicional para evaluar la precisión. Se aplicó el Índice Kappa para el análisis de la correlación o concordancia entre los parámetros considerados.¹⁵

A partir del criterio inmunodiagnóstico de la presencia de síntesis intratecal por el incremento del Índice IgG y/o la presencia de bandas oligoclonales restringida al LCR,¹⁶ nosotros aplicamos el Índice Kappa para evaluar la concordancia de los dos criterios inmunodiagnóstico útiles para evaluar la presencia de síntesis intratecal: a) el Índice IgG, y b) la presencia de BOC en el LCR (Tabla 3).

El valor del Índice kappa, $k = 0.203$ mostró una baja correlación entre los dos métodos evaluados, a favor de la mayor sensibilidad del método de FIE. A partir de este análisis exploramos la contribución probable de la detección de BOC en el LCR al diagnóstico inmunológico con respecto al Índice IgG. Del total de pacientes EMCD evaluados 10 de 25 mostraron Índice IgG-/BOC+ para 40% de contribución de esta última a la confirmación del diagnóstico inmunológico del LCR. En este sentido un estudio retrospectivo basado en el criterio de impresión diagnóstica inicial contra el diagnóstico definitivo al egreso mostró una contribución de la detección de las BOC a la definición del diagnóstico clínico del 10.14% (Tabla 4).

Validación externa

Respecto a la validación externa se obtuvo una concordancia de 100% de los resultados de las muestras de LCR evaluadas a ciegas en nuestro laboratorio con respecto a los obtenidos para estas mismas muestras en el laboratorio de referencia. La figura 6 muestra el patrón de replica de las muestras evaluadas.

Tabla 3
Contribución de la detección de BOC al diagnóstico inmunológico del LCR. Concordancia con el Índice IgG

BOC	Índice IgG		
	Positivo	Negativo	Total
Positiva	15	10	25
Negativa	5	2	7
Total	20	12	32

Tabla 4
Contribución de la detección de las BOC en LCR a la definición del diagnóstico clínico

ID	n	BOC	DD
EMCD	6	-	NEM
NEM	5	+	EMCD

ID: Impresión diagnóstica. DD: Diagnóstico definitivo al egreso

Tabla 5
Por ciento de positividad obtenido para los diferentes métodos
de análisis básico del LCR en la evaluación de la detección de síntesis intratecal

Variables	Índice IgG	Reibergrama	BOC
Eficacia	63.3%	69.7%	87.14%
VPP	72.73%	81.82%	92.58%
VPN	59.09%	63.6%	87.3%

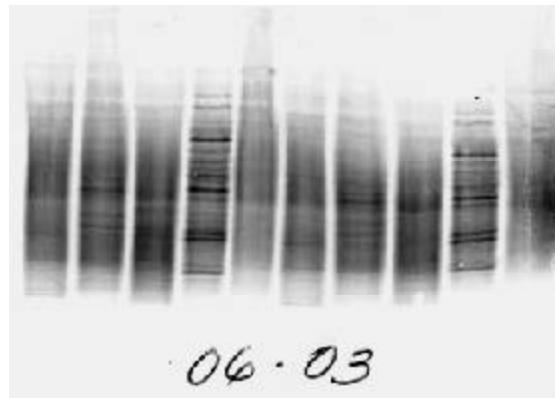


Figura 6. Patrón de réplica de las muestras de LCR incluidas en el ensayo de validación externa. De izquierda a derecha casos positivos 2,3,4,5. Caso 1 negativo.

Un análisis retrospectivo mínimo realizado de los casos evaluados en nuestro laboratorio por los tres métodos más aplicados en la actualidad para la evaluación de la respuesta inmune intratecal oligoclonal se muestran en la tabla 5 y figura 7.

DISCUSIÓN

La prevalencia de bandas oligoclonales de IgG en el LCR de pacientes con el diagnóstico de EM ha sido reportada en diferentes poblaciones con una variación que oscila desde 60% en la población japonesa hasta 97 por ciento en las poblaciones sueca e inglesa, respectivamente.¹⁰⁻¹² La prevalencia alcanzada en este estudio fue de 78.13% cercano a lo reportado para otras poblaciones. Esta diferencia, aunque no constituye un estudio de prevalencia poblacional pudiera estar influenciada por factores genéticos y/o variaciones propias inherentes a nuestra población.^{10,17,18} Estudios de prevalencia para genes de histocompatibilidad referidos en esta entidad podrían contribuir a la mayor comprensión de este hallazgo. De ahí que se sugirieron la realización de estudios genéticos que permitan establecer una mayor aproximación al grado de asociación real de estos factores con la respuesta inmune intratecal en estos enfermos, ya que permite evaluar la prevalencia de BOC de IgG en sujetos con susceptibilidad genética a padecer la enfermedad.

Respecto al método desarrollado, nosotros asimilamos la tecnología del isoelectroenfoque con

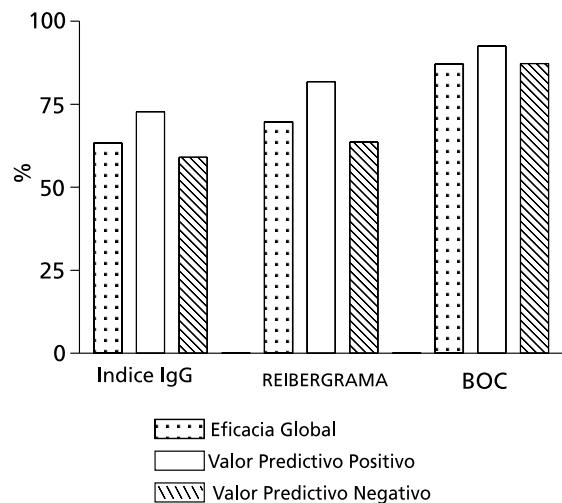


Figura 7. Análisis comparativo entre los diferentes métodos aplicados en la actualidad para el diagnóstico inmunológico del LCR. Fuente de datos tabla 5.

imunnotinción para la detección de BOC en el LCR, tomando como referencia el método desarrollado por el Laboratorio de Neuroquímica, de referencia internacional y reconocido prestigio para este sistema diagnóstico. Los valores de sensibilidad y eficacia obtenidos concuerdan con lo reportado con este laboratorio. En nuestro estudio la prevalencia de BOC en pacientes con la forma primariamente progresiva fue de 27.07%, mientras que la forma secundariamente progresiva fue de 7.6%, lo cual está en concordancia con reportes previos referentes a una mayor incidencia en la forma de recidiva y remisiones en otras poblaciones.¹⁸

Son varios los estudios de prevalencia reportados en enfermedades autoinmunes no inflamatorias del SNC. Link y cols. reportan 9% de prevalencia, Cohen y col. 7.5% de prevalencia, mientras Sindic y col. reportaron 16% de prevalencia.¹⁰ La prevalencia de BOC positiva entre 11-30% en pacientes con patologías isquémicas y cerebro vasculares ha sido atribuida a la liberación al espacio intratecal de un factor antigénico derivado del parénquima dañado que induce, al parecer, la respuesta de clones de células B presentes en el LCR, para la producción de IgG oligoclonal. Otras patologías con reportes de BOC positivas en el SNC incluyen procesos infeccio-

sos del SNC en niños y adultos, procesos paraneoplásicos, este último de utilidad para la diferenciación de la infiltración meníngea carcinomatosa u linfomatosa donde no se detectan BOC en el LCR.¹⁰ La positividad de BOC en el grupo NEM correspondió a un síndrome paraneoplásico con un estudio de RMN que mostró la presencia de lesión intensa relacionada con lesión posquirúrgica o gliosis aparente y un cuadro de paraparesia espástica con resultados de RMN que mostró pequeños signos de infartos lacunares periventriculares, datos estos contenidos en las HC.

El análisis de especificidad mostró variación según el grupo control utilizado, siendo superior cuando se consideró como grupo control al grupo NEM que cuando éste no fue tomado en cuenta. Sin embargo, nosotros concordamos con los reportes que consideran que la determinación de BOC es un método poco específico en la práctica clínica donde las mayores discordancias de diagnóstico diferencial se producen en patologías inflamatorias y no en procesos neurodegenerativos donde la negatividad de la presencia de BOC es un claro criterio de diagnóstico diferencial.¹⁰

Si bien la prevalencia de BOC obtenida en este trabajo está comprendida dentro del porcentaje reportado en otras regiones. La sensibilidad fue ligeramente inferior a algunos reportes que atribuyen 85% de sensibilidad al método aplicado en este trabajo. Sin embargo, la eficacia global y el VPP obtenido en este estudio abogan a favor de la buena capacidad discriminativa del método.

A partir de las variaciones reportadas por diferentes autores en término de sensibilidad y especificidad para la detección de BOC en el LCR dependiendo del método utilizado, estos resultados refuerzan la validez del método de FIE e inmunofijación como el de mayor sensibilidad aplicado en la actualidad y la necesidad de realizar ensayos de validación internos y externos para el logro de un criterio más ajustado como referencia en la aplicación de este sistema diagnóstico. De manera adicional la introducción del método abre la posibilidad un nuevo campo de aplicación al estudio de otros marcadores de utilidad, aplicables al monitoreo de estrategias de reciente aplicación en esta entidad.^{19,20}

CONCLUSIONES

La introducción del método para la detección de BOC en LCR aporta una herramienta complementaria fundamental para el diagnóstico clínico de enfermedades neurológicas. En este sentido la FIE en agarosa seguida de inmunofijación constituye el método cualitativo actual de mayor sensibilidad para el diagnóstico inmunológico del LCR y resul-

ta, a nuestro juicio, esencial para la confirmación del diagnóstico clínico de EM adicional a su valor diferencial para las diferentes formas clínicas de la enfermedad, esto sin obviar los avances más recientes que se vienen logrando con los estudios imagenológicos. El método muestra una mayor capacidad discriminatoria que el Índice IgG para la detección de respuesta intratecal oligoclonal en término de sensibilidad, valor predictivo, eficacia y contribución a la confirmación del diagnóstico clínico. Y aporta una mayor calidad a la estimación cuantitativa integral de la respuesta inmune humoral en el SNC. De manera adicional este método aporta una herramienta potencial aplicable al estudio de marcadores neurobiológicos en EM, relacionados con el daño axonal.

REFERENCIAS

1. Brosnan CF, Raine CS. Mechanisms of immune injury in multiple sclerosis. *Brain Pathol* 1996; 6: 243-57.
2. Cabrera-Gómez JA, Santana Capote E, Echazábal-Santana N, Aguilera O, Gómez I, Ramos AM, et al. Esclerosis múltiple en Cuba. Estado actual y perspectiva. *Rev Neurol* 2000; 25 (Suppl. 3): S8.
3. Datos analíticos. Frutos-Alegria MT, Beltrán Velasco I, Quilez-Iborra C, Moltó-Jordá J, Díaz-Marín C, Matias-Guiu Guia J. Epidemiología de la esclerosis múltiple en Alcoy. *Rev Neurol* 2002; 34: 813-16.
4. Martino GR, Furtan PL, Poliani. El significado patogénico de la inflamación en la esclerosis múltiple. *Rev Neurol* 2000; 29: 1213-17.
5. De la Maza M, García J, Bernal J, Fuentes M. Revisión de la epidemiología de la esclerosis múltiple en México. *Rev Neurol* 2000; 31: 494-5.
6. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald W, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227-31.
7. Burcet J, Zabay JM. Síntesis intratecal de IgG valorada mediante diferentes fórmulas: interés del análisis multivariante para el diagnóstico de esclerosis múltiple. *Rev Neurol* 2000; 31: 812-6.
8. Reiber H. Cerebrospinal fluid-physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases. *Multiple Sclerosis* 1998; 4: 99-107.
9. Anderson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I. Cerebro spinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 897-902.
10. Falip M, Tintoré M, Jardí R, Duran I, Link H, Montalbán X. Utilidad clínica de las bandas oligoclonales. *Rev Neurol* 2001; 32: 1120-24.
11. Rand KH, Houck H, Denslow ND, Hielman KM. Molecular approach to find target (s) for oligoclonal bands in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65: 48-55.
12. Krakauer M, Sclademoose Nielsen J, Sellebjerg F. Intrathecal synthesis of the free immunoglobulins light

- chains in multiple sclerosis. Acta Neurol Scand 1998; 98: 161-5.*
13. Schipper HI, Kruse H, Reiber H. *Silver staining of oligoclonal IgG subfractions in cerebrospinal fluid after isoelectric focusing in thin-layer polyacrylamide gels. Science Tools.*
 14. Poser CM. *Diagnóstico de la esclerosis múltiple. Jornada de Actualización de Esclerosis Múltiple. 12 marzo de 1999; Montevideo, Uruguay.*
 15. Ochoa R, Martínez JC, Estrada E, García AM. *Validación de inmunoensayos cualitativos usados para evaluar inmunogenicidad de vacunas. Vaccine Monitor 2000; 9: 1-5.*
 16. Reiber H. *External quality assessment in clinical neurochemistry. Survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) protein based on CSF /Serum quotients. Clin Chem Acta 1995, 41: 256-63.*
 17. Uria DF. *HLA y esclerosis múltiple. Estudios en la población española. Rev Neurol 2000; 31: 1066-70.*
 18. Abers GC. *Genetics and multiple sclerosis. An overview. Ann Neurol 1994; 36: 512-14.*
 19. Yao SY, Stratton CW, Mitchell WM, Sriram S. *CSF oligoclonal bands in MS include antibodies against chlamydophila antigens. Neurology 2001; 58: 1168-76.*
 20. Fassas A, Passweg JR, Anagnosopoulos A, Kaizs A, Kozak T, et al. *Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. J Neurol 2002; 249: 1088-97.*

