



Original

Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Clinical utility of tau total protein and the ratio to its phosphorylated form in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease

Beatriz Nafría Jiménez¹, Adolfo Garrido Chércoles¹, Fermín Moreno Izco²

Servicios de ¹Análisis Clínicos y ²Neurología. Hospital Universitario Donostia. Donostia

Recibido: 23/03/2023
Aceptado: 18/04/2023

Correspondencia: Beatriz Nafría Jiménez. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Donostia. Paseo Doctor Begiristain, 107. Donostia
e-mail: bea.nafria.95@gmail.com

Palabras clave:

Biomarcadores. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Líquido cefalorraquídeo. Prión. Proteína tau. RT-QuIC.

RESUMEN

Introducción: la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) es la principal encefalopatía espongiiforme transmisible humana que cursa con demencia de progresión rápida y evolución fatal. En la estrategia diagnóstica los biomarcadores subrogados en líquido cefalorraquídeo (LCR) aportan información inicial de gran utilidad. El más utilizado ha sido la proteína 14-3-3, pero recientemente han adquirido interés la proteína tau total (T-tau) y su forma fosforilada (p-tau181), utilizadas ya en el diagnóstico de otras enfermedades neurodegenerativas.

Material y métodos: se ha realizado un estudio retrospectivo en el que se ha comparado la utilidad diagnóstica de la proteína 14-3-3 (Western blot) y de las proteínas T-tau y p-tau181 (electroquimioluminiscencia) en una cohorte de 188 pacientes con sospecha de ECJ, de los que 18 fueron diagnosticados (10 confirmados, 7 probables y 1 posible).

Resultados: valores cualitativos (positivo/negativo) de la proteína 14-3-3 lograron discriminar a los pacientes ECJ de los no ECJ, con baja sensibili-

Conflicto de intereses: los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00177

Nafría Jiménez B, Garrido Chércoles A, Moreno Izco F. Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Rev Med Lab 2023;4(1):4-11

dad (61 %) y buena especificidad (98 %). En contraste, la cuantificación de T-tau (punto de corte: 800 pg/mL) y la ratio T-tau/p-tau181 (punto de corte: 28) mejoraron el rendimiento diagnóstico de ECJ, con alta sensibilidad (88 % y 94 %) y especificidad (97 % y 98 %), respectivamente. A partir de los datos anteriores se propone un algoritmo diagnóstico de ECJ basado en T-tau, Tau/p-Tau181 y una prueba de confirmación RT-QuIC (*Real-Time Quaking-Induced Conversion*).

Conclusiones: las proteínas T-tau y p-tau181 son biomarcadores de primera línea con elevado rendimiento diagnóstico de ECJ. Su automatización en plataformas de inmunoensayo con mejoras en la calidad analítica y en los tiempos de respuesta incrementa su utilidad diagnóstica.

Keywords:

Biomarkers. Creutzfeldt-Jakob disease.
Cerebrospinal fluid. Prion. Tau protein.
RT-QuIC.

ABSTRACT

Introduction: Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) is the main human transmissible spongiform encephalopathy that presents with rapidly progressive dementia and fatal evolution. In the diagnostic strategy, surrogate biomarkers in cerebrospinal fluid (CSF) provide very useful initial information. The most widely used has been the 14-3-3 protein, but recently the total tau protein (T-tau) and its phosphorylated form (p-tau181) have gained interest, already used in the diagnosis of other neurodegenerative diseases.

Material and methods: in this retrospective study we compare the diagnostic performance of the 14-3-3 protein (Western blot) with that of T-tau and p-tau181 proteins (electrochemiluminescence) in a cohort of 188 suspected CJD patients of which 18 were diagnosed (10 confirmed, 7 probable, one possible).

Results: qualitative values (positive/negative) of the 14-3-3 protein were able to discriminate CJD from non-CJD patients, with low sensitivity (61%) and good specificity (98 %). In contrast, T-tau quantification (cut-off 800 pg/mL) and T-tau/p-tau181 ratio (cut-off 28) improved CJD diagnosis, with high sensitivity (88 % and 94 %) and specificity (97 % and 98 %), respectively. Based on the above data, a CJD diagnostic algorithm based on T-tau, tau/p-tau181 and the confirmation test RT-QuIC (Real-Time Quaking-Induced Conversion) is proposed.

Conclusions: CSF T-tau and p-tau181 proteins are first-line biomarkers with elevated diagnostic accuracy for CJD. Its automation in immunoassay platforms with improvements in analytical quality and response times increases its diagnostic utility.

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles humanas (EETH) o prionopatías constituyen un grupo raro de enfermedades neurodegenerativas mortales que representan un importante problema de salud pública (1). En la actualidad, en humanos, se incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el insomnio familiar fatal, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el kuru. Todas ellas se caracterizan por la conversión de la proteína priónica monomérica celular (PrPC) en multímeros con una conformación alterada y anormalmente plegados, denominados colectivamente proteína priónica scrapie (PrPSc), que es capaz de autoagregarse y depositarse en cerebro (2).

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob es la forma más común de EETH (~90 % de los casos), con una incidencia anual de aproximadamente 1,5-2,0 casos por millón de habitantes (1). La ECJ puede ser de origen genético (gECJ), iatrogénico (iECJ) o esporádico (sECJ). Este último es el caso más frecuente, con una supervivencia media de 4 a 6 meses (3).

El diagnóstico de ECJ supone un reto dada la heterogeneidad de síntomas que pueden aparecer (como demencia de rápido empeoramiento, mioclonías, trastornos de la visión o trastornos piramidales/extrapiramidales) y que se superponen, especialmente al inicio, con los cuadros de otras demencias rápidamente progresivas (4). En este sentido, el diagnóstico debe respaldarse con las pruebas de imagen disponibles, tales como electroencefalograma (EEG) o resonancia mag-

nética nuclear (RMN), y el análisis de biomarcadores en LCR (5). No obstante, el diagnóstico definitivo, siguiendo los criterios actualizados del Grupo Europeo de Vigilancia de EETH, requiere una autopsia o biopsia del tejido cerebral para su estudio anatomopatológico (6,7).

La introducción de los biomarcadores en LCR en los laboratorios clínicos ha contribuido a mejorar el diagnóstico *ante mortem* de la ECJ. Dentro de estos, cabe distinguir los biomarcadores subrogados de primera línea, las proteínas 14-3-3, T-tau y su forma fosforilada, que indican daño en el tejido cerebral, aunque no están implicados en la patogénesis directa de la enfermedad, y un biomarcador específico, RT-QulC (*Real-Time Quaking-Induced Conversion*), que se utiliza para aumentar la certeza diagnóstica de ECJ (8).

La proteína 14-3-3 se incluyó en los criterios diagnósticos de sECJ por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998, ya que se libera en el LCR ante la rápida muerte neuronal que caracteriza a esta enfermedad (9). La sensibilidad y la especificidad medias encontradas para ECJ son de alrededor del 80-90 %, de manera que incrementos de esta proteína también pueden asociarse a otras afecciones neurológicas, tales como la encefalitis herpética, la isquemia cerebral, la enfermedad de Alzheimer (EA) o la degeneración frontotemporal, entre otras (10). Para su medición, existen dos tipos de metodologías. Una está basada en la separación electroforética en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y detección cualitativa por Western blot. Es una técnica manual que plantea problemas de reproducibilidad y está sujeta a interferencias analíticas (por ejemplo, muestras de LCR hemáticas), lo que dificulta su acreditación por la norma ISO15189. La otra, propuesta como alternativa y basada en la metodología ELISA, ha tenido una baja implantación en los laboratorios clínicos por falta de estandarización y apenas se han desarrollado kits comerciales (11).

Como alternativa, la proteína T-tau es un biomarcador de muerte neuronal que se ha asociado a EA, pero también se eleva en LCR en la ECJ y, de hecho, en una mayor proporción. De hecho, se han descrito valores de hasta 41 veces mayor que en controles normales (12). Asimismo, la relación de tau total y su fracción fosforilada (p-tau181) ha demostrado que es capaz de mejorar significativamente la discriminación de ECJ de otras demencias, incluso de la EA. Esto puede reflejar el rápido proceso de degeneración axonal que incluye la ECJ, lo que conduce a una liberación excesiva de la proteína, pero que no se acompaña con el grado de fosforilación. Además, a diferencia de la proteína 14-3-3, la proteína tau aumenta al inicio de los signos clínicos (13).

Los métodos iniciales para la cuantificación de tau total y p-tau181 se han basado en la metodología ELISA, en la que la mayoría de los estudios realizados han informado de una buena sensibilidad (75-97 %) y especificidad (87-95 %) para sECJ (14). Algunos estudios también han definido una concentración umbral para guiar

el diagnóstico de entre 1200 y 1300 ng/L (13,15). Sin embargo, últimamente estas pruebas se han adaptado a plataformas de inmunoensayo con marcaje quimio-luminiscente (ECLIA) automatizados con mejores prestaciones analíticas y tiempos de respuesta (16), pero que requieren actualizar los puntos de corte de decisión clínica.

Por su parte, el ensayo RT-QulC se basa en la amplificación de la forma PrPSc presente en el LCR y se considera la prueba de referencia *ante mortem*. Se ha propuesto como una de las pruebas con mejor enfoque diagnóstico de ECJ, ya que diversos estudios han demostrado que presenta una sensibilidad y una especificidad de hasta el 96 % y el 100 %, respectivamente (8). Sin embargo, la implementación de RT-QulC como prueba de detección de primera línea para la ECJ es muy exigente en términos de disponibilidad de recursos, tanto por los elevados costes de reactivo y requerimiento de equipo especializado como por los niveles de bioseguridad de un laboratorio P3 (14). Por lo tanto, esta prueba quedaría relegada a laboratorios especializados que recibirían peticiones y muestras de LCR para confirmar resultados realizados por biomarcadores subrogados.

Con esta perspectiva, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica de las pruebas tau total y la ratio T-tau/p-tau181 en pacientes con sospecha de ECJ en la práctica hospitalaria habitual, estableciendo, por una parte, los puntos de corte con mejor rendimiento diagnóstico y, por otra, combinarlas con RT-QulC para proponer un algoritmo que facilite un enfoque inicial efectivo y temprano en el diagnóstico de ECJ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

En este estudio retrospectivo se incluyeron 188 pacientes durante el periodo de enero del 2018 a agosto del 2021 cuyas muestras de LCR fueron remitidas a nuestro laboratorio desde los servicios de neurología del área sanitaria de Guipúzcoa (País Vasco, España) ante la sospecha clínica o con el fin de descartar ECJ. En cada muestra de LCR se analizó la presencia de la proteína 14-3-3 y se cuantificaron las proteínas T-tau y p-tau181.

El diagnóstico de ECJ lo realizó un especialista en neurología en función de los datos o de criterios clínicos, de las pruebas de imagen (EEG, RMN), de los biomarcadores en LCR y, en algunos casos, de estudio anatomopatológico. De esta manera, los pacientes se clasificaron siguiendo los criterios diagnósticos establecidos por el Grupo de Trabajo para la Vigilancia de EETH en España y de acuerdo con las recomendaciones del Grupo Europeo (6). Estos grados de certeza diagnóstica para la estadificación de la ECJ son los siguientes (7):

Caso posible: demencia rápidamente progresiva junto con dos criterios clínicos (mioclonías, alteraciones

visuales o cerebelosas, síntomas piramidales o extrapiramidales y mutismo acinético) y duración inferior a dos años.

Caso probable: demencia rápidamente progresiva junto con dos criterios clínicos (mioclonías, alteraciones visuales o cerebelosas, síntomas piramidales o extrapiramidales y mutismo acinético) y una prueba de imagen típica de ECJ (aparición en el EEG de complejos periódicos de onda corta [PSWC], o en la RMN cerebral, de anomalías de alta señal en los núcleos caudado y putamen o en al menos dos regiones corticales en técnica de difusión por resonancia magnética (DWI) o en recuperación de la inversión atenuada de fluido (FLAIR) o una prueba positiva de biomarcadores en LCR (proteína 14-3-3 o RT-QuIC).

Caso confirmado: además de los criterios para un caso probable, debe confirmarse por autopsia o biopsia cerebral mediante anatomía patológica o inmunohistoquímica de PrPSC.

Muestras de LCR y análisis de biomarcadores

Las muestras de LCR se obtuvieron mediante punción lumbar, a nivel L3/L4 o L4/L5, siguiendo los procedimientos estandarizados. Las muestras de LCR se recogieron en tubos de ensayo de polipropileno (Sarstedt™), se enviaron al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a la recolección y se centrifugaron (4000 g, 10 min, 4 °C). Los sobrenadantes se dividieron en alícuotas de 1,5 mL en tubos de ensayo de polipropileno (Sorenson Bioscience) y se congelaron (-40 °C) hasta su posterior análisis.

La detección de la presencia de proteína 14-3-3 en LCR se realizó mediante electroforesis por SDS-PAGE/Inmunoblot usando los reactivos de la casa comercial Invitrogen (ThermoFisher). Para cada serie, el ensayo se validó aplicando un patrón o estándar de tamaño de proteínas en el rango 3,5-260 kDa y controles positivo y negativo.

La cuantificación de los biomarcadores (T-tau y p-tau181) en LCR se realizó mediante ECLIA acoplado a las plataformas cobas e801 y e601 (Roche®). La imprecisión interserial, expresada como coeficiente de variación, estuvo alineada con la indicada por el fabricante del método, que fue inferior a un 3 % en los niveles de concentración de utilidad clínica. Estas dos pruebas estaban incluidas en la participación del programa externo de la calidad (EQA) para biomarcadores en LCR organizado por The Alzheimer's Association. En la comparación entre laboratorios, se marcó como objetivo que la desviación de los resultados con respecto a la media del grupo par estuviera comprendida entre 2 SD.

Por su parte, y debido a que el ensayo RT-QuIC solo estuvo disponible al final del periodo de inclusión de los pacientes, se realizó en un número reducido de casos utilizando como sustrato proteína priónica recombinante de hámster truncada (ensayo de segunda generación). El análisis se llevó a cabo en un laboratorio de referencia a nivel estatal.

Análisis estadístico de los datos

Todos los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 22.

La distribución de valores de los biomarcadores en nuestra muestra, estudiada mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnow, no seguía una distribución normal. Por ello, los datos se presentan como mediana y rango intercuartílico. Resultados de T-tau obtenidos en el autoanizador como > 1300 pg/mL no pudieron diluirse en el momento del estudio y se consideraron como 1300 con el fin de poder realizar los cálculos. Para evaluar las diferencias entre los dos grupos (ECJ y no-ECJ), se utilizaron las pruebas no paramétricas de U de Mann-Whitney en las variables continuas y de χ^2 para las variables categóricas (sexo y positividad de la proteína 14-3-3). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a valores de $p < 0,05$. Para calcular la sensibilidad y la especificidad y demostrar los valores discriminatorios de los biomarcadores, se llevaron a cabo las curvas ROC (acrónimo de *Receiver Operating Characteristic* o característica operativa del receptor). El área bajo la curva ROC (AUC) con los intervalos de confianza acordes del 95% (IC 95 %) se consideró como medida para la exactitud diagnóstica y los puntos de corte óptimos de T-tau y p-tau181 se calcularon utilizando el índice de Youden.

La solicitud facultativa de los biomarcadores en LCR lleva implícito el consentimiento informado del paciente y la autorización por el comité de ética para realizar la punción lumbar y la interpretación clínica de los resultados con fines diagnósticos.

RESULTADOS

Datos demográficos y biomarcadores del LCR

Se incluyeron un total de 188 pacientes, de los que 18 resultaron finalmente clasificados como ECJ. No hubo diferencias con respecto a la edad y al sexo entre los casos de ECJ y los casos sin ECJ (Tabla I).

Como era de esperar, la proporción de pacientes con proteína 14-3-3 positiva fue de un 66,67 % y 0,5 % para los grupos ECJ y no ECJ, respectivamente ($p < 0,005$). En cuanto a los otros biomarcadores del LCR estudiados, los niveles de T-tau fueron significativamente mayores en el grupo de ECJ, mientras que los niveles de la fracción fosforilada fueron similares entre ambos grupos. La relación T-tau/p-Tau181 mostró mayor capacidad discriminante.

De los once casos que pudo realizarse de RT-QuIC, fue positivo en ocho de ellos. De los tres restantes, dos casos se clasificaron finalmente como no ECJ y el otro en un caso, de probable origen genético.

Las características clínicas de los pacientes con diagnóstico de ECJ se muestran en la tabla II. Entre estos pacientes, el diagnóstico de ECJ se confirmó mediante un examen anatomopatológico *post mortem* en diez casos.

Tabla I.
VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y RESULTADOS DE BIOMARCADORES EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS ECJ Y NO CJ

Diagnóstico	No ECJ (n = 170)	ECJ (n = 18)	p
Edad (años), mediana (IQR)	72,00 (15,0)	69,00 (17,0)	0,457
Hombres (%)	114 (84,7 %)	9 (50 %)	0,329
Proteína 14-3-3 positiva (%)	1 (0,58 %)	12 (66,67 %)	< 0,0001*
T-tau (pg/mL), mediana (IQR)	202,50 (155,7)	1300,00 (276,0)	< 0,0001*
p-tau181 (pg/mL), mediana (IQR)	17,88 (17,7)	19,50 (17,5)	0,342
Ratio T-tau / p-tau181, mediana (IQR)	11,24 (3)	41,90 (47,1)	< 0,0001*
RT-QuIC (positivo/realizados)	0/2	8/9	–

IQR: rango intercuartílico. *Resultados estadísticamente significativos considerados con $p < 0,05$.

Tabla II.
Grados de certeza diagnóstica del grupo ECJ

Diagnóstico ECJ	Posible	Probable	Confirmado
Casos totales (n)	1	7	10
Edad (años), mediana (IQR)	82	63,5 (22)	72,0 (12)
EEG típico (%)	0	2 (28,57 %)	8 (80 %)
RMN cerebral típica (%)	1	6 (85,71 %)	9 (90 %)
Proteína 14-3-3 positiva (%)	1	4/7 (57,14 %)	6/9 (66,67 %)
RT-QuIC positivo	-	3/4 (75 %)	5/5 (100 %)
Tipo histológico	-	1 Ins 2-OPRI	6 MM/MV1 2 MM/MV1+2C 1 VV2 1 gCJ (PRNP-E200K)

gCJ: Creutzfeldt-Jakob genético; EEG: electroencefalograma; RMN: resonancia magnética nuclear.

Nueve de ellos se clasificaron como ECJ esporádica y uno como caso genético con la mutación más frecuente E200K en el gen *PRNP*. Casi todos estos casos confirmados de ECJ presentaron una RMN típica y la mayoría de ellos, un EEG típico, aunque el caso genético no. Los otros ocho casos (posible y probables) no pudieron confirmarse, ya que no se dispuso del consentimiento para realizar la autopsia.

Exactitud diagnóstica de los biomarcadores del LCR

Se realizó un análisis de curvas ROC para evaluar la exactitud diagnóstica de los biomarcadores T-tau y p-tau181 en LCR para distinguir a los pacientes clasificados con ECJ de los no ECJ (Fig. 1). Como puede visualizarse, el biomarcador subrogado en LCR más exacto para el diagnóstico de ECJ fue la ratio T-tau/p-tau181. Por su parte, la curva ROC de T-tau

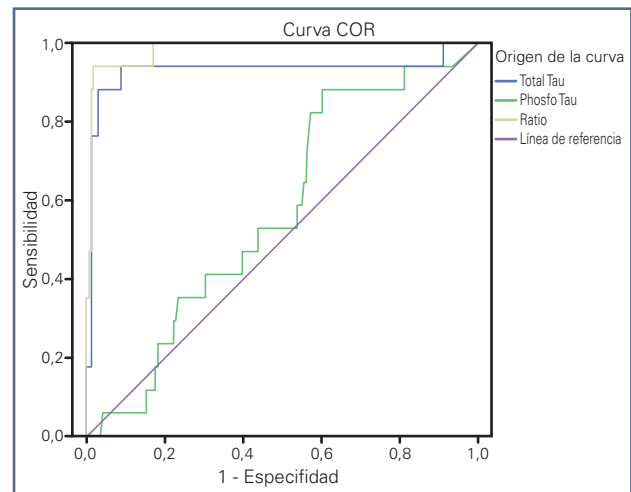


Figura 1 – Análisis mediante curvas ROC de T-tau, p-tau181 y su ratio. Los segmentos de diagonal se generaron mediante empates.

también muestra buena sensibilidad y especificidad, pero no así la fracción fosforilada por sí sola. Estos resultados se confirmaron en el análisis de áreas bajo la curva (AUC), en el que se seleccionaron los puntos de corte óptimos, basados en el índice de Youden, para cada biomarcador (Tabla III). Por último, al comparar la sensibilidad y la especificidad de la proteína 14-3-3 frente a la ratio T-tau/p-tau181 se observa que para esta última los puntos de corte 25 y 28 ofrecen una sensibilidad superior a la proteína 14-3-3 (Tabla IV).

Algoritmo diagnóstico

A raíz de estos resultados construimos este algoritmo de decisión clínica en el que se proponen las proteínas T-tau y p-tau181 como pruebas de detección rápida de primera línea (Fig. 2). De tal manera que, si un paciente con sospecha clínica de ECJ presenta una concentración superior de T-tau o de la ratio con su fracción fosforilada superiores a los puntos de corte establecidos, se continuaría con la prueba de referencia RT-QuIC para otorgar un diagnóstico de ECJ con muy alta probabili-

Tabla III.
Exactitud diagnóstica de ECJ de los biomarcadores en LCR y puntos de corte óptimos

Biomarcador	AUC	IC 95 %	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Ratio T-tau/ p-tau181	0,983	0,953-0,996	28	94	98
T-tau	0,931	0,885-0,963	800 pg/mL	88	97
p-tau181	0,570	0,496-0,642	16 pg/mL	77	43

Tabla IV.
Análisis de sensibilidad y especificidad de la proteína 14-3-3 y diferentes puntos de corte de ratio T-tau/ p-tau181

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Proteína 14-3-3	61,12	99,50
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte 25)	94,12	97,67
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte 28)	94,12	98,3
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte)	70,58	98,83

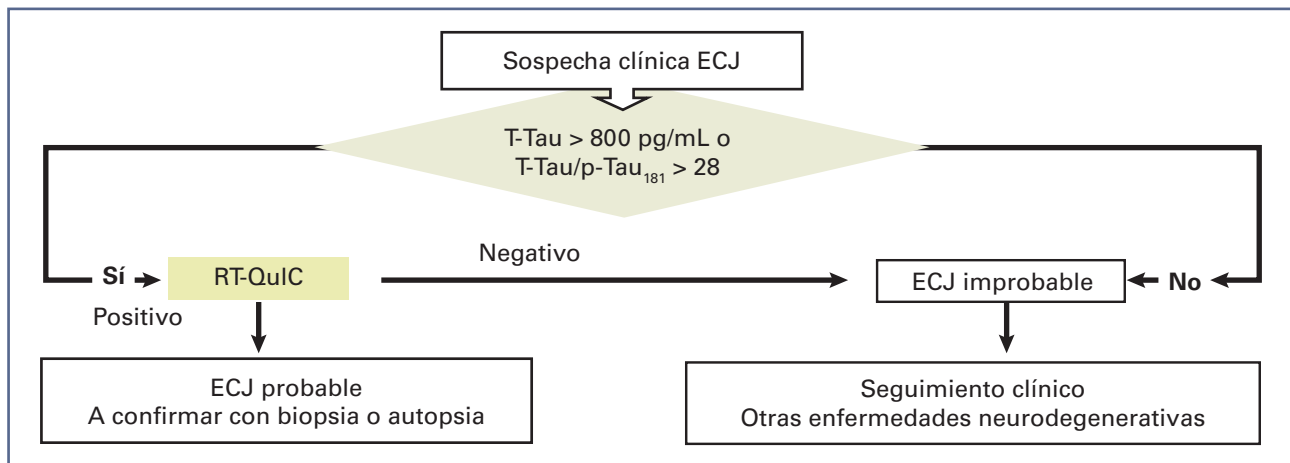


Figura 2 – Algoritmo diagnóstico basado en los biomarcadores subrogados tau total y la ratio con su fracción fosforilada, seguidos de RT-QuIC.

dad (a la espera de confirmación con biopsia). Por el contrario, si no se alcanzasen los puntos de corte establecidos, se informaría como ECJ improbable. Todo ello bajo un seguimiento clínico muy exhaustivo.

CONCLUSIÓN

En este trabajo nuestro objetivo fue estudiar la utilidad diagnóstica de las proteínas T-tau, p-tau181 y su ratio en una cohorte de pacientes remitidos al laboratorio por sospecha de ECJ. Con este fin, proporcionamos una investigación sobre el rendimiento de dichos biomarcadores en LCR y establecemos unos puntos de corte óptimos para discriminar con exactitud entre casos de ECJ (incluidos los casos patológicamente confirmados, clínicamente definidos y probables) y los pacientes sin ECJ.

El diagnóstico de ECJ presenta una progresión muy rápida y muchos síntomas se superponen con otras enfermedades neurodegenerativas (17). Por ello, el empleo de los biomarcadores subrogados aportaría utilidad diagnóstica en las fases más tempranas de la enfermedad. La proteína 14-3-3 ha sido el biomarcador subrogado de LCR más utilizado. Sin embargo, en nuestro estudio obtenemos una baja sensibilidad que contrasta con algunos estudios previos (10,13,18) que aportan que la proteína 14-3-3 tiene una sensibilidad más elevada para ECJ, aunque baja especificidad. Una de las razones probablemente esté relacionada con el uso del Western blot como técnica más empleada para su determinación. Este método, con resultados semicuantitativos, se ve interferido positivamente por las altas concentraciones de proteína o hematies en el LCR y, además, puede verse afectado por las interpretaciones visuales subjetivas (19). También se ha informado de que la heterogeneidad de la ECJ parece influir en los resultados diagnósticos, aunque la razón precisa aún no está clara en la actualidad (20).

Por el contrario, la proteína tau no está presente en hematies y los métodos para su medición se han basado en métodos inmunoquímicos cuantitativos (21). Varios estudios han informado de una sensibilidad y de una especificidad de la ratio T-tau/p-tau181 superiores a la prueba 14-3-3 (10, 22). En nuestro trabajo, también observamos mediante el análisis de curvas ROC que la combinación de la cuantificación de T-tau y su relación con la fracción fosforilada presentan un aumento de la exactitud diagnóstica. Asimismo, establecimos los puntos de decisión óptimos, obteniendo un valor de T-tau de 800 pg/mL o una ratio T-tau/p-tau181 mayor de 28. Estos puntos son semejantes a otros que se han descrito, aunque no se han unificado ni estandarizado dichos límites (23).

Otra ventaja de la ratio T-tau/p-tau181 es la posibilidad de calcularla con resultados obtenidos mediante métodos quimioluminiscentes automatizados en plataformas de inmunoensayo habituales en los laboratorios clínicos, lo que facilita su estandarización y la

mejora en el tiempo de respuesta (24). En concreto, el tiempo de respuesta en nuestro laboratorio para la proteína 14-3-3 es de aproximadamente 21 días frente a los 7 días para T-tau o p-tau181 por término medio, pero teniendo en cuenta que pueden proporcionarse tiempos de respuesta preferentes de uno o dos días si la situación clínica del paciente lo requiere.

En vista de todos estos resultados, junto con la rápida evolución y el mal pronóstico de la ECJ en muchos casos, se propone un algoritmo basado en la combinación de la prueba T-tau y de la ratio T-tau/p-tau181 como prueba de primera línea, seguida del ensayo RT-QuIC como prueba confirmatoria de un resultado positivo. La aplicación de este algoritmo en la práctica clínica puede aportar ventajas en el enfoque diagnóstico y en el manejo asistencial de los pacientes.

La principal limitación de nuestro estudio está relacionada con el número relativamente pequeño de casos de ECJ. Sin embargo, hemos incluido un número de muestras mucho más elevado y procedentes de una situación clínica real ante signos o síntomas clínicos que sugieren una enfermedad neurodegenerativa, con la aceptación del compromiso ético-legal de realizar una punción lumbar. Por lo tanto, a diferencia de comparar ECJ frente a otras patologías no neurológicas, en nuestro estudio la cohorte es representativa de la práctica hospitalaria, limitándose el sesgo.

Hay que mencionar que los nuevos análisis de la proteína tau en sangre representan un nuevo enfoque, con resultados alentadores en cuanto a la correlación LCR-plasma (25). Sin embargo, el nivel plasmático de tau se cuantifica actualmente utilizando ensayos comerciales de uso exclusivo de investigación, por lo que aún no puede ponerse en práctica en la rutina hospitalaria.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la cuantificación de la proteína T-tau y la relación con su fracción fosforilada en LCR ofrece una mayor sensibilidad y especificidad que la proteína 14-3-3 para el diagnóstico *ante mortem* de ECJ. Asimismo, su determinación puede implementarse fácilmente en la práctica clínica de cualquier laboratorio no especializado y establecerse como enfoque inicial efectivo y precoz antes de la prueba de confirmación RT-QuIC en la estrategia diagnóstica de ECJ.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hermann P, Appleby B, Brandel J-P, Caughey B, Collins S, Geschwind MD, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *The Lancet Neurology* 2021;20(3):235-46.
2. Baral PK, Yin J, Aguzzi A, James MNG. Transition of the prion protein from a structured cellular form (PrP^C) to the infectious scrapie agent (PrP^{Sc}). *Protein Sci* 2019;28(12):2055-63.
3. Brown P, Brandel J-P, Sato T, Nakamura Y, MacKenzie J, Will RG, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerg Infect Dis* 2012;18(6):901-7.
4. Geschwind MD, Murray K. Differential diagnosis with other rapid progressive dementias. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Hand Clin Neurol 2018;153:371-97.

5. Figgie MP, Appleby BS. Clinical Use of Improved Diagnostic Testing for Detection of Prion Disease. *Viruses* 2021;13(5):789.
6. European Centre for Disease Prevention and Control (CDC). Review of guidelines for prevention of Creutzfeldt–Jakob disease transmission in medical settings in EU Member States and Norway 2011 [cited 2023 Jan 13]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/review-guidelines-prevention-creutzfeldt-jakob-disease-transmission-medical>
7. Osakidetza. Encefalopatías espongiformes transmisibles humanas. Adaptación de los protocolos de la red nacional de vigilancia epidemiológica (RENAVE). Protocolos de vigilancia epidemiológica. Euskadi.eus [citado el 23 de enero de 2023]. Disponible en: https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia_protocolos/es_def/adjuntos/EZJ_Castellano_31-01-2019.pdf
8. McGuire LI, Poleggi A, Poggiolini I, Suardi S, Grznarova K, Shi S, et al. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic creutzfeldt-jakob disease: An international study: sCJD CSF RT-QuIC. *Ann Neurol* 2016;80(1):160-5.
9. Muayqil T, Gronseth G, Camicioli R. Evidence-based guideline: diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt Jakob disease: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2012;79:1499-506.
10. Fayolle M, Lehmann S, Delaby C. Comparison of cerebrospinal fluid tau, ptau(181), synuclein, and 14-3-3 for the detection of Creutzfeldt-Jakob disease in clinical practice. *J Neural Transm (Vienna)* 2022;129(2):133-9.
11. Stoeck K, Sánchez-Juan P, Gawinecka J, Green A, Ladogana A, Pochiari M, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarker Supported Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease and Rapid Dementias: A Longitudinal Multicentre Study over 10 Years. *Brain J Neurol* 2012;135:3051-61.
12. Blennow K, Díaz-Lucena D, Zetterberg H, Villar-Pique A, Karch A, Vidal E, et al. CSF Neurogranin as a Neuronal Damage Marker in CJD: A Comparative Study with AD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019;90:846-53.
13. Foucault-Fruchard L, Delaye JB, Morange V, Beaufilets E, Duwicquet C, Quadrio I, et al. An automated alert system based on the p-Tau/Tau ratio to quickly inform health professionals upon a suspected case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 2020;415(116971):116971.
14. Ascari LM, Rocha SC, Gonçalves PB, Vieira TCRG, Cordeiro Y. Challenges and Advances in Antemortem Diagnosis of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:585896.
15. Skillbäck T, Rosén C, Asztely F, Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H. Diagnostic performance of cerebrospinal fluid total tau and phosphorylated tau in Creutzfeldt-Jakob disease: results from the Swedish Mortality Registry: Results from the Swedish mortality registry. *JAMA Neurol* 2014;71(4):476-83.
16. Agnello L, Piccoli T, Vidali M, Cuffaro L, Lo Sasso B, Iacolino G, et al. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid biomarkers measured by chemiluminescent enzyme immunoassay for Alzheimer disease diagnosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80(4):313-7.
17. Baiardi S, Capellari S, Bartoletti Stella A, Parchi P. Unusual clinical presentations challenging the early clinical diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *J Alzheimers Dis* 2018;64(4):1051-65.
18. Llorens F, Karch A, Golanska E, Schmitz M, Lange P, Sikorska B, et al. Cerebrospinal fluid biomarker-based diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A validation study for previously established cutoffs. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2017;43:71-80.
19. Schmitz M, Ebert E, Stoeck K, Karch A, Collins S, Calero M, et al. Validation of 14-3-3 protein as a marker in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease diagnostic. *Mol Neurobiol* 2016;53:2189-99.
20. Castellani RJ, Colucci M, Xie Z, Zou W, Li C, Parchi P, et al. Sensitivity of 14-3-3 protein test varies in subtypes of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2004;63(3):436-642.
21. Hyeon JW, Kim SY, Lee J, Park JS, Hwang KJ, Lee SM, et al. Alternative application of Tau protein in Creutzfeldt-Jakob disease diagnosis: Improvement for weakly positive 14-3-3 protein in the laboratory. *Sci Rep* 2015;5(1):15283.
22. Hamlin C, Puoti G, Berri S, Sting E, Harris C, Cohen M, et al. A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2012;79:547-52.
23. Abu-Rumeileh S, Baiardi S, Polisch B, Mamma A, Franceschini A, Green A, et al. Diagnostic value of surrogate CSF biomarkers for Creutzfeldt-Jakob disease in the era of RT-QuIC. *J Neurol* 2019;266(12):3136-43.
24. Llorens F, Schmitz M, Zerr I. Progress in CSF biomarker discovery in sCJD. *Oncotarget* 2017;8:5666-7.
25. Staffaroni AM, Kramer AO, Casey M, Kang H, Rojas JC, Orrú CD, et al. Association of blood and cerebrospinal fluid tau level and other biomarkers