



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

OPTIMIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE  
UN ELISA TIPO SÁNDWICH PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE  
LARVAS DE *Taenia solium* EN MUESTRAS DE ORINA

OPTIMIZATION AND DIAGNOSTIC PERFORMANCE EVALUATION OF A  
SANDWICH ELISA FOR THE DETECTION OF *Taenia solium* LARVAL  
ANTIGENS IN URINE SAMPLES

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO  
EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTORES

MAIRA LILIANA HURTADO MAYLLE

JOSE MIGUEL QUICHIZ MELENDEZ

ASESOR

MIGUEL WILFREDO MARZAL MELENDEZ

CO-ASESOR

YESENIA CASTILLO BERRIOS

LIMA – PERÚ

2026



## **JURADO**

Presidente: Dra. Maritza Mercedes Calderon Sanchez De Jimenez

Vocal: Lic. Billy Joel Sanchez Jacinto

Secretario: Mg. Marco Antonio Canales Ramos

Fecha de sustentación: 13 de marzo del 2026

Calificación Aprobado

**ASESORES DE TESIS**

**ASESOR**

MSc. MIGUEL WILFREDO MARZAL MELENDEZ

Departamento Académico de Tecnología Médica - Facultad de Medicina

ORCID: 0000-0002-8658-4451

**CO-ASESOR**

Mgr. YESENIA CASTILLO BERRIOS

Laboratorio de Inmunología Parasitaria - Laboratorios de Investigación y

Desarrollo de la Facultad de Ciencias e Ingeniería

ORCID: 0000-0003-1971-1702

## **DEDICATORIA**

A mi mamá, Fagustina Maylle, que siempre estuvo conmigo, me dio su amor incondicional y las fortalezas en cada desvelada. A mi papá, Francisco Hurtado, que me cuidó en tierra y cielo y me dio la inspiración para continuar.

*Maira Liliana Hurtado Maylle*

A mi familia por su apoyo y comprensión constante a lo largo de cada etapa de este camino, siendo pilar fundamental para perseverar hasta alcanzar esta meta. Logro que también les pertenece gracias a su confianza puesta en mí.

*Jose Miguel Quichiz Melendez*

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestros asesores, MSc. Miguel Wilfredo Marzal Melendez y Mgr. Yesenia Castillo Berrios, por todo su apoyo, orientación y paciencia durante el desarrollo de este trabajo. A la MSc. Adriana Paredes Arredondo por sus consejos y recomendaciones en la redacción de la tesis. Y a nuestros amigos del Laboratorio de Inmunología Parasitaria por su apoyo y risas durante la ejecución del proyecto.

*MLHM* - A los licenciados de Laboratorio Clínico del Hospital Central FAP. En especial, a mi tutora, Lic. Doris, por su apoyo y comprensión; a las Lic. Carolina y Magaly de Banco de Sangre por los permisos brindados; y al Lic. Jorge y Charito por sus consejos y palabras de aliento en cada avance.

*JMQM* - A los licenciados del Hospital Nacional Cayetano Heredia por las facilidades brindadas, permitiendo equilibrar mis responsabilidades con el desarrollo de la tesis.

### **FUENTE DE FINANCIAMIENTO**

Este estudio ha sido financiado por los investigadores y por el proyecto “Training  
in parasitic diseases and central nervous system infections I” Number:

230305012020

### **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS**

Los autores declaran no tener conflicto de interés respecto a la investigación,  
autoría y/o publicación del presente estudio.

## RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

### DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	HURTADO MAYLLE MAIRA LILIANA
2.	QUICHIZ MELENDEZ JOSE MIGUEL

Pertenecientes al programa de la CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA autores del trabajo titulado: OPTIMIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE UN ELISA TIPO SÁNDWICH PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE LARVAS DE *Taenia solium* EN MUESTRAS DE ORINA el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA bajo la modalidad de TESIS.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	MARZAL MELENDEZ MIGUEL WILFREDO	MEDICINA	ASESOR
2.	CASTILLO BERRIOS YESENIA	CIENCIAS	CO-ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de 11%, según el reporte emitido por el software Turnitin® (identificador de entrega: trn:oid:::1:3556488946; fecha de entrega: 30-04-2026).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: Lima, 30 de abril de 2026

Firma del asesor  
N° DNI: 07899323  
ORCID: 0000-0002-8658-4451

Firma del Co-asesor  
N° DNI: 07899323  
ORCID: 0000-0003-1971-1702



## TABLA DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	5
III. MATERIALES Y MÉTODOS	6
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	23
VI. LIMITACIONES, FORTALEZAS Y RECOMENDACIONES	32
VII. CONCLUSIONES	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
IX. FIGURAS	49
ANEXOS	52

## RESUMEN

**Introducción:** La neurocisticercosis (NCC), causada por la fase larvaria de *Taenia solium*, es una de las principales causas de epilepsia en países endémicos. Aunque la resonancia magnética y la tomografía axial computarizada constituyen el estándar diagnóstico, su limitada accesibilidad en zonas rurales ha impulsado el desarrollo de métodos inmunológicos. Además, el uso de sangre o líquido cefalorraquídeo implica procedimientos invasivos, por lo que la orina representa una alternativa no invasiva de fácil obtención para el seguimiento clínico y estudios epidemiológicos.

**Objetivo:** Optimizar el desempeño diagnóstico de un ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *Taenia solium* en muestras de orina. **Materiales**

**y Métodos:** Estudio cuasi experimental descriptivo de corte transversal retrospectivo y con alcance analítico. Se evaluaron sistemáticamente placas, buffers, agentes de bloqueo, concentraciones de anticuerpos, dilución de muestra y reveladores para establecer un protocolo optimizado. Posteriormente, se analizaron 40 muestras de orina (20 positivas y 20 negativas) para determinar el punto de corte, sensibilidad, especificidad y valores predictivos. **Resultados:** El protocolo optimizado presentó sensibilidad de 95%, especificidad de 100%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo de 95%. **Conclusión:** El ELISA optimizado mostró un desempeño diagnóstico que permitió discriminar con alta precisión entre muestras positivas y negativas de NCC, con bajo costo y rapidez, lo

que respalda su potencial utilidad en entornos con recursos limitados.

**Palabras clave:** ELISA; neurocisticercosis; *Taenia solium*; orina; validación diagnóstica.

## ABSTRACT

**Introduction:** Neurocysticercosis (NCC), caused by the larval stage of *Taenia solium*, is one of the leading causes of epilepsy in endemic countries. Although magnetic resonance imaging and computed tomography constitute the diagnostic gold standard, their limited accessibility in rural areas has driven the development of immunological methods. In addition, the use of blood or cerebrospinal fluid involves invasive procedures; therefore, urine represents a non-invasive and easily obtainable alternative for clinical follow-up and epidemiological studies.

**Objective:** To optimize the diagnostic performance of a sandwich ELISA for the detection of *Taenia solium* larval antigens in urine samples. **Materials and**

**Methods:** A quasi-experimental, descriptive, retrospective cross-sectional study with an analytical scope. Plates, buffers, blocking agents, antibody concentrations, sample dilution, and detection reagents were systematically evaluated to establish an optimized protocol. Subsequently, 40 urine samples (20 positive and 20 negative) were analyzed to determine the cut-off value, sensitivity, specificity, and predictive values. **Results:** The optimized protocol showed a sensitivity of 95%, specificity of 100%, a positive predictive value of 100%, and a negative predictive value of 95%. **Conclusion:** The optimized ELISA demonstrated diagnostic performance that allowed high-precision discrimination between positive and negative NCC samples, with low cost and rapid turnaround time, supporting its potential usefulness in resource-limited settings.

**Keywords:** ELISA; neurocysticercosis; *Taenia solium*; urine; diagnostic validation.

## I. INTRODUCCIÓN

El complejo teniasis/cisticercosis es una zoonosis causada por el cestodo *Taenia solium* (*T. solium*), en la cual el cerdo actúa como hospedero intermediario y el ser humano como hospedero definitivo y, accidentalmente, intermediario. (1). La teniasis se adquiere mediante la ingestión de carne de cerdo mal cocida que contiene cisticercos viables, los cuales se desarrollan hasta el estadio adulto en el intestino delgado (1). En contraste, la cisticercosis se produce tras la ingestión de huevos embrionados (que contienen larvas oncosferas); luego de la eclosión en el intestino, las larvas oncosferas atraviesan la mucosa intestinal y se diseminan por vía hematogena hacia distintos tejidos, con tropismo por el sistema nervioso central, originándose la neurocisticercosis (NCC) (Figura 1) (1,2).

La NCC constituye una de las principales causas de epilepsia en regiones endémicas (1). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), aproximadamente el 30 % de los casos de epilepsia en estas zonas se atribuyen a NCC, lo que subraya su importancia como problema de salud pública (3). En América Latina, entre 450,000 y 1,35 millones de personas padecen epilepsia asociada a *T. solium* (4). En el Perú, la enfermedad es endémica en la sierra, selva alta y costa norte; donde hasta el 50 % de los casos de epilepsia se relacionan con NCC, constituyendo una causa importante de atención en servicios de neurología (Figura 2) (5-15).

El diagnóstico de NCC integra criterios clínicos, epidemiológicos, de imagen y laboratorio, siendo la resonancia magnética y la tomografía axial computarizada (TAC) el estándar de oro por su elevada sensibilidad (1,3). Sin embargo, su acceso en zonas rurales es limitado por su alto costo, la necesidad de infraestructura

especializada y la susceptibilidad a artefactos técnicos (16). Esta situación ha impulsado el desarrollo de pruebas inmunológicas más accesibles para contextos con recursos limitados.

Desde la introducción del ELISA indirecto por Arambulo et al. en 1978 y del Western Blot por Tsang et al. en 1989, los inmunoensayos han desempeñado un rol clave en el diagnóstico de la cisticercosis (17). No obstante, la detección de anticuerpos no permite diferenciar entre infecciones activas y pasadas, por lo que la incorporación de anticuerpos monoclonales (mAc) permitió el desarrollo de ELISAs tipo sándwich dirigidos a antígenos circulantes, capaces de identificar infecciones activas (18).

Los anticuerpos monoclonales utilizados en el presente estudio se encuentran dirigidos contra diferentes componentes antigénicos de la larva cisticerco de *T. solium* y fueron desarrollados por Paredes et al. en 2016 (19). En dicho trabajo se obtuvieron 21 hibridomas productores de mAc de isotipo IgG e IgM: 13 dirigidos contra antígenos somáticos (TsW1-13), 5 contra antígenos del fluido vesicular (TsV1-5) y 3 contra antígenos excretor/secretor (TsE1-3) (19). Mediante ensayos de ELISA de captura en muestras de suero y orina, los autores identificaron que los mAc TsW5 (IgM), TsW8 (IgM) y TsW11 (IgM) mostraron mayor reactividad en orina. Posteriormente, Santos (2020) determinó que la combinación del mAc TsW8 como anticuerpo de captura y del mAc TsW5 biotinilado (TsW5-B) como anticuerpo de detección presentó el mejor desempeño en ELISA tipo sándwich empleando muestras de orina (20).

La técnica del ELISA tipo sándwich ha demostrado una notable utilidad diagnóstica en la detección de antígenos parasitarios en diversos fluidos biológicos como orina, suero y saliva (21-26). Su aplicación ha sido descrita en distintas parasitosis, incluyendo *Toxoplasma gondii*, *Fasciola* sp., *Trichinella spiralis*, *Echinococcus granulosus*, *Leishmania donovani* y *Trypanosoma cruzi* (21-26). En conjunto, estos estudios señalan que la técnica de ELISA permite un diagnóstico y tratamiento terapéutico temprano, donde la disminución de los niveles de antígeno refleja la efectividad del tratamiento (25).

Corda et al. (2022) señalan que los antígenos larvarios de *T. solium* identificados mediante la técnica de ELISA pueden detectarse en muestras de plasma, suero, orina y líquido cefalorraquídeo (LCR) (27). Sin embargo, las muestras de sangre (plasma o suero) implican procedimientos invasivos que conllevan riesgo de exposición ocupacional; por su parte la obtención de LCR, además de ser muy invasiva, puede resultar riesgoso en pacientes con hipertensión intracraneal (24,28).

De manera que, la orina ha sido propuesta como alternativa diagnóstica por ser no invasiva, indolora, culturalmente aceptable y de fácil obtención; lo que facilita el seguimiento clínico y los estudios epidemiológicos (29

). Su uso resulta particularmente conveniente en NCC subaracnoidea, considerada la forma más grave de la enfermedad, ya que esta variante clínica puede manifestar síntomas tardíos y niveles de antígenos más elevados; reforzando así su potencial utilidad diagnóstica en estos casos (30,31).

Estudios previos demostraron que infecciones parasitarias liberan antígenos detectables en orina y que esta muestra es útil en NCC (21-26,29,32). Castillo et al.

(2009) y Mwape et al. (2011) reportaron sensibilidades superiores al 85% con ELISA tipo sándwich en orina, mientras que Toribio et al. (2023) lograron una prueba rápida inmunocromatográfica con 97 % de sensibilidad y 100 % de especificidad; respaldando su uso para tamizaje en zonas endémicas y en entornos con recursos limitados (29,32,33).

A pesar de que la NCC continúa siendo un problema de salud pública en zonas endémicas, los métodos diagnósticos actuales son costosos, invasivos y de limitada accesibilidad. Asimismo, en el Perú no se dispone de un protocolo optimizado para la detección de antígenos larvarios. En este contexto, el presente estudio optimizó y evaluó el desempeño diagnóstico de un ELISA tipo sándwich como herramienta para la detección de la enfermedad.

Si bien el formato ELISA requiere condiciones de laboratorio que limitan su uso directo en áreas rurales, los resultados obtenidos contribuyen al desarrollo de plataformas diagnósticas más simples y adaptables a pruebas rápidas, favoreciendo el control de la neurocisticercosis en entornos de recursos limitados.

## **II. OBJETIVOS**

### **A. Objetivo general**

Optimizar el desempeño diagnóstico de un ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *Taenia solium* en muestras de orina.

### **B. Objetivos secundarios**

1. Determinar las condiciones óptimas del ELISA tipo sándwich para detectar antígenos de larvas de *Taenia solium* en muestras de orina mediante la evaluación de diferentes concentraciones de reactivos y parámetros técnicos.
2. Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del protocolo optimizado del ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos larvarios de *Taenia solium* en muestras de orina.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **A. Diseño del estudio**

Se realizó un estudio cuasi experimental, descriptivo de corte transversal retrospectivo y con alcance analítico. El trabajo se llevó a cabo entre junio y octubre del 2025 en el Laboratorio de Inmunología Parasitaria de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (LIP-FCI-UPCH).

#### **B. Población**

La población de estudio estuvo constituida por participantes del proyecto primario “Estudio transversal para detectar casos de neurocisticercosis subaracnoidea a nivel comunitario”, con código SIDISI 102271, del LIP-FCI-UPCH. Este trabajo incluyó individuos de zonas endémicas de neurocisticercosis (Piura y Tumbes) y zona no endémica (Lima).

De los participantes en el estudio primario, se colectaron y conservaron muestras de orina, inicialmente en contenedores estériles desechables. Tras su recepción en el Laboratorio de Inmunología Parasitaria, las muestras se transfirieron a tubos de 50 ml y se centrifugaron a 3500 rpm por 10 minutos. Posteriormente, los sobrenadantes fueron alicuotados en crioviales de 2 ml y almacenados a -80°C en el biobanco hasta su utilización. Este procedimiento permitió preservar la integridad de los antígenos parasitarios y evitar ciclos repetitivos de congelación-descongelación.

### **C. Muestra**

En el presente proyecto, se emplearon todas las muestras de orina del estudio primario disponibles en el biobanco del Laboratorio de Inmunología Parasitaria que resultaron idóneas y que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Se evaluaron un total de 40 muestras de orina individuales: 20 positivas para neurocisticercosis y 20 negativas.

Con respecto a la disponibilidad de las muestras de orina, cabe mencionar que el manejo, registro, codificación y almacenamiento de las muestras se realizaron bajo supervisión del laboratorio, asegurando su trazabilidad, confidencialidad y condiciones apropiadas durante todas las etapas del estudio. Asimismo, la verificación de integridad, volumen disponible y condiciones de conservación adecuadas fueron verificadas previamente a la optimización del ensayo de ELISA de captura del presente estudio, con el fin de garantizar la idoneidad de las muestras y la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Para la determinación de las condiciones óptimas del ELISA tipo sándwich se emplearon dos *pool* (mezcla de muestras) de orina: un *pool* positivo y un *pool* negativo.

#### **Criterios de inclusión:**

- **Muestras positivas:** Muestras de orina de individuos procedentes de zonas endémicas, con diagnóstico clínico de NCC subaracnoidea, diagnóstico de TAC compatible con NCC, y serología positiva para cisticercosis (ELISA directo y Western blot).

- **Muestras negativas:** Muestras de orina de individuos procedentes de zona no endémica, con diagnóstico clínico negativo a NCC, y diagnóstico serológico negativo mediante ELISA directo y Western blot para cisticercosis.

#### **Criterios de exclusión:**

- Muestras de orina de individuos que hayan recibido tratamiento antiparasitario.
- Muestras de orina de individuos que hayan eliminado algún parásito antes de su recolección.
- Muestras de orina de individuos con diagnóstico serológico positivo para cisticercosis, pero que no cuenten con diagnóstico TAC compatible con NCC.
- Muestras de orina con baja o nula biodisponibilidad e idoneidad.

#### **D. Procedimientos**

##### **1. Preparación de *pool* de orinas**

###### *Pool negativo:*

Se emplearon 4 muestras de orinas negativas, las cuales fueron sometidas a un proceso de descongelación gradual (-80°C a -4°C) y se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos. Del sobrenadante obtenido, se tomaron 12,5 ml de cada muestra para su mezcla, y el volumen final fue alicuotado en crioviales de polipropileno con tapa rosca de 2 ml, los cuales se almacenaron a -80 °C.

### Pool positivo:

Se emplearon 10 muestras positivas, las cuales se descongelaron gradualmente (-80°C a -4°C) y fueron centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos para obtener el sobrenadante. Posteriormente, se mezclaron los sobrenadantes y se realizaron diluciones seriadas al medio utilizando el *pool* negativo como diluyente, hasta alcanzar una dilución final de 1/2048. Estas diluciones fueron evaluadas mediante ELISA con el fin de identificar aquella que mantuviera una señal reproducible, estableciéndose como óptima la correspondiente al punto previo de la caída de la curva cinética (1/4) (Figura 3). La dilución seleccionada fue preparada en un volumen final de 50 ml, alicuotada en crioviales y almacenada a -80 °C hasta su utilización en los ensayos.

## **2. Determinación de las condiciones óptimas**

La optimización del ELISA tipo sándwich se realizó tomando como base el protocolo descrito por Santos (2020) (20). Se aplicó una estrategia de optimización univariada, modificando un parámetro por vez y manteniendo constantes los demás. La evaluación de cada parámetro fue evaluada cuantitativamente mediante la lectura de densidad óptica (OD) del *pool* positivo y negativo, así como del índice de reactividad (ratio = OD positivo / OD negativo).

### **a) Determinación inicial de la concentración de los anticuerpos**

Se determinó la concentración inicial del anticuerpo de captura (TsW8) y del anticuerpo de detección (TsW5-B) mediante la técnica de *checkerboard*, la cual consistió en realizar combinaciones de diferentes concentraciones de los

anticuerpos. Se evaluaron concentraciones de 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0  $\mu\text{g/mL}$  para ambos anticuerpos como se muestra en el esquema.

		Anticuerpo de captura (TsW8)																		
		1.5 ug/ml	2 ug/ml	3 ug/ml	4 ug/ml	5 ug/ml	1.5 ug/ml	2 ug/ml	3 ug/ml	4 ug/ml	5 ug/ml									
Anticuerpo de detección (TsW5-B)	1.5 ug/ml																			
	2 ug/ml																			
	3 ug/ml																			
	4 ug/ml																			
	5 ug/ml																			
						Pool positivo					Pool negativo									

**Figura 4.** Esquema experimental para la determinación inicial de las concentraciones de los anticuerpos TsW8 y TsW5-B.

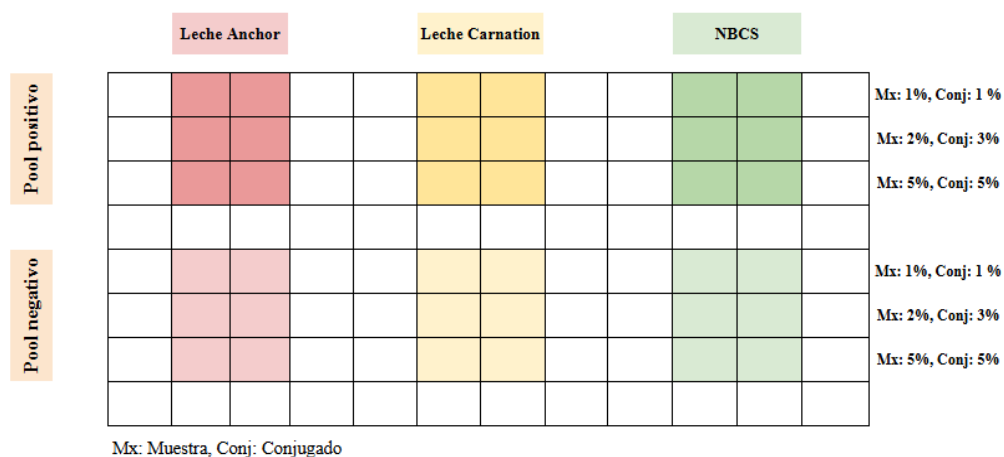
**Fuente:** Elaboración propia.

#### b) Evaluación de placas y soluciones de recubrimiento

Se evaluaron cuatro microplacas de poliestireno transparentes de 96 pozos (Nunc Maxisorp, Immulon 1B, Immulon 2HB e Immulon 4HBX) y tres soluciones de recubrimiento: Buffer Fosfato Salino-Oxoid (PBS-Oxoid) pH 7,2; Buffer de Sensibilización Tris-HCl pH 8 y Buffer Carbonato-Bicarbonato pH 9,6.

En cada una de las placas se evaluaron a las 3 soluciones de recubrimiento.





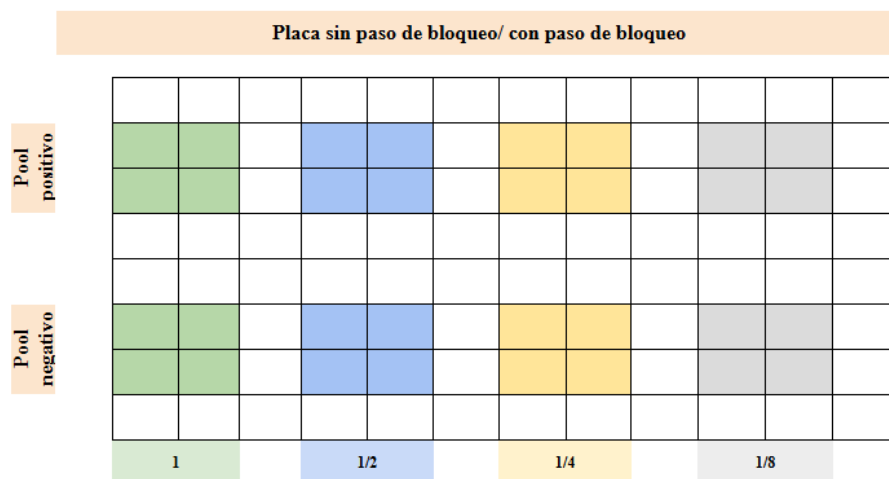
**Figura 6.** Esquema experimental para la evaluación del agente bloqueante para la muestra y el conjugado.

**Fuente:** Elaboración propia.

**d) Evaluación de la dilución de muestra y efecto del paso de bloqueo**

Para determinar la dilución óptima de la muestra y evaluar si el empleo de la solución de bloqueo como diluyente de muestra (con la omisión del paso de bloqueo) resulta adecuado para reducir el tiempo del ensayo, se evaluaron diluciones seriadas al medio (1, 1/2, 1/4 y 1/8) en dos placas: Una con paso de bloqueo y otra con la omisión de este.

La omisión del paso de bloqueo consistió en no realizar la incubación de la solución de bloqueo en los pozos previamente sensibilizados, antes de la adición del *pool* positivo y negativo.



**Figura 7.** Esquema experimental para la evaluación de la dilución óptima de la muestra y del efecto de incluir o eliminar el paso de bloqueo.

**Fuente:** Elaboración propia

**e) Evaluación final de concentraciones de anticuerpos**

Para confirmar la concentración óptima de los anticuerpos TsW8 y TsW5-B bajo las nuevas condiciones, se llevó a cabo una segunda evaluación de tipo *checkerboard*. Para cada combinación de concentraciones se utilizó la dilución 1/2 para la muestra (condición que se mantiene hasta el último experimento). Se trabajó bajo el mismo esquema experimental de la Figura 4 con la diferencia que las concentraciones evaluadas fueron: 1,00; 1,25; 1,50; 2,00 y 2,25 µg/ml para el anticuerpo de captura y 1,50; 1,75; 2,00; 2,25 y 2,50 para el anticuerpo de detección.

**f) Evaluación de reveladores**

Este ensayo realizó un comparativo para determinar el sustrato cromogénico más adecuado, considerando su sensibilidad, seguridad y estabilidad. Se evaluaron dos reveladores: Tetrametil bencidina - KPL Sure Blue (TMB) y O

- Phenylenediamine dihydrochloride Sigma-Aldrich (OPD). Ambos sustratos fueron incubados durante 10 minutos.

### **g) Evaluación del buffer diluyente (PBS-Oxoid vs. PBS 1X *in house*)**

Con la finalidad de optimizar los costos del ensayo sin comprometer su desempeño, se evaluó comparativamente el uso de un buffer comercial (PBS-Oxoid) y un buffer preparado en el laboratorio (PBS 1X *in house*) como diluyentes en el protocolo de ELISA tipo sándwich.

Luego de los resultados de comparación (detallados más adelante), el PBS-Oxoid fue reemplazado por PBS 1X *in house* en todas las etapas en las que el buffer fue empleado como diluyente, incluyendo el bloqueo, la incubación del anticuerpo de detección y la estreptavidina. La fase de sensibilización de la placa (recubrimiento de la placa con el anticuerpo de captura) no fue modificada, manteniendo las condiciones previamente estandarizadas con el PBS-Oxoid.

La información obtenida a partir de esta evaluación contribuyó a la definición del protocolo optimizado final del ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *T. solium* en muestras de orina (véase Anexo 1).

### **3. Evaluación del desempeño diagnóstico**

Por último, empleando el protocolo final optimizado, se procesaron por duplicado 40 muestras individuales de orina (20 positivas y 20 negativas). A partir de los datos de OD obtenidos se construyó la curva Receiver Operating Characteristic (ROC) para determinar el punto de corte, la sensibilidad y la

especificidad del ensayo. Asimismo, se elaboró una tabla de contingencia de 2x2 para calcular el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Pool Positivo		Muestra 5		Muestra 13		Muestra 21		Muestra 29		Muestra 37	
B			Muestra 6		Muestra 14		Muestra 22		Muestra 30		Muestra 38	
C	Pool Negativo		Muestra 7		Muestra 15		Muestra 23		Muestra 31		Muestra 39	
D			Muestra 8		Muestra 16		Muestra 24		Muestra 32		Muestra 40	
E	Muestra 1		Muestra 9		Muestra 17		Muestra 25		Muestra 33			
F	Muestra 2		Muestra 10		Muestra 18		Muestra 26		Muestra 34		Blanco	
G	Muestra 3		Muestra 11		Muestra 19		Muestra 27		Muestra 35			
H	Muestra 4		Muestra 12		Muestra 20		Muestra 28		Muestra 36			

**Figura 8.** Esquema de trabajo de las 40 muestras individuales para la evaluación del desempeño diagnóstico.

**Fuente:** Elaboración propia.

### E. Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el CIE–UPCH bajo la constancia CIEI-295-23-25 y contó con autorización del LIP–FCI–UPCH (Anexo 2). Se respetaron los principios de la Declaración de Helsinki y las pautas CIOMS–OMS (2016). Las muestras de orina fueron obtenidas bajo consentimiento informado del estudio primario. Asimismo, fueron codificadas y trabajadas sin identificadores personales; el acceso estuvo restringido al personal autorizado, garantizando la confidencialidad, la trazabilidad controlada y el cumplimiento de las normas institucionales de bioseguridad.

## F. Plan de análisis

Los valores de OD fueron registrados en Microsoft Excel. Para cada ensayo se calcularon los promedios de OD correspondientes al *pool* positivo y negativo. Posteriormente, se determinó el índice de reactividad (ratio) para estimar la reactividad relativa de las muestras y comparar el desempeño de los diferentes parámetros evaluados durante la etapa de optimización del ELISA tipo sándwich.

Para la evaluación del desempeño diagnóstico, los valores OD de las 20 muestras positivas y 20 muestras negativas se introdujeron en el programa GraphPad Prism v5 para sistema operativo Windows, con el cual se elaboró la curva ROC, herramienta estadística que permite evaluar la capacidad discriminativa de una prueba diagnóstica al representar gráficamente la sensibilidad frente a 1-especificidad para distintos umbrales. A partir de esta curva se determinó el punto de corte (*cut off*), definido como el valor de OD que establece el límite a partir del cual una muestra se clasifica como positiva o negativa, optimizando el equilibrio entre la sensibilidad y la especificidad según el propósito diagnóstico de la prueba. Su construcción permitió seleccionar el punto de corte más adecuado y estimar los valores correspondientes de sensibilidad y especificidad.

El programa elaboró una lista de puntos de corte (umbrales) ordenando los valores de los OD obtenidos de las muestras negativas (grupo control) y las muestras positivas (grupo de pacientes), promediando los valores adyacentes; de este modo, cada umbral se ubicó entre dos valores de los datos analizados. Posteriormente, los porcentajes de sensibilidad y especificidad fueron

correlacionados con cada valor del punto de corte propuesto, considerando que un umbral más alto incrementa la especificidad a expensas de la sensibilidad, mientras que uno más bajo aumenta la sensibilidad con reducción de la especificidad.

Dado que el ELISA tipo sándwich fue planteado como prueba diagnóstica, se priorizó el punto de corte que ofreciera la mayor especificidad posible sin comprometer significativamente la sensibilidad entre los valores propuestos por el programa.

El VPP y VPN se calcularon mediante fórmulas estandarizadas:

- $VPP = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} * 100$
- $VPN = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} * 100$

## IV. RESULTADOS

### A. Determinación de las condiciones óptimas

#### 1. Determinación inicial de la concentración de los anticuerpos

La concentración inicial del anticuerpo de captura (TsW8) y de detección (TsW5-B) fue determinado mediante el diseño de *checkerboard*, donde el mayor ratio 57,971 fue obtenido para la combinación 1,5 µg/mL (TsW8) / 1,5 µg/mL (TsW5-B); seguido del ratio 54,795 para 1,5 µg/mL (TsW8) / 2,0 µg/mL (TsW5-B). El menor ratio fue 20,305 para la combinación de 5,0 µg/mL / 5,0 µg/mL (Gráfico 1, Anexo 3). La Tabla 1 del Anexo 3 muestra los ratios obtenidos en cada una de las 25 combinaciones.

De estos resultados, y considerando el balance entre señal-ruido, se seleccionó la combinación de 1,5 µg/mL (TsW8) / 2,0 µg/mL (TsW5-B) como concentración inicial de trabajo.

#### 2. Evaluación de placas y soluciones de recubrimiento

De los cuatro tipos de placa evaluadas se eligió como mejor placa a la Nunc Maxisorp con PBS-Oxoid con ratio 64,750, debido a que presentó mejor dispersión entre el *pool* positivo y el *pool* negativo. La combinación con menor desempeño fue Immulon 4HBX + Carbonato-Bicarbonato (ratio 11,021) (Gráfico 2, Anexo 3).

### **3. Evaluación del agente bloqueante para la muestra y el conjugado**

Tras la evaluación de las soluciones de bloqueo y diferentes concentraciones de estas soluciones, la que presentó mayor señal (ratio 16,514) fue la Leche Carnation al 2% para muestra y 3% para conjugado. No obstante, a pesar de presentar un ratio ligeramente inferior (ratio 15,649), se seleccionó la Leche Anchor al 1% tanto para muestra como para conjugado por su menor costo y rendimiento comparable. Por el contrario, la Leche Anchor 5% / 5% fue la que mostró el valor más bajo (ratio 12,156) (Gráfico 3, Anexo 3).

### **4. Evaluación de la dilución de muestra y efecto del paso de bloqueo**

Se compararon diluciones de las muestras en presencia o ausencia del paso de bloqueo independiente. La mayor relación señal-ruido (ratio 81,973) se obtuvo con la muestra diluida a 1/2, sin paso de bloqueo independiente y utilizando el bloqueante como diluyente. El segundo valor más alto (ratio 72,872) fue con la muestra pura (1/1) bajo las mismas condiciones de ausencia de bloqueo. Por el contrario, el rendimiento más bajo (ratio 26,262) correspondió a la dilución 1/8 sin paso de bloqueo (Gráfico 4, Anexo 3).

El empleo del agente bloqueante como diluyente y omisión de la etapa de bloqueo, favoreció el incremento de la relación señal-ruido; destacando la dilución 1/2 que ofreció mayor ratio. Por balance entre señal y volumen de muestra requerido, se determinó que la dilución 1/2 formulada con el agente bloqueante es la condición más eficiente para el desarrollo del ensayo.

## **5. Evaluación final de concentraciones de anticuerpos**

Para determinar la concentración final de los anticuerpos se realizó un nuevo ensayo de titulación (*checkerboard*), donde la mejor combinación resultó ser 1,00 µg/mL para TsW8, (anticuerpo de captura) y 2,00 µg/mL para TsW5-B (anticuerpo de detección) con ratio 33,246 (Gráfico 5, Anexo 3). No obstante, el ratio más bajo observado fue 22,744 (combinación 2,25 / 2,50 µg/mL para TsW8 / TsW5-B respectivamente). Los resultados detallados de los 25 cruces evaluados se presentan en la Tabla 2 del Anexo 3.

Finalmente, se seleccionó la combinación 1,00 / 2,00 µg/mL para TsW8 / TsW5-B respectivamente, debido a que maximiza la eficiencia analítica con el menor gasto de insumos.

## **6. Evaluación de reveladores**

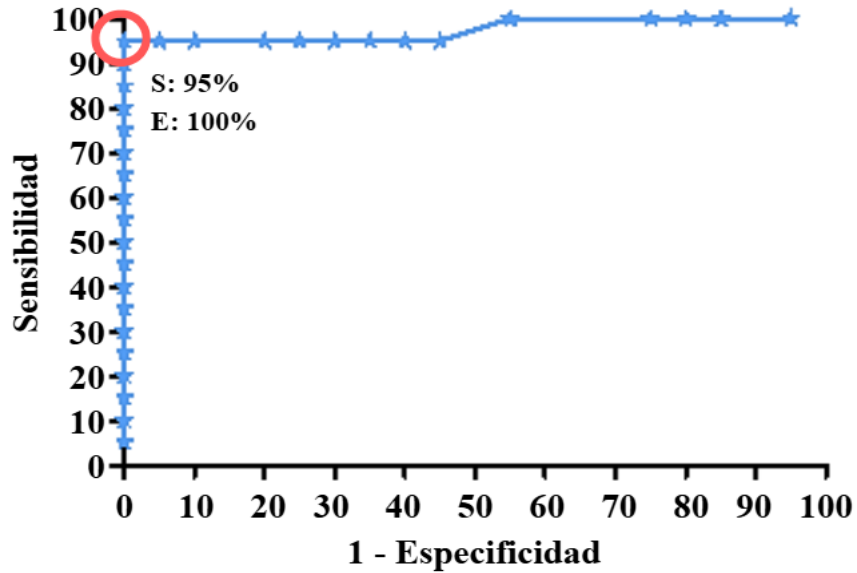
El sustrato cromogénico OPD mostró una mayor reacción, evidenciado por una relación señal-ruido superior (ratio 15,649) en comparación con el TMB (ratio 6,544); por ello, fue seleccionado para el desarrollo del protocolo final.

## **7. Evaluación del buffer diluyente (PBS-Oxoid vs. PBS 1X *in house*)**

Los resultados de la comparación entre los dos buffers diluyentes evidenciaron que el PBS 1X *in house* tuvo un mejor desempeño (ratio 87,581) a diferencia del PBS-Oxoid (ratio 83,515), por lo que este último fue sustituido en las etapas de bloqueo, incubación del anticuerpo de detección y la estreptavidina; con excepción de la sensibilización de la placa (Gráfico 6, Anexo 3).

## B. Evaluación del desempeño diagnóstico

El punto de corte (*cut-off*) para el ELISA, determinado mediante el análisis de la curva ROC, fue  $> 0,096$ , con sensibilidad de 95% y especificidad de 100%.



Area	0,975
Std. Error	0,02559
95% confidence interval	0.9248 to 1.025
P value	< 0.0001
Punto de corte	> 0.096

**Figura 9.** Curva ROC para la determinación del punto de corte y el desempeño diagnóstico del ELISA tipo sándwich en orina.

**Fuente:** Elaboración propia.

La tabla de contingencia permitió evaluar la concordancia entre el estado real de la enfermedad y el resultado obtenido por el ELISA tipo sándwich. En la Tabla 3 del Anexo 3 se presentan los verdaderos positivos (VP), falsos positivos (FP), verdaderos negativos (VN) y falsos negativos (FN). A partir de estos parámetros se obtuvo un valor predictivo positivo (VPP) del 100% y un valor predictivo negativo (VPN) del 95%. Estos resultados evidencian la

elevada capacidad discriminativa de la prueba para diferenciar adecuadamente entre individuos sanos y pacientes con neurocisticercosis.

## V. DISCUSIÓN

La NCC continúa siendo una de las principales causas de epilepsia en regiones endémicas, y su diagnóstico oportuno depende en gran medida de métodos capaces de identificar la infección activa. En este contexto, los ensayos que detectan antígenos del cisticerco representan herramientas valiosas, y estudios previos han demostrado que la orina puede actuar como reservorio adecuado de antígenos parasitarios detectables mediante ELISA tipo sándwich (29,32). Con base en ello, el presente estudio tuvo como objetivo optimizar un ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larva cisticerco de *T. solium* en muestras de orina y evaluar su desempeño diagnóstico.

La optimización contempló parámetros biológicos, químicos y físicos del ensayo, siguiendo el enfoque recomendado para determinar la máxima sensibilidad y especificidad (34,35). En este estudio se emplearon mAc IgM específicos contra antígenos somáticos del quiste de *T. solium* (TsW8 como captura y TsW5-B como detección), previamente caracterizados por Paredes et al. (2016) y seleccionados por Santos (2020) como el par más adecuado para la orina (19,20).

Según Ochoa et al. (2000), la concentración idónea para la sensibilización de la placa se sitúa entre 1 a 10 ug/ml, lo cual concuerda con las concentraciones evaluadas en la determinación inicial mediante un ensayo tipo *checkerboard* (35,36). A partir de este análisis, se establecieron como concentraciones iniciales óptimas 1,5 µg/mL para TsW8 y 2,0 µg/mL para TsW5-B, permitiendo así dar inicio al proceso de optimización del protocolo. En contraste con lo reportado por Castillo et al. (2009) y Mwape et al. (2011), quienes emplearon 5 ug/ml de

anticuerpos con reactividad cruzada con *T. solium* para la sensibilización de la placa, así como Santos (2020), quien utilizó 4 ug/ml, el presente estudio plantea el uso de menores concentraciones, lo que implicaría una reducción significativa en el costo de la prueba (20, 29, 32).

En relación con el soporte sólido, la comparación entre placas comerciales evidenció un mejor desempeño a la placa Nunc Maxisorp frente a las demás, en concordancia con lo reportado para inmunoensayos de alta sensibilidad como el ELISA tipo sándwich (37). Este rendimiento superior se atribuye a su superficie modificada con características hidrofílica/hidrofóbica, que favorecen una mayor adsorción y adecuada orientación de los anticuerpos, mejorando la captura antigénica (38). De modo que este tipo de placas promueve la fijación vertical de la región Fc de los anticuerpos de captura, dejando expuesta la región Fab para la interacción eficiente con el antígeno (38).

El empleo de la placa Nunc Maxisorp coincide con lo reportado por Castillo et al. (2023), quienes la utilizaron en la evaluación de un ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *T. solium* en muestras de suero, documentando un rendimiento adecuado del inmunoensayo (39). No obstante, Santos (2020), en un estudio de estandarización empleando el mismo diseño inmunológico, identificó a la placa Immulon 4HBX como la más eficiente entre las evaluadas (20). Asimismo, otro estudio orientado a la detección de antígenos urinarios de *Leishmania donovani* mediante un ELISA tipo sándwich empleó la placa Immulon 2HB en su protocolo, posiblemente en función de las características del anticuerpo de captura (policlonal e IgG) (25). Estos hallazgos sugieren que el rendimiento puede variar según las condiciones experimentales específicas de cada protocolo.

En cuanto a las soluciones de recubrimiento empleadas en inmunoensayos, su elección depende del pH del medio, el cual debe situarse generalmente entre 7 a 9 para favorecer la adsorción de los anticuerpos; además de encontrarse entre una o dos unidades por encima del punto isoeléctrico (pI) de la proteína a inmovilizar (18,35). Un pH alcalino induce cambios en la estructura conformacional de la proteína, promoviendo su desprotonación y la adquisición de una carga neta negativa, lo que facilita su interacción con la placa cargada positivamente (40). Asimismo, puede exponer regiones hidrófobas de las proteínas como consecuencia de una desnaturalización parcial, favoreciendo su unión a superficies con carácter hidrófobo (41).

De este modo, el PBS-Oxoid pH 7,2 mostró un rendimiento superior al buffer Carbonato-Bicarbonato pH 9,6; por lo que fue seleccionado como buffer de recubrimiento, en concordancia con el protocolo de Chaya et al. (2013); estudio que detecta antígeno hidatídico en suero, orina y líquido quístico mediante un ELISA tipo sándwich (42). En contraste, otros estudios han favorecido el uso del Carbonato-Bicarbonato para la sensibilización de la placa como los reportados por Castillo et al. (2009), Vallur et al. (2015) y Málaga et al. (2017) que sensibilizan la placa para un ELISA tipo sándwich para el diagnóstico de NCC, leishmaniasis y tripanosomiasis, respectivamente (25,26,29). El mejor desempeño del PBS-Oxoid podría estar relacionado con la estabilidad estructural de los anticuerpos en matrices ligeramente alcalinas (41).

Pavani et al. (2021) demostraron que el PBS actúa como un estabilizador proteico eficaz, tanto para almacenamiento prolongado como bajo condiciones de estrés térmico, debido a su capacidad para organizar las moléculas de agua y atenuar los

efectos desnaturalizantes, incluso durante incubaciones a 37 °C por una hora (41,43). A diferencia de lo reportado para el PBS, Navarro (2018) señala que el buffer Carbonato–Bicarbonato podría favorecer la desorción de proteínas, lo que potencialmente comprometería la estabilidad de los anticuerpos adsorbidos en determinados formatos de ELISA (44).

La evaluación del agente bloqueante evidenció que la Leche Anchor al 1% ofrecía un desempeño comparable al de la Leche Carnation, pero con mayor viabilidad logística y menor costo, lo que concuerda con reportes que destacan la eficiencia de proteínas lácteas como bloqueantes eficaces y accesibles (45). Las soluciones de bloqueo actúan saturando los sitios libres de la placa y estabilizando las proteínas adsorbidas, lo que reduce las uniones inespecíficas, disminuye la señal de fondo y optimiza la sensibilidad y especificidad del ELISA (38,46). Si bien existen bloqueantes de naturaleza proteica y detergente, estos últimos no se recomiendan como agentes de bloqueo, ya que actúan principalmente sobre zonas hidrofóbicas; no obstante, su inclusión como surfactantes en las soluciones de lavado o bloqueo contribuye a minimizar interacciones inespecíficas (38,40,46).

La eficacia de la leche en polvo como bloqueante se atribuye principalmente a la caseína, proteína que se adhiere rápidamente a la placa gracias a su adecuada miscibilidad en agua (45). El desempeño ligeramente superior de la Leche Carnation podría relacionarse con su carácter descremado, mientras que la presencia de lípidos en la Leche Anchor podría generar cierto enmascaramiento antigénico o interferencia en la interacción antígeno-anticuerpo (47). En contraste, el NBCS mostró menor rendimiento, posiblemente debido al mayor tamaño y

complejidad de sus componentes proteicos, lo que dificulta la ocupación uniforme de los sitios libres y aumenta la señal de fondo (48).

Diversos estudios han empleado diferentes agentes bloqueantes en ELISA para la detección de antígenos parasitarios; por ejemplo, Castillo et al. utilizaron NBCS, mientras que Sunita, Vallur y Málaga reportaron el uso de albúmina sérica bovina (24-26, 29). Aunque estos bloqueantes han demostrado eficacia, su empleo puede incrementar el costo de la prueba debido a la necesidad de importación, a diferencia de la Leche Anchor que es de amplia disponibilidad local.

Asimismo, la omisión del paso de bloqueo independiente y el empleo de la solución bloqueante como diluyente de la muestra mejoran los ratios, posiblemente al evitar el enmascaramiento de los paratopes del anticuerpo de captura; especialmente cuando se utiliza leche en polvo como agente bloqueante (45,46). Dicha evidencia respalda esta estrategia, señalando que, si bien el bloqueo independiente reduce uniones inespecíficas, también puede incrementar señal de fondo; no obstante, esta puede controlarse eficazmente mediante el uso de Tween 20 al 0,05%, como en el protocolo utilizado (49,50).

De igual manera, la dilución 1/2 de las muestras mostró el mejor rendimiento al reducir el riesgo de efecto *Hook* y mejorar la capacidad discriminativa del ensayo (51,52). La dilución de la muestra es esencial para prevenir este fenómeno, en el cual una elevada concentración de antígeno satura al anticuerpo de captura y limita la formación del complejo inmunológico, disminuyendo así la sensibilidad del ensayo (51).

En el presente estudio, la dilución 1/2 obtuvo el mayor ratio y fue definida como la condición óptima, ya que reduce el riesgo de falsos negativos por efecto de saturación sin comprometer la detección de muestras con baja carga antigénica (52). Esta dilución coincide con la empleada por Castillo et al. (2009), en el diagnóstico de NCC subaracnoidea, forma clínica caracterizada por presentar una elevada carga antigénica (29,30). Asimismo, Santos (2020), quien también trabajó con esta presentación de la enfermedad, utilizó una dilución 1/4 (20). En contraste, Machnicka et al. (2001) reportaron una dilución 1/10 para la detección de antígenos urinarios de *Trichinella spiralis* (23). Estas diferencias sugieren que la dilución óptima no es uniforme, sino que puede variar según la carga antigénica asociada a cada parasitosis y a la presentación clínica evaluada.

La reevaluación de las concentraciones de anticuerpos indicó que, bajo las condiciones optimizadas, la concentración óptima del anticuerpo de captura fue 1,00 µg/ml, mientras que el anticuerpo de detección se mantuvo en 2,00 µg/ml, considerando el desempeño y la relación costo-beneficio. De modo que la nueva concentración del anticuerpo de captura contribuye a disminuir los costos del ensayo sin comprometer su rendimiento.

Si bien la concentración de 1 µg/ml para la sensibilización de la placa se sitúa en el extremo inferior del rango recomendado, protocolos como el de Vallur et al. (2015) respaldan su uso al utilizar la misma concentración (25). La diferencia respecto a estudios que emplearon concentraciones mayores de anticuerpo de captura, como Castillo et al. (2009), podría atribuirse al uso de mAc específicos contra el antígeno somático de la larva de *T. solium*, lo que favorece una elevada especificidad (29). Además, al tratarse de un isotipo IgM en lugar de una IgG se incrementa la avidéz,

favoreciendo una mayor captación de antígenos parasitarios incluso a bajas concentraciones (53).

En concordancia con este sistema de captura altamente específico, la técnica de ELISA empleó un sistema de detección basado en peroxidasa de rábano picante (HRP, sigla en inglés) conjugada a estreptavidina, aprovechando su elevada afinidad por la biotina del anticuerpo de detección y su capacidad de amplificación de señal (54). Entre los sustratos cromogénicos descritos para esta enzima, se encuentran el OPD, TMB, Ácido 2,2'-azino dietilbenzotiazolin sulfónico (ABTS), Ácido 5-aminosalicílico (5-AS) y diaminobencidina (DAB); siendo los más utilizados el TMB, ABTS y OPD (18,55). La comparación entre los reveladores disponibles en el laboratorio evidenció un mejor desempeño para el OPD frente al TMB, en concordancia con estudios previos en NCC como el de Castillo et al. (2009), y en otras parasitosis, como Chaya et al. (2013), Sunita et al. (2011) y Málaga et al. (2017) (24,26,29,42). No obstante, otros autores han descrito el uso de TMB para la detección de antígenos parasitarios (19,25).

Finalmente, la sustitución del PBS-Oxoid pH 7.2 por PBS 1X *in house* se realizó debido a que ambos presentan una composición química similar, conformada por fosfato de potasio, fosfato de sodio, cloruro de potasio y cloruro de sodio; diferenciándose en una ligera variación en la cantidad de iones de hidrógeno en el PBS-Oxoid (56). Asimismo, ambos presentan un pH similar entre 7,0 - 7,2, lo que favorece la estabilidad de las interacciones antígeno-anticuerpo. La evaluación comparativa evidenció un resultado equivalente, e incluso ligeramente superior, para el PBS 1X *in house*, permitiendo además una reducción sustancial en los costos del protocolo.

El establecimiento del punto de corte puede realizarse mediante distintos enfoques. El primero, mediante el *cut-off*, basado en el promedio de muestras negativas conocidas más dos o tres desviaciones estándar (18). El segundo, consiste en el cálculo del porcentaje de positividad, determinado al dividir el OD de la muestra multiplicada por cien entre el OD correspondiente a un grupo estándar positivo conocido (29). Y el tercero, el análisis mediante la curva ROC, que ordena los valores de OD de muestras positivas y negativas para determinar el umbral que optimiza la sensibilidad y especificidad.

Para determinar el umbral de positividad, se realizó un análisis de la curva ROC utilizando el software GraphPad Prism (v.5). Este análisis evidenció una excelente capacidad discriminativa del ensayo, con un área bajo la curva (AUC) > 0.975, una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100%. El punto de corte (*cut-off*) se estableció en un OD >0,096 (Gráfico 7, Anexo 3), valor consistente con el diseño de un ELISA tipo sándwich que emplea anticuerpos monoclonales de alta afinidad dirigidos contra antígenos somáticos del cisticerco. Esta configuración minimiza las interacciones inespecíficas y reduce la señal de fondo (ruido basal), a diferencia de los formatos indirectos donde las inmunoglobulinas de la muestra suelen generar interferencias por adsorción hidrofóbica en la placa (59).

La robustez de este punto de corte sugiere que el ensayo es altamente eficaz para identificar verdaderos positivos, incluso en muestras con concentraciones antigénicas bajas en orina. Estos hallazgos guardan coherencia con la literatura previa, que reportan sensibilidades entre 70%-95% y especificidades 75%-100% para la detección de antígenos urinarios (29,32,42).

Asimismo, los valores predictivos obtenidos (VPP: 100%; VPN: 95%) se sitúan dentro del rango esperado para pruebas inmunológicas de alta precisión. En contraste con Chaya et al. (2013), quienes reportan VPP de 95% y VPN 77%, el presente estudio evidenció valores superiores, pese a que ambos protocolos fueron evaluados con un número reducido de muestras de orina conocidas (42). De igual manera, McCleery et al. (2020), reportaron un VPP del 62% para un ELISA aplicado a NCC subaracnoidea; no obstante, debe considerarse que este estudio fue un cribado poblacional que incluyó un mayor número de muestras (60).

En conjunto, los resultados del presente estudio evidencian una mejora sustancial, posiblemente atribuible al uso de anticuerpos más específicos y a la optimización sistemática de cada parámetro experimental. Asimismo, el ELISA tipo sándwich optimizado demostró una adecuada capacidad discriminativa, permitiendo diferenciar de forma confiable entre muestras positivas y negativas de NCC. El desempeño alcanzado constituye una base sólida para estudios de validación externa y para su potencial incorporación en investigaciones epidemiológicas o como herramienta diagnóstica en contextos con infraestructura limitada. No obstante, será necesario analizar en futuros estudios su reproducibilidad, factibilidad operativa y posible reactividad cruzada.

## VI. LIMITACIONES, FORTALEZAS Y RECOMENDACIONES

### Limitaciones

1. El tamaño muestral fue reducido y condicionado por la disponibilidad del biobanco, lo que puede afectar la precisión y la generalización de las estimaciones de sensibilidad y especificidad.
2. No se evaluó la reactividad cruzada frente a otras helmintiasis (p. ej., *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana*, *Fasciola hepatica*), debido a la ausencia de muestras positivas para estas parasitosis; por tanto, no puede descartarse completamente la posibilidad de interferencias inmunológicas.
3. No se incluyeron muestras correspondientes a todas las formas clínicas de la neurocisticercosis (p. ej., forma parenquimal), lo que limita la extrapolación del desempeño diagnóstico a todos los escenarios clínicos.
4. El estudio se realizó en condiciones controladas de laboratorio; en consecuencia, el desempeño operativo del ensayo en entornos de campo o en programas de tamizaje comunitario aún no ha sido validado.

### Fortalezas

1. Uso de anticuerpos monoclonales previamente caracterizados y seleccionados con base en evidencia experimental.
2. Empleo de orina como matriz diagnóstica no invasiva, lo que favorece su aplicabilidad clínica y epidemiológica.
3. Evaluación sistemática de parámetros críticos del ensayo (tipo de placa, buffer de recubrimiento, condiciones de bloqueo, diluciones, sistema de detección y sustrato), permitiendo una optimización técnica integral.

4. Obtención de un alto desempeño diagnóstico (sensibilidad y especificidad elevadas), comparable con reportes previos.
5. Desarrollo de un protocolo optimizado de bajo costo, con potencial aplicación en estudios epidemiológicos y estrategias de tamizaje en zonas endémicas.

### **Recomendaciones**

1. Incrementar el tamaño muestral e incorporar mayor diversidad clínica, incluyendo distintas formas de neurocisticercosis.
2. Evaluar la especificidad analítica mediante paneles de orinas positivas para otras helmintiasis, a fin de descartar reactividad cruzada.
3. Realizar estudios formales de reproducibilidad (intra e interensayo) y validaciones externas.
4. Evaluar el desempeño del ensayo en condiciones de campo, considerando variables operativas como temperatura, disponibilidad de equipamiento e infraestructura.
5. Adaptar el protocolo optimizado hacia formatos más simplificados o transferibles a entornos rurales, con miras a fortalecer la vigilancia epidemiológica de la neurocisticercosis en el Perú.

## VII. CONCLUSIONES

1. Se establecieron las condiciones óptimas del ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas cisticerco de *Taenia solium* en muestras de orina.
2. Se determinó placas Nunc Maxisorp, PBS-Oxoid pH 7,2 y anticuerpo monoclonal TsW8 (1,00 µg/mL) para la sensibilización. Así como, la dilución 1/2 y la Leche Anchor al 1% como agente bloqueante y diluyente de muestra y conjugado.
3. Se eligieron las condiciones del anticuerpo monoclonal TsW5-B (2,00 µg/mL) y OPD para la detección y revelación del complejo antígeno-anticuerpo. Al igual que el empleo del PBS 1X como buffer diluyente, lo que permite optimizar la relación señal/ruido.
4. El protocolo optimizado mostró un alto desempeño diagnóstico en condiciones experimentales controladas, con una sensibilidad de 95% y una especificidad de 100%. Asimismo, se obtuvo un valor predictivo positivo de 100% y un valor predictivo negativo de 95%, evidenciando una adecuada capacidad del ensayo para discriminar entre muestras positivas y negativas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. Teniasis/cisticercosis por *Taenia solium*, un serio problema de salud pública en el Perú [Internet]. Lima: MINSA; 2001 [citado 22 de febrero de 2026]. Informe Técnico N° 20. Disponible en: [https://www.dge.gob.pe/publicaciones/pub\\_invepi/iepi0.pdf](https://www.dge.gob.pe/publicaciones/pub_invepi/iepi0.pdf)
2. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. How Cysticercosis Spreads [Internet]. Estados Unidos: CDC; 2024. [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/cysticercosis/spreads/index.html>
3. Organización Mundial de la Salud. Teniasis y cisticercosis [Internet]. OMS; 2022 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>
4. Organización Panamericana de la Salud. Pautas operativas para las actividades de control de la teniasis y la cisticercosis causadas por *Taenia solium* [Internet]. Washington: OPS; 2019 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ntds/taeniasis-cysticercosis/9789275321379-spa.pdf?sfvrsn=f4f7d806\\_2&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ntds/taeniasis-cysticercosis/9789275321379-spa.pdf?sfvrsn=f4f7d806_2&download=true)
5. Alfaro-Ayquipa SL, Vidal-Ávila TI, Jara-Campos C. Seroprevalencia de cisticercosis humana en una comunidad de alto riesgo del distrito de Mache, provincia de Otuzco, La Libertad, Perú, 2022. REBIOL [Internet]. 2023 [citado 22 de febrero de 2026]; 42(2): 176-184. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/370210140\\_SEROPREVALENCIA\\_DE\\_HUMAN\\_CISTICERCOSIS\\_IN\\_A\\_HIGH-RISK\\_COMMUNITIE\\_OFTHE\\_DISTRICT\\_OF\\_MACHE\\_PROVINCE\\_OF\\_OTUZCO\\_LA\\_LIBERTAD\\_PERU\\_2022](https://www.researchgate.net/publication/370210140_SEROPREVALENCIA_DE_HUMAN_CISTICERCOSIS_IN_A_HIGH-RISK_COMMUNITIE_OFTHE_DISTRICT_OF_MACHE_PROVINCE_OF_OTUZCO_LA_LIBERTAD_PERU_2022)

6. Pereira Ezeta CS. Uso de la herramienta Mapping para la clasificación de distritos según su probabilidad al complejo teniasis/cisticercosis por *Taenia solium* [tesis de pregrado en internet] Lima: Universidad Peruano Cayetano Heredia, 2022. 37p. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/13092/Us0\\_PereiraEzeta\\_Catherine.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/13092/Us0_PereiraEzeta_Catherine.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
7. Antitupa I, Vargas-Mayuri NJ, Mayo JV, Estares-Porras LA, Quispe Paredes WM, Sánchez EL, et al. Serological surveillance of parasitic zoonoses in 13 highlands regions of Peru: Period 2016-2019. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2023 [citado 22 de febrero de 2026]; 40(2):189–199. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10953634/>
8. Moyano LM, O’Neal SE, Ayvar V, Gonzalvez G, Gamboa R, Vilchez P, et al. High Prevalence of Asymptomatic Neurocysticercosis in an Endemic Rural Community in Peru. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2016 [citado 22 de febrero de 2026]; 10(12):e0005130. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5167259/>
9. Velaysosa Tafur A, Chávez Mila JM. Prevalencia de neurocisticercosis en el Hospital Regional Virgen de Fátima, Chachapoyas, Perú, 2018-2019. Rev. Cient. UNTRM: Cienc. Soc. Humanidades [Internet]. 2020 [citado 22 de febrero de 2026]; 3(3): 22-26. Disponible en: <https://revistas.untrm.edu.pe/index.php/CSH/article/download/642/794/2578>
10. Santisteban Piedra AS. Características epidemiológicas, clínicas y paraclínicas de pacientes con Neurocisticercosis de dos hospitales de Lambayeque durante el periodo 2015-2019 [tesis de pregrado en internet]

Chiclayo: Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, 2023. 35p.

Disponible en:

<https://repositorio.usat.edu.pe/server/api/core/bitstreams/d0145235-5451-4a67-9e97-360410a9eac2/content>

11. Garvey BT, Moyano LM, Ayvar V, Rodriguez S, Gilman RH, Gonzalez AE, et al. Neurocysticercosis among People Living Near Pigs Heavily Infected with Cysticercosis in Rural Endemic Peru. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2017 [citado 22 de febrero de 2026]; 98(2):558–564. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5929191/>
12. Urbina Sempertegui S. Características clínico-epidemiológicas e imagenológicas de pacientes con diagnóstico de neurocisticercosis atendidos en el Hospital Regional Docente de Cajamarca durante el año 2019 [tesis de pregrado en internet]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca, 2022. 57p. Disponible en: [https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4852/T016\\_73178376\\_T.pdf?sequence=1](https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4852/T016_73178376_T.pdf?sequence=1)
13. Hospital Regional Docente Cajamarca. Análisis de situación de salud año 2019 [Internet]. Cajamarca: HRDC; 2020 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: [https://www.hrc.gob.pe/media/portal/BRGKY/documento/9033/ASIS\\_HRD\\_C\\_A%C3%91O\\_2019.pdf?r=1606503282](https://www.hrc.gob.pe/media/portal/BRGKY/documento/9033/ASIS_HRD_C_A%C3%91O_2019.pdf?r=1606503282)
14. Pesantes MA, Moyano LM, Sommerville C. Neurocysticercosis in Northern Peru: Qualitative Insights from men and women about living with seizures.

- PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2020 [citado 22 de febrero de 2026]; 14(10).  
Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7577431/>
15. Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas. Boletín epidemiológico – II Trimestre 2024. [Internet]. Lima: INCN; 2024. [citado 22 de febrero de 2026]. Boletín epidemiológico 1. Disponible en: <https://www.incn.gob.pe/wp-content/uploads/2024/09/BOLETIN-II-TRIMESTRE.pdf>
16. Sartori P, Rozowykniat M, Siviero L, Barba G, Peña A, Mayol N, et al. Artefactos y artificios frecuentes en tomografía computarizada y resonancia magnética. Rev Argent Radiol [Internet]. 2015 [citado 22 de febrero de 2026]; 79(4):192-204. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-radiologia-383-articulo-artefactos-artificios-frecuentes-tomografia-computada-S0048761915000794>
17. García HH, O’neal SE, Noh J, Handali S. Laboratory Diagnosis of Neurocysticercosis (*Taenia solium*). J Clin Microbiol [Internet]. 2018 [citado 22 de febrero de 2026]; 56(9): e00424-18 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6113464/>
18. Crowther J. The ELISA guidebook. Viena: Humana Press; 2009.
19. Paredes A, Sáenz P, Marzal MW, Orrego-Solano MA, Castillo Y, Rivera A, et al. Anti-Taenia solium monoclonal antibodies for the detection of parasite antigens in body fluids from patients with Neurocysticercosis. Exp Parasitol [Internet]. 2016 [citado 22 de febrero de 2026]; 166:37-43. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909511/>

20. Santos Salazar Y. Parámetros óptimos para estandarizar un ELISA tipo sándwich con anticuerpos monoclonales para el diagnóstico de neurocisticercosis humana en muestras de orina [tesis de pregrado en Internet]. Lima: Universidad Norbert Wiener, 2020. 94p. Disponible en: [https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/3766/T06\\_1\\_46062992\\_T.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/3766/T06_1_46062992_T.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
21. Huskinson J, Stepick-Biek P, Remington JS. Detection of antigens in urine during acute toxoplasmosis. J Clin Microbio [Internet]. 1989 [citado 22 de febrero de 2026]; 27(5):1099-101. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC267492/>
22. Mansour WA, Kaddah MA, Shaker ZA, al Assal FM, Derbala MF. A monoclonal antibody diagnoses active Fasciola infection in humans. J Egypt Soc Parasitol [Internet]. 1998 [citado 22 de febrero de 2026]; 28(3):711-27. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9914695/>
23. Machnicka B, Prokopowicz D, Dziemian E, Kolodziej-Sobocińska M. Detection of *Trichinella spiralis* antigens in urine of men and animals. Wiad. Parazytologiczne [Internet]. 2001 [citado 22 de febrero de 2026]; 47(2):217-25. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/6897810\\_Detection\\_of\\_Trichinella\\_spiralis\\_antigens\\_in\\_urine\\_of\\_men\\_and\\_animals](https://www.researchgate.net/publication/6897810_Detection_of_Trichinella_spiralis_antigens_in_urine_of_men_and_animals)
24. Sunita T, Khurana S, Malla N, Dubey ML. Immunodiagnosis of cystic echinococcosis by antigen detection in serum, urine, and saliva samples. Trop Parasitol [Internet]. 2011 [citado 22 de febrero de 2026]; 1(1):33-38. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3593462/>

25. Vallur AC, Tutterrow YL, Mohamath R, Pattabhi S, Hailu A, Abdoun Ao, et al. Development and comparative evaluation of two antigen detection tests for Visceral Leishmaniasis. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 22 de febrero de 2026]; 15:384. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4580298/>
26. Málaga-Machaca ES, Romero-Ramirez A, Gilman RH, Astupiña-Figueroa S, Angulo N, Florentini A, et al. Polyclonal antibodies for the detection of *Trypanosoma cruzi* circulating antigens. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2017 [citado 22 de febrero de 2026]; 11(11):e0006069. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5705163/>
27. Corda M, Sciurba J, Blanha J, Manhanty S, Paredes A, García HH, Nash T, et al. A recombinant monoclonal-based *Taenia* antigen assay that reflects disease activity in extra-parenchymal neurocysticercosis. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2022 [citado 22 de febrero de 2026]; 26;16(5):e0010442. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9176767/>
28. Rodriguez S, Dorny P, Tsang VC, Pretell EJ, Brandt J, Lescano AG, et al. Detection of *Taenia solium* Antigens and Anti-*T. solium* Antibodies in Paired Serum and Cerebrospinal Fluid Samples from Patients with Intraparenchymal or Extraparenchymal Neurocysticercosis. *J Infect Dis* [Internet]. 2014 [citado 22 de febrero de 2026]; 199(9):1345-1352. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4059603/>
29. Castillo Y, Rodriguez S, García HH, Brandt J, Van Hul A, Silva M, et al. Urine antigen detection for the diagnosis of human neurocysticercosis. *Am J Trop Hyg* [Internet]. 2009 [citado 22 de febrero de 2026]; 80(3):379-83.

Disponibile en:

[https://www.researchgate.net/publication/24185752\\_Urine\\_Antigen\\_Detection\\_for\\_the\\_Diagnosis\\_of\\_Human\\_Neurocysticercosis](https://www.researchgate.net/publication/24185752_Urine_Antigen_Detection_for_the_Diagnosis_of_Human_Neurocysticercosis)

30. Nateros F, Saenz E, Saavedra H, Gonzales I, Pretell EJ, Perez E, et al. Older Age in Subarachnoid Neurocysticercosis Reflects a Long Prepatent Period. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2023 [citado 22 de febrero de 2026]; 108(6):1188-1191. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10540123/>
31. Rodriguez S, Dorny P, Tsang V CW, Pretell EJ, Brandt J, Lescano AG, et al. Detection of *Taenia solium* Antigens and Anti-*T.solium* Antibodies in Paired Serum and Cerebrospinal Fluid Samples from Patients with Intraparenchymal or Extraparenchymal Neurocysticercosis. *J Infect Dis* [Internet]. 2009 [citado 22 de febrero de 2026]; 199(9): 1345-1352. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4059603/>
32. Mwape KE, Praet N, Benitez-Ortiz W, Muma JB, Zulu G, Celi-Erazo M, et al. Field evaluation of urine antigen detection for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 2011 [citado 22 de febrero de 2026]; (10):574-578. Disponible en: [https://www.academia.edu/96030122/Field\\_evaluation\\_of\\_urine\\_antigen\\_detection\\_for\\_diagnosis\\_of\\_Taenia\\_solium\\_cysticercosis?auto=download](https://www.academia.edu/96030122/Field_evaluation_of_urine_antigen_detection_for_diagnosis_of_Taenia_solium_cysticercosis?auto=download)
33. Toribio L, Handali S, Marin Y, Perez E, Castillo Y, Bustos JA, et al. A Rapid Point-of-Care Assay for Cysticercosis Antigen Detection in Urine Samples. *Am. J. Trop. Med. Hyg* [Internet]. 2023 [citado 22 de febrero de 2026];

108(3): 578–580. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9978566/>

34. Organización Mundial de Sanidad Animal. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. En: Organización Mundial de Sanidad Animal, compilador. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. 2021. p. 1-18 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: [https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/temporary\\_es\\_p/2022/1.1.02\\_VALIDATION\\_Spanish.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/temporary_es_p/2022/1.1.02_VALIDATION_Spanish.pdf)
35. Ochoa R, Martínez JC, Ferriol X, Estrada E, García AM, Blanco R, et al. Guía para la estandarización de técnicas inmunoenzimáticas en ensayos de vacunas. Vaccimonitor [Internet]. 2000 [citado 22 de febrero de 2026]; 9(3):13-18. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/26519447\\_Guia\\_para\\_la\\_estandarizacion\\_de\\_tecnicas\\_inmunoenzimaticas\\_en\\_ensayos\\_de\\_vacunas](https://www.researchgate.net/publication/26519447_Guia_para_la_estandarizacion_de_tecnicas_inmunoenzimaticas_en_ensayos_de_vacunas)
36. Cox KL, Devanarayan V, Kriauciunas A, Manetta J, Montrose C, Sittampalam S. Immunoassay Methods. En: Markossian S, editora en jefe. Assay Guidance Manual. National Center for Advancing Translational Sciences, editores. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company y el Centro Nacional para el Avance de las Ciencias Traslacionales; 2004. [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/>
37. Thermo Fisher Scientific. Thermo Scientific Immunoassay Plate Guide [Internet]. ThermoFisher Scientific; 2018 [citado 22 de febrero de 2026].

- Disponible en: [https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LCD/Scientific-Resources/Immunoassay\\_Plate\\_Guide.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LCD/Scientific-Resources/Immunoassay_Plate_Guide.pdf?utm_source=chatgpt.com)
38. SeraCare. Technical Guide for ELISA [Internet]. KPL; 2013 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.seracare.com/globalassets/seracare-resources/tg-protocols-and-troubleshooting.pdf>
39. Castillo Y, Toribio LM, Guzman C, Arroyo G, Espinoza C, Saavedra H, et al. Consistent Measurement of Parasite-Specific Antigen Levels in Sera of Patients with Neurocysticercosis Using Two Different Monoclonal Antibody (mAb)-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. *Pathogens* [Internet]. 2023 [citado 22 de febrero de 2026]; 6;12(4):566. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10143799/>
40. Thermo Fisher Scientific. ELISA technical guide and protocols [Internet]. Thermo Fisher Scientific; 2010 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Application-Notes/TR0065-ELISA-guide.pdf>
41. Gibbs J. Optimizing the Immobilization of Protein and Other Biomolecules [Internet]. Massachusetts: Corning Life Sciences; [citado 22 de febrero de 2026]. ELISA Technical Bulletin N° 2. Disponible en: [https://www.labcluster.com/news4\\_2/corning\\_elisa1\\_2.pdf](https://www.labcluster.com/news4_2/corning_elisa1_2.pdf)
42. Chaya DR, Parija SC. Evaluation of a newly designed sandwich enzyme linked immunosorbent assay for the detection of hydatid antigen in serum, urine and cyst fluid for diagnosis of cystic echinococcosis. *Trop Parasitol*

- [Internet]. 2013 [citado 22 de febrero de 2026]; 3(2):125–131. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3889089/>
43. Pavani P, Kumar K, Rani A, Venkatesu P, Lee MJ. The influence of sodium phosphate buffer on the stability of various proteins: Insights into protein-buffer interactions. *J. Mol. Liq* [Internet]. 2021 [citado 22 de febrero de 2026]; 331:1-11. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/349631771\\_The\\_influence\\_of\\_sodium\\_phosphate\\_buffer\\_on\\_the\\_stability\\_of\\_various\\_proteins\\_Insights\\_into\\_protein-buffer\\_interactions](https://www.researchgate.net/publication/349631771_The_influence_of_sodium_phosphate_buffer_on_the_stability_of_various_proteins_Insights_into_protein-buffer_interactions)
44. Navarro Orellana PA. Recuperación de proteínas del proceso de fabricación de extractos de malta para la elaboración de un concentrado proteico [tesis de pregrado en Internet]. Santiago de Chile: Universidad de Chile, 2018. 93p. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/153365/Recuperaci%C3%B3n-de-prote%C3%ADnas-del-proceso-de-fabricaci%C3%B3n-de-extractos-de-malta-para-la-elaboraci%C3%B3n-de-un-concentrado-proteico.pdf?sequence=1>
45. Vogt RF, Jr, Phillips DL, Henderson LO, Whitfield W, Spierto FW. Quantitative differences among various proteins as blocking agents for ELISA microtiter plates. *J. Immunol. Methods* [Internet]. 1987 [citado 22 de febrero de 2026]; 101(1):43-50. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175987902146?ref=pdf\\_download&fr=RR-2&rr=99c07cf379f5a9ea](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175987902146?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=99c07cf379f5a9ea)

46. Gibbs J. Effective Blocking Procedures in ELISA Assays [Internet]. Massachusetts: Corning Life Sciences; 2017 [citado 22 de febrero de 2026]. Application Note. Disponible en: <https://www.corning.com/catalog/cls/documents/application-notes/CLS-DD-AN-456.pdf>
47. Galva C, Gatto C, Milanick M. Soymilk: an effective and inexpensive blocking agent for immunoblotting. *Anal Biochem* [Internet]. 2012 [citado 22 de febrero de 2026]; 426(1):22–23. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3383026/>
48. Pearce R. Comparison of Blocking Agents for ELISA [Internet]. Thermo Fisher Scientific; 2014 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Application-Notes/D19561.pdf>
49. Nugent J, Sinclair R, deVries AAF, Eberhardt RY, Castillo-Olivares J, Poyner ND, et al. Development and evaluation of ELISA procedures to detect antibodies against the major envelope protein (GL) of equine arteritis virus. *J. Virol. Methods* [Internet]. 2000 [citado 22 de febrero de 2026]; 90(1):167-183. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/46642837\\_Development\\_and\\_evaluation\\_of\\_ELISA\\_procedures\\_to\\_detect\\_antibodies\\_against\\_the\\_major\\_envelope\\_protein](https://www.researchgate.net/publication/46642837_Development_and_evaluation_of_ELISA_procedures_to_detect_antibodies_against_the_major_envelope_protein)
50. Kamaruzaman Mohammad AE. A blocking agent and a blocking step are not needed in ELISA, immunostaining dot-blot and Western blot. *J. Immunol. Methods* [Internet]. 1989 [citado 22 de febrero de 2026]; 117(1):141-145.

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175989901294>

51. BIO-RAD. ELISA Basics Guide. [Internet]. BIO-RAD [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.bio-rad-antibodies.com/static/Lit-pdfs/Brochures1/elisa-basics-guide.pdf>

52. Sequeira S. An Overview on Interference in Clinical Immunoassays: A Cause for Concern. Hamdan Med J [Internet]. 2019 [citado 22 de febrero de 2026]; 12(4):158-164. Disponible en:

[https://journals.lww.com/hmmj/fulltext/2019/12040/an\\_overview\\_on\\_interference\\_in\\_clinical.3.aspx](https://journals.lww.com/hmmj/fulltext/2019/12040/an_overview_on_interference_in_clinical.3.aspx)

53. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Anticuerpos y antígenos. En: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, autores. Inmunología celular y molecular. 10ª ed. Barcelona: Elsevier; 2022. p. 103-122.

54. Oscanoa Aida RM. Marcaje con biotina de anticuerpos de dominio único que detectan histonas nativas de *Leishmania (v.) braziliensis*. [tesis de pregrado en Internet]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2019. 90p. Disponible en:

[https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/6629/Marcaje\\_OscanoaAida\\_Rosa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/6629/Marcaje_OscanoaAida_Rosa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

55. Weeks I, Kricka LJ, Wild D. Signal Generation and Detection Systems (Excluding Homogeneous Assays). En: Wild D, editor. The Immunoassay Handbook. 4a ed. Elsevier; 2013. p. 267-285 [citado 22 de febrero de 2026].

Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/pii/B978008097037000018X#s0025>

56. Thermo Fisher Scientific. Especificaciones del producto Oxoid phosphate buffered saline [Internet]. Estados Unidos: Thermo Fisher Scientific; 2020 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Specification-Sheets/PS-BO0971D-V2.pdf>
57. He J, Parker S. Qualitative Immunoassay-Features and Design. En: Wild D, editor. The Immunoassay Handbook. 4a ed. Elsevier; 2013. p. 139-147 [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/pii/B9780080970370000105>
58. GraphPad. Sensitivity and specificity. En: Prism 11 Statistics Guide - Interpreting results: ROC curves [Internet]. San Diego (CA): GraphPad Software; [citado 22 de febrero de 2026]. Disponible en: [https://www.graphpad.com/guides/prism/latest/statistics/sensitivity\\_and\\_specificity.htm](https://www.graphpad.com/guides/prism/latest/statistics/sensitivity_and_specificity.htm)
59. Waritani T, Chang J, McKinney B, Terato K. An ELISA protocol to improve the accuracy and reliability of serological antibody assays. MethodsX [Internet]. 2017 [citado 22 de febrero de 2026]; 4:153-165. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215016117300122?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215016117300122?utm_source=chatgpt.com)
60. McCleery E, Allen SE, Moyano LM, Gamboa R, Vilchez P, Muro C, et al. Population Screening for Urine Antigens to Detect Asymptomatic Subarachnoid Neurocysticercosis: A Pilot Study in Northern Peru. Am. J. Trop. Med. [Internet]. 2020 [citado 22 de febrero de 2026]; 103(3) 1125–

1128.

Disponibile

en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7470589/>

IX. FIGURAS

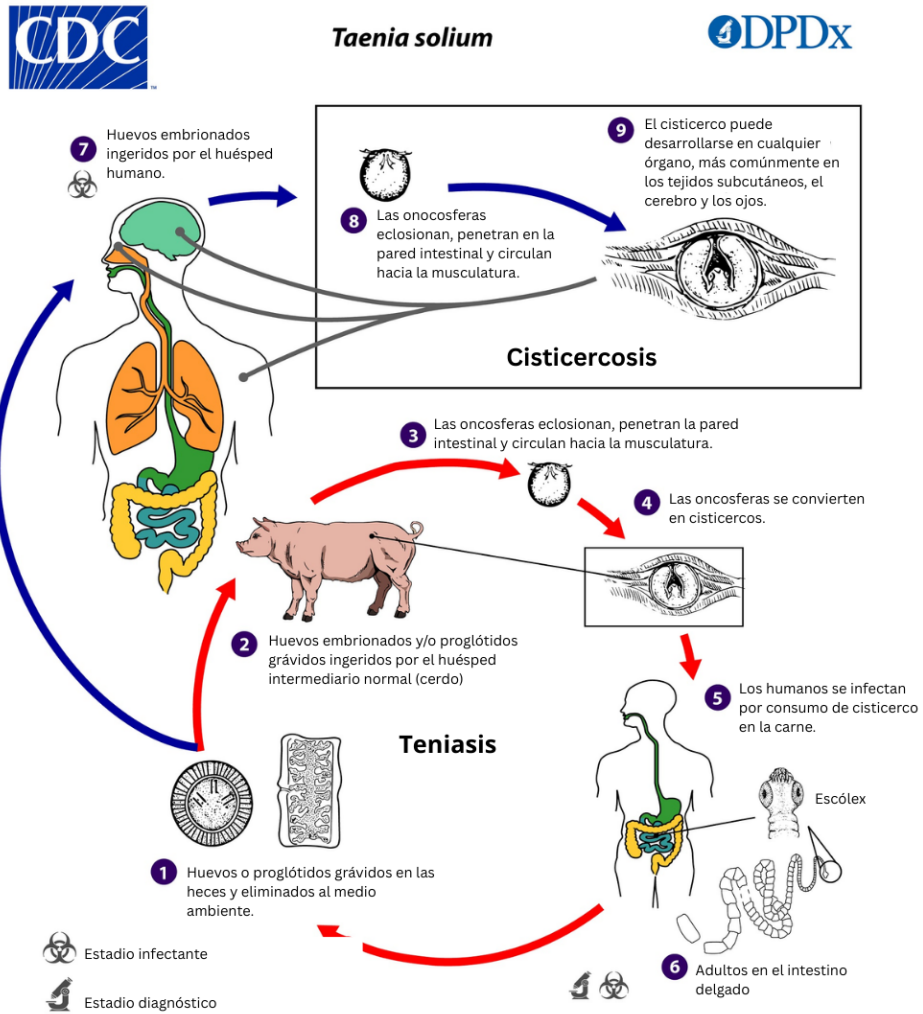
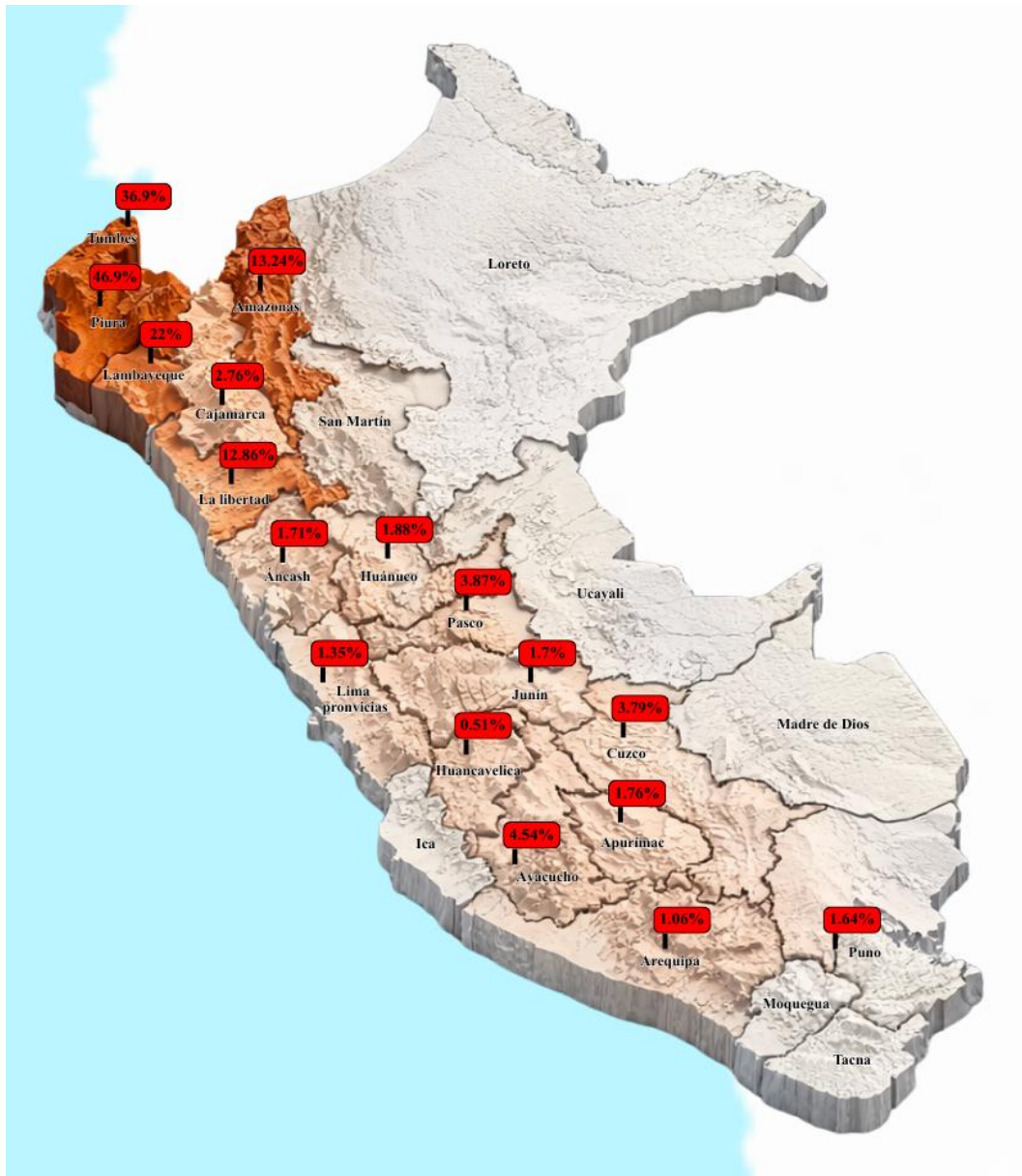


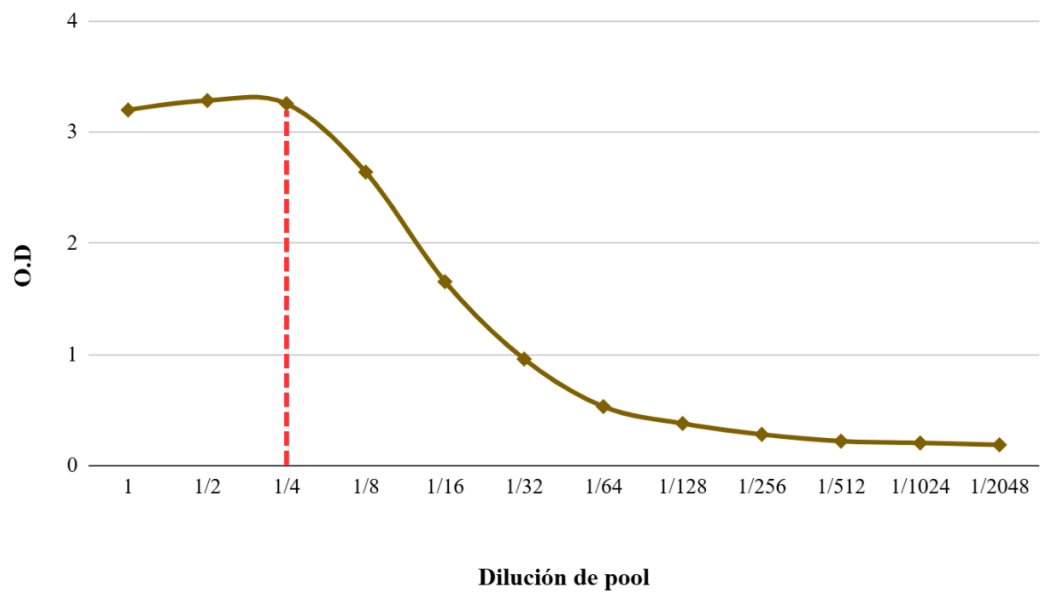
Figura 1. Ciclo de vida de *Taenia solium*.

Fuente: Traducido de Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, sigla en inglés), 2024.



**Figura 2.** Distribución geográfica de las zonas endémicas de neurocisticercosis en el Perú, 2014 - 2023.

**Fuente:** Elaboración propia a partir de datos reportados por diversos estudios publicados.



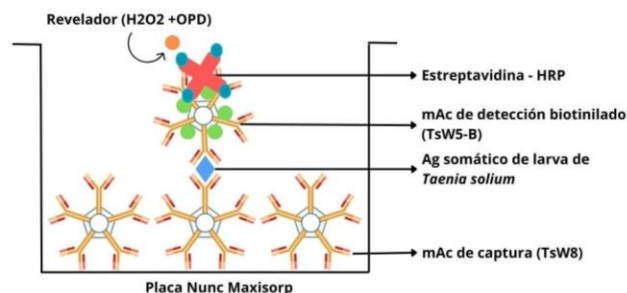
**Figura 3.** Preparación y selección del *pool* positivo de muestras de orina para detección de antígeno de *Taenia solium*.

**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXOS

### ANEXO 1. Protocolo final para el ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *Taenia solium* en muestras de orina

1. Utilizar 100 µl/pozo de anticuerpo de captura (TsW8) a concentración de 1 µg/ml para recubrir la placa (Nunc Maxisorp) en PBS-Oxoid pH 7,2 e incubar en shaker a 37°C por 1 hora.
2. Lavar la placa 5 veces con 200 µl/pozo de PBS 1X-Tween 0,05%.
3. Agregar 50 µl/pozo de Leche Anchor 1% + PBS 1X-Tween 0,05% junto a 50 µl/pozo de muestra de orina (Dilución 1/2) e incubar en shaker a 37°C por 30 minutos. Lavar como en el paso 2.
4. Añadir 100 µl/pozo de anticuerpo de captura conjugado a biotina (TsW5-B) a concentración de 2 µg/ml en Leche Anchor 1% + PBS 1X-Tween 0,05% e incubar en shaker a 37°C por 30 minutos. Lavar como en el paso 2.
5. Agregar 100 µl/pozo de estreptavidina-HRP (Dilución 1/10000) en Leche Anchor 2% + PBS 1X-Tween 0,05% e incubar en shaker a 37°C por 30 minutos. Lavar como en el paso 2.
6. Utilizar 100 µl/pozo de OPD (Disolver 1 pastilla en 10 ml de buffer citrato), cubrir la placa con papel aluminio e incubar en shaker a 37°C por 10 minutos.
7. Detener la reacción con 50 µl/pozo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N y leer la placa a 490/650 nm.



Fuente: Elaboración propia.

## ANEXO 2. Constancia del Comité Institucional de Ética de la UPCH



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

### CONSTANCIA-CIEI-295-23-25

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo la categoría de revisión **EXENTO**. La aprobación será informada en la sesión más próxima del comité.

Título del Proyecto : **“OPTIMIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE UN ELISA TIPO SÁNDWICH PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE LARVAS DE Taenia solium EN MUESTRAS DE ORINA”**

Código SIDISI : **215597**

Investigador(a) principal(es) : **Hurtado Maylle Maira Liliana**  
**Quichiz Melendez Jose Miguel**

La **aprobación** incluyó los documentos finales descritos a continuación:

**1. Protocolo de investigación, versión 3.0 de fecha 28 de mayo del 2025.**

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. La categoría de **EXENTO** es otorgado al proyecto por un periodo de cinco años en tanto la categoría se mantenga y no existan cambios o desviaciones al protocolo original. El investigador está exonerado de presentar un reporte del progreso del estudio por el periodo arriba descrito y sólo alcanzará un informe final al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **Domingo 02 de junio del 2030**.

*El presente proyecto de investigación sólo podrá iniciarse después de haber obtenido la(s) autorización(es) de la(s) institución(es) donde se ejecutará.*

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

**Lima, 02 de junio del 2025**



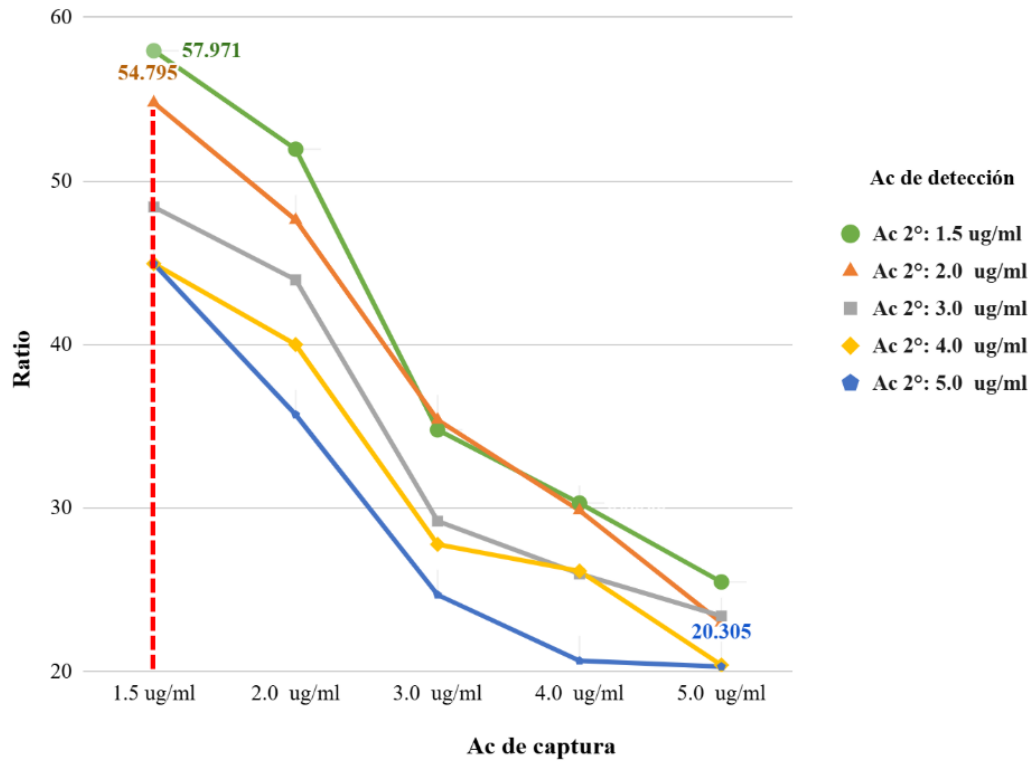
---

Manuel Raul Perez Martinot  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación  
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Av. Honorio Delgado 430  
San Martín de Porres  
Apartado postal 4314  
319 0000 Anexo 201355  
orvei.ciei@oficinas-upch.pe  
www.cayetano.edu.pe

Comité Institucional de  
Ética en Investigación

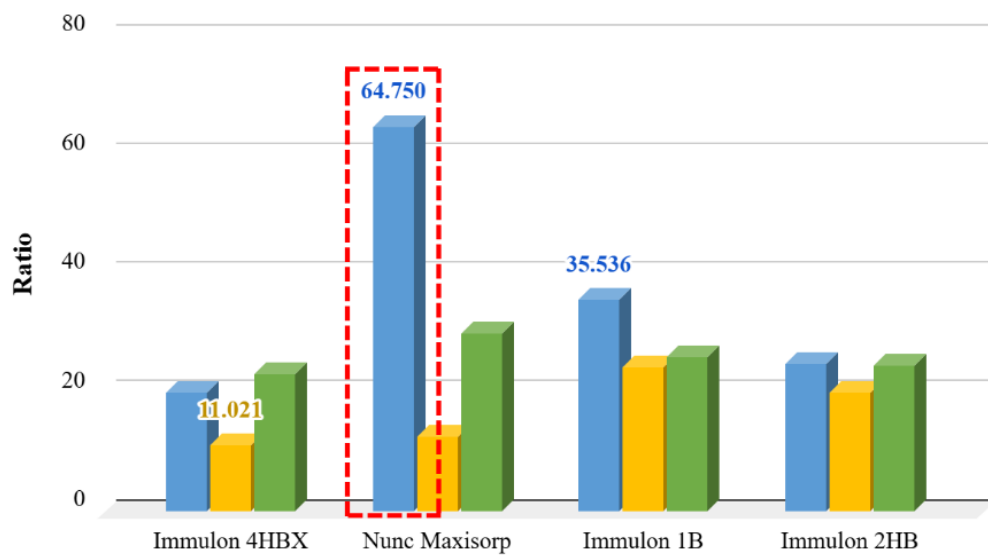
**ANEXO 3. Resultados de la determinación de las condiciones óptimas del ELISA tipo sándwich para la detección de antígenos de larvas de *Taenia solium* en muestras de orina**



**Gráfico 1.** Determinación inicial de las concentraciones de los anticuerpos TsW8 y TsW5-B según ratio positivo/negativo

**Tabla 1.** Resultados de los ratios obtenidos en la evaluación inicial de las concentraciones de los anticuerpos monoclonales TsW8 (captura) y TsW5-B (detección) mediante método *checkerboard*

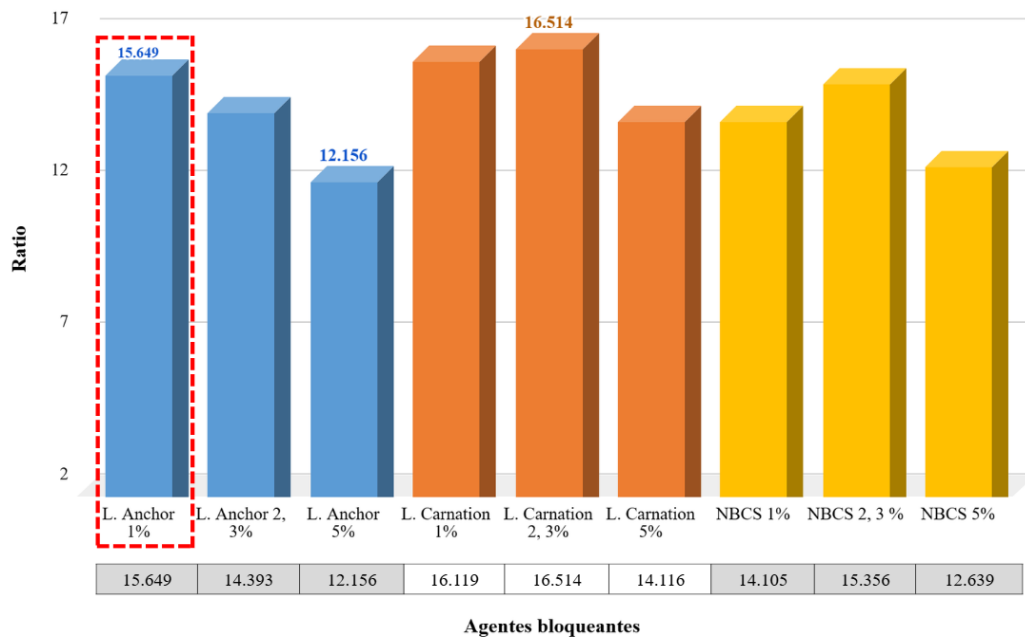
		Anticuerpo de captura (TsW8)				
		1.5 ug/ml	2.0 ug/ml	3.0 ug/ml	4.0 ug/ml	5.0 ug/ml
Anticuerpo de detección (TsW5-B)	1.5 ug/ml	57.971	51.948	34.783	30.303	25.478
	2.0 ug/ml	54.795	47.619	35.398	29.851	22.989
	3.0 ug/ml	48.413	43.956	29.197	25.974	23.392
	4.0 ug/ml	44.944	40.000	27.778	26.144	20.399
	5.0 ug/ml	44.944	35.714	24.691	20.656	20.305



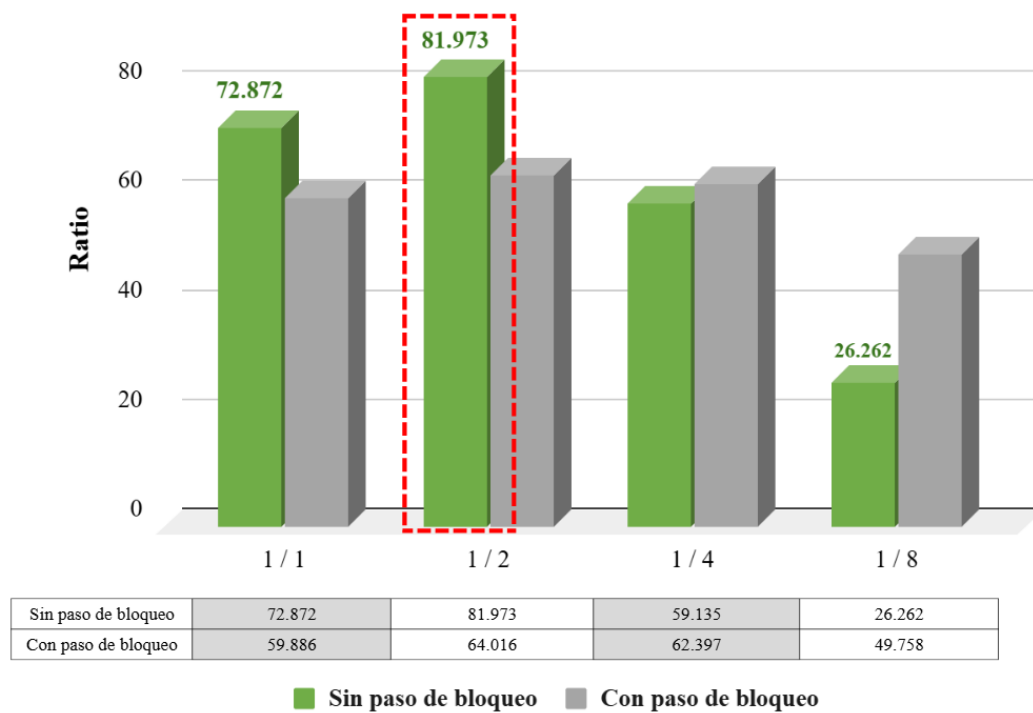
PBS-Oxoid	20.000	64.750	35.536	24.819
Carbonato-Bicarbonato	11.021	12.561	24.250	20.059
B. Sensibilización	23.144	29.851	25.913	24.461

■ PBS-Oxoid ■ Carbonato - Bicarbonato ■ B. Sensibilización

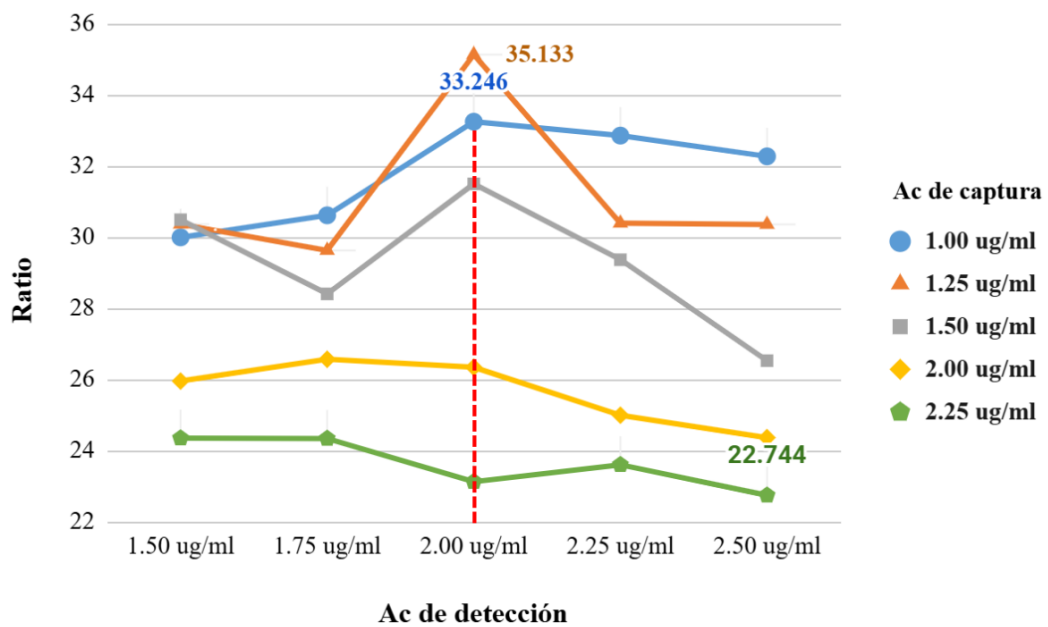
**Gráfico 2.** Evaluación comparativa de placas de poliestireno y soluciones de recubrimiento mediante valores de ratio P/N



**Gráfico 3.** Evaluación del agente bloqueante para la muestra y el conjugado en el ELISA tipo sándwich



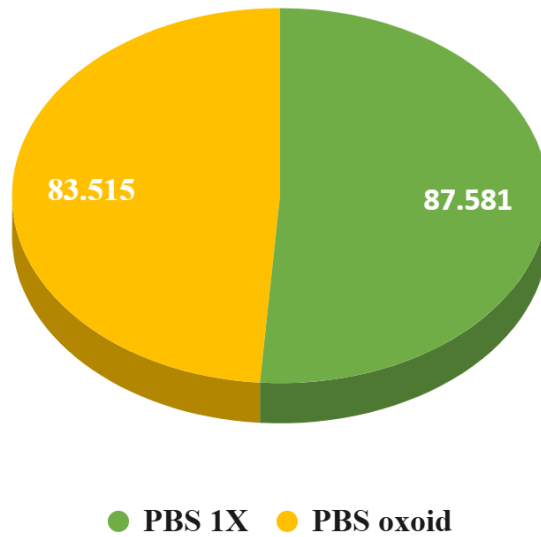
**Gráfico 4.** Evaluación de la dilución óptima de la muestra y del impacto de incluir o eliminar el paso de bloqueo en la reactividad del ensayo



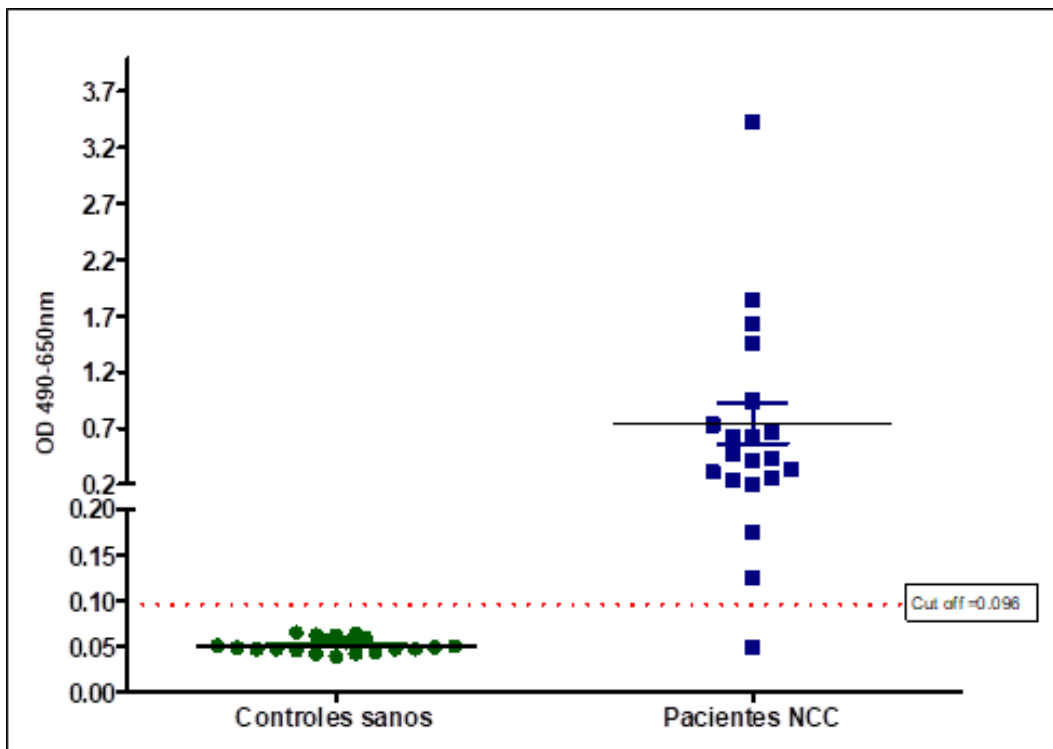
**Gráfico 5.** Evaluación final de las concentraciones óptimas de los anticuerpos TsW8 y TsW5-B mediante análisis de ratio P/N

**Tabla 2.** Resultados de los ratios obtenidos en la evaluación final de las concentraciones óptimas de los anticuerpos monoclonales TsW8 y TsW5-B para el ELISA tipo sándwich

		Anticuerpo de captura (TsW8)				
		1.00 ug/ml	1.25 ug/ml	1.50 ug/ml	2.00 ug/ml	2.25 ug/ml
Anticuerpo de detección (TsW5-B)	1.50 ug/ml	29.994	30.366	30.490	25.954	24.350
	1.75 ug/ml	30.614	29.628	28.405	26.568	24.339
	2.00 ug/ml	33.246	35.133	31.498	26.343	23.126
	2.25 ug/ml	32.855	30.394	29.365	24.993	23.602
	2.50 ug/ml	32.272	30.359	26.528	24.364	22.744



**Gráfico 6.** Evaluación del impacto del reemplazo de PBS-Oxoid por PBS 1X en la reactividad del ELISA tipo sándwich



**Gráfico 7.** Gráfico de dispersión de las 40 muestras evaluadas.

**Tabla 3.** Tabla de contingencia utilizada para el cálculo del valor predictivo positivo y negativo del ELISA tipo sándwich

		Diagnóstico a neurocisticercosis	
		Enfermos	Sanos
Resultado del ELISA tipo sándwich	Positivos	19	0
	Negativos	1	20

$$\text{VPP: } (19 / 19 + 0) * 100 = 100\%$$

$$\text{VPN: } (20 / 20 + 1) * 100 = 95\%$$