



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

**EVALUACIÓN DE NUEVOS ANTÍGENOS SINTÉTICOS Y
RECOMBINANTES PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE
CISTICERCOSIS EN EL PERÚ**

**TRABAJO DE INVESTIGACION PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO**

Jiménez Solis, Claudia Mariana

Sánchez Boluarte, Arantxa Noelia

LIMA – PERU

2020

JURADOS

Coordinador del Jurado: Dr Pedro Legua Leiva

Profesor Calificador: Dr. Martin Montes Delgado

Profesor Calificador: Dr. Jaime Cok García

ASESORES DE TESIS

Dr. Héctor Hugo García Lescano

Dr. Javier Arturo Bustos Palomino

DEDICATORIA, AGRADECIMIENTOS Y FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Dedicamos el presente trabajo de investigación a nuestra principal fuente de motivación: nuestros padres y hermanos. Agradecemos a nuestros mentores por habernos guiado en este camino y brindado las herramientas necesarias para ejecutar el proyecto. Asimismo, agradecemos a nuestra alma máter, la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El trabajo de investigación fue financiado por el Centro de Salud Global de Tumbes, Perú.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

No se declaran conflictos de interés por ninguno de los autores.

Asimismo, declaramos autenticidad y originalidad del trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN ESTRUCTURADO

***ABSTRACT* ESTRUCTURADO**

INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIAL Y MÉTODOS.....	4
Muestras séricas.....	4
Antígenos.....	5
Western blot.....	5
Plan de Análisis.....	7
Limitaciones.....	8
Consideraciones Éticas y Diseminación.....	8
RESULTADOS.....	10
DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIONES.....	15
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS.....	18

RESUMEN ESTRUCTURADO

Antecedentes. El Western blot (WB) es el ensayo serológico mejor documentado para el diagnóstico de neurocisticercosis, enfermedad que afecta al Sistema Nervioso Central, de gran relevancia en la salud pública. Esta prueba utiliza glicoproteínas lentil-lectinas, extraídas de cisticercos de cerdos infectados. Sin embargo, el WB no se encuentra disponible fácilmente, ya que el proceso de purificación de los antígenos requiere equipamiento caro y personal adecuadamente capacitado, por lo que surge la necesidad de desarrollar ensayos más simples. **Objetivo.** Determinar la concordancia entre dos nuevas pruebas diagnósticas utilizando antígenos recombinantes y sintéticos, y el WB estándar. **Material y métodos.** Estudio transversal analítico, que incorporó 77 muestras seropositivas para neurocisticercosis y 30 muestras seronegativas recolectadas entre 2015 y 2017, en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas con previa aprobación del comité de ética. Se evaluó la concordancia entre las bandas antigénicas de 50, 24 y 8 kDa y sus análogos del WB estándar. Se realizaron los análisis estadísticos mediante el estadístico kappa de Cohen, utilizando Stata/MP v.14. **Resultados.** Los valores kappa oscilaron entre 0.630 y 0.737. **Conclusiones.** Las nuevas pruebas diagnósticas no logran homologar al WB estándar, debido a que la concordancia no es la óptima esperada.

Palabras clave. Western blot, neurocisticercosis, diagnóstico, antígeno sintético, antígeno recombinante

ABSTRACT ESTRUCTURADO

Introduction. Western blot (WB) assay is the best documented serological test for the diagnosis of neurocysticercosis, a disease that affects the Central Nervous System, of great relevance in public health. This test uses glycoproteins purified by lentil-lectins, extracted from cysticerci from infected pigs. However, the WB is not readily available, since the process of purification of antigens requires expensive equipment and properly trained personnel, so the need arises to develop simpler trials. **Objective.** To determine the concordance between two new diagnostic tests using recombinant and synthetic antigens, and standard WB assay. **Materials and methods.** Analytical cross-sectional study, which included 77 seropositive samples for neurocysticercosis and 30 seronegative samples collected between 2015 and 2017, carried out at the National Institute of Neurological Sciences with prior approval of the corresponding ethics committees. The concordance between the antigenic bands of 50, 24 and 8 kDa and their analogs of standard WB was evaluated. Statistical analyzes were performed using Cohen's kappa statistic, using Stata/MP v.14. **Results.** Kappa values ranged between 0.630 and 0.737. **Conclusions.** The new diagnostic tests fail to equalize standard WB assay, because concordance is not the optimal expected.

Keywords. Western blot, neurocysticercosis, diagnosis, synthetic antigen, recombinant antigen

INTRODUCCIÓN

Neurocisticercosis (NCC), la infección del sistema nervioso central causada por el estado larval quístico del metacéstodo *Taenia solium*, es considerada la parasitosis humana más importante y potencialmente erradicable, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1-3). A pesar de los avances en el diagnóstico y el manejo, la NCC permanece endémica en los países en desarrollo: en áreas de Sudamérica, Centroamérica, África subsahariana, la India y vastas regiones del sureste asiático (3-5). En el Perú, la prevalencia de NCC es 15 por cada 1000 personas y la incidencia es 90 por cada 100 000 personas.

La NCC es considerada un problema de gran relevancia en la salud pública, ya que esta afecta alrededor de 50 millones de personas en el mundo, y representa la causa principal de epilepsia adquirida con alta frecuencia de convulsiones, en dichos países endémicos. (6-8) Por esta razón, se requieren programas de control o erradicación, así como métodos diagnósticos de alta sensibilidad y especificidad accesibles a la población, que nos provean de las características necesarias para una detección eficaz y un manejo adecuado de esta enfermedad.

El diagnóstico de NCC se basa en neuroimágenes, Tomografía Axial Computarizada (TAC) y Resonancia Magnética (RM), y ensayos serológicos confirmatorios, tales como la prueba de ELISA y la prueba del Western Blot (WB); los cuales se encuentran con poca disponibilidad y de costo elevado en los países endémicos (9).

En la actualidad, el WB constituye el mejor ensayo serológico documentado (3). La especificidad del WB, usando la glucoproteína lenti-lectina (LLGP), es de 100%, y la sensibilidad se estima alrededor del 98% en pacientes con 2 o más parásitos

viables; además, el resultado será positivo si presentan más de un quiste viable o enfermedad subaracnoidea (3, 10, 11). El WB es una prueba para detección de anticuerpos; en dicha prueba, se utilizan 7 LLGP antigénicas purificadas por cromatografía para detectar anticuerpos, la presencia de cualquiera de las 7 bandas de anticuerpos define un resultado positivo (11). En esta prueba, no se manifiestan reacciones cruzadas (12). Sin embargo, esta prueba no posee la capacidad de distinguir entre exposición, infección activa e inactiva; presenta un bajo valor predictivo para quistes viables; y disminuye su sensibilidad para lesiones únicas y calcificaciones (3, 12).

Sin embargo, existen grandes limitantes como el costo elevado, la dificultad en la obtención de estos antígenos, y las diferencias en los métodos de extracción de antígenos naturales en los diferentes laboratorios, lo que impide la estandarización de las pruebas serológicas, particularmente del WB. Por este motivo, surge la necesidad de generar kits comerciales más simples, disponibles y sostenibles para los laboratorios y hospitales, con la finalidad de mejorar el diagnóstico de NCC, particularmente en las zonas endémicas.

En los últimos años, se han elaborado nuevos kits (ensayos recombinantes) conteniendo nuevos antígenos recombinantes y sintéticos de 50, 24 y 8 kDa, generados por *Center for Disease Control and Prevention* (CDC). Una de las pruebas contiene dos antígenos, uno de ellos es recombinante: T24, y el otro es sintético: sTs14, los cuales conforman el combo I. Una segunda prueba emplea dos antígenos recombinantes (rGP50, rT24H) y uno sintético (sTsRS1), ambos conforman el combo II. En un estudio previo, el Combo II mostró una sensibilidad de 97-99% y una especificidad del 98% para el diagnóstico de NCC (13).

Asimismo, cabe mencionar que el antígeno recombinante rGP50 es afín a la banda antigénica GP50 presente en la primera banda del WB, al igual que el antígeno recombinante rT24H con los antígenos naturales GP39-42 y GP24 presentes en la segunda y tercera banda, respectivamente; y finalmente, los antígenos sintéticos sTsRS1 y sTs14 son equivalentes a las 4 últimas bandas del WB (9).

Debido a que el WB estándar es un ensayo de costo elevado, complejo en la obtención de los antígenos, y de difícil estandarización en los laboratorios por las diferencias en los métodos de extracción de los antígenos, este ensayo serológico no se encuentra disponible en muchas regiones del mundo. Incluso en el Perú, siendo una zona altamente endémica de NCC, la técnica de WB utilizando LLGP se encuentra disponible únicamente en algunos laboratorios y hospitales de Lima. El antígeno rT24H ha demostrado un mejor desempeño, por lo que se considera que su uso en subsecuentes investigaciones y su potencial utilización en el futuro (13-15).

Por esta razón, es sumamente importante generar nuevos métodos diagnósticos más simples, sostenibles, disponibles para la población y eficaces para el diagnóstico de la NCC. Por lo que se planteó evaluar la concordancia entre el Western Blot estándar y las nuevas pruebas diagnósticas Combo I y Combo II.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este es un estudio transversal analítico, el cual incluyó 107 muestras séricas de personas que acudieron por primera vez, durante los años 2015 al 2017 a la Unidad de Cisticercosis del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN), Lima, Perú.

Muestras séricas

Las muestras séricas incluidas fueron remanentes que pertenecieron a pacientes sin tratamiento antiparasitario, con previo consentimiento para almacenar sus muestras, y con resultado de WB obtenido durante los años 2015 y 2017, para determinar el diagnóstico de NCC, sea positivo o negativo. Las muestras séricas se mantuvieron a -20 °C.

Dentro de las 107 muestras séricas, se incluyó un grupo control (n=30) y un grupo de muestras seropositivas (n=77).

Se evaluó estas muestras séricas con los nuevos ensayos recombinantes Combo I y Combo II, 5 cc de muestra por cada análisis, aplicados simultáneamente, para evitar variaciones en la conservación de muestra.

Antígenos proteicos recombinantes y sintéticos de *T. solium*

El Combo I, a 1/100 de dilución, contiene un antígeno recombinante: rT24 (2.5 ug/ul) y uno sintético: sTs14 (1 ug/ul). El Combo II está conformado por tres antígenos, dos de ellos son recombinantes: rGP50 (0.2 ug/ul) y rT24H (2.5 ug/ul) y el otro, sintético: sTsRS1 (10 ug/ul) (Fig.1).

El antígeno rGP50 es análogo a la primera banda (GP50) del WB; los antígenos rT24 y rT24H son equivalentes a la segunda y tercera banda (T24/42) del WB; y los antígenos sintéticos son equivalentes a las 4 últimas bandas (familia de 8 kDa) del WB.

La concentración de cada banda antigénica fue previamente establecida por el CDC. Las bandas antigénicas tienen un tiempo de antigüedad de 7 años y durante ese tiempo estuvieron almacenadas a – 80 °C en la Unidad de Cisticercosis, INCN.

Finalmente, se realizó la comparación entre las bandas antigénicas de 50, 24 y 8 kDa de los combos y sus análogos del WB estándar.

Ensayo de Western Blot

Es una herramienta poderosa empleada para el estudio de la reacción antígeno-anticuerpo, la cual consta de 3 procesos:

Electroforesis, técnica que permite el movimiento de moléculas cargadas en un campo eléctrico. La mayoría de electroforesis usa como soporte una matriz tipo gel saturada con algún buffer sobre la que se coloca la muestra y se aplica un campo eléctrico con la finalidad de que se realice la migración molecular. Siendo esta última

dependiente del tamaño, carga, forma y composición química de la molécula, de la matriz y del campo eléctrico aplicado. El voltaje siempre va a permanecer constante por lo que la migración va a depender únicamente de la carga de la molécula. Transferencia, es el paso del antígeno colocado en el gel hacia el papel de nitrocelulosa por medio de corriente eléctrica. Incubación, se prepara Phosphate Buffered Saline with Tween™ 20 (PBS-Tween) al 0.3% aproximadamente entre 20 y 25 ml por cada placa empleada. Luego se toma 4 ml por cada placa de PBS-Tween y se agrega leche descremada al 5% para preparar la solución de incubación (para suero humano: 15 ul y para líquido:60). Se coloca la muestra de sangre en volumen de 5 cc junto al PBS-Tween-Leche, se coloca la tira haciendo que esta se sumerja en la solución y se deja toda la noche incubando en refrigeración y agitación. Seguidamente se realizan 5 lavados de 5 minutos cada uno a 56°C en el shaker. Se deja el conjugado 1:10000 y se deja incubando en movimiento por 2 horas a temperatura ambiente. Realizar un segundo lavado similar al primero pero con PBS-Tween 0.3% a temperatura ambiente por 3 veces y luego 2 veces más con PBS. Se colocan 500 ul de la solución en cada canaleta y se deja reaccionar por 10 minutos, luego se puede proceder a lavar con agua por 3 veces.

Finalmente, las tiras son puestas a secar en orden consecutivo para ser codificadas y leídas posteriormente. Se analizaron las muestras de suero y se detectaron anticuerpos específicos como se describió anteriormente (12, 16).

Plan de Análisis

Se utilizó Epidat para calcular la precisión del tamaño de muestra en base al análisis de concordancia.

Se evaluó la concordancia entre las bandas antigénicas de 50, 24 y 8 kDa y sus análogos del WB estándar mediante el estadístico kappa de Cohen, IC 95%. Para interpretar los valores kappa, se utilizó la escala de Landis y Koch: <0.00, no hay acuerdo; 0.01-0.20, grado de acuerdo insignificante; 0.21-0.40, acuerdo discreto; 0.41-0.60, acuerdo moderado; 0.61-0.80, acuerdo sustancial; y 0.81-1.00, acuerdo casi perfecto (17).

Los datos fueron evaluados utilizando STATA MP v.14.

Limitaciones

Entre las principales limitaciones del estudio, se resalta la antigüedad de las tiras de antígenos utilizadas, que corresponde a 9 años.

Al ser un estudio exploratorio, el tamaño de la muestra constituye una de las limitaciones, ya que se trabajó con una precisión de concordancia entre 6 y 10%, siendo el ideal de 5% en estudios no exploratorios. Sin embargo, para poder alcanzar el tamaño de muestra calculado ($n=107$), fue necesario incluir muestras séricas del año 2015 al año 2017.

Otra limitación detectada fue no haber aplicado las pruebas de WB estándar y los Combos I y II en simultáneo; sin embargo, la diferencia de años entre la aplicación de las pruebas no afectó los resultados del estudio, ya que las variaciones no fueron significativas ($p<0.05$).

Consideraciones éticas y diseminación

El presente estudio cumple con las normas éticas internacionales para las investigaciones biomédicas con Sujetos Humanos: Declaración de Helsinki, CIOMS/OMS, Informe Belmont, Código de Núremberg, además se tuvo en cuenta lo siguiente:

Aprobación ética de la investigación: El estudio fue revisado y aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas. Todo el personal del estudio que tuvo

contacto con la información de los pacientes contaron con cursos de buenas prácticas clínicas y de protección de sujetos humanos en investigación.

Consentimiento o Conformidad: Se trabajó con las muestras séricas extraídas y almacenadas, previo al inicio del estudio, que ya contaban con la autorización de la toma de muestra y de su almacenamiento para la realización de estudios posteriores, por lo cual no fue necesario la toma de un consentimiento informado por parte de este estudio.

Confidencialidad: Todas las muestras de sangre y la información de los participantes se encontraban ya almacenadas con códigos asignados al inicio del estudio. Estos códigos fueron previamente vinculados a la identidad en un archivo (físico y digital), al que solo los investigadores del estudio tuvieron acceso.

Declaración de intereses: Los investigadores del estudio no reportaron conflictos de interés.

Política de Disseminación: Los resultados serán publicados en una revista indexada sin ningún identificador de las muestras de sangre, disponible para la comunidad científica.

RESULTADOS

Se evaluaron 107 muestras de pacientes con WB realizados en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN), Lima, Perú. Dichos pacientes contaron con pruebas de WB así como con imágenes para la confirmación del diagnóstico, 43 (40%) cuentan con TAC y 64 (60%) con RMN. Los hallazgos hallados en las imágenes fueron los siguientes: Diez individuos (9%) no presentaron quistes, 63 individuos (59%) presentaron NCC intraparenquimal, de los cuales 18 (29%) tenían al menos un solo quiste viable mientras que 45 (71%) tenían cisticercos no viables siendo la mayoría calcificaciones (44/45, 98%) y menos frecuente granulomas (1/45, 2%). Treinta y cuatro pacientes presentaron NCC extraparenquimal de los cuales 25 (74%) fueron quistes subaracnoideos y 9 (26%) fueron ventriculares. Las muestras séricas de dichos pacientes se sometieron a la prueba de WB, a la prueba del Combo I y del Combo II obteniéndose lo siguiente: Para el WB, de los 77 con WB (+), 4 individuos (5%) no presentaron quistes, 44 individuos (57%) presentaron NCC intraparenquimal de los cuales 14 (32%) tenían al menos un quiste viable y 30 (68%) tuvieron quistes no viables siendo el 100% calcificaciones (30/30) con 0 granulomas. Veintinueve individuos (38%) presentaron NCC extraparenquimal de los cuales 7 (24%) presentaron quistes ventriculares y 22 (76%) quistes subaracnoideos.

De los 55 pacientes con muestras séricas positivas empleadas en el Combo I, 4 individuos (7%) no presentaron quistes, 27 individuos (49%) presentaron NCC intraparenquimal de los cuales 11 (41%) tenían al menos un quiste viable y 16 (59%) tuvieron quistes no viables siendo el 100% calcificaciones (16/16) con 0 granulomas. Veinticuatro individuos (44%) presentaron NCC extraparenquimal de los cuales 4 (17%) presentaron quistes ventriculares y 20 (83%) quistes subaracnoideos.

De los 62 pacientes con muestras séricas positivas para el Combo II, 3 individuos (5%) no presentaron quistes, 33 individuos (53%) presentaron NCC intraparenquimal de los cuales 12 (36%) tenían al menos un quiste viable y 21 (64%) tuvieron quistes no viables siendo el 100% calcificaciones (21/21) con 0 granulomas. Veintiséis individuos (42%) presentaron NCC extraparenquimal de los cuales 5 (19%) presentaron quistes ventriculares y 21 (81%) quistes subaracnoideos.

La concordancia de los ensayos recombinantes y cada banda antigénica fue evaluada considerando a sus análogos en el WB (Fig.1). Al evaluar la concordancia, se comparó cada antígeno sintético y recombinante de los nuevos ensayos con su respectivo análogo en el WB estándar. Los antígenos de 24 kDa demostraron un mayor grado de concordancia respecto a los otros antígenos de los ensayos recombinantes. El antígeno rT24 del Combo I mostró una mayor concordancia con la banda 3 del WB estándar, siendo esta de 0.757, lo que indica un grado de concordancia sustancial (Tabla 3A).

Respecto al Combo II, también se encontró una mayor concordancia del antígeno rT24H con la banda 3 del WB estándar, alcanzando un grado de concordancia casi perfecto con un valor kappa de 0.832 (Tabla 3B).

DISCUSIÓN

Las muestras de suero de este estudio se separaron en tres categorías en función a las imágenes de cada paciente: sin presencia de quistes, con quistes intraparenquimales, con quistes extraparenquimales demostrando que los pacientes con quistes intraparenquimales presentaban una mayor positividad tanto en WB convencional como en combo I y combo II sobre todo en los que tenían de dos a más quistes viables. Este estudio demuestra que, los resultados positivos tanto en WB, Combo I y Combo II concuerdan más en aquellos pacientes que presentan quistes viables, principalmente aquellos con 2 o más quistes; a su vez se llega a la conclusión que el Combo II es el que tiene resultados más afines a los de WB para calcificaciones, quistes viables, granulomas, quistes subaracnoideos y ventriculares.

Se realizó un estudio en el que se analizaron hallazgos de NCC en imágenes y se le comparó con los hallazgos en las muestras serológicas en WB, obteniéndose que los casos de NCC extra parenquimal, ventriculares y subaracnoideos, fueron más frecuentes en las clases 3 y 4 que incluían a pacientes con las 7 bandas de WB positivas (18), resultados similares se hallaron en este estudio demostrando que estos quistes son los que presentan mayor carga antigénica. El combo II demostró resultados más afines a los del WB para calcificaciones, quistes viables, granulomas, quistes subaracnoideos y ventriculares, lo que podría ser debido a la presencia del antígeno rT24H que demostró ser el mejor para la detección de cisticercosis humana; ningún antígeno se desempeñó mejor que otro para la detección de los diferentes estados clínicos de cisticercosis. Además, la lectura de los resultados de rT24H en el inmunoensayo de impresión multiantígeno (MAPIA) tuvo el mayor nivel de concordancia. Sobre la base de estas observaciones, el antígeno rT24H es el

candidato de elección para su uso en MAPIA para la detección de cisticercosis en futuros estudios (15).

Respecto a los hallazgos de concordancia entre los nuevos ensayos recombinantes y el WB estándar, se halló que el grado de acuerdo del antígeno sTs14 con su respectivo análogo es sustancial, es decir, presentó un valor kappa de 0.68 (tabla 3A). Estos representan valores bajos de concordancia, al comparar con otros estudios donde el grado de acuerdo logró ser de 0.98 (15). Hallazgos similares se obtuvieron al analizar los antígenos rGP50 Y sTsRS1, cuyos valores kappa fueron 0.63 y 0.74, respectivamente, mientras que en otros estudios se obtuvieron valores de 0.98 y 0.96, respectivamente. La evidente disminución en la concordancia es posible que se deba a la antigüedad de las tiras reactivas.

Asimismo, existen estudios que reportan datos anecdóticos de reactividad falsa positiva a GP50 nativa debido a reacciones cruzadas con otros parásitos, por lo que se reduce la aceptación del rGP50 (3,5). El antígeno que demostró mayor acuerdo con el WB convencional fue el rT24H (0.83, tabla 3B) sobre todo al compararlo con la banda 3; sin embargo, no llegó a tener valores elevados casi perfectos de concordancia tales como 0.85, 0.93 o 0.98, como se encontró en otros estudios (13-15).

Al analizar según combos, se encontró que el combo I presentó una concordancia moderada (0.51, tabla 3A), por lo que este ensayo recombinante no logra homologar al WB estándar. El combo II obtuvo una concordancia sustancial (0.66, tabla 3B) no llegando a evidenciarse acuerdos casi perfectos (0.89) como los reportados en otros estudios (13).

Finalmente, al contrastar el Combo I con el Combo II, se concluye que el Combo II cuenta con un valor kappa ligeramente superior al Combo I esto debido a la presencia del antígeno con la mayor concordancia, es decir el antígeno rT24H, cuyos resultados promisorios sugieren su uso potencial en estudios futuros. Cabe mencionar que si bien implementar el WB requiere de personal capacitado y un costo elevado, estos antígenos pueden ser utilizados mediante un dipstick a futuro, disminuyendo en gran medida los costos.

CONCLUSIONES

Finalmente, estos nuevos antígenos pueden ser útiles debido a su alta concordancia. De igual manera, el antígeno rT24H, al ser el de mejor desempeño, puede ser combinado con algún nuevo antígeno recombinante, y obtener un ensayo serológico con mejores resultados, y así eventualmente reemplazar a los antígenos del WB estándar. Sin embargo, se debe continuar la investigación y generación de nuevos antígenos sintéticos y recombinantes que logren ser equivalentes al WB estándar, para evaluar la posibilidad de reemplazo de la prueba diagnóstica a una más simple y accesible a la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organization WH. Control of Neurocysticercosis: Report by the Secretariat. Fifty-fifth World Health Assembly; Provisional Agenda item 13.18. Washington, DC: World Health Organization; 2002. Report No.: A55/23.
2. M. Esquivel-Velázquez PO-S, J. Morales-Montor, R. Hernández-Bello, and C. Larralde. Immunodiagnosis of Neurocysticercosis: Ways to Focus on the Challenge. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;2011.
3. García HH, Nash TE, Del Brutto OH. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *The Lancet Neurology*. 2014;13(12):1202-15.
4. Oscar H. Del Brutto, García HH. *Cysticercosis of the Human Nervous System*. Springer2014.
5. Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA, Porrás MA, Vargas V, Cjuno RA, et al. [Neurocysticercosis diagnosis and management in Peru]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*. 2010;27(4):586-91.
6. Medina MT, Rosas E, Rubio-Donnadieu F, Sotelo J. Neurocysticercosis as the main cause of late-onset epilepsy in Mexico. *Archives of internal medicine*. 1990;150(2):325-7.
7. Roman G, Sotelo J, Del Brutto O, Flisser A, Dumas M, Wadia N, et al. A proposal to declare neurocysticercosis an international reportable disease. *Bulletin of the World Health Organization*. 2000;78(3):399-406.
8. Moyano LM, Saito M, Montano SM, Gonzalvez G, Olaya S, Ayvar V, et al. Neurocysticercosis as a cause of epilepsy and seizures in two community-based studies in a cysticercosis-endemic region in Peru. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(2):e2692.
9. Rodriguez S, Wilkins P, Dorny P. Immunological and molecular diagnosis of cysticercosis. *Pathogens and global health*. 2012;106(5):286-98.
10. White AC. Neurocysticercosis: A Major Cause of Neurological Disease Worldwide. *Clinical Infectious Diseases*. 1997;24(2):101-13.
11. Rodriguez S, Wilkins P, Dorny P. Immunological and molecular diagnosis of cysticercosis. *Pathogens and global health*. 2012;106(5):286-98.
12. Tsang VC, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *The Journal of infectious diseases*. 1989;159(1):50-9.
13. Noh J, Rodriguez S, Lee YM, Handali S, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Recombinant protein- and synthetic peptide-based immunoblot test for diagnosis of neurocysticercosis. *J Clin Microbiol*. 2014;52(5):1429-34.
14. Dermauw V, Carabin H, Cissé A, Millogo A, Tarnagda Z, Ganaba R, et al. Evaluating the Recombinant T24H Enzyme-Linked Immunoelectrotransfer Blot Assay for the Diagnosis of Neurocysticercosis in a Panel of Samples from a Large Community-Based Randomized Control Trial in 60 Villages in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(2):565-9.
15. Handali S, Klarman M, Gaspard AN, Noh J, Lee YM, Rodriguez S, et al. Multiantigen print immunoassay for comparison of diagnostic antigens for *Taenia solium* cysticercosis and taeniasis. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(1):68-72.
16. Tsang VC, Peralta JM, Simons AR. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by gel electrophoresis. *Methods Enzymol*. 1983;92:377-91.
17. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74.

18. Arroyo G, Rodriguez S, Lescano AG, Alroy KA, Bustos JA, Santivañez S, et al. Antibody Banding Patterns of the Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer Blot and Brain Imaging Findings in Patients With Neurocysticercosis. *Clin Infect Dis*. 2018;66(2):282-8.

TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Tabla 1. Características de las personas con neurocisticercosis, 2015-2017, Lima, Perú (n=107)*

Características	107 (%)
<hr/>	
Etiología	
NCC	101 (94)
Controles	6 (6)
Imágenes	
TAC	43 (40)
RMN ¶	64 (60)
Tipo de quiste	
Quiste viable	26 (24)
Granuloma	3 (3)
Calcificación	54 (51)
Ventricular	11 (10)
Subaracnoideo	24 (22)
Western blot	
Positivo	77 (72)
Negativo	30 (28)

* IC, intervalo de confianza

Tabla 2. Características de las Neuroimágenes vs. Serología, 2015-2017, Lima, Perú (n=107)

Tipo de quiste	n	WB+	CI+	CII+
Ninguno (n=10)		4	4	3
Calcificaciones (n=44)		30	16	21
1	19	11	5	8
2--5	11	6	5	4
6--20	11	11	5	7
21--más	3	2	1	2
Granuloma (n=1)		0	0	0
1	1	0	0	0
Quistes viables (n=18)		14	11	12
1	13	9	6	7
2--5	3	3	3	3
6--más	2	2	2	2
Ventricular (n=9)		7	4	5
1	9	7	4	5
Subaracnoideo (n=25)		22	20	21

Tabla 3A. Análisis de concordancia entre el Combo I y el WB estándar, 2015-2017,

Lima, Perú (n=107)*

		Kappa value (95% IC)	
		1 quiste	≥2 quistes
WB estándar	COMBO	0.50 (0.14 – ND	
	I	0.51 (0.36 – 0.66)	0.86)
Banda 2-3		0.62 (0.26 – 0.62	(-0.04 – 1)
Banda 2	T24	0.65 (0.51 – 0.78)	0.62 (0.26 – 0.62 (-0.04 – 1)
Banda 3		0.76 (0.63 – 0.88)	0.72 (0.36 – 1) 0.62 (-0.04 – 1)
Banda 4-7	sTS14	0.68 (0.52 - 0.84)	0.44 (-0.15 – 0.21 (-0.38 – 1) 0.81)

* IC, intervalo de confianza; ND, no determinado.

Tabla 3B. Análisis de concordancia entre el Combo II y el WB estándar, 2015-2017,

Lima, Perú (n=107)*

		Kappa value (95% IC)		
			1 quiste	≥2 quistes
WB estándar	COMBO		0.73 (0.39 - 1)	ND
	II	0.66 (0.52 – 0.80)		
Banda 1	rGP50	0.63 (0.49 - 0.77)	0.73 (0.39 - 1)	ND
Banda 2-3		0.72 (0.59 - 0.85)	0.50 (0.14 – 1	
			0.86)	
Banda 2	rT24H	0.72 (0.59 – 0.85)	0.50 (1.14 – 1	
			0.86)	
Banda 3		0.83 (0.78 – 0.98)	0.86 (0.59 – 1)	1
Banda 4-7	sTsRS1	0.74 (0.59 - 0.88)	0.44 (-0.15 – 0.79	(0.41 – 1)
			1)	

* IC, intervalo de confianza; ND, no determinado.

Figura 1. Análisis de WB estándar (A) y ensayos recombinantes Combo I: rT24 y sTs14 (B), y Combo II: rGP50, rT24H y sTsRS1 (C) (Adaptado de G Arroyo et al., 2018)(18).

