



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

SEROLOGÍA PARA LA DETECCIÓN DE
INFECCIÓN VIABLE EN PACIENTES
CON NEUROCYSTICERCOSIS QUE
EXPRESAN ANTICUERPOS CONTRA
GP50, GP42-39, GP24 EN LLGP-EITB
(PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE II)

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS EN
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

ANDREA MERCEDES RIVERA SANTILLAN

LIMA – PERÚ

2024

ASESOR

PhD. HECTOR HUGO GARCIA LESCANO

Centro De Salud Global

Universidad Peruana Cayetano Heredia

CO ASESOR

PhD. JAVIER ARTURO BUSTOS PALOMINO

Centro De Salud Global

Universidad Peruana Cayetano Heredia

JURADO DE TESIS

DR. MEDDLY LESLYE SANTOLALLA ROBLES

PRESIDENTE

DRA. YENY ODALY TINOCO FIGUEROA

VOCAL

DRA. LUZ MARIA MOYANO VIDAL

SECRETARIA

DEDICATORIA

A mis padres Enedina y Genaro, por su amor incondicional y sus sabias palabras
que me motivaron siempre a seguir adelante.

A Jorge, mi compañero de vida por apoyarme en cumplir mis metas y caminar
uno al lado del otro, y a Gabriel, Leonardo y Alonso por ser quienes ponen de
cabeza mi mundo y mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Héctor H. García, Javier A. Bustos y Andrés G. Lescano por su apoyo
y mentoría durante el desarrollo del doctorado.

Al personal de la Unidad de Cisticercosis del INCN y del Laboratorio de
neurocisticercosis de la UPCH, especialmente a Luz Toribio, Kathia Linares y
Yesenia Castillo. Y a todos mis amigos quienes siempre me han alentado a ser
persistente.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

La presente tesis ha sido financiada por el Consejo Nacional de Ciencia,
Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número
de beca: EF033-235-2015).

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA	23	AGOSTO	2024
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	RIVERA SANTILLAN ANDREA MERCEDES		
PROGRAMA DE POSGRADO	DOCTORADO EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2019		
TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	SEROLOGÍA PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIÓN VIABLE EN PACIENTES CON NEUROCYSTICERCOSIS QUE EXPRESAN ANTICUERPOS CONTRA GP50, GP42-39, GP24 EN LLGP-EITB (PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE II)		
MODALIDAD (marcar)	Tesis	<input checked="" type="checkbox"/>	Sustentación temática
Declaración del Autor			
La presente Tesis es un Trabajo de Investigación de Grado original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. Esta tesis representa además una contribución a la comunidad científica y a la sociedad. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	992191974		
E-mail	andrea.rivera.s@upch.pe		

Firma del Egresado
DNI 43068054

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	RIVERA SANTILLAN ANDREA MERCEDES

(Agregar filas adicionales si hay más autores)

Pertenecientes al programa de la **DOCTORADO EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA**, autores del trabajo titulado: **SEROLOGÍA PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIÓN VIABLE EN PACIENTES CON NEUROCISTICERCOSIS QUE EXPRESAN ANTICUERPOS CONTRA GP50, GP42-39, GP24 EN LLGP-EITB (PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE II)**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA** bajo la modalidad de **TESIS**.

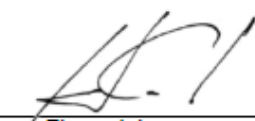
En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	GARCIA LESCANO HECTOR HUGO	FASPA	DOCTORADO
2.	BUSTOS PALOMINO JAVIER ARTURO	FASPA	DOCTORADO


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 **17%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **2774007689**; fecha de entrega: **07-10-2025**).
- 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, 07 de octubre de 2025**



Firma del asesor
N° DNI: 06083069
ORCID: 0000-0002-4633-6269



Firma del Co-asesor
N° DNI: 10791437
ORCID: 0000-0002-5797-3052

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPOTESIS GENERAL	34
III.	JUSTIFICACIÓN	35
IV.	INVESTIGACIÓN 1: PERFIL DE ANTICUERPOS EN LLGP-EITB Y VARIABLES DEMOGRÁFICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN VIABLE EN NEUROCISTICERCOSIS PARENQUIMAL EN PACIENTES CON UN PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE 2	37
	4.1 Resumen.....	37
	4.2 Introducción	41
	4.3 Materiales y métodos	46
	4.4 Resultados	53
	4.5 Discusión.....	71
V.	INVESTIGACIÓN II: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEL PERFIL CUANTITATIVO DE ANTICUERPOS CONTRA GLICOPROTEÍNAS RECOMBINANTES/SINTÉTICAS DE TAENIA SOLIUM PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN VIABLE EN NEUROCISTICERCOSIS PARENQUIMAL Y EXTRAPARENQUIMAL EN PACIENTES CON UN PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE 2	79
	5.1 Resumen.....	79
	5.2 Introducción	81
	5.3 Materiales y métodos	86
	5.4 Resultados	92
	5.5 Discusión.....	100
VI.	DISCUSIÓN INTEGRADA	110
VII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	116
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118

ANEXOS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de distribución de características de la población	55
Tabla 2. Número de quistes viables	56
Tabla 3. Características de los pacientes evaluados por MBA	57
Tabla 4. Análisis bivariado	58
Tabla 5. Asociación entre la distribución/número de bandas y la viabilidad del parásito (neuroimagen) en pacientes con neurocisticercosis con un patrón clase 2 en WB (n=944)	60
Tabla 6. Características del ensayo de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/ sintéticas de <i>Taenia solium</i> mediante MBA	65
Tabla 7. Perfil de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/ sintéticas de <i>Taenia solium</i> según la viabilidad del cisticerco	67
Tabla 8. Modelos evaluados para establecer el número de clases en el análisis de ACL	71
Tabla 9. Resultados de las probabilidades predichas para cada clase	71
Tabla 10. Número y tipo de sueros analizados	92
Tabla 11. Características de los sueros analizados	93
Tabla 12. Mediana del ratio de anticuerpos según tipo de infección	93
Tabla 13. Características de la prueba de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas de <i>Taenia solium</i> (MBA) para detectar infección viable (parenquimal)	98
Tabla 14. Desempeño de la prueba de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas de <i>Taenia solium</i> (MBA) para detectar infección viable (extraparenquimal)	98
Tabla 15. Asociación entre la detección de anticuerpos contra 3 glicoproteínas recombinantes/sintéticas e infección viable parenquimal	99

Tabla 16. Asociación entre la detección de anticuerpos contra 3 glicoproteínas recombinantes/sintéticas e infección viable extraparenquimal **100**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i> : Cisticercosis / Neurocisticercosis	3
Figura 2. NCC parenquimal (A) y NCC extraparenquimal (B) observadas mediante RM sin contraste	9
Figura 3. NCC calcificada observada (dos lesiones que se observan con círculos blancos) mediante TAC sin contraste	9
Figura 4. Cisticerco de <i>Taenia solium</i>	14
Figura 5. Estructura del cisticerco de <i>Taenia solium</i>	15
Figura 6. Hallazgos de neuroimágenes en NCC	22
Figura 7. Hallazgos de neuroimágenes en NCC	23
Figura 8. Bandas de glicoproteínas utilizadas en LLGP-EITB y la familia de glicoproteína a la que pertenece cada una. LLGP-EITB: <i>lentil lectin-bound glycoproteins/enzime-linked immunoelectrotransfer blot</i>	46
Figura 9. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en el total de pacientes evaluados por MBA (n=94)	63
Figura 10. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 1 evaluados por MBA (n=28)	64
Figura 11. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 2 evaluados por MBA (n=33)	64
Figura 12. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 3 evaluados por MBA (n=33)	65
Figura 13. Gráfico de las probabilidades de tener un resultado positivo para cada una de las glicoproteínas evaluadas según cada clase.	73
Figura 14. Gráfico de distribución del ratio de anticuerpos contra la glicoproteína rGP50, según el tipo de infección	95
Figura 15. Gráfico de distribución de ratio de anticuerpos contra la glicoproteína rT24H, según el tipo de infección	95
Figura 16. Gráfico de distribución del ratio de anticuerpos contra la glicoproteína STs18, según el tipo de infección	96
Figura 17. Gráfico de área bajo la curva (AUC) para detectar infección viable parenquimal de cada antígeno, evaluados por MBA.	97
Figura 18. Gráfico de área bajo la curva (AUC) para detectar infección viable extraparenquimal de cada antígeno, evaluados por MBA	98

RESUMEN

Introducción: La neurocisticercosis (NCC) es una infección parasitaria del sistema nervioso central responsable del aproximadamente el 30 % de casos de epilepsia en el mundo. El diagnóstico se basa en las neuroimágenes, que requieren equipos sofisticados y de alto costo, poco disponibles en zonas endémicas. Las pruebas serológicas complementan el diagnóstico, más aún cuando la neuroimagen no es concluyente; no obstante, se requieren más herramientas para discernir entre infección viable y no viable, sobre todo para un grupo importante de pacientes, con un patrón serológico clase 2 (GP50, GP42-39 y/o GP24 positivas en LLGP-EITB). Estos pacientes representan casi un tercio de los pacientes con NCC, cuyo diagnóstico de infección viable es complejo. Por tal motivo el presente trabajo de investigación propone, en pacientes con un patrón serológico clase 2: i) evaluar si la distribución de las bandas positivas en LLGP-EITB (2 o 3 bandas) y las características demográficas permiten discriminar infección viable; asimismo, explorar los niveles de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas según la distribución de bandas y ii) evaluar el perfil cuantitativo de anticuerpos contra glicoproteínas (rGP50, rT24H y sTs18) para discriminar infección viable.

Investigación 1: Se evaluaron a 944 pacientes con NCC parenquimal. Los individuos con tres bandas positivas tienen 61 % más probabilidad de presentar quistes viables que aquellos con solo dos. Los pacientes del sexo masculino y de 40 años o menos tuvieron 62 % y 35 % más probabilidad de quistes viables. La exploración cuantitativa de anticuerpos contra rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 determinó como punto de corte del *multiplex bead-based assay* (MBA) ratio: 5.473, 14.16, 7.333 y 3.485, respectivamente (n=94). El tener un resultado positivo a

rT24H y sTs18 se asoció a 2.81 y 2.64 veces más posibilidad de presentar quistes viables. La evaluación de anticuerpos contra sTs14, no permitió ver diferencias a nivel de subgrupos (dos o tres bandas positivas en LLGP-EITB). Se observó que las personas que tienden a expresar anticuerpos contra casi todas las glicoproteínas evaluadas tienen 5.4 veces mayor probabilidad de tener cisticercos viables. La medición de anticuerpos contra rGP50 no permitió ver diferencias respecto a la viabilidad.

Investigación 2: El estudio incluyó a 160 pacientes con NCC (64 parenquimal, 64 calcificada y 32 extraparenquimal). Las medianas del MBA-ratio de anticuerpos contra rT24H (7.1 vs 1.9) y sTs18 (4.5 vs 1.4) fueron mayores para aquellos con infección viable parenquimal ($p < 0.001$) o extraparenquimal ($p < 0.001$) en comparación con la infección calcificada. No se observaron diferencias en la cuantificación de anticuerpos contra rGP50 entre infección viable y no viable. Los puntos de corte del MBA-ratio de anticuerpos contra rGP50, rT24H y sTs18 para determinar positivo o negativo el resultado fueron: 12.1; 3.438 y 2.307, para infección parenquimal, y de 7.79; 2.202 y 2.084, para infección extraparenquimal, respectivamente. La sensibilidad y especificadas de la prueba para detectar infección viable usando rGP50, rT24H y sTs18 fueron 60.9 y 59.4; 75.0 y 64.1; 79.7 y 65.6, en infección parenquimal; y de 71.9 y 53.1; 81.3 y 56.3; 81.0 y 62.5, en infección extraparenquimal, respectivamente. Los pacientes con infección parenquimal y un resultado positivo a rT24H y sTs18 tienen 5.28 y 7.26 veces más la posibilidad de tener infección viable; los pacientes con infección extraparenquimal y resultado positivo a sT24H y sTs18 tienen 5.6 y 7.2 veces más

la posibilidad de tener infección viable. No hubo relación entre un resultado positivo a rGP50 e infección viable.

Se concluye que la distribución de bandas, el sexo y la edad permitirían ayudar a discriminar entre infección viable en pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB. Asimismo, la cuantificación de anticuerpos contra rT24H y sTs18 brindan información serológica que apoyaría el diagnóstico complementando el diagnóstico para identificar pacientes con infección viable. Esto es relevante ya estos resultados permitiría tener más herramientas diagnósticas fácilmente implementables en establecimiento de detección desde el nivel primario y permitirían priorizar el tamizaje imagenológico de NCC viable en zonas de escaso acceso a neuroimágenes.

PALABRAS CLAVE: Anticuerpos, glicoproteínas, *Taenia solium*, infección viable, neurocisticercosis

ABSTRACT

Introduction: Neurocysticercosis (NCC) is a parasitic infection of the central nervous system responsible for approximately 30% of epilepsy cases worldwide. The diagnosis is based on neuroimaging, which requires preferred and high-cost equipment, which is rarely available in endemic areas. Serological tests complement the diagnosis, even more so when neuroimaging is not conclusive; However, more tools are required to discern between viable and non-viable infections, especially for an important group of patients, with a class 2 serological pattern (GP50, GP42-39 and/or GP24 positive in LLGP-EITB). These patients represent almost a third of patients with NCC, whose diagnosis of viable infection is complex. For this reason, this research proposes, in patients with a class 2 serological pattern: i) evaluate whether the distribution of positive bands in LLGP-EITB (2 or 3 bands) and demographic characteristics allow discriminating viable infection; in addition, explore the levels of antibodies against recombinant/synthetic glycoproteins according to the distribution of bands, and ii) evaluate the quantitative profile of antibodies against glycoproteins (rGP50, rT24H and sTs18) to discriminate viable infection.

Investigation 1: 944 patients with parenchymal NCC were evaluated. Individuals with three positive bands are 61% more likely to have viable cysts than those with only two. Male patients aged 40 years or younger were 62% and 35% more likely to have viable cysts. The quantitative exploration of antibodies against rGP50, rT24H, sTs14 and sTs18 determined the cut-off point of the multiplex bead-based assay (MBA) ratio: 5.473, 14.16, 7.333 and 3.485, respectively (n=94). Having a

positive result for rT24H and sTs18 was associated with a 2.81 and 2.64-times greater chance of presenting viable cysts. The evaluation of antibodies against sTs14 did not allow us to see differences at the subgroup level (two or three positive bands in LLGP-EITB). It was observed that people who tend to express antibodies against almost all glycoproteins evaluated are 5.4 times more likely to have viable cysticerci. The measurement of antibodies against rGP50 did not reveal differences regarding viability.

Investigation 2: The study included 160 patients with NCC (64 parenchymal, 64 calcified, and 32 extraparenchymal). The median MBA-ratio of antibodies against rT24H (7.1 vs 1.9) and sTs18 (4.5 vs 1.4) were higher for those with viable parenchymal ($p < 0.001$) or extraparenchymal ($p < 0.001$) infection compared to calcified infection. No differences were observed in the quantification of antibodies against rGP50 between viable and non-viable infection. The cut-off points of the MBA-ratio of antibodies against rGP50, rT24H and sTs18 to determine positive or negative results were: 12.1; 3,438 and 2,307, for parenchymal infection, and 7.79; 2,202 and 2,084, for extraparenchymal infection, respectively. The sensitivity and specifications of the test to detect viable infection using rGP50, rT24H and sTs18 were 60.9 and 59.4; 75.0 and 64.1; 79.7 and 65.6, in parenchymal infection; and 71.9 and 53.1; 81.3 and 56.3; 81.0 and 62.5, in extraparenchymal infection, respectively. Patients with parenchymal infection and a positive result for rT24H and sTs18 have a 5.28 and 7.26-times greater chance of having viable infection; Patients with extraparenchymal infection and a positive result for sT24H and sTs18 have a 5.6 and 7.2-times greater chance of having viable infection. There was no relationship between a positive rGP50 result and viable infection.

It is concluded that the distribution of bands, sex and age would help discriminate between viable infection in patients with a class 2 pattern in LLGP-EITB. Likewise, the quantification of antibodies against rT24H and sTs18 provides serological information that would support the diagnosis, complementing the diagnosis to identify patients with viable infection. This is relevant since these results would allow for more easily implementable diagnostic tools in detection establishments from the primary level and would allow prioritizing imaging screening for viable NCC in areas with little access to neuroimaging.

KEYWORDS: Antibodies, glycoproteins, *Taenia solium*, viable infection, neurocysticercosis

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

Taenia solium es un parásito céstodo que posee un ciclo biológico complejo e involucra a dos hospedadores: cerdos y humanos. El ser humano, quien es el único hospedero definitivo, alberga en el intestino delgado a la forma adulta del parásito; esta infección se conoce como teniasis y convierte al ser humano en el reservorio y diseminador más importante del parásito al liberar huevos de *Taenia solium* a través de las heces (1). Los cerdos, quienes actúan como hospederos intermediarios, portan los estados larvarios o quistes (cisticercosis porcina). Los cerdos se infectan después de consumir heces contaminadas con los huevos (procedentes de humanos con teniasis) y comúnmente desarrollan quistes a nivel de los músculos o el tejido subcutáneo (2). Los seres humanos también pueden actuar como hospederos intermediarios accidentales y desarrollar cisticercosis por la ingestión de huevos de *Taenia solium* (3) (**Figura 1**). De este modo, los huevos ingeridos eclosionan y liberan las larvas a nivel intestinal, las cuales atraviesan el epitelio del intestino delgado y llegan al torrente sanguíneo (2). Así, se dirigen principalmente a los músculos y al sistema nervioso central (SNC). En humanos, la infección con cisticercos a nivel del SNC se denomina neurocisticercosis (NCC)(4).

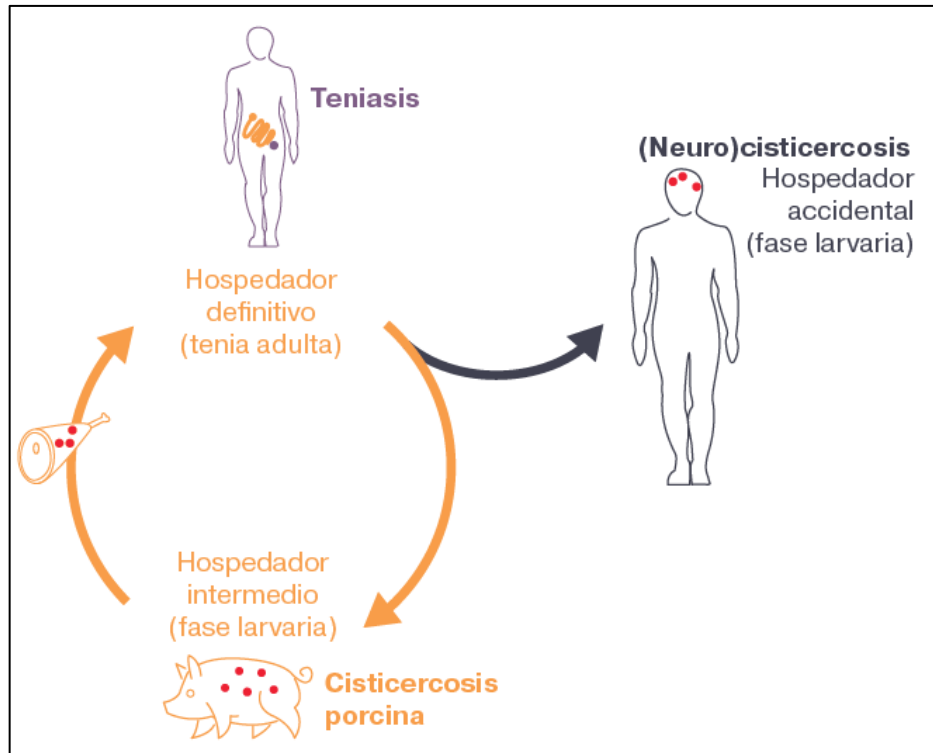


Figura 1. Ciclo biológico de *Taenia solium*: Cisticercosis / Neurocisticercosis. Imagen obtenida del documento “Directrices de la OMS sobre el manejo clínico de la neurocisticercosis por *Taenia solium* (2022)” publicado la Organización Mundial de la Salud. DOI: <https://doi.org/10.37774/9789275325247>.

1.2. Neurocisticercosis

La NCC es considerada una enfermedad neurológica de gran impacto en la salud pública y es la principal causa de epilepsia secundaria en el mundo (5–7). La NCC ocurre a consecuencia de que una persona ingiere alimentos contaminados con huevos de *Taenia solium*, que posteriormente, eclosionan y atraviesan el epitelio intestinal, llegando al torrente sanguíneo hasta el SNC (8). Una vez ubicados en el SNC, el estadio del parásito se denomina cisticerco o quiste. Un paciente con NCC

puede presentar uno o varios quistes, los cuales pueden ubicarse en el parénquima cerebral o ser extraparenquimales (intraventricular, espacio subaracnoideo, entre otros). La NCC extraparenquimal puede tener un peor pronóstico debido a su gran predisposición para producir complicaciones. Si las vesículas se alojan en las cisternas pueden crecer libremente hasta adquirir un tamaño gigante (> 50mm), dando lugar a la denominada forma racemosa (9) y puede generar, entre otros síntomas, hidrocefalia o hipertensión intracraneal (10,11). Por otra parte, la NCC parenquimal puede estar sin ser detectada por meses o años, y estar relacionado con síntomas como dolor de cabeza, convulsiones y/o epilepsia (12).

I.2.1. Epidemiología de la Neurocisticercosis

La NCC es endémica en muchas zonas rurales en países de bajos recursos donde existe una crianza de cerdos no tecnificada y esto coexiste con deficientes condiciones de salubridad (13–15). La NCC es responsable de aproximadamente el 30% de casos de epilepsia en países en vías de desarrollo a nivel mundial (16). Así, se ha reportado endémica en zonas rurales del Sudeste Asiático (17,18), África Subsahariana (19–24) y Latinoamérica (7,25). Por otra parte, en países desarrollados la NCC es considerada una enfermedad emergente, cuyo número de casos han aumentado en los últimos años debido al incremento de personas provenientes de zonas endémicas (26,27). En Estados Unidos, el número de pacientes con NCC es aproximadamente entre 1300 a 5050 cada año, de los cuales más del 75 % corresponde a emigrantes (principalmente Latinos); por su parte en Europa se reporta una mayor incidencia de casos de NCC en Portugal y España,

con valores crecientes en los últimos años reportando casos no solo en inmigrantes sino también en nacidos en esos países (26,28,29).

En América Latina, principalmente en zonas rurales, la NCC es endémica; no obstante, es una enfermedad desatendida. Se estima que alrededor de 0.45 a 1.35 millones de personas padecen de epilepsia a causa de la NCC (30). La mayor parte de los estudios de prevalencia/incidencia de NCC en América Latina se ha desarrollado en grupos de personas específicos como pacientes con epilepsia o con serología positiva (7,30–32). Aproximadamente, el 32.3 % de pacientes con epilepsia tienen NCC evaluados mediante TAC y 19.6 % mediante pruebas serológicas (33). Otro estudio, en una población del Ecuador, estimó una prevalencia 9.6 % de pacientes adultos con NCC evaluados mediante TAC y concluyó que los pacientes con epilepsia tenían 3 veces más posibilidad de tener NCC (34).

En el Perú existen regiones endémicas como la costa norte y la sierra central donde cerca del 40% de casos de epilepsia son por NCC (35,36). La introducción de la prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB) para el diagnóstico serológico (identificación de anticuerpos) en pacientes con NCC permitió el desarrollo de estudios poblacionales en varias zonas del Perú. Así un estudio realizado en la Selva peruana (comunidad de Maceda en Tarapoto) reportó tasas de seropositividad, es decir, presencia de una o más bandas de EITB, de 8% (37). Un estudio realizado un área hiperendémicas de teniasis/cisticercosis de la sierra peruana (comunidades de Huancayo, Junín) estimó una seroprevalencia de cisticercosis humana de 13.9%

en población general (38). Así también, un estudio desarrollado en una población adulta de una comunidad rural de la costa norte del Perú, en Tumbes, que es considerada un área endémica de cisticercosis, mostró una prevalencia de 23.1 % de NCC mediante TAC y 36.9 % mediante pruebas serológicas. Cabe resaltar que en más del 80 % de los casos positivos a serología fueron pacientes asintomáticos y presentaban únicamente lesiones inactivas (cisticercos calcificados) (39).

1.2.2. Sintomatología

La presentación clínica de la NCC es variable. Los pacientes con NCC pueden ser inicialmente asintomáticos durante varios años y luego presentar diferentes manifestaciones neurológicas inespecíficas tales como: cefalea, ataxia, confusión, convulsiones y meningismo (12,40). Varios factores influyen en las manifestaciones clínicas de la enfermedad, tales como: el número, el tamaño, la ubicación y la forma de los parásitos y la respuesta inmunitaria del huésped (41). La interacción de estos factores afectan la variabilidad de la gravedad de los síntomas los cuales pueden ir desde infecciones totalmente asintomáticas o presentar convulsión, coma y hasta la muerte (40). Las convulsiones son el síntoma más frecuente y ocurren hasta en el 75 % de los pacientes con NCC. Se reporta que las convulsiones pueden comenzar hasta 30 años después de la infección inicial (40,42,43). La sintomatología puede variar dependiendo de la ubicación de los cisticercos a nivel del SNC, por ejemplo se ha reportado que pacientes con cisticercos extraparenquimales (intraventriculares o subaracnoideos) reportan síntomas como hidrocefalia y el aumento de la presión intracraneal, que se

desarrollan en alrededor del 25 % de los casos, los que pueden manifestarse con náuseas, vómitos y papiledema (10,11,40).

Las crisis convulsivas son las manifestaciones clínicas más comunes en la NCC, las cuales ocurren en alrededor del 78.8 % de pacientes con NCC (44). Las convulsiones son poco frecuentes en individuos con solo quistes viables, muy frecuentes en casos con quistes en degeneración, y persisten en el 50% o más de los pacientes después de que los quistes se han resuelto (cuando el proceso inflamatorio cesa y la mayoría de los restos del quiste se reabsorben) (6,45). La epilepsia ocurre principalmente en pacientes con cisticercos cerebrales parenquimales (**Figura 2**) y en muchos casos representa el único síntoma de la enfermedad. Las convulsiones, que son uno de los síntomas más importantes de la epilepsia, son en su mayoría de tipo parcial; no obstante, algunas de las convulsiones pueden presentar generalización secundaria (46).

Las personas con NCC parenquimatosa viable pueden permanecer asintomáticos por periodos prolongados de tiempo (meses o años), luego de lo cual el parásito pierde la capacidad de evadir a la respuesta inmune del hospedero; y en consecuencia, se inicia un proceso inflamatorio alrededor del quiste, lo que finalmente conduce a la degeneración y muerte del parásito (47,48). Algunos cisticercos desaparecen o se resuelven, es decir que el proceso inflamatorio desaparece y los restos de parásito se reabsorben (45,48). Mientras que otros se convierten en calcificaciones residuales (**Figura 3**). Se ha reportado que aproximadamente 20 % a 30 % de pacientes con NCC de lesión única y 40 % de

pacientes con lesiones múltiples, terminan en cicatriz calcificada bien definida que se observa fácilmente en la TAC (49). Estas calcificaciones residuales pueden convertirse en focos epileptogénicas y eventualmente desarrollar edema perilesional (48).

Los mecanismos que involucran el desarrollo de crisis epileptogénicas en pacientes con NCC parenquimal no están aún establecidos; sin embargo, parecen estar relacionados a la activación de la respuesta inmune contra el cisticerco y el desarrollo de inflamación perilesional (48). Por otra parte, el tratamiento antiparasitario puede desencadenar una inflamación aguda a nivel del tejido nervioso; por lo cual debe ir acompañado de tratamiento antiepiléptico y antiinflamatorio (12).

Existen otras manifestaciones clínicas menos frecuentes en la NCC tales como: déficit neurológico focal (aproximadamente 15% de los casos), déficit cognitivo (5%) y/o el incremento en la presión intracraneal (12%) (44). En pacientes con NCC extraparenquimal los cisticercos tienen localización subaracnoidea o ventricular, generalmente en la base del cerebro o en la fisura de Silvio y pueden alcanzar un gran tamaño (**Figura 2**) (50,51). En estos pacientes, el desarrollo de crisis epilépticas es menos frecuente, mientras que el desarrollo de hidrocefalia e hipertensión intracraneal es más común debido al efecto en masa que ocasionan y al bloqueo del flujo de líquido cefalorraquídeo (51,52). Por esta razón, algunos casos con NCC extraparenquimal requieren intervención quirúrgica.

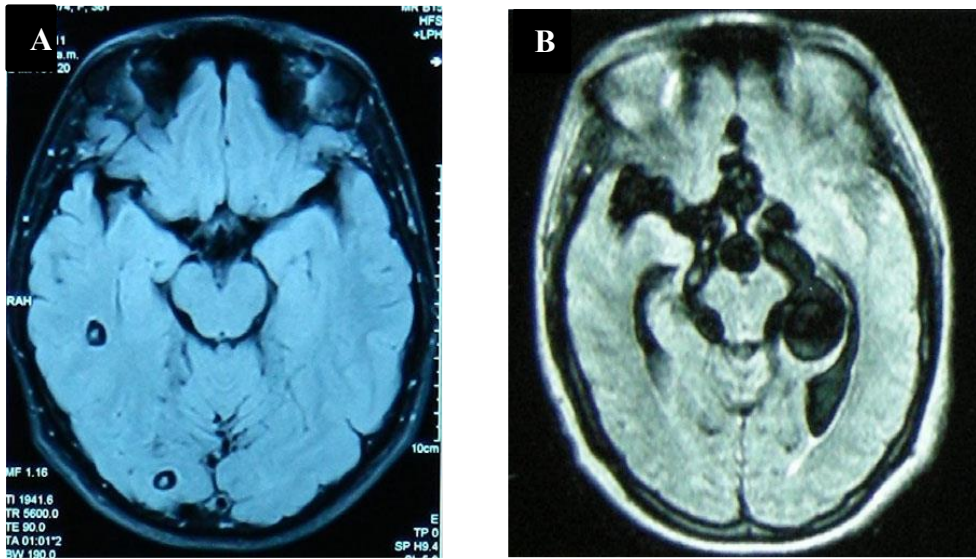


Figura 2. NCC parenquimal (A) y NCC extraparenquimal (B) observadas mediante RM sin contraste. Imagen obtenida del artículo “*Pathogenesis of Taenia solium taeniasis and cysticercosis*” publicado Gonzales et al. DOI: 10.1111/pim.12307

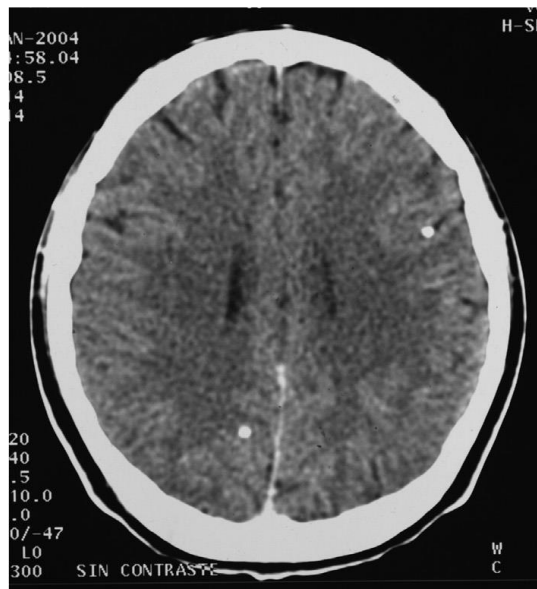


Figura 3. NCC calcificada observada (dos lesiones que se observan con círculos blancos) mediante TAC sin contraste. Imagen obtenida del artículo “*Neurocysticercosis*” publicado García et al. DOI: 10.1016/j.ncl.2018.07.003

1.2.3. Inmunopatología de la Neurocisticercosis

Los mecanismos patogénicos en la NCC son variables y dependen de la ubicación del parásito (dentro o fuera del parénquima nervioso), su volumen y la respuesta inflamatoria del huésped; asimismo esto se relaciona a la etapa evolutiva del parásito (viabilidad) (53). En la NCC, los cisticercos se establecen en el SNC, sobreviven durante un periodo extremadamente variable (desde meses a muchos años) y finalmente se resuelven mediante un proceso involutivo reabsorbiéndose o dejando una cicatriz calcificada (53).

Los cisticercos viables utilizan múltiples mecanismos activos de evasión de la respuesta inmune (6). Dentro de los mecanismos descritos se reporta la secreción de moléculas capaces de bloquear el sistema del complemento, afectar la respuesta celular, aumentar las células T reguladoras, degradar las inmunoglobulinas atacantes (proteasas que escinden inmunoglobulinas, la proteasa inhibidores y antioxidantes, factores inmunosupresores y otras moléculas como paramiosina, proteoglicanos sulfatados, prostaglandina E₂, taeniaestatina y neuropéptidos como la sustancia P y la somatostatina) (6,54) o incluso enmascararse cubriéndose con inmunoglobulinas del huésped (53,55).

Los quistes parenquimales viables, eventualmente degeneran y se resuelven, ya sea por involución natural o debido al tratamiento antiparasitario (56,57). Los parásitos muertos se resuelven por completo generalmente, o dejan una cicatriz calcificada (6,58). La muerte del parásito implica inflamación perilesional y se asocia frecuentemente con la aparición o exacerbación de síntomas neurológicos (57).

Mediante análisis de imágenes, algunos autores consideran que un quiste degenerado presenta cambios en la apariencia del líquido quístico. Así, reportan que la ausencia de señal de contenido líquido (hipodensa mediante TAC o hiperintenso en T2 mediante RM) son marcadores de degeneración parasitaria (59); por lo que, los quistes que muestran contenido líquido se consideran quistes viables (con o sin inflamación) y la ausencia de contenido líquido representaría a un quiste en degeneración (59).

La respuesta inflamatoria del hospedero usualmente asocia a sintomatología neurológica. La respuesta inflamatoria periquística o edema perilesional, ya sea alrededor de quistes viables o calcificados, se asocia a la aparición o exacerbación de convulsiones y otros síntomas. En pacientes sintomáticos, es frecuente encontrar edema perilesional y realce de contraste alrededor de al menos uno de los quistes. En pacientes con NCC calcificada, es más frecuente encontrar edema perilesional que inflamación luego de un evento convulsivo, algunos investigadores consideran al edema alrededor del quiste calificado como una respuesta inmunitaria episódica a los antígenos del parásito que permanecen en la cicatriz calcificada (6,34,60) .

Los quistes extraparenquimales, por su ubicación, ejercen una sintomatología y respuesta inmune distinta en el paciente. Estos se localizan en los ventrículos cerebrales o en los espacios subaracnoideos. Los quistes intraventriculares (especialmente los del 3° y 4° ventrículo) pueden causar hidrocefalia o pueden causar síntomas debido a la compresión directa del tronco encefálico. Respecto a su tamaño pueden crecer hasta ampliamente (> de 1 cm) debido a que tienen más

espacio y menos presión del tejido circundante. Es importante discernir si los quistes están adheridos a la pared o flotan libremente, lo cual se relaciona también a la inflamación circundante. El grado de inflamación puede ser importante para la resección quirúrgica (neuroendoscópica), dado que los quistes extraparenquimales con inflamación circundante pueden ser adherentes, difíciles de extirpar y propensos a sangrar (6,51,52). Por su parte, los quistes subaracnoideos se ubican generalmente en las fisuras de Silvio, las cisternas basales y los espacios interhemisféricos, los cuales tienden a formar grandes agregados (quistes o grupos de quistes “gigantes”) (6,51,52).

1.2.3.1. Inflamación y factores del hospedero

Además de la ubicación y viabilidad parasitaria, existen algunos factores del huésped que pueden influir en la respuesta inmune del mismo, que en consecuencia pueden afectar la inmunopatología de la NCC y viabilidad del parásito. El sexo y la edad del paciente son variables que pueden afectar la respuesta inmune frente a la infección parasitaria ocasionada por el cisticerco de *Taenia solium* e influir en el estado de viabilidad del parásito.

Un estudio reportó que en pacientes con NCC, las mujeres más frecuentemente presentaron inflamación en el LCR y un nivel de recuento de leucocitos en el LCR significativamente mayor en comparación con los hombres (61). Estas observaciones se encuentran en línea con lo descrito en estudios previos en los que los factores sexuales se han asociado con la intensidad de la respuesta inflamatoria contra el parásito, posiblemente promovida por los niveles de esteroides sexuales

femeninos (62–65). De esta forma, se considera que el sexo es un factor de riesgo que influye en la gravedad de la respuesta inflamatoria dentro del parénquima cerebral a una enfermedad parasitaria (62). Por lo tanto, hay indicios de que el género puede estar involucrado en la patogénesis de la NCC, pero se necesitan más estudios para confirmar estos hallazgos.

La edad también es un factor que influye en la respuesta inmune y está relacionada a la madurez del sistema inmune. Se ha descrito que la edad participa en la heterogeneidad de la sintomatología clínica en pacientes con NCC sintomática. Así, se observó que las lesiones múltiples y los cisticercos ventriculares múltiples se presentaron en mayor frecuencia en pacientes de mayor edad sin un aumento de la severidad de los síntomas clínicos(61).

Un estudio reportó que la intensidad de la respuesta inflamatoria disminuye alrededor de los cincuenta años, lo cual estaría relacionado no solo a la edad sino también al género; dado que pasado los 50 años, las mujeres entran en etapa menopáusicas y el nivel hormonal cambia hacia a un perfil más androgénico, según hipotetizan algunos investigadores(62). Estudios en otras parasitosis como esquistosomiasis reportan que la edad tienen un efecto inverso en la susceptibilidad a la infección y la resistencia con enfermedades graves (66,67).

1.2.3. Agente causal: Cisticerco de *Taenia solium*

La descripción del cisticerco de *Taenia solium* estará enfocada en su estructura histológica y las glicoproteínas que contiene, y que han sido utilizadas para el diagnóstico de NCC, las cuales serán evaluadas en la presente investigación.

1.2.3.1 Estructura del cisticerco

Los cisticercos de *Taenia solium* son vesículas translúcidas llenas de líquido que miden entre 1 a 3.5 cm, con un escólex invaginado y son generalmente de forma oval (68,69) (**Figura 4**). A nivel histológico, están conformados por una membrana o pared quística, un espacio vesicular conteniendo líquido y un escólex que tiene cuatro ventosas y un rostelo armado con dos filas de ganchos (69) (**Figura 4**).

La membrana en su parte más externa (tegumento), presenta unas proyecciones denominadas microtrichias (**Figura 5**). Por debajo de las microtrichias se encuentra la membrana basal y el parénquima de la membrana. La zona del parénquima contiene fibras musculares circulares y longitudinales, células responsables de la formación de corpúsculos calcáreos, células del parénquima, células del tegumento, células flama, conductos excretores y gránulos de glucógeno (68).

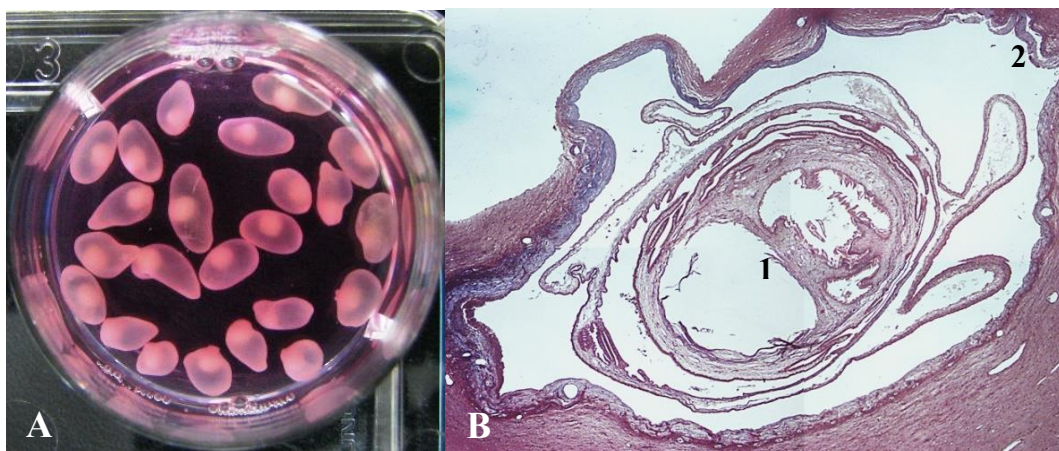


Figura 4. Cisticerco de *Taenia solium*. **Figura A.** Cisticercos en solución salina obtenidos de músculo de cerdo naturalmente infectado. Vista de un pocillo de una placa de 6 pocillos. **Figura B.** Estructura histológica de un cisticerco; 1: escólex, 2: membrana. Tinción H-E, 40X. Imágenes proporcionadas por el Laboratorio de Inmunopatología Experimental (LIPE) de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

El cisticerco viable, in vitro, muestra movimientos lentos y continuos de contracción y relajación, gracias a la doble capa de fibras musculares, ubicadas justo debajo de la superficie del tegumento descritas anteriormente(69). Cuando el cisticerco es expuesto a la tripsina o la bilis, las larvas evaginan y emerge el escólex del canal espiral. Se presume que, in vivo, el proceso de evaginación libera el escólex en el duodeno alentando su unión a la pared duodenal del huésped definitivo (el ser humano).

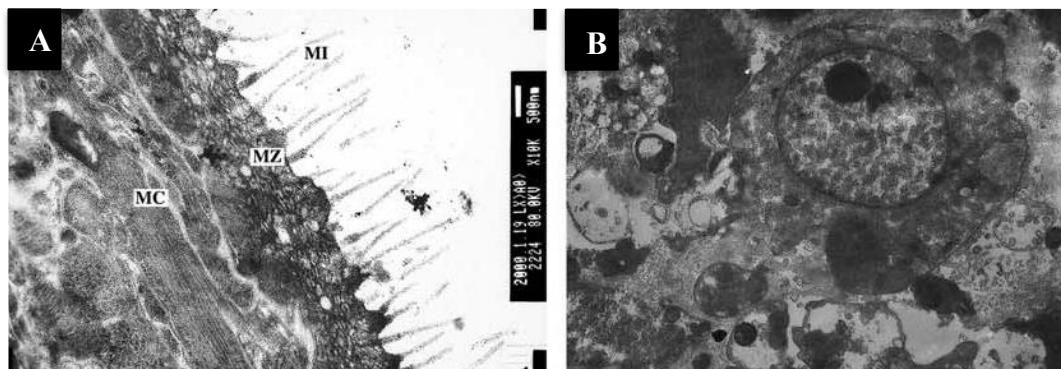


Figura 5. Estructura del cisticerco de *Taenia solium*. **Figura A.** MI: microtrichias, MZ: zona de la matriz, MC: fibras musculares, 10000X. **Figura B.** Se muestran células del parénquima, 6000X. Imagen obtenida del artículo “*Morphological*

Changes to Early Stage Taenia solium Cysticerci Following Oxfendazole Treatment” publicado Liu et al. DOI: 10.1016/s1090-0233(02)00124-7

La superficie tegumentaria es utilizada por el parásito para tomar nutrientes de los tejidos intersticiales del huésped (70,71). Por lo tanto, es necesaria una superficie tegumentaria intacta para su supervivencia, dado que los parásitos son acelómicos y no tienen sistema digestivo (69).

El tegumento del cisticerco está cubierto por un glicocáliz estructurado (69). La glicocáliz es sensible a la acción de la tripsina a concentraciones bajas con lo cual las microtrichas colapsan y se aglutinan (Ver **Figura 5**). Se ha reportado que el glicocáliz está compuesto por glicoproteínas, que son reconocidas por sueros de pacientes con NCC y han sido purificadas y utilizadas para el diagnóstico (72,73). La detección de anticuerpos en suero contra la etapa larvaria (cisticercosis) se utiliza ampliamente como ayuda en el diagnóstico de NCC y ha demostrado ser útil en estudios epidemiológicos de NCC en áreas endémicas (74,75); no obstante, estos anticuerpos no parecen tener un papel relevante en la protección o destrucción de cisticercos establecidos a causa de los diversos mecanismos de evasión que han desarrollado los metacéstodos contra células o moléculas inmunes (69).

1.2.3.2. Glicoproteínas del cisticerco de *Taenia solium*

Se han caracterizado y evaluado diversas glicoproteínas de los cisticercos de *Taenia solium*, y de otras tenías, para su uso en el inmunodiagnóstico de la NCC y/o el desarrollo de vacunas sintéticas o recombinantes contra la cisticercosis (76).

Las glicoproteínas más ampliamente utilizadas, particularmente para el diagnóstico de NCC, son aquellas que se obtienen de un extracto parcialmente purificado de cisticercos de *Taenia solium*. Específicamente, la fracción de glicoproteínas con afinidad a la lectina de lenteja (LLGP, por sus siglas en inglés). Estas se emplean en el diagnóstico de la NCC mediante la prueba de EITB (73), esta prueba se describirá en detalle más adelante en la sección I.3 diagnóstico de la NCC.

Las glicoproteínas con afinidad a la lectina de lentejas se separan en 7 bandas antigénicas denominadas GP50, GP39-42, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13, llamados así por su naturaleza glicoproteicas (GP) y su respectivo peso molecular en kDa (73). Estas glicoproteínas pertenecen a 3 familias: familia GP50, familia T24/42 y familia 8 kDa(77). A partir de esta fracción glicoproteica se han caracterizado varias glicoproteínas de *Taenia solium* con el objetivo de producir sintética o recombinantemente polipéptidos que sirvan para el diagnóstico, mediante pruebas rápidas, que no dependan de tener el material biológico (cisticercos) para su obtención (78).

Los antígenos 8 kDa es una familia de glicoproteínas antigénicas que ha sido caracterizada y clonada. Hancock et al. informaron que los miembros de la gran familia de antígenos denominados 8 kDa incluyen a las glicoproteínas LLGP que migran a 14, 18 y 21 kDa, los cuales son componentes de las bandas de proteínas encontradas a 24 y 39–42 kDa (79). Los antígenos de 8 kDa son las proteínas de diagnóstico que se observan a 14, 18 y 21 kDa en el Western blot y también se encuentran en las bandas de 24 y 39 a 42 kDa (79). Los investigadores informaron

la identificación de genes de 18 proteínas maduras únicas, de las cuales 9 fueron sintetizadas químicamente y evaluadas en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) frente a muestras de suero de pacientes con cisticercosis reactiva a los antígenos 8 kDa de LLGP en western blot, sueros de pacientes con otras infecciones parasitarias y sueros controles sanos. Las 9 proteínas sintetizadas fueron: Ts18, Ts18 var1, Ts18 var3, Ts18 var4, Ts18 var6, TsRS2 var1, Ts14, Ts18 var8 y TsRS1. Uno de los antígenos identificados (TsRS1) mostró ser 100 sensible y 100 % específico (79).

Posteriormente, Hancock et al. caracterizaron y clonaron la glicoproteína GP50. La GP50 es una proteína de membrana glicosilada que se encuentra anclada al glucolípidido glicosilfosfatidilinositol (GPI, por sus siglas en inglés). La clonación de esta proteína mostró un clon genómico de 3193 nucleótidos de longitud, que tiene al menos 12 exones y 11 intrones (80). La capacidad antigénica de la GP50 depende de su estructura secundaria y terciaria (correcta formación de enlaces disulfuro) y no de la estructura primaria; por lo que la estructura secundaria y terciaria contiene todos los epítomos reconocidos durante la respuesta inmune frente a la infección con cisticercos de *Taenia solium*. Tanto la proteína nativa (purificada de cisticercos) como la proteína recombinante mostraron ser antigénicas frente a sueros de pacientes con NCC y no frente a pacientes con teniasis (80). La sensibilidad de la proteína GP50 recombinante fue de 90 % para detectar suero de pacientes con cisticercosis. Hancock et al. indicaron que 1 de las 10 muestras evaluadas, todas reactivas a GP50 nativa, no fue reactiva con la GP50 recombinante. Por lo tanto, sugieren que los restos de carbohidratos de GP50, así como el anclaje a GPI, pueden

desempeñar un papel en la antigenicidad de esta glicoproteína, tomando en cuenta otros estudios que evidencia que los glicanos contribuyen a la antigenicidad de las proteínas (80). Así también, se mostraron que la GP50 recombinante fue 100 % específica cuando se enfrentó a suero de pacientes con otras infecciones como *Taenia saginata* y el género estrechamente relacionado, *Echinococcus* (80). En términos generales las GP50 ha mostrado una reactividad entre 53 % al 84% de las muestras de suero de infección (73,81,82).

Por otro lado, la proteína T24 es una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia de tetraspanina, cuyo dominio extracelular, fue expresado recombinantemente en *Escherichia coli* (83). Migra en una posición correspondiente a 24 kDa y como homodímero en 42 kDa en LLGP-EITB (83). Tanto la forma nativa como la fracción recombinante (rT24H) presentan en su estructura secundaria los enlaces disulfuro necesarios para su reconocimiento por los anticuerpos (83). La proteína es una de las implicados en el establecimiento de la etapa larvaria y que también se expresan en gran medida en diversos estudios (84). La utilidad de evaluar la proteína T24 o su forma recombinante, se ha observado también en la evaluación cualitativa de las bandas positivas en LLGP-EITB.

Greene et al. describieron la caracterización de dos glicoproteínas de 14 y 18 kDa. Ellos mostraron que, si bien estas subunidades de 14 y 18 kDa comparten una homología de secuencia de aminoácidos, su migración diferencial en un gel de poliacrilamida muestra que son entidades claramente diferentes. Esto debido a diferencias en las longitudes de la cadena de aminoácidos y/o diferencias en las

modificaciones postraduccionales. Asimismo, señalaron que estas subunidades conservadas se combinan para eventualmente crear estructuras multiméricas que difieren en masa molecular que varía en tamaño de 20 a 50 kDa. Ambas subunidades mostraron reactividad contra sueros de pacientes con NCC (78). Posteriormente, se sintetizaron polipéptidos sintéticos (sTS14 y sTS18) a partir de la secuencia de aminoácidos de estas subunidades de 14 y 18 kDa, de los cuales la sTS14 mostró ser reactiva frente a sueros de pacientes con NCC sin reacción cruzada frente a otras infecciones parasitarias (85).

Otros investigadores han sintetizado antígenos de *Taenia solium* a partir de una librería genética, identificando tres antígenos denominados Ts8B1, Ts8B2 y Ts8B3 los cuales guardan homología en un 75 % con el antígeno CyDA y 50% con antígenos de la familia de 8kDa de *Taenia solium*. Específicamente, el antígeno Ts8B2 presentó la característica de ser un antígeno de E/S y tuvo una sensibilidad del 96.8 % y una especificidad del 93.1 % en la detección de NCC activa (86).

1.3. Diagnóstico de la Neurocisticercosis

Históricamente, la NCC se diagnosticaba mediante la autopsia del paciente (87). Actualmente, se cuentan con dos técnicas que permiten el diagnóstico, estas son: los estudios de imágenes a través de la RM y la TAC; y el inmunodiagnóstico basado en la prueba de EITB que utiliza una mezcla de antígenos parcialmente purificados (87). A continuación, se describirán las técnicas para el diagnóstico de

la NCC con especial énfasis en el diagnóstico de infección viable, que corresponde con el objetivo de la presente investigación.

1.3.1. Neuroimágenes: diagnóstico de infección viable

El término "viable" se utiliza para describir a las larvas que están vivas y activas, lo que significa que pueden seguir creciendo y causar daños en el cuerpo. Cuando las larvas mueren o se calcifican, se habla de neurocisticercosis inactiva (88). En la NCC, se considera infección viable cuando existe uno o más cisticercos viables en el SNC y puede ser diagnosticada mediante una combinación de pruebas de diagnóstico, como la tomografía computarizada (TC) y el resonancia magnética (RM) (12).

Mediante la RM un cisticerco viable se puede observar como una lesión hipointensa en T1 e hiperintensa en T2 con una apariencia quística. Según el estado de maduración del cisticerco, la imagen puede variar. Por ejemplo, un cisticerco viable joven puede tener una pared fina y regular, mientras que uno más antiguo puede tener una pared gruesa y calcificada. Asimismo, la RM puede proporcionar información adicional sobre la respuesta inflamatoria del cuerpo a la presencia del cisticerco, como la presencia de edema, reacción inflamatoria o efectos de masa en los tejidos circundantes. La resonancia magnética es considerada el método de elección para el diagnóstico de la NCC viable debido a su alta sensibilidad y especificidad para la detección de lesiones quísticas en el sistema nervioso central (46).

El diagnóstico de NCC viable ocurre generalmente en pacientes sintomáticos que acuden al hospital. Esto contrasta con lo que ocurre en la población general, en donde el mayor porcentaje de casos con NCC son asintomáticos y presentan lesiones inactivas (34,39). El diagnóstico de NCC viable en pacientes hospitalarios permite que reciban el mejor tratamiento mediante el uso de esquemas con antiparasitarios altamente eficaces como albendazol y praziquantel y un manejo clínico apropiado de los síntomas mediante el uso de antiinflamatorios y antiepilépticos (6,59,89). El tratamiento antiparasitario induce la muerte y resolución del cisticerco, lo que a su vez permite mejorar la evolución clínica del paciente(59). El diagnóstico de viabilidad en NCC humana en entornos hospitalarios se basa principalmente en los hallazgos de neuroimágenes en combinación con los resultados de pruebas serológicas (90,91).

Tanto la RM como TAC proporcionan evidencia objetiva sobre la presencia de cisticercos en el SNC, su localización, número, fase de desarrollo y el grado de respuesta inflamatoria alrededor (12,91) (**Figura 6 y 7**). La RM es más sensible para el diagnóstico de NCC viable (tanto en infecciones parenquimales como extraparenquimales), ya que permite visualizar las lesiones en diferentes planos, mientras que la TAC es más sensible para detectar lesiones cerebrales calcificadas y su sensibilidad en infecciones viables es menor que la RM (6,91). El diagnóstico de viabilidad en NCC, tomando en cuenta solo los resultados de hallazgos imagenológicos, es definitivo cuando las neuroimágenes indican la presencia de un cisticerco con su escólex invaginado(12,92).

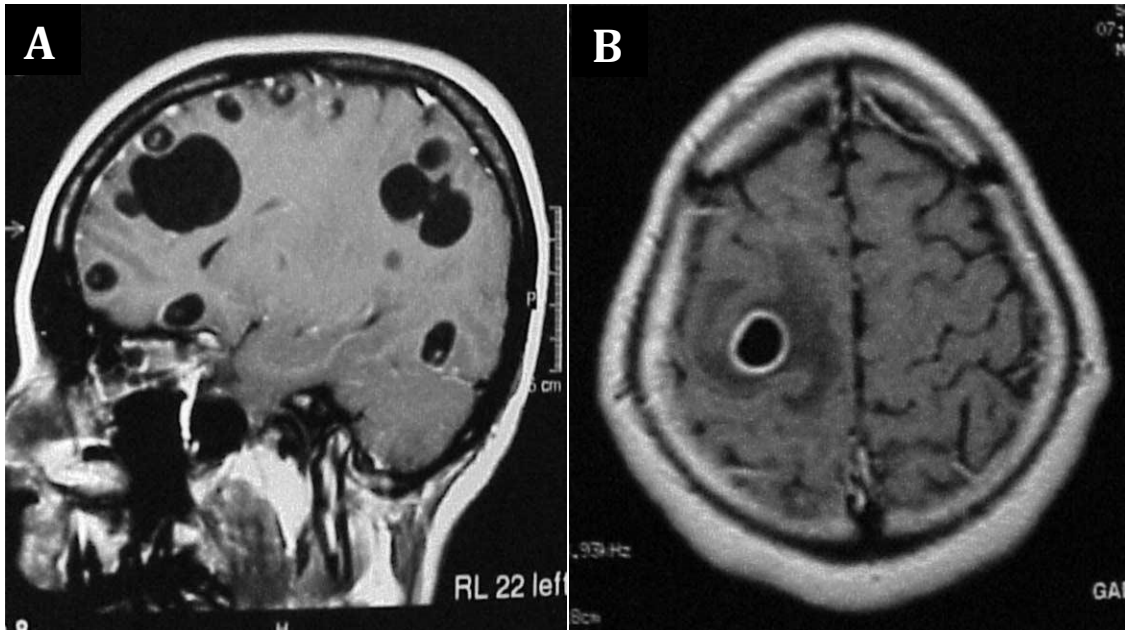


Figura 6. Hallazgos de neuroimágenes en NCC. (A, B) visualización de cisticercos viables en resonancia magnética. Imagen obtenida del artículo “*Imaging findings in neurocysticercosis*” publicado Garcia et al. DOI: 10.1016/s0001-706x(03)00057-3

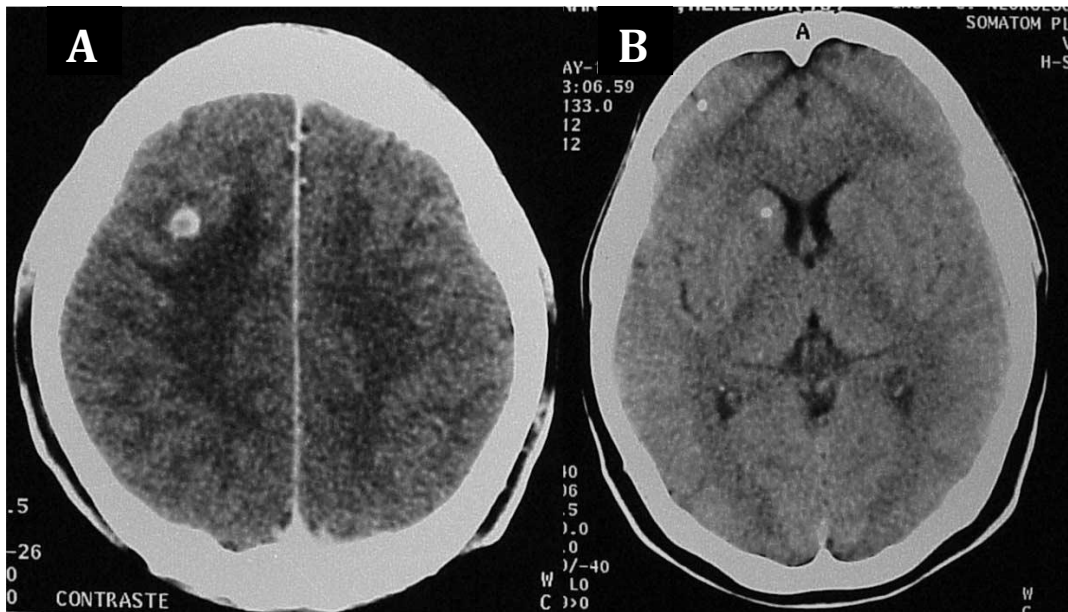


Figura 7. Hallazgos de neuroimágenes en NCC. (A, B) visualización de cisticercos viables en tomografía axial computarizada. Imagen obtenida del artículo “*Imaging findings in neurocysticercosis*” publicado Garcia et al. DOI: 10.1016/s0001-706x(03)00057-3

Por otro lado, las neuroimágenes también tienen limitaciones. En algunas ocasiones las neuroimágenes no siempre pueden diferenciar NCC de otras lesiones en el SNC y, en algunos casos, las lesiones de NCC pueden pasar desapercibidas por la TAC o la RM. Cuando los hallazgos de neuroimágenes (TAC o RM) no son concluyentes o no se cuentan con técnicas precisas para medir viabilidad como la RM, éstas requieren confirmación mediante pruebas serológicas, como la EITB, las cuales proporcionan información adicional sobre la viabilidad del parásito (93) y pueden apoyar a los hallazgos de neuroimágenes para determinar la opción de tratamiento adecuado en el paciente(6,94). Sin embargo, es importante señalar que ante la ausencia de neuroimágenes, los resultados serológicos no pueden dictaminar la decisión sobre el manejo terapéutico del paciente (95).

1.3.2. Pruebas serológicas: generalidades y utilidad para el diagnóstico de infección viable

Las pruebas serológicas se basan en la detección de anticuerpos en suero por diferentes metodologías. En relación a la vida media de estos anticuerpos, puede ser variable considerablemente, dependiendo de factores como la intensidad de la infección, la respuesta inmune del individuo y se ha administrado tratamiento antiparasitario (87,96). En pacientes con NCC, algunas personas con infecciones

que involucran múltiples cisticercos pueden tener anticuerpos persistentemente detectables en LLGP-EITB por años después de un tratamiento antiparasitario exitoso, mientras que otros pueden volverse sero-negativos después de aproximadamente 9 meses (87). Los anticuerpos contra los antígenos de 8 kDa son los primeros en desaparecer; en segundo lugar, los anticuerpos contra GP24 y GP42-39 (87). Los anticuerpos contra GP50 son los más persistentes. En términos generales, la detección de anticuerpos resulta útil como indicador de que un individuo ha sido infectado por un parásito específico. Un resultado positivo en alguien no expuesto previamente al parásito antes de un viaje reciente a una zona endémica puede interpretarse una probable infección reciente. Sin embargo, en una persona nativa de un área donde el parásito es endémico puede mostrar sólo una infección pasada no relacionada con el estado clínico actual (96). Además, aproximadamente el 40 % de los resultados positivos en una zona endémica son por anticuerpos transitorios, que se vuelven indetectables al cabo de un año (97). En general, la detección de anticuerpos contra enfermedades parasitarias indica sólo una infección en algún momento indeterminado y no necesariamente una infección aguda o actual. Los niveles de anticuerpos contra los parásitos disminuyen lentamente una vez que el paciente se cura de la infección; aunque, generalmente permanecen al menos entre 6 meses y muchos años, dependiendo del parásito infectante y, por lo tanto, generalmente no son indicadores útiles para determinar una curación exitosa; sino más bien son útiles para el diagnóstico.

Electro Inmuno transferencia Blot (EITB): La EITB es el ensayo preferencia para detección de anticuerpos en NCC. El EITB detecta bandas de anticuerpos dirigidos contra siete glicoproteínas del cisticerco de *Taenia solium* purificadas con lentil-lectina y separadas según su peso molecular mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (73). El EITB ha sido utilizada en estudios serológicos de NCC debido a su alta sensibilidad y especificidad para un resultado positivo a 1 o más bandas (98% y 100%, respectivamente) y para pacientes con 2 o más cisticercos, por lo cual se prefiere como herramienta complementaria a los hallazgos de neuroimágenes (73,98). Actualmente, el ensayo de EITB es reconocido por la Organización Panamericana de la Salud como el método inmunológico de elección para el diagnóstico de NCC (99).

Cabe señalar que, la EITB no es la única prueba serológica diseñada para detectar anticuerpos, existen también formatos comerciales de inmunoabsorbancia ligada a enzima (ELISA). No obstante las pruebas de ELISA utilizan antígenos de detección menos purificados en comparación con la EITB, lo que resulta en una menor sensibilidad y en un alto porcentaje de falsos positivos debido a la reacción cruzada con otros cestodos como *Echinococcus granulosus* y *Hymenolepis nana* (100).

Como se comentó previamente, el ensayo de EITB detecta anticuerpos contra siete antígenos glicoproteicos del cisticerco de *Taenia solium* obtenidos mediante purificación en electroforesis con lentil-lectina (LLGP) (73), por lo cual se le conoce también como ensayo LLGP-EITB. Las bandas de glicoproteínas en el

LLGP-EITB son denominadas en función de su peso molecular en kilodaltons como GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13 (73).

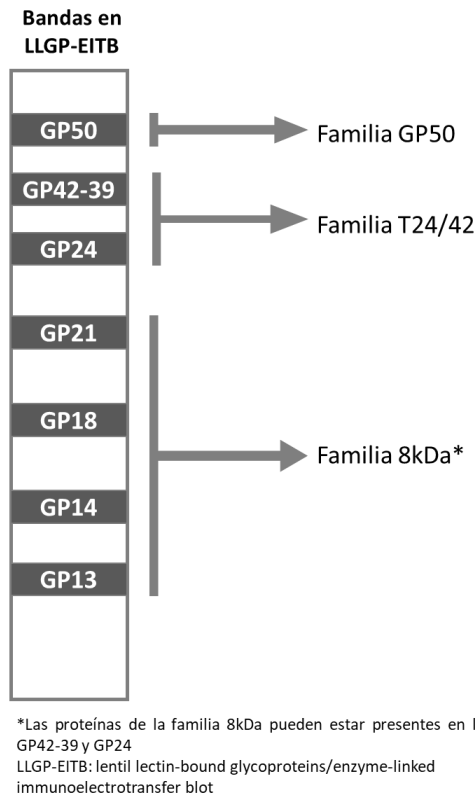


Figura 8. Bandas de glicoproteínas utilizadas en LLGP-EITB y la familia de glicoproteína a la que pertenece cada una. LLGP-EITB: lentil lectin-bound glycoproteins/enzyme-linked immunoelectrotransfer blot.

Como parte inicial del proceso para la obtención de los antígenos utilizados en LLGP-EITB, los cisticercos recolectados de cerdos se solubilizan en urea (extractos antigénicos), y la fracción unida de la cromatografía de afinidad de lectina de lenteja, es decir, las glicoproteínas purificadas de lectina de lenteja, se usa como antígeno en un ensayo de transferencia Western o inmunoelectrotransferencia ligada a enzimas. Mediante el proceso de electroforesis en geles de poliacrilamida,

las glicoproteínas antigénicas migran y se separan según su peso molecular, posteriormente estas glicoproteínas son transferidas de los geles de poliacrilamida a membranas de nitrocelulosa.

Con la obtención de las tiras de nitrocelulosa que contienen las glicoproteínas de *Taenia solium* se procede a realizar el ensayo de LLGP-EITB. Para evaluar la presencia de anticuerpos anti-*Taenia solium* en los sueros de pacientes, se realiza la incubación de las muestras con las glicoproteínas contenidas en las membranas de nitrocelulosa. La incubación se realiza durante toda la noche, y luego de un posterior paso de incubación con anti-IgG (humano) y revelado se visualizan las bandas de anticuerpos.

La visualización de 1 o más bandas de anticuerpos establece un diagnóstico positivo de cisticercosis con una sensibilidad y especificidad de 98% y 100%, respectivamente, para detectar pacientes con NCC con 2 a más cisticercos (73,98). Siendo así, una prueba cualitativa para el diagnóstico de NCC. No obstante, la prueba de EITB no solo brinda información cualitativa respecto al diagnóstico de NCC, sino también brinda información adicional que permite orientar el diagnóstico hacia la presencia de infección viable en NCC, a través de la evaluación del patrón de bandas.

La evaluación del patrón de bandas en EITB permite orientar el diagnóstico hacia una posible infección viable o no viable. Los pacientes con NCC pueden expresar de 1 a 7 bandas en EITB. Al evaluar la expresión de estas bandas, se han identificado patrones de bandas que pueden ser agrupados en 4 clases. El patrón **clase**

1 con ninguna banda positiva o GP50 positivo; **el patrón clase 2** con GP42-39 y GP24 positivos o GP50 y GP42-39 positivos o GP50, GP42-39 y GP 24 positivos; **el patrón clase 3** con GP50, GP42-39, GP24 y GP13 positivos o GP50, GP42-39, GP24, GP14 y GP13 positivos; y **el patrón clase 4** con GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP14 y GP13 positivos o GP50, GP42-39, GP24, GP21 y GP18 positivos o GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18 y GP14 positivos o GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13 positivos (93).

Estos patrones de anticuerpos en LLGP-EITB permiten orientar el diagnóstico hacia infección viable. Luego de evaluar los resultados de 548 pacientes con NCC, se informó que aproximadamente solo el 8 % de los pacientes con un patrón de anticuerpos clase 1 tenía cisticercosis viables, en contraste, el 80.0 % y 81.4 % de los pacientes con un patrón de anticuerpos clase 3 y 4, respectivamente, tenían cisticercos viables. Por otra parte, alrededor del 50% de los pacientes con un patrón de anticuerpos clase 2, presentaron cisticercos viables (93). Con estos hallazgos, evaluar los patrones de bandas puede ser de utilidad para orientar el diagnóstico hacia una posible infección viable, específicamente, para aquellos con patrones clase 1, 3 o 4. No siendo así para aquellos con un patrón clase 2.

Sobre el aspecto metodológico, la prueba de LLGP-EITB si bien es altamente sensible y específica para el diagnóstico de NCC (en general) depende del suministro de cerdos naturalmente infectados para la obtención de antígenos de cisticercos; además, la preparación del antígeno y la realización del Western blot requieren una experiencia técnica considerable. Estos aspectos pueden ser relevantes al momento de implementar la prueba para algún tipo de estudio. En ese

sentido, actualmente existen antígenos recombinantes y sintéticos que están siendo evaluados para su uso en el diagnóstico de NCC (77,101,102).

Detección de antígeno circulante: Por otra parte, además de la detección de anticuerpos (mediante LLGP-EITB) también se puede identificar antígenos del parásito en el suero de pacientes. La detección de antígeno en suero puede indicar la presencia de infección viable en el hospedador mediante el reconocimiento de productos excretorios/secretorios del parásito (87). Los resultados iniciales sobre la detección de antígeno parasitario circulante se basaron en el uso de anticuerpos policlonales, los cuales mostraron un mejor desempeño en líquido cefalorraquídeo que en suero. Posteriormente, el desarrollo de anticuerpos monoclonales mejoró sustancialmente la especificidad de los ensayos de detección de antígeno como herramienta diagnóstica para NCC con niveles aceptables de sensibilidad y especificidad (entre 82 %-86 % y 88 % -92 %, respectivamente) (103,104).

A diferencia de la detección de anticuerpos mediante LLGP-EITB cuyos niveles de sensibilidad son determinados por la respuesta inmune del hospedero, la sensibilidad de los ensayos de detección de antígeno generalmente es menor, ya que depende directamente de la cantidad de antígeno producido por el parásito (87) siendo esta menor en infecciones cerebrales únicas. Así también, la cantidad de antígeno del parásito en suero de pacientes con NCC puede reducirse rápidamente luego del tratamiento con antihelmínticos, por lo que, los ensayos de detección de antígeno son utilizados también para monitorear la eficacia posterior al tratamiento antiparasitario (105).

1.3.3. Nuevas metodologías de detección de anticuerpos (multiplex bead-based assay) en neurocisticercosis

Con el avance tecnológico en el diagnóstico de infecciones, se han desarrollado nuevas metodologías que ofrecen resultados de alta precisión y mayor sensibilidad diagnóstica, tales como el inmuno ensayo basado en perlas magnéticas (*multiplex bead-based assay* [MBA]).

La metodología MBA, que emplea el uso de perlas magnéticas como soporte, permite cuantificar de manera múltiple diferentes tipos de anticuerpos, entre otras moléculas, utilizando una serie de antígenos de detección en un solo ensayo, empleando una sola muestra de suero. Cada perla, asignada por color fluorescente, puede servir de soporte a un distinto tipo de antígeno. La detección de la perla (identificación del tipo de antígeno de detección adherido a la perla) y la concentración de anticuerpos adheridos a la superficie de la perla (identificación de la cantidad de anticuerpo específico unido al antígeno de detección) se identifican a través de reacciones fluorescentes (106). El equipo por el cual se detectan dichas fluorescencias, denominado Luminex, detecta dos tipos de emisiones fluorescentes (del centro y superficie de la perla) (107).

El multiplex bead-based assay se ha utilizado en estudios de neurocisticercosis para detectar múltiples biomarcadores en muestras de suero de pacientes con esta enfermedad (102,108,109). En un estudio publicado en el 2018, se utilizó un panel de MBA para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra *Taenia solium* y otros patógenos en 805 estudiantes de escuelas primarias de África.

Específicamente, para Neurocisticercosis, se incluyó el antígeno T24H recombinante (rT24H) acoplado al glutatión S transferasa de *Taenia solium*. En términos generales el 8.0 % de niños dio positivo a rT24H, aunque en algunas escuelas se alcanzó un porcentaje entre 25 % y el 30 %. El punto de corte para la GST-rT24H determinado para definir muestras "positivas" fue 1068 MFI-bg. La mediana de MFI-bg de todos los estudiantes para GST-rT24H fue 238 y el rango de MFI-bg fue de 31 a 21168. Los investigadores concluyeron que esta metodología (MBA) es una excelente plataforma serológica que brinda oportunidades rentables para el desarrollo de encuestas serológicas (108).

Otro estudio buscó comparar el uso de diferentes moléculas recombinantes para el diagnóstico de Neurocisticercosis en distintas plataformas: ELISA, Western Blot y MBA. Empleando tres antígenos recombinantes (T24H-his, GST-Ts8B2 y GST-T24H) los resultados mostraron que los tres fueron sensibles para detectar anticuerpos en sueros de pacientes con NCC con múltiples cisticercos viables. La proteína GST-T24H, mediante la plataforma MBA, mostró una sensibilidad del 96,1% para el diagnóstico de pacientes con dos o más quistes viables. Además, fue el antígeno con mayor sensibilidad para detectar sueros de pacientes con un solo quiste viable y solo quistes no viables calcificados. En segundo lugar se encontró el antígeno T24H-his (84.4 %) y en tercer lugar el antígeno GST-Ts8B2 (46.8 %) (102).

Un estudio buscó evaluar la precisión diagnóstica de la metodología MBA en comparación con pruebas comerciales de ELISA para el diagnóstico de NCC y

Equinococosis quística. Para el diagnóstico de NCC mediante MBA se empleó el antígeno recombinante rT24H. Los resultados mostraron una sensibilidad entre 57.94 % y 63.49 % para rT24H-MBA y entre 40.48 y 46.03 % para la prueba comercial de ELISA según el grupo de sueros analizados; las especificidades estuvieron entre 90.87 % y 91.30 % y entre 70.43 % y 76.96 %, respectivamente. Los investigadores concluyeron que los antígenos recombinantes evaluados utilizados mediante MBA mostraron una mejor precisión diagnóstica que los ensayos comerciales de ELISA, particularmente para el diagnóstico de NCC (109).

En general, el uso del multiplex bead-based assay en neurocisticercosis permite la detección simultánea de múltiples biomarcadores en suero de los pacientes, aunque también tiene el potencial de poder aplicarse a otros tipos de muestras, lo que puede ayudar en el diagnóstico y la comprensión de la patogenia de esta enfermedad.

1.4. Pacientes non neurocisticercosis con patrón de anticuerpos Clase 2

Los pacientes con patrón de anticuerpos clase 2 corresponden al segundo grupo más frecuente de pacientes con NCC, siendo aproximadamente el 27 % del total de pacientes (93). Estos pacientes presentan en LLGP-EITB de 2 a mfi positivas contra las glicoproteínas de mayor peso molecular, es decir, contra GP50, GP42-39 y GP24. Según esta distribución de bandas positivas en LLGP-EITB presentan 3 subgrupos: i-) GP42-39 y GP24, ii) GP50 y GP42-39 y iii) GP50, GP42-39 y GP24. A diferencia de otros grupos de pacientes con NCC con otros patrones de bandas en LLGP-EITB, estos pacientes tienen similar probabilidad de tener o no infección

viable, por lo cual con solo este resultado es difícil orientar el diagnóstico hacia una infección viable. Dado que la mitad de pacientes puede tener infección viable y la otra mitad no (93), se considera que este grupo podría presentar al menos dos subpoblaciones cuyas características, aun no estudiadas a profundidad, determinan una mayor o menor probabilidad de tener infección viable. Los pacientes con un patrón clase 2 pueden tener NCC intra o extraparenquimal. Aquellos pacientes con NCC extraparenquimal generalmente tienen infección viable y presentan 3 bandas. A la fecha, se ha descrito únicamente de manera cualitativa la respuesta de anticuerpos en este grupo de pacientes mediante los resultados en LLGP-EITB, no obstante, todavía no se ha evaluado su perfil de anticuerpos de manera cuantitativa.

II. HIPOTESIS GENERAL

En pacientes con neurocisticercosis que presentan un patrón de anticuerpos de clase II, la presencia de cisticercos viables está relacionada a la distribución de anticuerpos detectados mediante LLGP-EITB y otras variables demográficas; asimismo, el perfil cuantitativo de anticuerpos permite identificar con buena precisión la presencia de cisticercos viables.

III. JUSTIFICACIÓN

La NCC es una infección parasitaria del sistema nervioso central y la principal de causa de epilepsia adquirida (aproximadamente 30 %) en países de bajos recursos (110). Si bien el diagnóstico por imágenes permite visualizar las lesiones de la NCC, no siempre brindan un diagnóstico definitivo de infección viable (90,111,112) o se tienen un limitado acceso a estas tecnologías (95). Los pacientes con cisticercos viables reciben un tratamiento diferenciado que considera los posibles efectos secundarios debido a la muerte del parásito (i.e. exacerbación de síntomas neurológicos) producto del tratamiento antiparasitario (75,113,114).

Es importante mencionar que el diagnóstico de los pacientes con NCC desde el primer nivel de atención de salud es sumamente relevante para poder tratarlos oportunamente. Sin embargo, no siempre, a este nivel, se cuentan con las tecnologías de imágenes disponibles y se requieren mas bien de otros métodos complementarios como las pruebas serológicas. El presente estudio presente poder evaluar la utilidad de herramientas complementarias que apoyen el diagnóstico del paciente desde el primer de atención y escalables a otros niveles, es decir en el que se pueda hacer uso parámetros demográficos / clínicos y de pruebas serológicas cuantitativas que brinden información útil para discernir entre aquellos pacientes con NCC con o sin infección viable. Ayudando así a un diagnóstico oportuno para más pacientes, lo cual indirectamente incrementaría la equidad de salud respecto al acceso de un diagnóstico oportuno y el desarrollo de estrategias para mejora de la cobertura.

Específicamente, la presente investigación se centrará en un grupo importante de pacientes con NCC, aquellos con un patrón clase 2 quienes representan casi un tercio (27 %) del total de pacientes con NCC y en los que el diagnóstico actual para determinar infección viable mediante serología es más complicado. Los pacientes con un patrón clase 2 tienen en la prueba serológica LLGP-EITB 2 o bandas positivas (GP50, GP42-39, GP 24).

Tomado en cuenta lo descrito previamente, la presente tesis doctoral plantea estudiar la siguiente hipótesis general: “En pacientes con NCC que presentan un patrón de anticuerpos de clase 2 y que son una población heterogénea en función de la viabilidad del parásito, la presencia de cisticercos viables está relacionada a la distribución de anticuerpos detectados mediante LLGP-EITB; asimismo, el perfil cuantitativo de anticuerpos permite identificar con buena precisión la presencia de cisticercos viables”. Particularmente, en cada uno de los dos estudios de la tesis, se plantea evaluar las siguientes hipótesis de estudio:

Estudio 1: En pacientes con NCC parenquimal con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB, los pacientes que expresan tres bandas presentan una mayor frecuencia de infecciones viables que aquellos con combinaciones incluyendo solamente dos bandas. Asimismo, las variables demográficas permiten también orientar el diagnóstico.

Estudio 2: En pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB, la medición cuantitativa de anticuerpos contra 3 glicoproteínas recombinantes/sintéticas representativas permite identificar con buena precisión (>90 % de sensibilidad y >95 % de especificidad) la presencia de cisticercos viables.

IV. INVESTIGACIÓN 1: PERFIL DE ANTICUERPOS EN LLGP-EITB Y VARIABLES DEMOGRÁFICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN VIABLE EN NEUROCTISTICERCOSIS PARENQUIMAL EN PACIENTES CON UN PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE 2

4.1 Resumen

La NCC es una de las principales enfermedades parasitarias del sistema nervioso central que contribuye de manera importante a la carga de trastornos convulsivos y epilepsia, principalmente en países de bajos recursos. Determinar infección viable en pacientes con NCC es fundamental para establecer el mejor manejo terapéutico. Las neuroimágenes son la principal herramienta para determinar infección viable; sin embargo, no siempre brindan un diagnóstico definitivo; por lo cual la prueba serológica LLGP-EITB puede ser una herramienta de ayuda para complementar el diagnóstico. Los patrones de bandas en LLGP-EITB (clase 1, 2, 3 o 4) permiten discernir entre infección viable o no viable a excepción en los pacientes con un patrón clase 2, quienes tienen la misma probabilidad de tener quistes viables o no viables (50 %). Los pacientes con un patrón clase 2 representan un cuarto de la población de pacientes con NCC (27 %) y pueden tener resultados imagenológicos no definitivos de viabilidad, por lo cual necesitan herramientas que apoyen su correcto diagnóstico. En ese sentido, la identificación de diferencias en la respuesta de anticuerpos (distribución de bandas, cuantificación de anticuerpos), evaluar factores como la edad y el sexo, reportados como determinantes en la respuesta de anticuerpos diferenciada en las infecciones parasitarias, entre quienes tienen quistes

viables y no viables, podrían ser útiles para el diagnóstico diferencial de estos pacientes. **Objetivo.** Evaluar la distribución de anticuerpos en LLGP-EITB, los niveles de anticuerpos contra glicoproteínas mediante MBA y las características demográficas para discriminar infección viable en pacientes con NCC con un patrón serológico clase 2. **Materiales y Métodos.** Evaluamos la distribución de bandas en LLGP-EITB, identificando 3 subgrupos (con dos o tres bandas positivas); la cuantificación de anticuerpos contra las glicoproteínas rGP50, rT24H, sTsRS1 y sTs18var1 mediante MBA; la edad, el sexo y la procedencia; así como la viabilidad mediante imágenes, en 944 pacientes con NCC, sintomáticos, de tipo parenquimal, con un patrón serológico clase 2, que acudieron al Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN). **Resultados.** Sobre la distribución de bandas, se observó que aquellos con 3 bandas positivas (GP50, GP39-42 y GP24) tienen en mayor proporción quistes viables (39.5 % vs 25.6 %, $p=0.002$) y una mayor posibilidad (61 % más) de presentar quistes viables que aquellos con solo 2 bandas positivas. Sobre la cuantificación de anticuerpos contra glicoproteínas específicas de *Taenia solium*, la presencia de anticuerpos contra rT24H se asoció con una mayor frecuencia de quistes viables, indistintamente del tipo de distribución de bandas. El MBA-ratio establecido para rT24H fue 14.16 para todos los pacientes clase 2 evaluados, 23.94 para el subgrupo 1 (GP50+ y GP42-39+), 8.957 para el subgrupo 2 (GP42-39+ y GP24+) y 38.16 para el subgrupo 3 (GP50+, GP43-39+ y GP24+). En el total, el subgrupo 1, subgrupo 2 y subgrupo 3 tener un resultado positivo a rT24H se asoció a 2.81, 9.0, 5.0 y 2.46 veces más posibilidad de presentar quistes viables, que aquellos con resultado negativo, respectivamente. Por otro lado, tener resultados positivos contra sTs18 se asoció a una mayor probabilidad de tener

quistes viables en el total de pacientes evaluados (2.64 veces más, $p=0.005$), pero no permitió ver diferencias a nivel de subgrupos (dos o tres bandas positivas en LLGP-EITB). Por su parte, la medición de anticuerpos contra sTs14, utilizando un punto de corte de 7.333 para el MBA-ratio permitió identificar al 100% de pacientes con quistes viables del subgrupo 1. La medición de anticuerpos contra rGP50 no permitió ver diferencias respecto a la viabilidad. El análisis de clases latentes identificó dos clases o grupos de pacientes en la población evaluada por MBA, se observó que las personas que tienden a expresar anticuerpos contra casi todas las glicoproteínas evaluadas (específicamente rGP50, rT24H y sTs18) tienen 5.4 veces mayor probabilidad de tener cisticercos viables que aquellos que no (OR:5.4, IC 95 %: 1.90 a 15.36, $p=0.002$). Finalmente, se observó diferencia estadísticamente significativa entre quienes tienen quistes viables y no viables según la edad ($p=0.001$) y el sexo ($p<0.001$). Los pacientes del sexo masculino (47 % vs 29 %; razón de prevalencia [RP]=1.62) y de 40 años o menos (41 % vs 31 %; RP=1.35) tuvieron en mayor proporción quistes viables. No se observó diferencias en función del lugar de procedencia. **Conclusión.** Nuestros hallazgos sugieren que tener 3 bandas positivas, ser del sexo masculino y tener 40 años o menos son características que nos pueden ayudar a orientar el diagnóstico hacia una infección viable en NCC. Asimismo, evaluar la concentración de anticuerpos contra rT24H puede ser de utilidad para orientar el diagnóstico hacia infección viable en pacientes con patrón serológico clase 2, incluso a nivel de subgrupos (pacientes con solo 2 o 3 bandas positivas en LLGP-EITB). La medición de anticuerpos contra sTs14 puede ser de utilidad específicamente para los pacientes con 2 bandas positivas en LLGP-EITB (GP50+ y GP42-39+); y contra sTs18 en pacientes con un patrón clase 2 en general.

La positividad de 3 o más glicoproteínas evaluadas por MBA se asocia fuertemente a tener infección viable. Son necesarios futuros estudios sobre la cuantificación de anticuerpos contra glicoproteínas de *Taenia solium* para confirmar estos hallazgos.

Palabras clave: anticuerpos, glicoproteínas, serología, neurocisticercosis

4.2 Introducción

La NCC es una de las principales enfermedades parasitarias del sistema nervioso central y es la causa prevenible de epilepsia más frecuente en países donde el parásito es endémico (13,115,116), como el Perú (117). Esta enfermedad es ocasionada por el estadio larval (cisticerco) de *Taenia solium* (110). La infección comienza por la ingesta de alimentos contaminados con huevos del parásito, de los cuales eclosionan las larvas que atraviesan la pared intestinal y viajan vía el torrente sanguíneo hasta el sistema nervioso central (NCC) u otros órganos (cisticercosis), estableciéndose en ellos como cisticerco o quistes (8). La identificación de cisticercos viables es fundamental para el diagnóstico (90,118), porque determina el manejo terapéutico del paciente (75). Cuando el parásito está viable existe interacción hospedero-parásito de forma dinámica (3,47,48,60,113,119,120); por ello el tratamiento debe considerar los posibles eventos secundarios relacionados a la respuesta inflamatoria del huésped, provocada por la muerte del parásito, tales como cefalea, náuseas, vómitos, fiebre, hipertensión endocraneana, llegando incluso a convulsiones y coma (114). Por lo tanto, la identificación de pacientes con presencia de cisticercos viables es de suma importancia.

Si bien el diagnóstico por imágenes mediante resonancia magnética (RM) y/o tomografía axial computarizada (TAC) permiten la visualización de las lesiones intracraneales de la NCC (90), no siempre brinda un diagnóstico definitivo de infección viable (90,111,112). En este escenario, las pruebas serológicas pueden brindar información complementaria para el diagnóstico. Dentro de las pruebas serológicas, el estándar de referencia es el ensayo de inmunoelectrotransferencia ligado a enzimas (EITB, por sus siglas en inglés) que utiliza glicoproteínas

purificadas unidas a lectina de lenteja (LLGP por sus siglas en inglés) (90,118). La prueba de LLGP-EITB detecta anticuerpos contra glicoproteínas específicas de *Taenia solium*, expresándose de 1 a 7 bandas (GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13)(73).

Las glicoproteínas, que son utilizadas en LLGP-EITB, se encuentran estructuralmente ubicadas en la superficie del cisticerco (tegumento) en lo que se denomina la glicocálix que cubre las microtrichas del parásito y estimulan la respuesta inmune (69). Estas son purificadas de los extractos solubles de cisticercos de *t. solium* y en EITB se distribuyen en 7 bandas según sus pesos moleculares (73). Todas ellas, pertenecen a tres grandes familias de glicoproteínas, la familia GP50, la familia 42/24 y la familia 8kDa (**Figura 1**)(121). La GP50 es una glicoproteína de membrana anclada a glicosilfosfatidilinositol y su forma nativa migra a 50 kDa(80). Una evaluación preliminar de la sensibilidad de la GP50 recombinante en un ensayo de Western blot (WB) muestra que tiene una sensibilidad del 90 % para detectar muestras de suero de infección por cisticercosis que son reactivas con el componente GP50 de LLGP (80). Las glicoproteínas de la banda GP42-39 y GP24 son los antígenos más frecuentemente reconocidos por muestras de pacientes con cisticercosis procedentes de zonas de alto riesgo(73,79). Luego de purificar y caracterizar estos antígenos, se determinó la homología entre GP42-39 y GP24, dado que tenían una misma composición de aminoácidos y secuencia amino terminal (idéntica en 22 residuos evaluados) (122). Sin embargo, estas dos glicoproteínas fueron diferentes en la proporción de azúcares detectados. Se cree que esto se debe al polimorfismo en la estructura de los glicanos o al proceso postraducciona. Además se identificó una subunidad de 10 kDa al reducir GP42-

39 y GP24 (122). Se ha descrito que las proteínas de 8 kDa pueden estar presentes no solo en las bandas GP21, GP18, GP14 y GP13, sino también en las bandas GP42-39 y GP24 (79,122). Esto es importante dado que los pacientes con presencia de cisticercos viables frecuentemente expresan anticuerpos contra las glicoproteínas de la familia 8 kDa (93).

Se ha descrito que los pacientes con NCC pueden presentar diferentes patrones de bandas positivas mediante la prueba de LLGP-EITB, clasificándolos en 4 tipos: i) patrón clase 1, con ninguna banda positiva o solo GP50 positiva; ii) patrón clase 2, con las bandas GP42-39 y GP24 positivas o las bandas GP50 y GP42-39 positivas o las bandas GP50, GP42-39 y GP 24 positivas; iii) patrón clase 3, con las bandas GP50, GP42-39, GP24 y GP13 positivas o las bandas GP50, GP42-39, GP24, GP14 y GP13 positivas); y iv) patrón clase 4, con las bandas GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP14 y GP13 positivas o las bandas GP50, GP42-39, GP24, GP21 y GP18 positivas] o las bandas GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18 y GP14 positivas o las bandas GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13 positivas (93). Estos patrones están asociados con una frecuencia de cisticercos viables alta (patrón clase 3 y 4), o menor (patrón clase 1)(93), lo cual puede ser útil para orientar el diagnóstico hacia la presencia parásitos viables. No obstante, los pacientes con un patrón clase 2, tienen similar probabilidad de tener o no cisticercos viables (93). Por lo tanto, son necesarias otras evaluaciones que permitan discernir entre aquellos con infección viable y no viable en este grupo de pacientes.

Los pacientes con un patrón clase 2, representan aproximadamente un cuarto (27 %) de la población de pacientes con NCC (93). Respecto a sus características serológicas cualitativas (distribución de bandas positivas en LLGP-EITB), están

conformados por 3 subgrupos, i) subgrupo 1: banda GP42-39 y GP24, ii) subgrupo 2: banda GP50 y GP42-39 y iii) subgrupo 3: banda GP50, GP42-39 y GP24. La banda GP42-39 positiva es común a todos los subgrupos, mientras que las bandas GP50 positiva y GP24 positiva son las que diferencia a los tres subgrupos. Por otro lado, no se ha descrito que la combinaciones de bandas GP50 y GP24 positivas sea parte del patrón clase 2 (93). Por lo descrito, existen diferentes expresiones de anticuerpos (distribución de bandas positivas) en este grupo de pacientes, cuya relación con la viabilidad de la infección aún no ha sido estudiada.

Por otro lado, a nivel cuantitativo existes glicoproteínas que pueden ser útiles para la evaluación de anticuerpos en pacientes con NCC. Actualmente se encuentran disponibles glicoproteínas recombinantes o sintéticas de *Taenia solium*. Estas glicoproteínas son representativas de las familias de glicoproteínas GP50, T24/42 y/o 8kDa. Se han caracterizado y clonado las glicoproteínas GP50 y T24. La proteína recombinante de GP50 (rGp50), antigénicamente activa, expresada en el sistema de baculovirus, tiene un peso molecular de 29 kDa (80). T24 es una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia de tetraspanina, migra en 24 kDa y una porción de T24, el dominio de bucle extracelular grande, se expresó en células de *Echerichia coli*, denominándose rT24H (83). Así también, se ha sintetizado químicamente las proteínas de la familia de 8 kDa. Hancock et al señalan que estas proteínas son secretadas por el parásito viable, lo cual estaría en concordancia con que la mayoría de pacientes que expresan anticuerpos contra las proteínas de 8 kDa en LLGP-EITB presentan cisticercos viables en más del 80 % (93) Estas proteínas presentan 4 clados (ramas) (Ts18, Ts14, TsRS1 y TsR2), de los cuales se han sintetizado 9 (Ts18, Ts18var1, Ts18var3, Ts18var4, Ts18var6,

Ts18var8, TsR1, TsRS1, Ts14)(79). Sin embargo las más representativas de esta familia y que han mostrado una mejor sensibilidad y especificidad para infecciones múltiples o de un solo parásito en pacientes con NCC fueron: Ts14, Ts18var1(123–127) y TsR1(77,124).

La metodología *multiplex bead-based assay* (MBA) es la metodología de elección para la medición de anticuerpos utilizando proteínas recombinantes o sintéticas dado que se ha reportado que puede ser más sensible para detectar anticuerpos, incluso en pacientes con baja carga parasitaria (1 cisticerco viable), que otras metodologías como el ELISA, WB, *Multiantigen print*, las cuales no logran mejorar su sensibilidad para detectar infecciones únicas (77,125), como si sucede con MBA (126). Asimismo, se señala que la sensibilidad para detectar casos de pacientes con NCC con un cisticerco viable es del 92 % con MBA utilizando los antígenos recombinantes/sintéticos sTs18var1, rGP50, y rT24H (126). Es importante mencionar que esta sensibilidad se estimó en pacientes con NCC en general, no específicamente en aquellos con un patrón de anticuerpos clase 2.

Los pacientes con un patrón de anticuerpos clase 2, presentan anticuerpos contra las bandas antigénicas de glicoproteínas GP50, GP42-39 y/o GP24 en LLGP-EITB (93); por lo que sería de interés evaluar cuantitativamente estos anticuerpos contra las proteínas recombinantes rGP50, y rT24H. Tomando en cuenta que los antígenos de la familia 8 kDa pueden estar presentes también en las bandas de antígenos GP 42-39 y/o GP24 (118) se consideró importante evaluar anticuerpos contra glicoproteínas de la familia de 8 kDa, tales como Ts14 y Ts18.

Por otro lado, la edad y el sexo juegan un rol importante, tanto en aspectos inmunológicos como en la interacción hospedero-parásito (113,128–132), y la procedencia del paciente puede estar relacionada con el grado de exposición al parásito, dependiendo si este procede de una zona endémica o no de teniasis/cisticercosis. En ese sentido, la evaluación de estas variables podría servir para explorar su asociación con la viabilidad del parásito en pacientes con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de la distribución de las bandas en LLGP-EITB y las características demográficas para discriminar infección viable en pacientes con NCC parenquimal con un patrón serológico clase 2; asimismo se exploró los niveles de anticuerpos contra glicoproteínas mediante MBA según la distribución de bandas.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1. Diseño de estudio y participantes

Este estudio es de tipo transversal analítico. Se incluyeron pacientes sintomáticos que acudieron a la Unidad de Cisticercosis del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN) de Lima para su diagnóstico inicial de NCC bajo la sospecha de tener esta infección debido a la presencia de síntomas compatibles con NCC como convulsiones, dolor de cabeza crónico, entre otros durante el período 1996 a 2017.

Los pacientes fueron inicialmente elegibles si tuvieron un patrón de anticuerpos clase 2 en la evaluación serológica inicial con LLGP-EITB. Asimismo, si tuvieron

una RM y TAC tomadas en un período de tiempo no mayor de 3 meses antes o después de su primera muestra de suero con la finalidad de evitar un efecto de sesgo en la evolución de la enfermedad entre los resultados de neuroimágenes y la serología.

Los pacientes fueron posteriormente incluidos en el estudio si sus neuroimágenes presentaron lesiones compatibles con NCC parenquimal luego de la revisión por neurólogos de la Unidad de Cisticercosis. Se incluyeron todos los tipos de resultados de NCC parenquimal, tales como: cisticercos viables (lesiones redondeadas pequeñas alrededor de 10 milímetros de diámetro, llenas de contenido en su interior de señal hiperintensa en secuencias T2 de RM, con o sin edema periquístico y en algunos casos con un nódulo interno correspondiente al escólex invaginado), o calcificaciones residuales (lesiones nodulares pequeñas con señal hiperdensa en la TAC, con o sin edema perilesional, **Figura 2B**), cisticercos en fase degenerativa (lesiones nodulares con ausencia de señal de contenido líquido en la RM y marcada reacción inflamatoria periquística). También se incluyeron a pacientes cuyas neuroimágenes fueron consideradas negativas durante la revisión. Se excluyeron pacientes con lesiones compatibles con NCC extraparenquimal (cisticercos subaracnoideos y/o ventriculares) debido a que se espera que todos estos cisticercos sean viables.

Todos los pacientes contaron con datos demográficos, datos de los hallazgos de neuroimágenes (TAC y RM) y resultados de LLGP-EITB descritos en la base de datos de la Unidad de Cisticercosis de INCN. Una vez identificado a la población de estudio (n=994), se seleccionaron a 99 pacientes para la evaluación cuantitativa de anticuerpos mediante MBA. Estos 99 pacientes estuvieron conformados por 33

pacientes de cada tipo de distribución de bandas; es decir 33 pacientes del subgrupo 1 (GP50 y GP42-39 positivas) (estos 33 correspondieron al total de este subgrupo), 33 pacientes del subgrupo 2 (GP39-42 y GP24 positivas) y 33 pacientes con 3 bandas positivas. Los pacientes evaluados por MBA fueron seleccionados al azar considerando que cada subgrupo tuviera características similares en función de la edad y el sexo. Estos resultados fueron utilizados para hacer el análisis comparativo del perfil de anticuerpos cuantitativo y la viabilidad del parásito determinada por neuroimágenes.

4.3.2 Procedimientos de estudio

4.3.2.1 Muestras

Los pacientes que acuden por primera vez a la Unidad de Cisticercosis del INCN son evaluados clínica y serológicamente (LLGP-EITB). Para dicha evaluación serológica se extrae una muestra de sangre (9ml) en tubo sin anticoagulante a fin de separar el suero por centrifugación (15 minutos a 3500 rpm) y ser almacenado a -20° hasta su procesamiento. En el presente estudio, para la evaluación de anticuerpos por MBA, se utilizaron los sueros de los pacientes que brindaron su consentimiento informado para uso posterior de dichas muestras y cumplieron con los criterios de inclusión.

4.3.2.2 Cuantificación de anticuerpos mediante MBA

Se emplearon 4 antígenos, 2 recombinantes: rGP50, rT24H y 2 sintéticos: sTs14 y sTs18, acoplados a unas perlas magnéticas o *beads*. El método fue estandarizado en

el Laboratorio de Neurocisticercosis – LID 115, que pertenece a los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Brevemente, el procedimiento consistió en diluir la muestra de suero 1:100 en PBS Tween 0.3% Leche 5%. A una microplaca de inmunoensayos de color oscuro para proteger a los *beads* de la luz, se le adicionó 50 ul de la muestra de suero previamente diluida y 50 ul de la solución con los *beads* magnéticos acoplados, se incubó por 30 minutos en movimiento constante a temperatura ambiente. Posterior a ello, se realizaron 4 lavados con PBS Tween 0.3% y se adicionó 50 ul de conjugado (anti human IgG con biotina diluido 1:200 en PBS Tween 0.3% Leche 5%) e incubó por 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se adicionó 50 ul de Estreptavidina-Ficoeritrina diluido 1:250 en PBS Tween 0.3% Leche 5% y se incubó por otros 30 minutos. Finalmente se lavó con PBS Tween 0.3%. Los *beads* se suspendieron en 125 ul de PBS BSA 1% Azida de sodio 0.05% y se leyó en el equipo MagPix (Luminex corp.TM). El resultado fue la intensidad de fluorescencia media (MFI, por sus siglas en inglés). El MFI obtenido para cada muestra y antígeno en MBA se transformó en un ratio serológico (MBA-ratio) de la siguiente manera(133) :

MFI muestra

$$MBA-ratio = \frac{MFI\ muestra}{(Promedio\ de\ MFI\ control\ negativo^*) \times 3\ DS\ control\ negativo}$$

**Sueros de 8 voluntarios sanos, sin exposición ni sospecha de NCC, teniasis u otras parasitosis relacionadas*

DS: Desviación estándar

Asimismo, además de los sueros de los pacientes (**Tabla 3**), se utilizaron controles negativos (pool de sueros negativos de pacientes sanos) y sueros positivos a fin de garantizar la repetibilidad inter e intra test MBA.

IV.3.2.3. Determinación cualitativa de anticuerpos mediante la prueba de *Lentil Lectin-bound Glycoproteins - Enzyme-linked Immunolectro Transfer Blot* (LLGP-EITB)

Se realizó el ensayo de LLGP-EITB siguiendo la metodología previamente descrita por Tsang et al (73). La lectura de los resultados (identificación de las bandas positivas) fue realizada por un técnico de laboratorio y posteriormente confirmadas por el supervisor de laboratorio. Los resultados de LLGP- EITB fueron reportados como número de bandas (0 a 7). Se seleccionaron aquellos pacientes con un patrón de bandas clase 2, según lo reportado por Arroyo et al (93). Es decir, aquellos con 2 o 3 bandas positivas a GP50, GP43-39 y/o GP24.

4.3.2.4 Determinación de la viabilidad (Neuroimágenes)

La viabilidad del parásito (cisticerco ubicado en el parénquima cerebral) se determinó en función de los resultados de imágenes de la TAC y RM. Un parásito viable (o cisticerco viable) fue definido como aquel que conserva su estructura (membrana, líquido vesicular y escólex), se observa de forma oval, con presencia de líquido en el interior y el escólex (48).

Las lecturas de neuroimágenes fueron realizadas por un radiólogo independiente. Estos resultados fueron posteriormente confirmados por un segundo neurólogo del

grupo de investigación. A partir de las lecturas de neuroimágenes los casos fueron clasificados como con NCC viable (al menos un cisticerco viable, independientemente de la presencia o ausencia de calcificaciones o granulomas) o con NCC no viable (únicamente presencia de lesiones calcificadas con o sin granulomas).

4.3.3 Análisis estadístico

Los resultados de la distribución de bandas, el nivel cuantitativo de anticuerpos (MBA), la información demográfica y los resultados de viabilidad por neuroimágenes fueron presentados mediante estadísticos descriptivos.

Se evaluó la asociación entre la distribución de bandas en LLGP-EITB y la viabilidad a través un análisis de regresión bivariado y múltiple utilizando modelos lineales generalizables (GLM, por sus siglas en inglés), empleando con una distribución de distribución binomial y una función de enlace “log” para estimar razones de prevalencia crudas (RP) y ajustadas (RPa) por edad, sexo, procedencia y número de quistes.

Por otra parte, para evaluar el rendimiento de detección de anticuerpos contra rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 para discernir entre infección viable y no viable, se establecieron puntos de corte (cut-off) de los valores MBA-ratio para cada antígeno. Los valores del MBA-ratio se utilizaron para construir curvas de características operativas del receptor (ROC) para determinar los valores de corte, la sensibilidad y la especificidad para cada antígeno en el MBA. Posterior a ello se determinó la proporción de pacientes con un resultado positivo (igual o mayor al cutt-off establecido) o negativo (menor al cut-off establecido) para cada antígeno en

evaluación. Se comparó el desempeño de cada antígeno para detectar pacientes con quistes viables. Esta comparación se realizó en el total de pacientes evaluados (n=94) y por subgrupos según la distribución de bandas en LLGP-EITB, empleando un análisis de regresión bivariado y múltiple utilizando modelos lineales generalizables (GLM, por sus siglas en inglés), empleando con una distribución de distribución binomial y una función de enlace “log” para estimar razones de prevalencia crudas (RP). De manera exploratoria se evaluó el perfil de anticuerpos contra los antígenos recombinantes/sintéticos de manera conjunta, mediante un análisis de clases latentes (ACL) para poder identificar y describir grupos no observados (clases latentes) en base de los datos de las variables observadas (resultados de cada glicoproteína-MBA). Posteriormente se evaluó la relación entre cada una de las clases latentes identificadas y la probabilidad de tener NCC viable, mediante un análisis de regresión logística. Finalmente, se evaluó la relación entre la edad, el sexo del paciente con el estado de viabilidad del parásito a través de modelos de regresión logística. La significación estadística se fijó en $p < 0.05$. Los datos se analizaron con STATA (Versión 17) y EPIDAT (Versión 3.1).

4.3.4 Consideraciones éticas

Cada uno de los procedimientos descritos en el presente estudio han sido previamente revisados y aprobados por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (número de aprobación 554-48-22). En el presente estudio se utilizó información anónima de los pacientes que previamente firmaron un consentimiento informado autorizando el uso de sus sueros y/o de la información.

4.4 Resultados

Entre 1996 a 2017, acudieron a la Unidad de Cisticercosis del INCN para el diagnóstico inicial de NCC un total de 1006 pacientes sintomáticos que presentaron un patrón de anticuerpos clase 2. De ellos 944 cumplieron con los criterios de elegibilidad. Los 62 pacientes excluidos presentaron NCC extraparenquimal.

Las características de los pacientes incluidos en el estudio son presentadas en la **Tabla 1**. Los 944 pacientes incluidos comprendieron niños y adultos con una mediana de edad de 32.7 años (rango: 3-98). La mayor parte (65.7 %) fueron pacientes de 40 años o menos. La proporción entre hombres y mujeres fue similar en la población de estudio. En mayor porcentaje procedieron de zonas endémicas (66.1 %); es decir de cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

Respecto a la distribución de bandas en LLGP-EITB, el 86.3 % presentó 3 bandas positivas (GP50, GP39-42 y GP24), el 10.2 % presentó dos bandas positivas de tipo GP39-42 y GP24 y el 3.5 % presentó dos bandas positivas de tipo GP 50 y GP39-42. Por otra parte, el 74.3 % presentó un resultado positivo en neuroimágenes evaluado por TAC y RM. Sobre la viabilidad del parásito, el 37.6 % (355 de 944 pacientes) de la población de estudio presentó al menos 1 quiste parenquimal viable (**Tabla 1**). De estos pacientes con infección viable, el 50.7 % presentó 1 solo quiste viables, el 41.7 % de 2 a 10 quistes viables y el 7.6 % de 11 a más quistes viables (**Tabla 2**).

Tabla 1. Comparación de distribución de características de la población

	n=944
Edad, mediana (rango)	32.7 (3-98)
>40 años, n (%)	324 (34.3)
≤40 años, n (%)	620 (65.7)
Sexo	
Femenino, n (%)	490 (51.9)
Masculino, n (%)	454 (48.1)
Lugar de procedencia*	
No endémico, n (%)	320 (33.9)
Endémico, n (%)	624 (66.1)
Banda GP 50	
Ausente, n (%)	96 (10.2)
Presente, n (%)	848 (89.8)
Banda GP39-42	
Ausente, n (%)	0
Presente, n (%)	944 (100)
Banda GP 24	
Ausente, n (%)	33 (3.5)
Presente, n (%)	911 (96.5)
Distribución de bandas	
GP 50 y GP39-42, n (%)	33 (3.5)
GP39-42 y GP24, n (%)	96 (10.2)
GP50, GP39-42 y GP24, n (%)	815 (86.3)
Número de bandas	
2 bandas, n (%)	129 (13.7)
3 bandas, n (%)	815 (86.3)
Resultado Imágenes	
Negativa, n (%)	183 (19.4)
Positiva, n (%)	761 (80.6)
2N° de quistes, mediana (rango)	2.0 (0 a 131)
Viabilidad del parásito**	
No viable, n (%)	589 (62.4)
Viable, n (%)	355 (37.6)

n: frecuencia absoluta, %: porcentaje de columna

*Se consideraron regiones no endémicas a Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica. Las regiones endémicas fueron cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

**Los no viables incluyen a aquellos con imágenes negativas

Tabla 2. Número de quistes viables

	n=355
1 quiste viable, n (%)	180 (50.7)
2 a 10 quistes viables, n (%)	148 (41.7)
11 a más quistes viables, n (%)	27 (7.6)

Los pacientes evaluados por MBA presentaron características similares entre los subgrupos evaluados según la distribución de bandas (2 o tres bandas positivas en LLGP-EITB) en términos de edad (medianas de edad: 27.7, 29.6 y 29.8) y proporciones de pacientes varones (57.6 %, 51.5 % y 48.5 %). El 69.7 % y 72.7 % de aquellos con 2 bandas positivas procedieron de zonas endémicas; por su parte el 60.6 % de los pacientes con 3 bandas positivas procedieron de zonas endémicas. La proporción de pacientes con quistes viables fue mayor en aquellos con 3 bandas (39.4 %), seguidos de aquellos con 2 bandas de tipo GP39-42 y GP24 (21.2 %) y de tipo GP50 y GP39-42 (18.2 %) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Características de los pacientes evaluados por MBA

	Subgrupo 1 GP50 y GP39-42 positivo (n=33)	Subgrupo 2 GP39-42 y GP24 positivo (n=33)	Subgrupo 3 GP50, GP39-42 y GP24 positivo (n=33)
Edad, mediana (rango)	27.7 (6 a 95)	29.6 (5 a 92)	29.8 (9 a 96)
Sexo, n (%)			
Femenino	14 (42.4)	16 (48.5)	17 (51.5)
Masculino	19 (57.6)	17 (51.5)	16 (48.5)
Lugar de procedencia*			
No endémico, n (%)	10 (30.3)	9 (27.3)	13 (39.4)
Endémico, n (%)	23 (69.7)	24 (72.7)	20 (60.6)

Resultado Imágenes

Negativa, n (%)	11 (33.3)	9 (27.3)	7 (21.2)
Positiva, n (%)	22 (66.7)	24 (72.7)	26 (78.8)

Viabilidad del parásito**

No viable, n (%)	27 (81.8)	26 (78.8)	20 (60.6)
Viable, n (%)	6 (18.2)	7 (21.2)	13 (39.4)

*Se consideraron regiones no endémicas a Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica. Las regiones endémicas fueron cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

**Los no viables incluyen a aquellos con imágenes negativas

Se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa entre quienes tienen quistes viables y no viables en términos de la edad ($p=0.001$) y el sexo ($p<0.001$). En términos de la edad, aquellos pacientes de 40 años o menos presentaron en mayor proporción presencia de quistes viables que aquellos mayores de 40 años (41 % vs 31 %) (**Tabla 4**). Así también, se observó que las personas evaluadas de 40 años o menos tienen 35 % más probabilidad de presentar quistes viables ($p=0.002$) (**Tabla 5**). En función del sexo, se observó que los pacientes del sexo masculino tienen en mayor proporción quistes viables que aquellos del sexo femenino (47 % vs 29 %) (**Tabla 4**). Asimismo, los pacientes varones tuvieron 62 % más posibilidad de presentar quistes viables ($p<0.001$) (**Tabla 5**). No se observó diferencias en función del lugar de procedencia.

Tabla 4. Análisis bivariado

Características	Resultado de imágenes, n=944		p ^ε
	No viable [¥]	Viable	
	(n=589) n (%)	(n=355) n (%)	
Edad, OR (IC 95 %)	0.99 (0.098 - 0.99)		0.002 †

Edad			0.001
>40 años	225 (69.4)	99 (30.6)	
≤40 años	364 (58.7)	256 (41.3)	
Sexo			<0.001
Femenino	348 (71.0)	142 (29.0)	
Masculino	241 (53.1)	213 (46.9)	
Lugar de procedencia			0.344
No endémica	193 (60.3)	127 (39.7)	
Endémica	396 (63.5)	228 (36.5)	
Nº de quistes, mediana (rango)	1 (0 a 99)	3 (1 a 131)	<0.001¶
Banda GP 50			0.043
Ausente	69 (71.9)	27 (28.1)	
Presente	520 (61.3)	328 (38.7)	
Banda GP39-42			NE
Ausente	0	0	
Presente	589 (100)	355 (100)	
Banda GP 24			0.019
Ausente	27 (81.8)	6 (18.2)	
Presente	562 (61.7)	349 (38.3)	
Distribución de bandas			0.006
GP 50 y GP39-42	27 (81.8)	6 (18.2)	
GP39-42 y GP24	69 (71.9)	27 (28.1)	
Banda GP50, GP39-42 y GP24	493 (60.5)	322 (39.5)	
Número de bandas			0.002
2 bandas	96 (74.4)	33 (25.6)	
3 bandas	493 (60.5)	322 (39.5)	

Se consideraron regiones no endémicas a Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica. Las regiones endémicas fueron cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

¥ Incluye a los pacientes con resultado negativo en imágenes

€ prueba de Chi-2

† prueba de regresión logística

¶ prueba de U de Man Whitney

p: valor p con la prueba de Pearson

NE: no estimable

Tomando en cuenta la presencia o ausencia de las bandas GP50 o GP24, se observó que la presencia de la banda GP24 es 2.11 veces más frecuente y estadísticamente significativo ($R=2.11$, $p=0.045$) en aquellos con quistes viables que en aquellos con

quistes no viables; por su parte la presencia de la banda GP50 no pareció ser distinta entres quienes tienen o no quistes viables (**Tabla 5**). Sobre la distribución de bandas (2 o 3 bandas) se observó que aquellos con 3 bandas positivas en LLGP-EITB tienen en mayor proporción pacientes con quistes viables que aquellos con solo 2 bandas positivas (39.5 % vs 25.6 %) (**Tabla 4**), mostrándose una asociación entre el número de bandas y la viabilidad del parásito evaluada por neuroimágenes ($p=0.002$). La posibilidad de presentar quistes viables en aquellos con 3 bandas positivas (GP50, GP39-42 y GP24) es 61 % mayor que en aquellos con dos bandas (GP50 y GP39-42 positivas o GP39-42 y GP24 positivas), ajustado por edad, sexo y lugar de procedencia (**Tabla 5**).

Por otro lado, la posibilidad de presentar quistes viables en aquellos con 2 bandas positivas de tipo GP39-42 y GP24 o de tipo GP50 y GP39-49 es de 29 % ($p=0.044$) y 54 % ($p=0.037$) menor que aquellos con 3 bandas positivas, respectivamente. En otras palabras, los pacientes con una distribución de tres bandas positivas tienen 61 % mayor probabilidad de presentar quistes viables ($p=0.002$), ajustado por edad, sexo, lugar de procedencia y número de quistes (**Tabla 5**).

Tabla 5. Asociación entre la distribución/número de bandas y la viabilidad del parásito (neuroimagen) en pacientes con neurocisticercosis con un patrón clase 2 en WB (n=944)

Características	Análisis bivariado			Regresión múltiple*		
	RP	IC 95%	p	RP	IC 95%	p
Edad						
>40 años	Ref.			Ref.		
≤40 años	1.35	1.12 a 1.63	0.002	1.34	1.12 a 1.62	0.002

Sexo						
Femenino	Ref.			Ref.		
Masculino	1.62	1.37 a 1.92	<0.001	1.63	1.38 a 1.93	<0.001
Lugar de procedencia †						
No endémica	Ref.			Ref.		
Endémica	0.92	0.78 a 1.09	0.341	0.97	0.82 a 1.14	0.678
Nº de quistes	1.006	1.002 a 1.010	0.003	1.007	1.003 a 1.010	0.001
Banda GP 50						
Ausente	Ref.					
Presente	1.38	0.99 a 1.91	0.059			
Banda GP39-42						
Ausente	Ref.					
Presente		No estimable				
Banda GP 24						
Ausente	Ref.					
Presente	2.11	1.02 a 4.38	0.045			
Distribución de bandas						
Banda GP50, GP39-42 y GP24, n (%)	Ref.					
GP50 y GP39-42, n (%)	0.46	0.22 a 0.95	0.037			
GP39-42 y GP24, n (%)	0.71	0.51 a 0.99	0.044			
Distribución de bandas-2						
2 bandas	Ref.			Ref.		
3 bandas	1.54	1.14 a 2.10	0.005	1.61	1.19 a 2.17	0.002

†Regiones NO endémicas: Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.
Regiones endémicas: cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

*Asociación entre la distribución de bandas y la viabilidad del parásito ajustado por edad, sexo, lugar de procedencia y número de quistes.

El valor p fue estimado, en todos los casos, mediante el análisis de regresión GLM con distribución binomial y enlace log.

Sobre la cuantificación de anticuerpos contra glicoproteínas específicas de *t. solium*, de los 99 pacientes seleccionados solo 94 presentaron un adecuado volumen de suero para ser evaluados por MBA. Los 5 pacientes no evaluados pertenecieron al subgrupo 1 (GP50 y GP42-39 positivos en LLGP-EITB), de este modo el subgrupo 1 presentó resultados únicamente de 28 pacientes evaluados, estos 28 pacientes correspondieron al total de pacientes del subgrupo 1 de la población de estudio (n=944).

El área bajo la curva (AUC) para cada antígeno glicoproteico utilizado en la prueba de MBA fue de 0.5214 para el antígeno rGP50, 0.6937 para rT24H, 0.5372 para sTs14 y 0.6798 para sTs18, para el total de pacientes evaluados (n=94) (**Figura 9**)

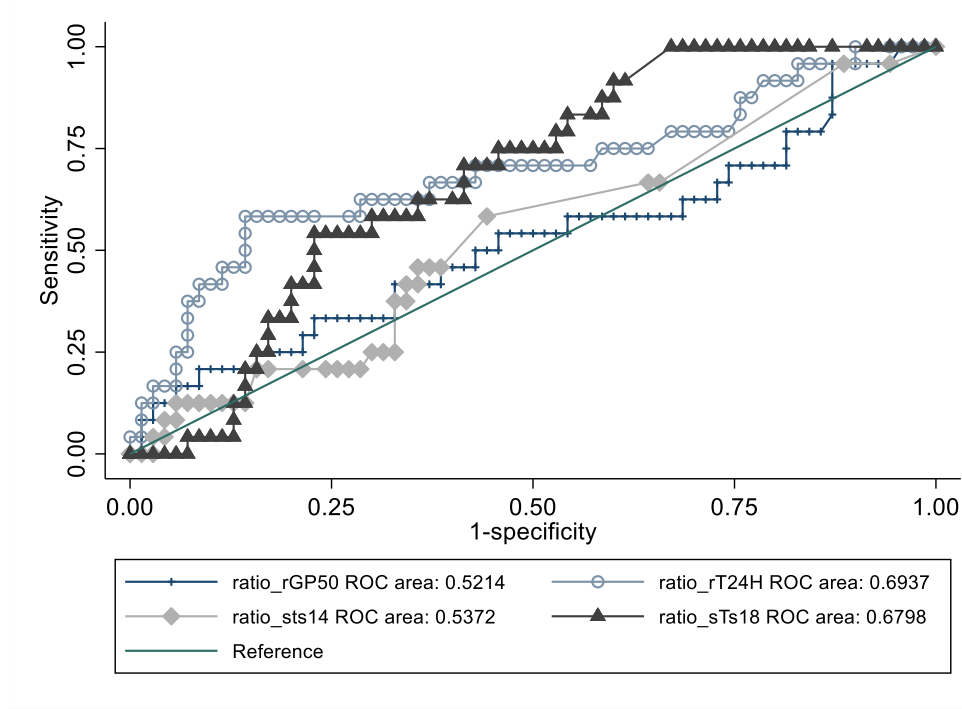


Figura 9. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en el total de pacientes evaluados por MBA (n=94)

El AUC para los antígenos rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 fueron 0.5104, 0.7083, 0.7865 y 0.6562 para el subgrupo 1 (GP50 y GP42-39 positivas en LLGP-EITB), respectivamente (**Figura 10**); 0.5027, 0.8022, 0.5934 y 0.6429 para el subgrupo 2 (GP42-39 y GP24 positivas en LLGP-EITB), respectivamente (**Figura 11**); y 0.5308, 0.6269, 0.4154 y 0.6827 para el subgrupo 3 (GP50 y GP42-39 positivas en LLGP-EITB), respectivamente (**Figura 12**).

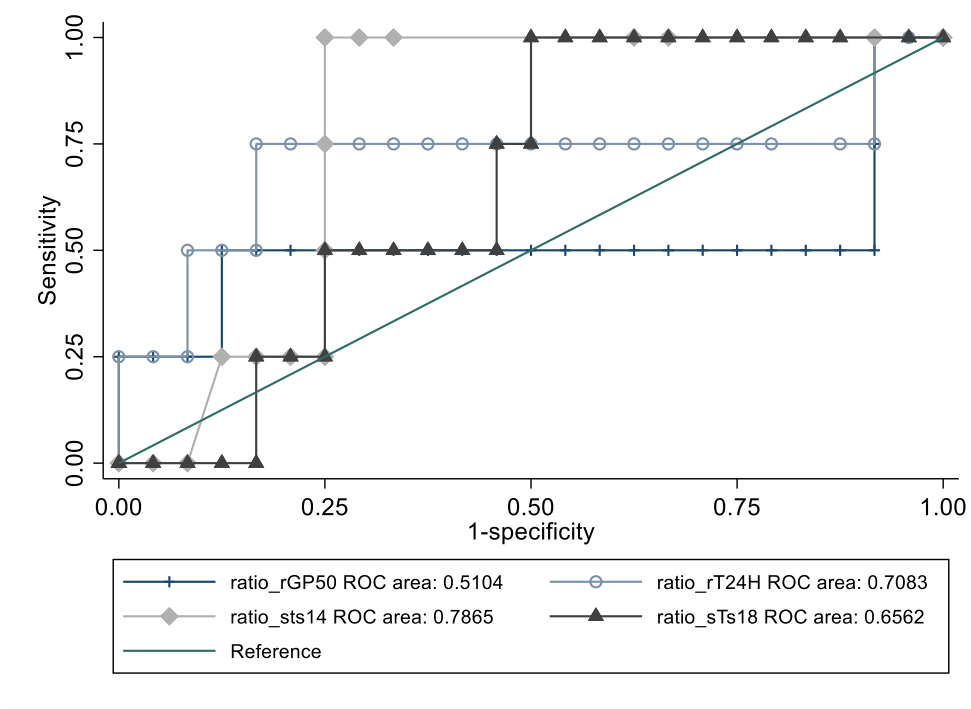


Figura 10. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 1 evaluados por MBA (n=28)

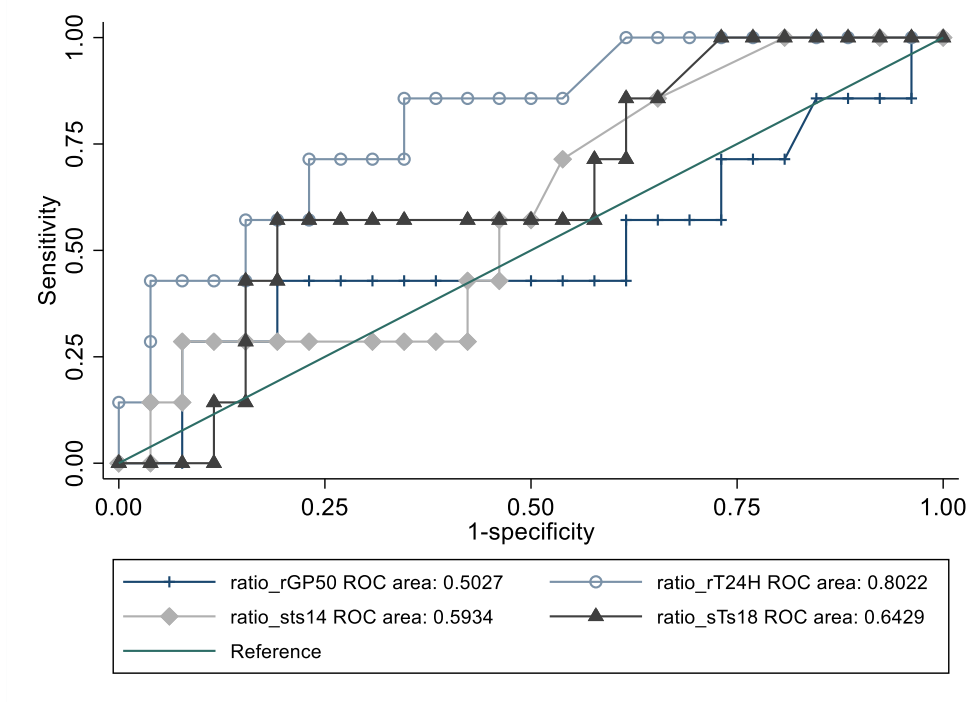


Figura 11. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 2 evaluados por MBA (n=33)

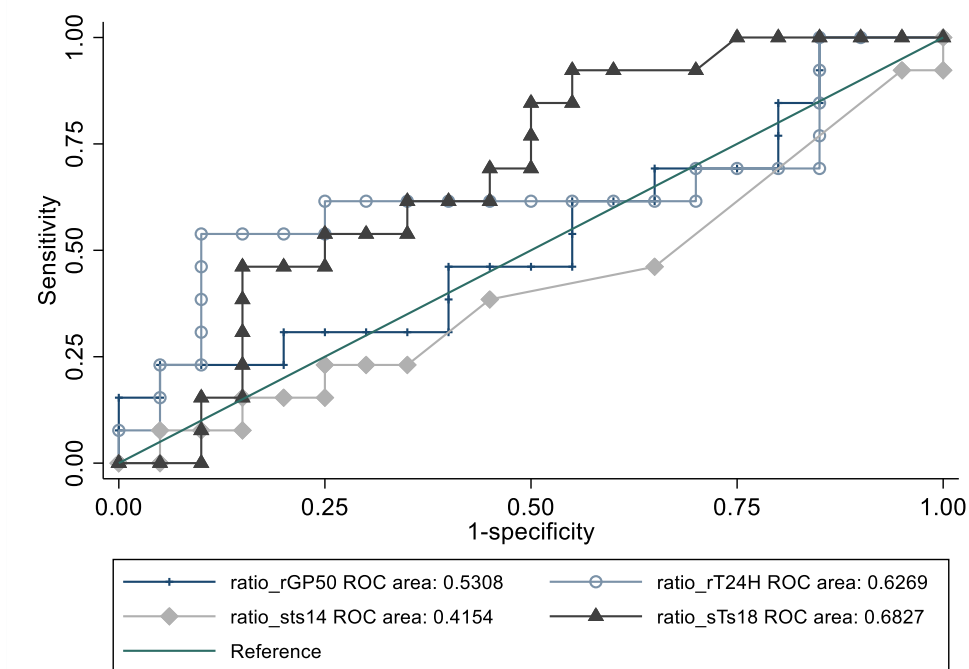


Figura 12. Gráfico de área bajo la curva (AUC) de cada antígeno en subgrupo 3 evaluados por MBA (n=33)

El valor del punto de corte óptimo del MBA-ratio para cada antígeno: rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 se estableció en 5.473, 14.16, 7.333 y 3.485 para el total de pacientes evaluados, respectivamente. Asimismo, se establecieron los puntos de corte óptimos para cada subgrupo (**Tabla 6**). La sensibilidad obtenida con esos puntos de corte fue 54.2 %, 62.5 %, 45.8 %, 54.2 %, y la especificidad obtenida fue 54.3 %, 71.4 %, 64.3 % y 77.1 %, para todos los pacientes evaluados, respectivamente.

La evaluación de anticuerpos contra rT24H mostró considerables valores de sensibilidad y especificadas para el subgrupo 1 (75 % y 83.3 %), subgrupo 2 (71.4 % y 76.9 %) y subgrupo 3 (61.5 % y 75 %). Por su parte la evaluación de anticuerpos contra sTs14, con un punto de corte de MBA ratio de 7.333 mostró una sensibilidad

del 100 % y una especificidad del 75 % para detectar infección viable en el subgrupo 1 (**Tabla 6**).

La presencia de anticuerpos contra rT24H se asoció a una mayor frecuencia de quistes viables, indistintamente del tipo de distribución de bandas. Para el total (n=94), el subgrupo 1, subgrupo 2 y subgrupo 3 tener un resultado positivo a rT24H se asoció a tener 2.81, 9.0, 5.0 y 2.46 veces más posibilidad de presentar quistes viables, que aquellos con resultado negativo, respectivamente (**Tabla 7**).

Tabla 6. Características del ensayo de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/ sintéticas de *Taenia solium* mediante MBA

Pacientes, n	Antígeno	Punto de corte (ratio)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP	VPN	LR+	LR-
Todos, n= 94	rGP50	5.473	54.2	54.3	28.9	77.6	1.18	0.84
	rT24H	14.16	62.5	71.4	42.9	84.7	2.19	0.53
	sTs14	7.333	45.8	64.3	30.6	77.6	1.28	0.84
	sTs18	3.485	54.2	77.1	44.8	83.1	2.37	0.59
Subgrupo 1*, n=28	rGP50	91.54	50	87.5	40.0	91.3	4	0.57
	rT24H	23.94	75	83.3	42.9	95.2	4.5	0.3
	sTs14	7.333	100	75	40.0	100.0	4	0
	sTs18	3.485	50	75	25.0	90.0	2	0.67
Subgrupo 2*, n=33	rGP50	7.305	42.9	80.8	37.5	84.0	2.23	0.71
	rT24H	8.957	71.4	76.9	45.5	90.9	3.09	0.37
	sTs14	8.666	57.1	53.9	25.0	82.4	1.24	0.79
	sTs18	3.757	57.1	80.8	44.4	87.5	2.97	0.53
Subgrupo 3*, n=33	rGP50	9.289	46.2	60	42.9	63.2	1.15	0.89
	rT24H	38.16	61.5	75	61.5	75.0	2.46	0.51
	sTs14	7.958	23.1	70	33.3	58.3	0.77	1.09
	sTs18	3.901	53.9	75	58.3	71.54	2.15	0.62

*Los subgrupos son en función de las bandas positivas en LLGP-EITB. Subgrupo 1: GP50+ y GP42-39+; Subgrupo 2: GP42-39+ y GP24+; Subgrupo 3: GP50+, GP42-39+ y GP24+

Por otro lado, tener un resultado positivo contra sTs18, a un punto de corte del MBA-ratio de 3.485, se asoció a una mayor probabilidad de tener quistes viables en el total de pacientes evaluados (RP:2.64, $p=0.0005$), pero no permitió ver diferencias a nivel de subgrupos de dos o tres bandas (**Tabla 6**). Por su parte, la medición de anticuerpos contra sTs14, utilizando un punto de corte de 7.333 para el MBA-ratio permitió identificar al 100% de pacientes con quistes viables del subgrupo 1. La medición de anticuerpos contra rGP50 no permitió ver diferencias respecto a la viabilidad.

Tabla 7. Perfil de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas de *Taenia solium* según la viabilidad del cisticerco

		Todos, n=94							
Glicoproteína		Viable (n=24)	No viable (n=70)	OR	IC 95%	p	RP	IC 95 %	p ^s
rGP50	positivo	13	32	1.4	0.55 a 3.56	0.475	1.29	0.64 a 2.57	0.476
	negativo	11	38						
rT24H	positivo	15	20	4.17	1.57 a 11.05	0.004	2.81	1.38 a 5.73	0.005
	negativo	9	50						
sTs14	positivo	11	25	1.52	0.59 a 3.90	0.38	1.36	0.69 a 2.71	0.377
	negativo	13	45						
sTs18	positivo	13	16	3.99	1.50 a 10.60	0.006	2.64	1.35 a 5.19	0.005
	negativo	11	54						
		Subgrupo 1, n=28							
Glicoproteína		Viable (n=4)	No viable (n=24)	OR	IC 95%	p	RP	IC 95%	p ^s
rGP50	positivo	2	3	7	0.70 a 70.05	0.098	4.6	0.84 a 25.30	0.079

rT24H	negativo	2	21						
	positivo	3	4	15	1.23 a 183.63	0.034	9	1.11 a 7315	0.04
sTs14	negativo	1	20						
	positivo	4	6	NE	NE	NE	NE	NE	0.018
sTs18	negativo	0	18						
	positivo	2	6	3	0.34 a 26.19	0.32	2.5	0.42 a 14.83	0.313
	negativo	2	18						

Subgrupo 2, n=33

Glicoproteína		Viable (n=7)	No viable (n=26)	OR	IC 95%	p	RP	IC 95%	p [§]
rGP50	positivo	3	5	3.15	0.53 a 18.80	0.208	2.34	0.66 a 8.33	0.188
	negativo	4	21						
rT24H	positivo	5	6	8.33	1.28 a 54.42	0.027	5	1.15 a 21.78	0.032
	negativo	2	20						
sTs14	positivo	4	12	1.56	0.29 a 8.38	0.607	1.42	0.37 a 5.37	0.608
	negativo	3	14						
sTs18									

positivo	4	5	5.6	0.94 a 33.43	0.059	3.56	0.98 a 12.87	0.053
negativo	3	21						

Subgrupo 3, n=33									
Glicoproteína		Viable (n=13)	No viable (n=20)	OR	IC 95%	p	RP	IC 95%	p [§]
rGP50									
	positivo	6	8	1.29	0.31 a 5.27	0.727	1.16	0.50 a 2.71	0.725
	negativo	7	12						
rT24H									
	positivo	8	5	4.8	1.06 a 21.68	0.041	2.46	1.03 a 5.89	0.043
	negativo	5	15						
sTs14									
	positivo	3	6	0.7	0.14 a 3.49	0.663	0.8	0.28 a 2.26	0.674
	negativo	10	14						
sTs18									
	positivo	7	5	3.5	0.79 a 15.49	0.099	2.04	0.89 a 4.67	0.091
	negativo	6	15						

Los subgrupos son en función de las bandas positivas en LLGP-EITB. Subgrupo 1: GP50+ y GP42-39+; Subgrupo 2: GP42-39+ y GP24+; Subgrupo 3: GP50+, GP42-39+ y GP24+

NE: No Estimado

§ La estimación de la RP y valor p se realizó mediante el modelo de regresión GLM de familia binomial y link log

El perfil de anticuerpos contra las glicoproteínas recombinantes/sintéticas evaluadas de manera conjunta se evaluó a través del análisis de clases latentes. Se determinó que el mejor modelo, compuesto por dos clases, presentó el mejor ajuste de los datos evaluados (**Tabla 8**)

Tabla 8. Modelos evaluados para establecer el número de clases en el análisis de ACL

Modelo	Nº de clases	Log-Likelihood	df	AIC	BIC
A	Dos	-222.7194	9	463.4389	486.3285
B	Tres	-219.038	14	466.0760	501.6822

Los resultados mostraron que las probabilidades de tener un resultado positivo para las glicoproteínas rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 fueron de 20.4 %, 2.7 %, 27.7 % y 2.6 %, para la clase 1, respectivamente; mientras que para la clase 2 las probabilidades de tener un resultado positivo fueron 78 %, 75.2 %, 50 % y 61.8 %, respectivamente (**Tabla 9, Figura 13**).

Tabla 9. Resultados de las probabilidades predichas para cada clase

Antígeno	Clase 1		Clase 2	
	Probabilidad predicha (<i>Margin</i>)	IC 95 %	Probabilidad predicha (<i>Margin</i>)	IC 95 %
rGP50	0.2043342	0.0508122 a 0.3578562	0.7799294	0.599683 a 0.9601757
rT24H	0.0265379	-0.1056785 a 0.1587543	0.7519392	0.5311539 a 0.9727245
sTs14	0.2772084	0.1278992 a 0.4265176	0.4990863	0.3405795 a 0.6575931
sTs18	0.0263309	-0.0869036 a 0.1395654	0.6182686	0.4153172 a 0.8212201

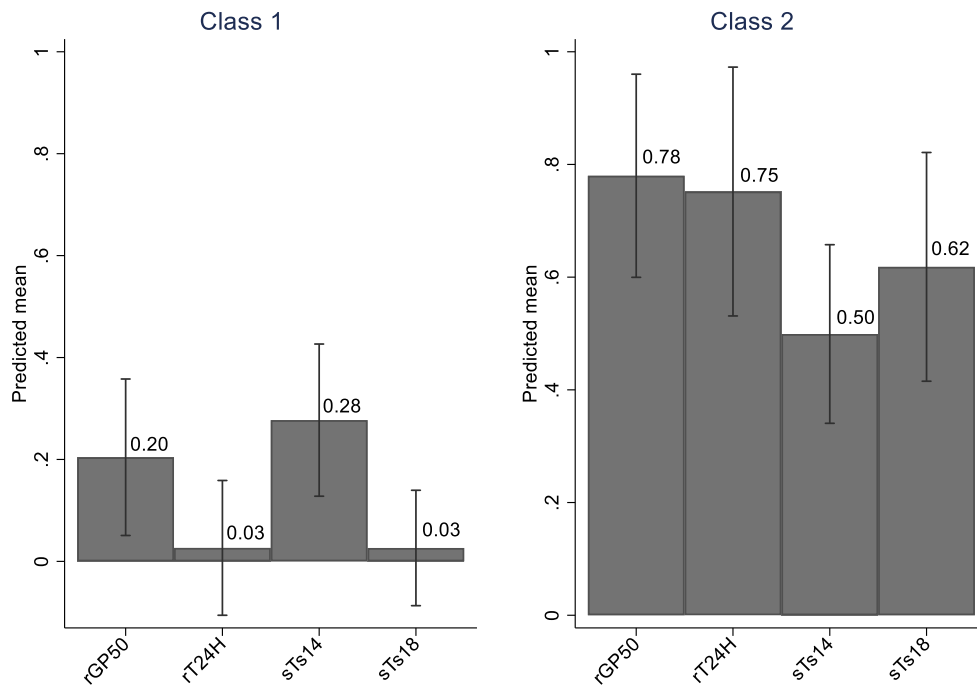


Figura 13. Gráfico de las probabilidades de tener un resultado positivo para cada una de las glicoproteínas evaluadas según cada clase.

Luego de identificar dos clases o grupos de pacientes en la población evaluada por MBA, se estimó su probabilidad de tener cisticercos viables. Se observó que las personas que tienden a expresar anticuerpos contra casi todas las glicoproteínas evaluadas (específicamente rGP50, rT24H y sTs18) tienen 5.4 veces mayor probabilidad de tener cisticercos viables que aquellos que no (OR:5.4, IC 95 %: 1.90 a 15.36, p=0.002).

4.5 Discusión

El presente estudio evaluó factores cualitativos y cuantitativos que pueden estar asociados a infección viable en pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB. Las neuroimágenes son la principal herramienta diagnóstica en el ámbito

clínico utilizadas para identificar la presencia de NCC viable que requieren tratamiento antiparasitario. Sin embargo, el diagnóstico de la NCC viable mediante neuroimágenes no es absoluto, no está disponible fácilmente en la mayoría de los hospitales, y requiere ser complementado con otras herramientas diagnósticas (6). Nuestros resultados demuestran que considerar la distribución de bandas (número de bandas positivas 2 o 3) y el perfil cuantitativo de anticuerpos permite identificar diferentes subgrupos de pacientes con alta probabilidad de infección viable.

La distribución de bandas como un factor para poder orientar el diagnóstico, en específico tener 3 bandas positivas mostró estar relacionado a la presencia de infección viable. Este hallazgo es esperable dado que la presencia de anticuerpos contra un mayor número de bandas glicoproteicas puede estar relacionado con una mayor exposición a antígenos liberados por el parásito. Esto se condice con lo reportado por Arroyo y col., quienes describen que los patrones de anticuerpos con un mayor número de bandas positivas en LLGP-EITB y con reactividad a glicoproteínas de 8 kDa (como los pacientes con patrones clase 3 o 4) se presentan en su mayoría en los pacientes con cisticercos viables (93). Otro estudio reportó que los pacientes con múltiples quistes viables expresan frecuentemente anticuerpos contra las bandas GP 50 (89 %), GP42-39 (92 %) y GP24 (90 %) en LLGP EITB (81). Por otra parte, se ha descrito que las proteínas de la familia 8 kDa pueden estar presentes no solo en las bandas GP21, GP18, GP14 y GP13 de LLGP-EITB, sino también en las bandas GP42-39 y GP24 (79,122), las cuales son positivas para la población de estudio. Esto es importante dado que los pacientes con presencia de cisticercos viables frecuentemente expresan anticuerpos contra las glicoproteínas de la familia 8 kDa (93).

Sobre la distribución de bandas, se ha descrito en estudios previos que los pacientes con un patrón clase 2 presentan 3 subgrupos en función de las bandas positivas. La banda GP42-39 positiva es común a todos los subgrupos, mientras que las bandas GP 50 positiva y GP 24 positiva son las que diferencia a los tres subgrupos. No se ha descrito que la combinaciones de bandas GP50 y GP24 positivas sea parte del patrón clase 2 (93). Al respecto, es importante mencionar que, en la práctica clínica, lo usual es que los pacientes que expresan la banda GP24 también expresen la banda GP39-42. Esto posiblemente porque ambas glicoproteínas están relacionadas y pertenecen a la misma familia de proteínas T24/42 (93,122).

El perfil cuantitativo de anticuerpos contra 4 glicoproteínas recombinantes (rGP50 y rT24H) o sintéticas (sTs14 y sTs18) permitió identificar a 3 de ellas como potenciales herramientas complementarias para discernir entre infección viable y no viable en pacientes con un patrón clase 2. En primer lugar, la evaluación de anticuerpos contra la glicoproteína rT24H mostró el mejor perfil de sensibilidad y especificidad tanto a nivel general (en todos los pacientes con un patrón clase 2 evaluados) como a nivel de subgrupos, es decir según el tipo de expresión de bandas. En todos los casos, la determinación de un resultado positivo a rT24H (considerado un MBA-ratio determinado en el estudio) se relacionó a una mayor probabilidad de tener infección viable. La proteína T24 es una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia de tetraspanina, cuyo dominio extracelular, fue expresado recombinantemente en *Echerichia coli* (83). Tanto la forma nativa como la fracción recombinante (rT24H) presentan en su estructura secundaria los enlaces disulfuro necesarios para su reconocimiento por los anticuerpos (83). La proteína rT24H es una de las implicados en el establecimiento

de la etapa larvaria y que también se expresan en gran medida en diversos estudios (84). La utilidad de evaluar la proteína T24 o su forma recombinante, se ha observado también en la evaluación cualitativa de las bandas positivas en LLGP-EITB, nuestros resultados mostraron que la presencia de la banda GP24 (que contienen a la glicoproteína T24) se asoció significativamente con la presencia de cisticercos viables.

El antígeno rT24H ha sido utilizado como molécula candidata para el diagnóstico de NCC en general. Cuando se usó en un ensayo de western blot mostró una sensibilidad de 94 % y una especificidad del 98 % para detectar pacientes con dos o más cisticercos viables (83). También ha sido evaluado en pruebas inmunocromatográficas magnéticas mostrando una sensibilidad 93,9% y una especificidad de 98,9% para detectar casos de cisticercosis humana con dos o más quistes cerebrales viables (134). La proteína rT24H recombinante fue considerada con la mejor sensibilidad y especificidad para detectar casos de NCC (134). Otro estudio que evaluó el antígeno recombinante rT24H mediante MBA reportó una sensibilidad entre 57.94 % y 63.49 % y una especificidad entre 90.87 % y 91.30 % para diagnosticar pacientes con NCC (109); además, el valor de AUC reportado para rT24H (0.783) fue similar a los reportado por nosotros (AUC: 0.6937 a 0.8022). Todos estos estudios muestran el rendimiento del uso de rT24H para el diagnóstico de pacientes con NCC en general, en nuestro estudio, el uso de rT24H mediante MBA permite, adicionalmente, poder identificar con mayor probabilidad, entre los pacientes con NCC con un patrón clase 2, a aquellos con cisticercos viables.

Respecto a la evaluación de anticuerpos contra sTs14 y sTs18, nuestros resultados muestran que los pacientes con un patrón clase 2, es decir que solo expresan bandas positivas de gran tamaño (GP50, GP42-39 y/o GP24) y no de la familia de 8 kDa en western blot, presentan anticuerpos contra antígenos de 8 kDa que posiblemente no son detectados mediante la prueba de LLGP-EITB; reafirmando lo descrito por Hancock et al y Plancarte et al quienes describen que las glicoproteínas de familia de 8 kDa pueden estar presentes en las bandas glicoproteicas de mayor tamaño como son GP42-39 o GP24 (79,122).

Además del desempeño individual de cada glicoproteína recombinante/sintéticas, descrito previamente, se observó que la evaluación de manera conjunta de estas 4 glicoproteínas provee información adicional valiosa que permite orientar el diagnóstico y discernir entre infección viable. De esta forma, se observó que los pacientes que expresan anticuerpos contra 3 o más glicoproteínas, incluyendo glicoproteínas de la familia 8 kDa, tienen mayor probabilidad de tener quistes viables. Esto se condice con reportes previos que describen que la reactividad a proteínas de 8 kDa se relaciona a la presencia de cisticercos viables (93). Particularmente en la población de estudio (patrón serológico clase 2 en LLGP-EITB) aquellos que tienen mayor probabilidad de tener quistes viables tienen resultados positivos también a glicoproteínas de mayor tamaño (rGP50 y rT24H) que representan las bandas GP50, GP42-39 y GP24.

Los pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB tienen un perfil de positividad a las bandas GP50, GP39-42 y/o GP24 pertenecientes a la familia GP50 (80) y T24/42 (83), sin reactividad a las bandas de 8-kDa en LLGP-EITB (GP21, GP18, GP14 y GP13) asociadas a infección viable que se observan en otros patrones

(patrones clase 3 y 4)(79,93). No obstante, existen otros antígenos de 8 kDa no evaluados en el EITB que pueden también estar presentes en las bandas GP24 y GP42-39, incluso en ausencia de reacción contra las bandas de menor peso molecular evaluadas en el EITB (79). La evaluación de anticuerpos utilizando antígenos recombinantes representativos de la familia de 8 kDa mediante MBA permitió poder identificar subgrupos de pacientes con NCC viable.

Por otro lado, respecto al uso de proteínas recombinantes/sintéticas, la utilización de este tipo de moléculas supone dos ventajas, la primera es que para su obtención no se requiere de tener material biológico (cisticercos de *Taenia solium*) como fuente de antígeno, siendo producidos obtenidos a partir de bibliotecas de cDNA(83,135) o sintetizados químicamente (79), con menor variabilidad entre lotes (136); y sensibilidad y especificidad comparables a las glicoproteínas nativas utilizadas en la metodología EITB (77,123–126,134). La segunda, es que son adaptables a metodologías cuantitativas como el enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA por sus siglas en inglés) o *multiplex bead-based assay* (MBA) (109,118,137).

Respecto al uso de la tecnología MBA, la generación de resultados cuantitativos permite el uso de un valor de corte, mejorando así la sensibilidad en comparación con la lectura visual en otros tipos de plataformas como el western blot. No obstante, aún son necesarios mejoras en el ajuste de la técnica que permitan identificar puntos de corte con mejores resultados de sensibilidad y especificidad. Las extensiones de este trabajo deben centrarse, justamente, en mejorar la sensibilidad para la detección de la NCC viable que permita la determinación de

todos los casos con infección viable en pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB.

En relación con la edad, considerar evaluar a los pacientes con NCC que tienen un patrón de clase 2 en LLGP-EITB, en función de la edad, tomando como punto de corte 40 años permite diferenciar al menos dos poblaciones con mayor y menor probabilidad de presentar infección viable. Se ha reportado que en pacientes la dinámica de anticuerpos puede cambiar alrededor de los 40 años, lo cual es consistente con los resultados encontrados (128,130–132). Se ha observado que la presencia de infección viable es más frecuente en varones, probablemente debido a la dinámica de interacción entre el perfil hormonal y la respuesta inmune. Un estudio reportó que las mujeres tienen a desarrollar una respuesta de tipo TH2 frente a infecciones parasitarias (138). La edad y el sexo juegan un rol importante tanto en aspectos inmunológicos como en la interacción hospedero-parásito (113,128–132).

El número de lesiones o cisticercos infectantes del SNC fue considerado únicamente como una variable de ajuste, esto debido a que el objetivo del estudio fue determinar aspectos relacionados con viabilidad del cisticerco. El número de cisticercos no fue una variable para relacionar con la viabilidad ya que la presencia de un solo cisticerco viable fue suficiente para considerar al paciente con NCC viable. En ese sentido, que el paciente tenga uno o más cisticercos viables, indistintamente del número de cisticercos no viables, estaría siempre relacionado a viabilidad. Pero fue relevante tomar en cuenta el número de cisticercos, dado que puede ser una variable que influya en la respuesta de anticuerpos (139), para ajustar la relación entre las demás variables y la viabilidad del parásito.

Los resultados presentados pueden tener ciertas limitaciones que deben ser consideradas, especialmente relacionadas a la población de estudio y la posibilidad de generalización. Se incluyeron neuroimágenes, resultados de LLGP-EITB y MBA de pacientes con NCC parenquimal con un patrón de anticuerpos clase 2, por ello nuestros hallazgos no pueden ser generalizados a la población total de pacientes con NCC hospitalaria. Sin embargo, es importante señalar que decidimos incluir únicamente a estos pacientes dado que estos casos representan un grupo con mayor necesidad de herramientas diagnósticas que permitan discernir si su infección es causada por un cisticerco viable y pueda recibir tratamiento antiparasitario. Finalmente, algunos pacientes podrían haber tenido lesiones únicas o con pocos quistes no detectadas en la RM o TAC, por lo cual se optó por incluir a este tipo de pacientes, siempre que fueran sintomáticos y con un patrón serológico de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.

V. INVESTIGACIÓN II: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEL PERFIL CUANTITATIVO DE ANTICUERPOS CONTRA GLICOPROTEÍNAS RECOMBINANTES/SINTÉTICAS DE TAENIA SOLIUM PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN VIABLE EN NEUROCISTICERCOSIS PARENQUIMAL Y EXTRAPARENQUIMAL EN PACIENTES CON UN PATRÓN DE ANTICUERPOS CLASE 2

5.1 Resumen

La NCC es una de las principales enfermedades parasitarias del sistema nervioso central que contribuye de manera importante a la carga de trastornos convulsivos y epilepsia, principalmente en países de bajos recursos. Determinar infección viable en pacientes con neurocisticercosis (NCC) es fundamental para establecer el mejor manejo terapéutico. Las neuroimágenes son la principal herramienta para determinar infección viable; sin embargo, no siempre brindan un diagnóstico definitivo; por lo cual la respuesta de anticuerpos frente a glicoproteínas del parásito complementa el diagnóstico. A nivel serológico, el patrón de bandas ayuda a identificar pacientes con mayor (patrón clase 3 y 4) o menor (patrón clase 2) probabilidad de tener infección viable; sin embargo, los pacientes con un patrón clase 2, tienen similar probabilidad de tener o no infección viable, por lo cual su diagnóstico diferencial es más complejo. Los pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB, representan aproximadamente un cuarto de la población de pacientes con NCC (27 %). En el estudio 1 exploramos la evaluación cuantitativa de anticuerpos contra las glicoproteínas recombinantes/sintéticas rGP50, rT24H, sTs14 y sTs18 y su relación con la viabilidad del parásito según la distribución de

bandas en pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB. Encontramos que las glicoproteínas rT24H y las glicoproteínas de la familia 8 kDa sTs14 y sTs18 se correlacionaron con la viabilidad según determinados subgrupos de distribución de bandas, siendo necesario mayores evaluaciones que corroboren dichos hallazgos. Cabe señalar que en el estudio 1 se evaluó únicamente pacientes con infección intraparenquimal, por lo que es necesario también evaluar el desempeño de estas glicoproteínas y su perfil en diferentes tipos de infección por NCC, incluyendo la NCC extraparenquimal donde el cisticerco generalmente se encuentra en estado viable. **Objetivo.** Evaluar la capacidad del perfil cuantitativo de anticuerpos contra glicoproteínas (rGP50, rT24H y sTs18) para discriminar infección viable determinada por RM y TAC (estándar de oro) en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos en LLGP-EITB intra y extraparenquimal. **Materiales y Métodos.** Evaluamos la cuantificación de anticuerpos contra las glicoproteínas rGP50, rT24H y sTs18 mediante *multiplex bead-based assay* (MBA). Los antígenos se probaron en 160 sueros de 32 pacientes con NCC extraparenquimal, 64 pacientes con NCC viable parenquimal y 64 pacientes con NCC calcificada, procedentes del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN). La sensibilidad y especificidad se estimaron al comparar los resultados de los pacientes con infección viable (NCC viable intra y/o extraparenquimal) respecto al de los pacientes con infección no viable (NCC calcificada). **Resultados.** Para la detección de infección viable parenquimal la sensibilidad y especificidad fue de 60.9 y 59.4 para rGP50, 75.0 y 64.1 para rT24H, y de 79.7 y 65.6 para sTs18. Para la detección de infección viable extraparenquimal la sensibilidad y especificidad fue de 71.9 y 53.1 para rGP50, 81.3 y 56.3 para rT24H y de 81.0 y 62.5 para sTs18. Asimismo, se encontró que los

pacientes con rT24H y sTs18 positivos tienen 5.28 ($p<0.001$) y 7.26 ($p<0.001$) veces más la posibilidad de tener infección viable parenquimal; o 5.6 ($p<0.001$) y 7.21 ($p<0.001$) veces más la posibilidad de tener infección viable extraparenquimal que aquellos con resultado negativo. **Conclusión.** Nuestros hallazgos sugieren rT24H y sTs18 son potencialmente útiles para el diagnóstico diferencial de NCC viable o no viable en pacientes con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB. Son necesarios futuros estudios sobre la cuantificación de anticuerpos contra glicoproteínas de *Taenia solium* para confirmar estos hallazgos.

5.2 Introducción

La NCC es una infección parasitaria del sistema nervioso central ocasionado por el estadio larval (cisticerco) de *Taenia solium* (13). En el diagnóstico de la NCC, la adecuada identificación de los pacientes con cisticercos viables es de suma importancia para la definición del tratamiento y manejo de la enfermedad (90). En zonas rurales o regiones de bajos ingresos económicos, el acceso a exámenes de neuroimágenes con equipos sofisticados y de alto costo como la TAC o RM son limitados (140). Además, es posible que los hallazgos por imágenes no permitan concluir con el diagnóstico o que no se pueda definir claramente la presencia de cisticercos viables (90,111,112). En ese escenario, las pruebas serológicas complementan el diagnóstico (93). La prueba de LLGP-EITB es la prueba de elección para el diagnóstico serológico de neurocisticercosis, aceptada por la organización mundial de la salud y la organización panamericana de la salud desde 1995 como el estándar de referencia para el serodiagnóstico de cisticercosis (79,123).

La prueba de LLGP-EITB ofrece un resultado cualitativo en el que cada banda positiva representa la presencia de anticuerpos contra glicoproteínas del parásito (73). Esta prueba utiliza glicoproteínas purificadas unidas a lectina de lenteja en un ensayo de inmunoelectrotransferencia ligado a enzimas, las cuales se distribuyen en 7 bandas, según su peso molecular: GP50, GP42-39, GP24, GP21, GP18, GP14 y GP13 kDa (73). La detección de 1 a 7 bandas positivas es indicativa de un resultado positivo para cisticercosis (73,79,140).

El patrón de anticuerpos en LLGP-EITB puede orientar el diagnóstico hacia la presencia de cisticercos viables (93). Los pacientes con un patrón de anticuerpos clase 3 o 4, es decir que expresan de 4 a 7 bandas positivas en LLGP-EITB, tienen una frecuencia de parásitos viables alta; mientras que los pacientes con un patrón clase 1 (1 sola banda positiva en LLGP-EITB) tienen una baja frecuencia de parásitos viables. Sin embargo, en los pacientes con un patrón clase 2, tienen la misma probabilidad de tener o no cisticercos viables (93), por lo cual su diagnóstico para determinar infección viable es complicado. Los pacientes con un patrón clase 2 representan aproximadamente un cuarto (27 %) del total de pacientes con NCC (93).

Si bien los pacientes con un patrón clase 2 solo expresan entre 2 a 3 bandas positivas en LLGP-EITB a glicoproteínas de mayor peso molecular (GP50, GP42-39 y GP24), es posible que también expresen anticuerpos frente a proteínas de bajo peso como los de la familia de 8 kDa, puesto que éstas pueden estar contenidas en las bandas GP42-39 o GP24. Las glicoproteínas GP50, GP42-39 y GP24, pertenecen a la familia de proteínas GP50 y T24/42. Las bandas restantes

(GP GP21, GP18, GP14 y GP13) pertenecen a la familia 8 kDa(77). Luego de purificar y caracterizar estas glicoproteínas, se ha descrito que la banda antigénica de 42-39 kDa al ser reducida (ruptura de enlaces disulfuro en las proteínas) expresa subunidades de 24 kDa y 8 kDa (122). De manera similar la banda antigénica de 24 kDa, al ser reducida expresa subunidades de 8 kDa (122). Asimismo, la GP42-39 está compuesta por un homodímero de la glicoproteína de GP24 (83). Tanto las fracciones no reducidas como las reducidas son reconocidas por el suero hiperinmune contra GP 42-39 y GP24 respectivamente (122). Esto va en línea con lo descrito por Hancock et al que señala que las proteínas de la familia de 8 kDa (que se encuentran en las bandas de menor peso molecular de LLGP-EITB: GP21, GP18, GP14 y GP13 y que son negativas para los pacientes objetivo de este estudio, se encuentran también en las bandas antigénicas de 24 y 42-39 kDa (79).

Además de la evaluación cualitativa, la medición cuantitativa de anticuerpos puede brindar más información relevante para discernir en el diagnóstico de infección viable en pacientes con NCC, y para ello existen actualmente potenciales herramientas de medición. Se han desarrollado formas recombinantes o sintéticas de las glicoproteínas representativas de las tres familias de glicoproteínas utilizadas en LLGP-EITB. Se han caracterizado y clonado las glicoproteínas GP50 y T24. La proteína recombinante de GP50, antigénicamente activa, expresada en el sistema de baculovirus, tiene un peso molecular de 29 kDa y se denomina rGP50 (80). Por su parte, la T24 es una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia de tetraspanina y migra en 24 kDa. Una porción de T24, el dominio

de bucle extracelular grande, se expresó en células de *Echerichia coli*, denominándose rT24H (83). Así también, se ha sintetizado químicamente las proteínas de la familia de 8 kDa. Hancock et al señalan que estas proteínas son secretadas por el parásito viable, lo cual estaría en concordancia con que la mayoría de pacientes que expresan anticuerpos contra las proteínas de 8 kDa en LLGP-EITB presentan cisticercos viables en más del 80 % (93). Estas proteínas presentan 4 clados (ramas) (Ts18, Ts14, TsRS1 y TsR2), de los cuales se han sintetizado 9 (Ts18, Ts18var1, Ts18var3, Ts18var4, Ts18var6, Ts18var8, TsR1, TsRS1, Ts14)(79). Sin embargo las más representativas de esta familia y que han mostrado una mejor sensibilidad y especificidad para infecciones múltiples o de un solo parásito en pacientes con NCC fueron: Ts18var1 (123–127), sTs14 (124–126) y TsR1(77,124).

La metodología MBA es la metodología de elección para la cuantificación de anticuerpos utilizando proteínas recombinantes o sintéticas dado que puede ser más sensible para detectar anticuerpos, incluso en pacientes con baja carga parasitaria (1 cisticerco viable), que otras metodologías como el ELISA, WB, *Multiantigen print*, las cuales no logran mejorar su sensibilidad para detectar infecciones únicas (77,125), como si sucede con MBA(126). Asimismo, se señala que la sensibilidad para detectar casos de pacientes con NCC con un cisticerco viable es del 92 % con MBA utilizando los antígenos recombinantes/sintéticos sTs18var1, rGP50, y rT24H (126). Es importante mencionar que esta sensibilidad se estimó en pacientes con NCC en general, no específicamente en aquellos con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.

En el estudio 1 se observó exploratoriamente que la evaluación cuantitativa de ciertas glicoproteínas podría ayudar a orientar el diagnóstico en los pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB de tipo parenquimal según su distribución de bandas; no obstante, es relevante evaluar la medición de anticuerpos en los pacientes con un patrón clase 2 en general, según su viabilidad incluyendo a aquellos con infección extraparenquimal. De tal manera, la evaluación cuantitativa de anticuerpos propuesta en este estudio 2 brindaría información adicional sobre el perfil de anticuerpos a glicoproteínas específicas del parásito y su capacidad para identificar infección viable en estos pacientes. Dicha información podría ser útil para establecer criterios serológicos que permitan identificar pacientes con NCC con presencia de cisticercos viables, y con ello, poder caracterizarlos adecuadamente. Esto representaría una herramienta diagnóstica que beneficiaría a este grupo de pacientes con NCC (patrón clase 2), orientando adecuadamente su diagnóstico, tratamiento y seguimiento.

Adicionalmente, se considerará evaluar si las características demográficas (edad, sexo, lugar de procedencia) y/o número cisticercos infectantes del SNC podrían estar relacionadas con la producción de anticuerpos y la viabilidad del parásito. En ese sentido, la evaluación de estas variables podría servir para explorar su asociación con la viabilidad del parásito en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.

Por ello, el objetivo del presente estudio 2 es evaluar la capacidad del perfil cuantitativo de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas (rGP50, rT24H y sTs18) para determinar infección viable en pacientes con NCC

con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB intra y extraparenquimal, ajustando por covariables de interés descritas previamente.

5.3 Materiales y métodos

V.3.1. Diseño de estudio, población y criterios de inclusión

El presente estudio es estudio es de tipo casos y controles. Se incluyeron pacientes que acudieron a la Unidad de Cisticercosis del INCN de Lima para su diagnóstico inicial de NCC bajo la sospecha de tener esta infección debido a la presencia de síntomas compatibles con NCC como convulsiones, dolor de cabeza crónico, entre otros durante el período 2001 a 2017.

Los pacientes fueron inicialmente elegibles si tuvieron un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB en la evaluación serológica inicial. Asimismo, si tuvieron una RM y TAC tomadas en un período de tiempo no mayor de 3 meses antes o después de su primera muestra de suero con la finalidad de evitar un efecto de sesgo en la evolución de la enfermedad entre los resultados de neuroimágenes y la serología.

Definición de caso: Se definió como caso a aquel paciente con infección viable evaluado mediante RM y TAC (90). Se consideraron dos grupos casos, aquellos con infección parenquimal y aquellos con infección extraparenquimal. La NCC parenquimal viable se definió como la presencia de lesiones redondeadas pequeñas alrededor de 10 milímetros de diámetro, llenas de contenido en su interior de señal hiperintensa en secuencias T2 de RM, con o sin edema periquístico y en algunos casos con un nódulo interno correspondiente al escólex invaginado. La NCC

extraparenquimal viable se definió como la presencia de quistes en la región subaracnoidea vistos mediante RM como una lesión quística hipointensa, lobulada o no, con o sin tabique interno y sin escólex. Los quistes subaracnoideos sobre la convexidad de los hemisferios cerebrales son pequeños, pero los de la fisura de Silvio pueden alcanzar un tamaño de 50 mm o más(51). Se excluyeron pacientes con lesiones compatibles con NCC intraventricular debido a que se espera que su desarrollo inmunopatológico sea distinto y particular a los otros tipos de presentaciones.

Definición de control: se definió como control a aquel paciente con infección no viable, es decir con presencia de únicamente quistes calcificados evaluado mediante TAC y RM (90). La NCC parenquimal calcificada, o no viable, se definió como lesiones nodulares pequeñas con señal hiperdensa en la TAC, con o sin edema perilesional, **Figura 2B**.

Se seleccionaron a todos los pacientes con NCC extraparenquimal. Los pacientes con NCC parenquimal viable o calcificada fueron seleccionados en una proporción de 2:1 con respecto a los pacientes con NCC extraparenquimal. Los resultados de las neuroimágenes fueron revisadas por radiólogos especializados.

Todos los pacientes contaron con datos demográficos y datos de los hallazgos de neuroimágenes (TAC y RM) descritos en la base de datos de la Unidad de Cisticercosis de INCN. De manera prospectiva, se realizó la evaluación cuantitativa de anticuerpos mediante MBA. Estos resultados fueron utilizados para hacer el

análisis comparativo del perfil de anticuerpos cuantitativo según el tipo de infección: viable (NCC intra o extra parenquimal) vs no viable (NCC calcificada).

V.3.2. Procedimientos de estudio

V.3.2.1. Muestras

Durante la evaluación de rutina de los pacientes atendidos en la Unidad de Cisticercosis del INCN (al diagnóstico inicial) se obtuvieron muestras de sangre, de la que se separó el suero, para la detección de anticuerpos específicos a glicoproteínas de *Taenia solium* a través de la prueba LLGP-EITB. Se extrajo una muestra de sangre (9ml) en tubo sin anticoagulante a fin de separar el suero por centrifugación (15 minutos a 3500 rpm) y se almacenó a -70° hasta su procesamiento. En el presente estudio se utilizaron los sueros de los pacientes que brindaron su consentimiento informado para uso posterior de dichas muestras y cumplieron con los criterios de inclusión.

V.3.2.2. Cuantificación de anticuerpos mediante MBA

La detección cuantitativa de anticuerpos se llevó a cabo través de la técnica de MBA empleando el equipo MagPix de Luminex®. Se emplearon 3 antígenos recombinantes: rGP50, rT24H y sintético: sTs18, acoplados a unas perlas magnéticas (beads). El método fue estandarizado en el laboratorio de Cisticercosis que pertenece a los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) y descrito en el estudio 1. Brevemente, el procedimiento consistió en diluir la muestra de suero 1:100 en PBS Tween 0.3% Leche 5%. A una microplaca de inmunoensayos de color oscuro para

proteger a los beads de la luz, se le adicionó 50 ul de la muestra de suero previamente diluido y 50 ul de la solución con los beads magnéticos acoplados, se incubó por 30 minutos en movimiento constante a temperatura ambiente. Posterior a ellos, se realizaron 4 lavados con PBS Tween 0.3% y se adicionó 50 ul de conjugado (anti human IgG con biotina diluido 1:200 en PBS Tween 0.3% Leche 5%) e incubó por 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se adicionó 50 ul de Estreptavidina-Ficoeritrina diluido 1:250 en PBS Tween 0.3% Leche 5% y se incubó por otros 30 minutos. Finalmente se lavó, los beads se suspenden en 125 ul de PBS BSA 1% Azida de sodio 0.05% y se leyó en el equipo MagPix (Luminex corp.TM).

El resultado fue la intensidad de fluorescencia media (MFI). El MFI obtenido para cada muestra y antígeno en MBA se transformó en un ratio serológico (MBA-ratio) de la siguiente manera(133) :

$$MBA\text{-ratio} = \frac{MFI\text{ muestra}}{(\text{Promedio de MFI control negativo*}) \times 3\text{ DS control negativo}}$$

**Sueros de 8 voluntarios sanos, sin exposición ni sospecha de NCC, teniasis u otras parasitosis relacionadas*
DS: Desviación estándar

Asimismo, además de los sueros de los pacientes (**Tabla 10**), se utilizaron controles negativos (pool de sueros negativos de pacientes sanos) y sueros positivos a fin de garantizar la repetibilidad inter e intra test MBA. El análisis de las muestras fue cegado.

V.3.2.3. Determinación de la viabilidad por neuroimágenes

La viabilidad del parásito o cisticerco se determinó en función de los resultados de imágenes de la TAC y RM. Un parásito viable (o cisticerco viable) fue definido como aquel que conserva su estructura (membrana, líquido vesicular y escólex), se observa de forma oval, con presencia de líquido en el interior y el escólex (48).

Las lecturas de neuroimágenes fueron realizadas por un radiólogo independiente. Estos resultados fueron posteriormente confirmados por un segundo neurólogo del grupo de investigación. A partir de las lecturas de neuroimágenes los casos fueron clasificados como con NCC viable extraparenquimal (al menos un cisticerco subaracnoideo, independientemente de la presencia o ausencia de calcificaciones o granulomas o cisticercos parenquimales viables), NCC viable parenquimal (al menos un cisticerco parenquimal viable, independientemente de la presencia o ausencia de calcificaciones o granulomas, y sin cisticerco extraparenquimal) o con NCC calcificada (únicamente presencia de lesiones calcificadas).

IV.3.3. Análisis estadístico

La información demográfica de los pacientes y el resultado cuantitativo de anticuerpos por MBA fueron presentados mediante estadísticos descriptivos. La comparación de las medias de los niveles de anticuerpos (contra rGP50, rT24H, y sTs18) entre quienes presentaron NCC viable y no viable se realizó mediante la Prueba U de Mann Whitney para distribuciones no paramétricas.

Para evaluar el rendimiento de la prueba MBA, que detecta anticuerpos contra rGP50, rT24H y sTs18, para discernir entre infección viable y no viable, en comparación con el análisis de neuroimágenes, se determinaron los valores MBA-ratio para cada antígeno. Los valores del MBA-ratio se utilizaron para construir curvas de características operativas del receptor (ROC) para determinar los valores de corte (cutt-off), la sensibilidad y la especificidad para cada antígeno evaluado por MBA. Posterior a ello se determinó la proporción de pacientes con un resultado positivo (igual o mayor al cutt-off establecido) o negativo (menor al cut-off establecido) para cada antígeno en evaluación. Se comparó el desempeño de cada antígeno, en términos de sensibilidad y especificidad, para detectar pacientes con quistes viables (NCC parenquimal viable [n=64] vs NCC calcificada [n=64]; o NCC extraparenquimal [n=32] vs NCC calcificada [n=64]). Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para calcular los valores de p y la significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

La concordancia entre el método MBA para cada uno de los antígenos glicoproteicos (rGP50, rT24H y sTs18) y la viabilidad por neuroimágenes se evaluó mediante la estadística kappa de Cohen, con valores de 0,00 a 0,20 que indican una concordancia deficiente; 0,21 a 0,40, acuerdo justo; 0,41 a 0,60, acuerdo moderado; 0,61 a 0,8, acuerdo sustancial; y 0,81 a 1,00 concordancia casi perfecta (141). Los datos se analizaron con STATA (Versión 17) y EPIDAT (Versión 3.1).

IV.3.4. Consideraciones éticas

Cada uno de los procedimientos descritos en el presente estudio han sido previamente revisados y aprobados por los Comités Institucionales de Ética de la

Universidad Peruana Cayetano Heredia (número de aprobación 554-48-22). En el presente estudio se utilizó información anónima de los pacientes que previamente firmaron un consentimiento informado autorizando el uso de la información y muestras de sueros remanentes.

5.4 Resultados

Se incluyeron 160 sueros de pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión del estudio, de los cuales 64 tuvieron infección viable parenquimal, 64 tuvieron infección no viable (calcificada) y 32 tuvieron infección extraparenquimal viable (**Tabla 10**).

Tabla 10. Número y tipo de sueros analizados		
Tipo de infección		n°
Viable		
	Extraparenquimal	32
	Parenquimal	64
No viable		
	Calcificada	64
Total		160

Las características demográficas fueron similares entre los pacientes con infección viable (extra e intraparenquimal) e infección no viable, referente a la edad ($p=0.174$) y el sexo ($p=0.301$), aunque los pacientes con infección viable procedieron en mayor proporción de pacientes de zonas endémicas ($p=0.032$). Sobre el número de quistes, este fue similar entre aquellos con infección viable (parenquimal) y no viable (**Tabla 11**).

Tabla 11. Características de los sueros analizados

	Viable		No Viable
	Extraparenquimal n=32	Parenquimal n=64	Calcificada n=64
Edad, mediana (rango)	39.4 (12 a 86)	29.6 (17 a 73)	35.6 (16 a 83)
≤40 años, n (%)	18 (56.3)	49 (76.6)	38 (59.4)
>40 años, n (%)	14 (43.7)	15 (23.4)	26 (40.6)
Sexo			
Femenino, n (%)	17 (53.1)	26 (40.6)	34 (53.1)
Masculino, n (%)	15 (46.9)	38 (59.4)	30 (46.9)
Lugar de procedencia			
No endémico, n (%)	6 (18.8)	9 (14.1)	3 (4.7)
Endémico, n (%)	26 (81.2)	55 (85.9)	61 (95.3)
Número de quistes, mediana (rango)	1 (1 a 2)	4 (3 a 10)	4 (1 a 10)

n: frecuencia absoluta, %: porcentaje de columna

Se consideraron regiones no endémicas a Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica. Las regiones endémicas fueron cualquier departamento del Perú excepto Lima, Loreto, Madre de Dios, Tacna, Moquegua e Ica.

La mediana del ratio de anticuerpos contra cada una de las 3 glicoproteínas evaluadas (rGP50, rT24H y sTs18) se presentan en la **Tabla 12**. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del ratio de anticuerpos entre quienes tuvieron quistes viables (parenquimales o extraparenquimales) y no viables. Estos resultados también se muestran de forma gráfica (**Figura 14, 15 y 16**).

Tabla 12. Mediana del ratio de anticuerpos según tipo de infección

Glicoproteína	Viable		No viable	p*
	Extraparenquimal	Parenquimal	Calcificado	
rGP50	14.9		7.4	0.1561
		19.3	7.4	0.0373
rT24H	7.1		1.9	0.0002
		7.1	1.9	<0.001
sTs18	6.3		1.4	<0.001
		4.5	1.4	<0.001

*Valor p estimado mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparación de medianas

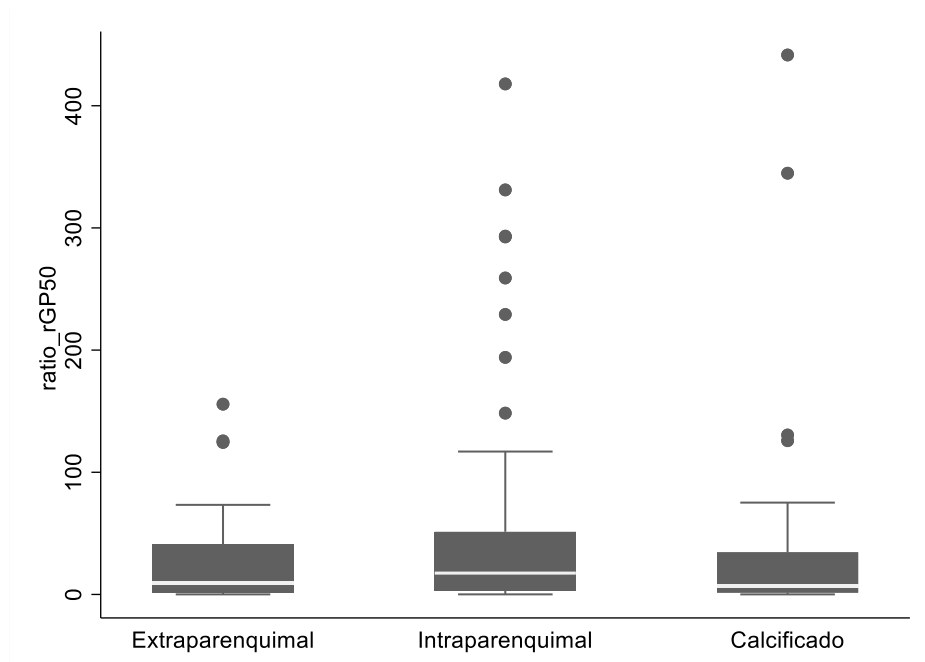


Figura 14. Gráfico de distribución del ratio de anticuerpos contra la glicoproteína rGP50, según el tipo de infección.

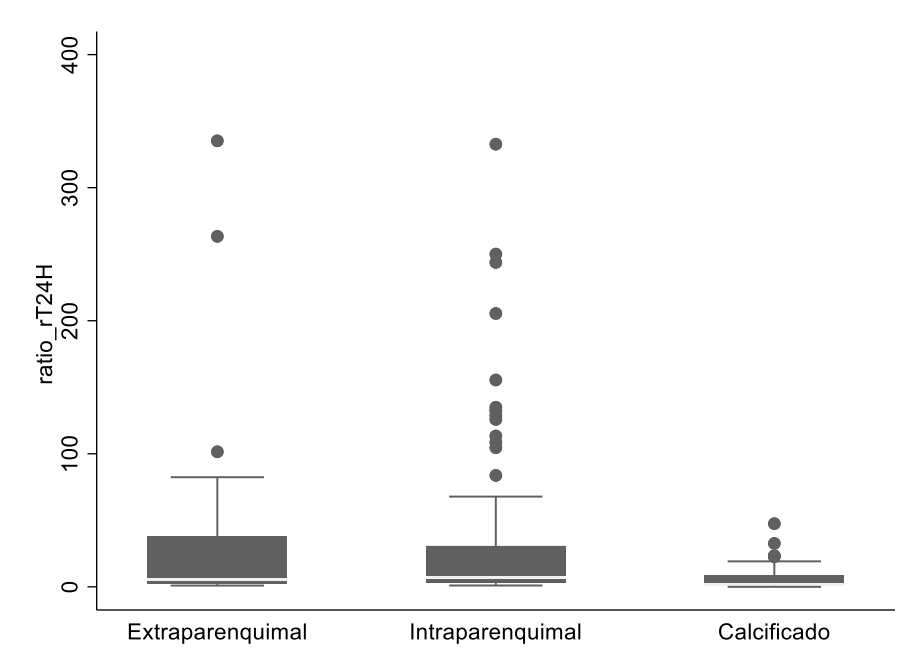


Figura 15. Gráfico de distribución del ratio de anticuerpos contra la glicoproteína rT24H, según el tipo de infección. Se excluyó un dato del grupo extraparenquimal que correspondió al valor 1096 por ser un valor muy extremo.

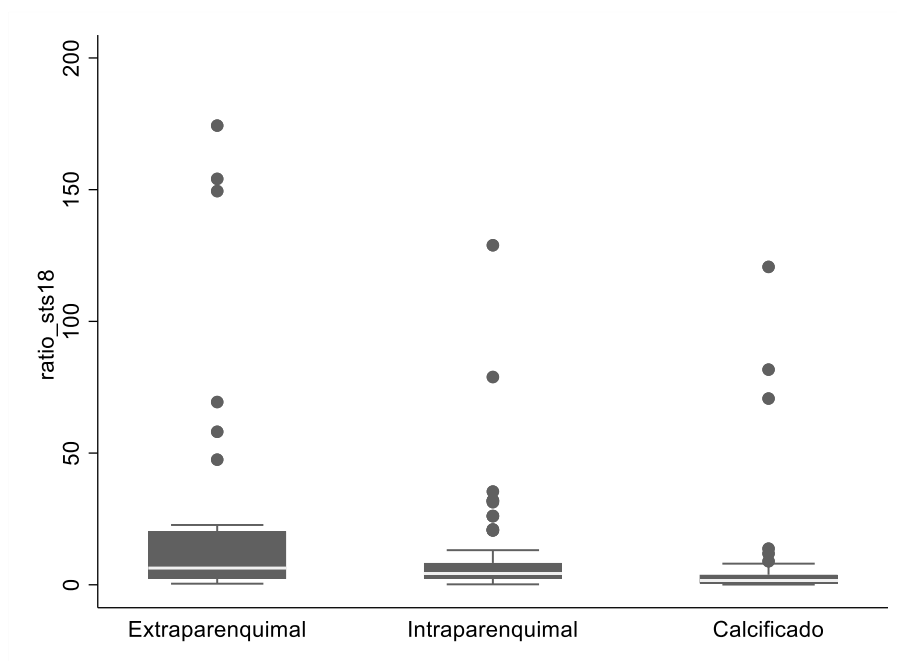


Figura 16. Gráfico de distribución del ratio de anticuerpos contra la glicoproteína STs18, según el tipo de infección. Se incluyó un dato del grupo parenquimal que correspondió al valor 361 por ser un valor muy extremo.

Luego de obtener el valor de MFI y calcular el ratio de anticuerpos contra cada antígeno, se evaluó el área bajo la curva (AUC) e identificó el mejor punto de corte. Las mediciones de anticuerpos por MBA contra las glicoproteínas rT24H y sTs18 mostraron una buena (AUC=0.7554) o regular capacidad (AUC=0.7332) para detectar infección viable parenquimal, respectivamente. Por su parte, la evaluación de anticuerpos contra la glicoproteína rGP50 mostró una baja capacidad para detectar infección viable (AUC=0.6067) (**Figura 17**).

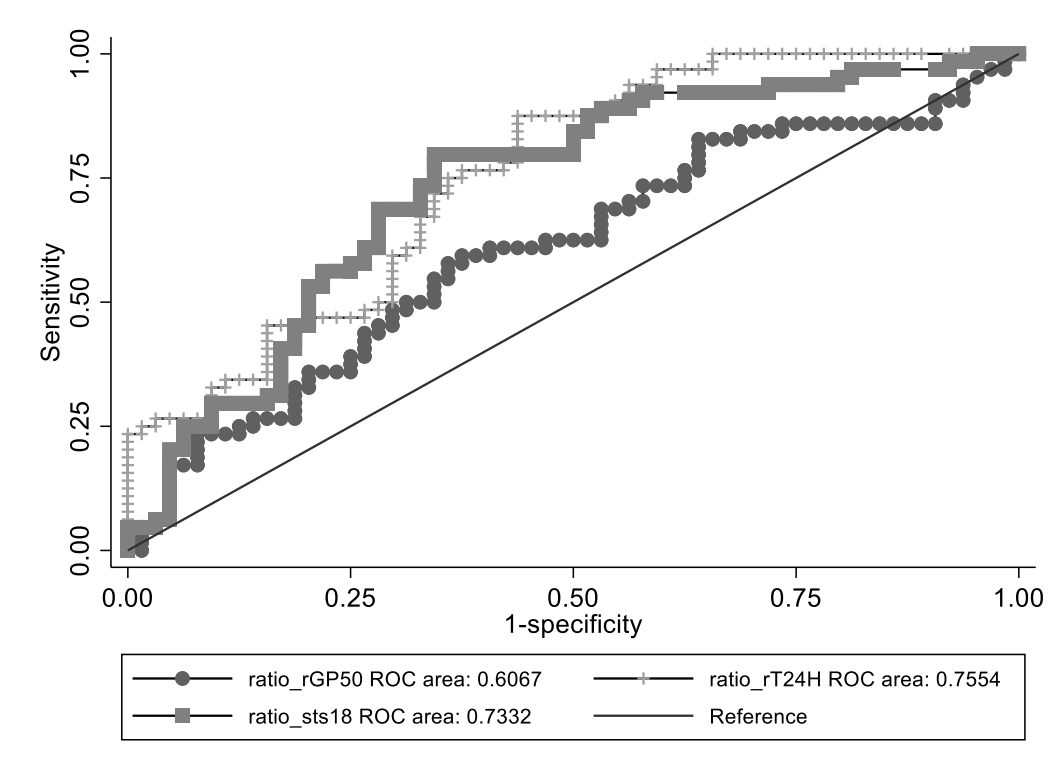


Figura 17. Gráfico de área bajo la curva (AUC) para detectar infección viable parenquimal de cada antígeno, evaluados por MBA.

La detección de anticuerpos contra las glicoproteínas sTs18 y rT24H, por MBA, mostraron una buena o regular capacidad para detectar infección viable extraparenquimal (AUC=0.7554; AUC=0.7332, respectivamente). Por su parte la la glicoproteína rGP50 mostró una baja capacidad para detectar infección viable (AUC=0.6067) (**Figura 18**).

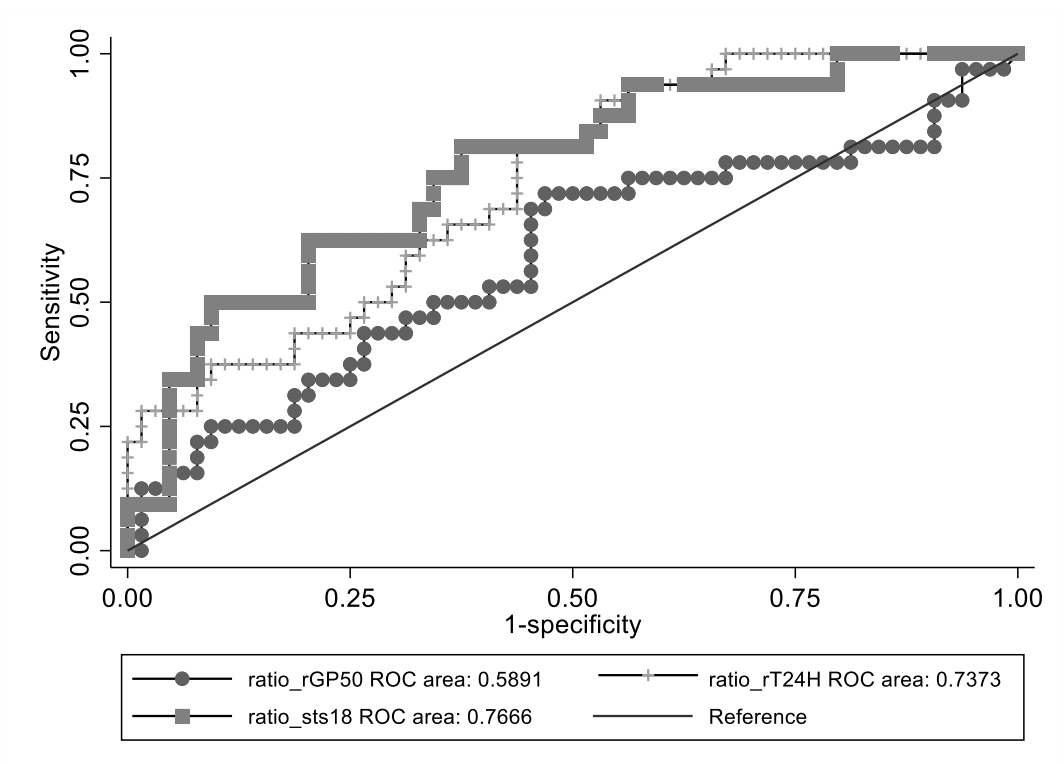


Figura 18. Gráfico de área bajo la curva (AUC) para detectar infección viable extraparenquimal de cada antígeno, evaluados por MBA.

En el escenario de infección viable parenquimal, los puntos de corte (cut-off) establecidos para determinar si el valor de ratio de anticuerpos contra rGP50, rT24H y sTs18 se clasifica como positivo o negativo fueron: 12.1; 3.438 y 2.307, respectivamente (**Tabla 13**). Asimismo, los puntos de corte para el ratio de anticuerpos contra rGP50, rT24H y sTs18, en un escenario extraparenquimal, fueron: 7.79; 2.202 y 2.084 (**Tabla 14**).

Tabla 13. Características de la prueba de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas de *Taenia solium* (MBA) para detectar infección viable (parenquimal)

Glicoproteína	Viable (n=64)	No viable (n=64)	AUC	Cut-Off	Índice Youden	S	E	VPP	VPN
rGP50									
positivo	39	26	0.6067	12.1	0.203	60.9	59.4	60	60.3
negativo	25	38							
rT24H									
positivo	48	23	0.7554	3.438	0.391	75	64.1	67.6	71.9
negativo	16	41							
sTs18									
positivo	51	22	0.7332	2.307	0.453	79.7	65.6	69.9	76.4
negativo	13	43							

S: Sensibilidad; E: Especificidad

Tabla 14. Desempeño de la prueba de detección de anticuerpos contra glicoproteínas recombinantes/sintéticas de *Taenia solium* (MBA) para detectar infección viable (extraparenquimal)

Glicoproteína	Viable (n=32)	No viable (n=64)	AUC	Cut-Off	Índice Youden	S	E	VPP	VPN
rGP50									
positivo	23	30	0.5891	7.79	0.025	71.9	53.1	43.4	79.1
negativo	9	34							
rT24H									
positivo	26	28	0.7373	2.202	0.376	81.3	56.3	48.2	85.7
negativo	6	36							
sTs18									
positivo	26	24	0.7666	2.084	0.438	81.3	62.5	52	87
negativo	6	40							

S: Sensibilidad; E: Especificidad

Finalmente, se encontró asociación entre la detección de anticuerpos contra rT24H y sTs18 e infección viable parenquimal ($p < 0.001$, en ambos casos). Los resultados mostraron que tener un resultado positivo a rT24H (cutoff=12.1) representó 5.28 veces más la probabilidad de tener infección viable parenquimal; o tener un

resultado positivo a sTs18 (cut-off = 3.438) representa 7.26 veces más la probabilidad de tener infección viable parenquimal (**Tabla 15**).

Tabla 15. Asociación entre la detección de anticuerpos contra 3 glicoproteínas recombinantes/sintéticas e infección viable parenquimal

Glicoproteína	Viable (n=64)	No viable (n=64)	OR crudo	IC 95%	p	OR ajustado	IC 95 %	p*
rGP50								
positivo	39	26	2.28	1.12 a 4.63	0.022	1.98	0.96 a 4.10	0.066
negativo	25	38						
rT24H								
positivo	48	23	5.34	2.49 a 11.46	<0.001	5.28	2.42 a 11.53	<0.001
negativo	16	41						
sTs18								
positivo	51	22	7.49	3.37 a 16.6	<0.001	7.26	3.21 a 16.40	<0.001
negativo	13	43						

*Ajustado por edad, sexo

Asimismo, se encontró asociación entre la detección de anticuerpos contra rT24H y sTs18 e infección viable extraparenquimal ($p < 0.001$, en ambos casos). Los resultados mostraron que tener un resultado positivo a rT24H (cut-off=2.202) representó 5.6 veces más la probabilidad de tener infección viable extraparenquimal; o tener un resultado positivo a sTs18 (cut-off=2.084) representó 7.21 veces más la probabilidad de tener infección viable parenquimal (**Tabla 16**).

Tabla 16. Asociación entre la detección de anticuerpos contra 3 glicoproteínas recombinantes/sintéticas e infección viable extraparenquimal

Glicoproteína	Viable (n=32)	No viable (n=64)	OR crudo	IC 95%	p	OR ajustado	IC 95 %	p*
rGP50								
positivo	23	30	2.9	1.16 a 7.22	0.023	2.94	1.17 a 7.37	0.021
negativo	9	34						
rT24H								
positivo	26	28	5.57	2.02 a 15.39	0.001	5.6	2.02 a 15.51	0.001
negativo	6	36						
sTs18								
positivo	26	24	7.22	2.60 a 20.06	<0.001	7.21	2.59 a 20.06	<0.001
negativo	6	40						

*Ajustado por edad, sexo

5.5 Discusión

Los pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB representan aproximadamente un cuarto de la población de pacientes con NCC (93), y pueden tener resultados imagenológicos no definitivos de viabilidad, por lo cual tomando en cuenta que determinar infección viable es fundamental para establecer el mejor manejo terapéutico, se necesitan herramientas que apoyen su correcto diagnóstico. En este segundo estudio evaluamos la capacidad de la detección cuantitativa de anticuerpos contra glicoproteínas específicas de *Taenia solium* recombinantes o sintéticas mediante MBA, para detectar infección viable intra o extraparenquimal en pacientes con NCC con un patrón clase 2. Para ello seleccionamos sueros de pacientes con infección viable de tipo intra o extraparenquimal, las cuales se

compararon con los sueros de pacientes con infección no viable, específicamente de tipo calcificada. Los pacientes con quistes calcificados, representan los controles de infección no viable dado que el parásito se evidencia en su totalidad calcificado (60), por lo cual no tendría la capacidad de ejercer funciones biológicas. Todos estos tipos de infecciones, intraparenquimal, extraparenquimal y calcificada se encuentran en pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB y en los pacientes con NCC en general. El método utilizado para evaluar la viabilidad fue la prueba de imágenes mediante TAC y RM (Gold estándar) que permiten verificar el estado del parásito con bastante resolución y es la prueba de elección utilizada actualmente para el diagnóstico de NCC (90).

Observamos que la detección de anticuerpos contra la glicoproteína recombinante rT24H se asoció a infección viable intra o extraparenquimal. A diferencia de la glicoproteína GP50, que también es de tipo estructural (proteína de membrana), la glicoproteína T24, de donde deriva rT24H, tiene constitutivamente un bucle extracelular grande y bastante antigénico (83). Nuestros resultados mostraron que los pacientes con quistes viables expresan en mayor intensidad anticuerpos contra rT24H. Esto podría estar relacionado con la estructura y función aun desconocida de esta glicoproteína (84). Aunque se presume que, por ser una tetraspanina, podría estar involucrada en una variedad de procesos como la activación y proliferación celular, la adhesión, la motilidad y la diferenciación, asociación con otras proteínas o servir de andamiaje para el ensamblaje de diversos complejos de proteínas en la membrana celular (83).

La población de estudio son pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB, es decir que a nivel cualitativo expresan anticuerpos contra 2 a 3 bandas de mayor peso molecular en LLGP-EITB (GP50, GP42-39 y/o GP24), por lo cual era de esperar que en la evaluación cuantitativa presenten ciertos niveles de anticuerpos contra dichas glicoproteínas, especialmente rT24H; sin embargo, no se conocía si estos valores cuantitativos iban a ser diferentes entre quienes tienen infección viable o no viable. Se ha reportado que los cisticercos viables y degenerados expresan diferentes moléculas inmunes (moléculas de adhesión y/o proteinasas); dichas diferencias podrían jugar un papel en la patogénesis de la enfermedad pero que aún deben ser investigadas (142). Se ha evaluado previamente la sensibilidad de rT24H para detectar infecciones viables múltiples y únicas mediante western blot, en pacientes con NCC en general, mostrando en esta plataforma un 80 % y 66.7 % de sensibilidad para detectar infecciones viables múltiples e infecciones viables únicas, respectivamente, siendo menos sensible (25 %) para identificar NCC calcificada (101). Los investigadores concluyeron que rT24H sería tan útil como la proteína T24 nativa para el diagnóstico de NCC en general y su presencia podría estar relacionada en mayor medida con la infección viable. En ese sentido, nuestros hallazgos refuerzan la hipótesis de que la glicoproteína T24 podría estar relacionada a funciones fisiológicas del cisticerco en estado viable, aunque son necesarios mayores estudios.

La proteína recombinante rT24H es una de las 25 proteínas más frecuentemente expresada en el cisticerco de *Taenia solium* y es un candidato de diagnóstico (84). Ha sido utilizada anteriormente, en plataformas como inmunocromatografía

magnética (134) o pruebas de ELISA para estudios seroepidemiológicos (143), para detectar específicamente la infección por el estadio larval de *Taenia solium* (cisticercosis). Asimismo, ha sido evaluada, mediante western blot, en pacientes con NCC mostrando en esta plataforma un 80 % y 66.7 % de sensibilidad para detectar infecciones viables múltiples e infecciones viables únicas, respectivamente (101). Pero no se había evaluado aún, su potencial uso cuantitativo mediante MBA para ayudar en el diagnóstico diferencial entre infección viable y no viable en pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB. Nuestros resultados mostraron que rT24H sería potencialmente útil para ayudar al diagnóstico de infección viable parenquimal o extraparenquimal.

Con respecto a la glicoproteína sTs18, la población evaluada presentó anticuerpos frente a este antígeno de bajo peso molecular y ello se asoció a una mayor probabilidad de tener infección viable. Estudios previos reportaron que la banda GP24 de LLGP-EITB, de donde deriva rT24H, contiene subunidades glicoproteicas de menores pesos moleculares, las cuales correspondería a glicoproteínas de la familia 8 kDa (por ejemplo sTs18) (79,122). Esto es relevante, porque la población evaluada no presenta bandas positivas a glicoproteínas de bajo peso molecular en western blot (LLGP-EITB), pero se observó que si expresan anticuerpos contra sTs18 en MBA. Mas aun, nuestros hallazgos mostraron que los pacientes con infección viable tuvieron en mayor proporción anticuerpos contra la glicoproteína sTs18 mediante MBA, en comparación con los pacientes con infección no viable. En ese sentido, es posible que los pacientes evaluados

presentan anticuerpos contra antígenos de 8 kDa que posiblemente no son detectados mediante la prueba de LLGP-EITB.

Se ha informado el uso de la proteína sintética sTs18 previamente y su relación a la infección viable en cisticercosis. Por ejemplo un estudio evaluó la respuesta de anticuerpos frente a dos proteínas de diagnóstico en FAST-ELISA (rGP50 y sTs18var1) y encontró que la presencia de anticuerpos se correlacionó cuantitativamente con la infección por quistes viables, siendo la actividad anti sTs18 la que respondió más al estado de la infección (135).

Nuestra población de estudio, pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB, tuvieron diferencias en la respuesta de anticuerpos entre quienes tuvieron infección viable y no viable, que no pudieron ser detectadas con solo los resultados cualitativos de la prueba LLGP-EITB. La evaluación cuantitativa de anticuerpos frente a glicoproteínas representativas de las bandas GP50 (rGP50), GP42-39 y GP24 (rT24H); y adicionalmente frente a una glicoproteína de menor peso molecular (sTs18) permitió ver diferencias entre estos dos grupos de pacientes. Se han propuesto métodos o pruebas que podrían ser útiles en la identificación de infección viable en pacientes con NCC. Algunos de ellos fueron realizados en cerdos con cisticercosis utilizando rGP50 y sTs18 (135) o identificando nuevas proteínas mediante técnicas de fraccionamiento y captura selectiva de proteínas “ProteinChip”(144); o en seres humanos utilizando antígeno circulante del parásito, medido por ELISA, para identificar cisticercos viables no identificados por TAC (120) o en pacientes con NCC en general (145); o utilizando una combinación de patrones de bandas en LLGP-EITB más

antígenos circulantes en suero (146). En ese sentido, es claro que existe una necesidad de identificar y evaluar pruebas que ayuden en la caracterización de los pacientes con NCC entre infección viable y no viable. Sobre todo, tomando en cuenta que el objetivo del diagnóstico es brindar el tratamiento adecuado. Además, los tratamientos disponibles, como albendazol y praziquantel, pueden ser controvertidos ya que sólo son parcialmente efectivos y se han informado efectos secundarios (84). Nuestros resultados muestran que evaluar las glicoproteínas rT24H y sTs18 por MBA podría ser útil para apoyar la identificación adecuada de infección viable en pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB.

Sobre la variabilidad en la respuesta de anticuerpos frente a las glicoproteínas rT24H y sTs18. Si bien se observó que la mayor parte de pacientes con quistes viables presentaron valores altos de anticuerpos contra las glicoproteínas rT24H o sTs18, también se observó que algunos pacientes con quistes viables (extra o intraparenquimal) presentaron bajos valores de anticuerpos frente a estos mismos antígenos, indistintamente del número de quistes. Esto reflejaría la variabilidad en la respuesta de anticuerpos entre individuos, incluso frente a las mismas características de infección, tal como lo señaló anteriormente Sotelo et al. Estos investigadores, que presentan las pautas para clasificar una infección activa (viable) o inactiva (no viable) en NCC, informaron que algunos pacientes con NCC podían presentar inflamación y edema mientras que otros no incluso teniendo un gran número de quistes en el parénquima cerebral (147). Esta variabilidad en la respuesta inmune puede verse reflejada en la cantidad de anticuerpos producido frente a determinados antígenos glicoproteicos. Sin embargo, de manera general se observó que, a pesar de dicha variabilidad en la

respuesta inmune entre individuos, los anticuerpos frente a rT24H y sTs18 podrían ser de utilidad para la identificación de infección viable en NCC.

Nuestros hallazgos van en línea de lo reportado previamente sobre marcadores para diferenciar entre infección viable o no viable en la NCC. Previamente, un estudio realizado en cerdos, buscó identificar proteínas que sirvan como marcadores para reconocer cisticercos viables o degenerados en cerdos naturalmente infectados. Dicho estudio reportó la identificación de 13 moléculas relacionadas a infección viable ($p < 0.05$), las cuales tuvieron un peso molecular entre 3.63 kDa y 27.9 kDa; mientras que aquellas moléculas relacionadas a cisticercos degenerados incluyeron a dos de 28.5 kDa y 55.9 kDa (144). Al respecto, nuestro estudio mostró que las moléculas más útiles para diferenciar entre infección viable y no viable en la población evaluada fueron aquellas que se encontraron en ese rango de peso molecular, es decir la rT24H y la sTs18. Por el contrario, rGP50, representativa de la glicoproteína GP50, y con un peso molecular mayor (50 kDa) no mostró alguna utilidad para el diagnóstico de infección viable en nuestro estudio.

Las diferencias en la respuesta inmune entre quienes tienen cisticercos viables y no viables en la podría relacionarse a la interacción activa entre el sistema inmune del hospedero y el parásito viable (3,47,48,60,113,119,120). Hasta el momento, en estos pacientes con un patrón clase 2 en LLGP-EITB, la diferencia en la respuesta de anticuerpos contra glicoproteínas específicas del parásito no se logra evidenciar con solamente la prueba cualitativa. No obstante, la evaluación cuantitativa de

anticuerpos mediante MBA pueden ayudar a discernir entre infección viable o no viable.

Por otro lado, la edad y el sexo juegan un rol importante tanto en aspectos inmunológicos como en la interacción hospedero-parásito (113,128–132). Como se observó en el estudio 1, la edad (menor a 40 años) y el sexo (masculino) fueron aspectos que permitieron orientar el diagnóstico hacia una infección viable. Por esa razón, la evaluación de la asociación entre la medición de anticuerpos contra cada una de las glicoproteínas (rGP50, rT24H y sTs18) fueron ajustados por estas variables. De esta forma luego del ajuste, se observó que la asociación entre rT24H, o sTs18 y tener infección viable se mantuvo y fue estadísticamente significativa.

Por otra parte, la utilización de glicoproteínas recombinantes o sintéticas supone dos ventajas en la evaluación de pacientes con NCC. La primera es que para su obtención no se requiere de tener material biológico (cisticercos de *Taenia solium*) como fuente de antígeno, siendo producidos a partir de bibliotecas de cDNA(83,135) o sintetizados químicamente (79). Esto con menor variabilidad entre lotes (136), y sensibilidad y especificidad comparables a las glicoproteínas nativas utilizadas en la metodología EITB (77,123–126,134). La segunda, es que son adaptables a metodologías cuantitativas como *multiplex bead-based assay* (MBA) o el enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA por sus siglas en inglés) (109,118,137).

Sobre las limitaciones del estudio, evaluamos solo 3 glicoproteínas recombinantes o sintéticas seleccionadas. Esto puede limitar la evaluación de la dinámica completa de anticuerpos en pacientes con cisticercos viables. No obstante, los resultados mostraron que al menos dos de las tres glicoproteínas evaluadas serían potencialmente útiles para discernir entre infección viable y no viable en la población de estudio. Así también, dichos resultados solo serán representativos de los pacientes con NCC que tienen un patrón de anticuerpos clase 2. Se espera que nuestros hallazgos brinden un primer panorama de la utilidad de evaluar cuantitativamente anticuerpos contra glicoproteínas de *Taenia solium*, mediante MBA, identificando preliminarmente a rT24H y sTs18 como las glicoproteínas potencialmente útiles en pacientes con patrones de anticuerpos de tipo clase 2 en LLGP-EITB.

Asimismo, la población de estudio provino de una sola institución (INCN), sin embargo, es importante considerar que el INCN es un establecimiento de alta complejidad y de referencia a nivel nacional al que acuden pacientes desde todas partes del Perú con afecciones neurológicas y que son derivados para manejo especializado. Por lo que la población de estudio, procedentes de áreas endémicas y no endémicas del país, podría ser representativa de los pacientes con NCC, con un patrón de anticuerpos clase 2, a nivel nacional. Dado el diseño de este estudio, existe el riesgo de causalidad reversa debido a que no solo la presencia de cisticercos viables podría generar la liberación de antígeno (glicoproteínas) y con ello el incremento de niveles de anticuerpos contra estas glicoproteínas; sino que también el nivel de anticuerpos puede influir en la viabilidad del cisticerco. No

obstante, este estudio tuvo por objetivo evaluar la detección de anticuerpos contra glicoproteínas de *Taenia solium* por MBA como el factor de riesgo para tener o no cisticercos viables, más allá de establecer una relación causal.

VI. DISCUSIÓN INTEGRADA

Los pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB representan aproximadamente un cuarto de la población de pacientes con NCC (93) y pueden tener resultados imagenológicos no definitivos de viabilidad, por lo cual tomando en cuenta que determinar infección viable es fundamental para establecer el mejor manejo terapéutico, se necesitan herramientas que apoyen su correcto diagnóstico.

En el presente trabajo de tesis, los estudio 1 y 2 presentan resultados sobre la evaluación de variables demográficas y nivel de anticuerpos contra glicoproteínas específicas de *Taenia solium* para discernir entre infección viable y no viable en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.

En el primer estudio, los resultados mostraron que la edad y el sexo son factores demográficos asociados a la infección viable. En primer lugar, tener 40 años o menos de edad se asoció e incremento la posibilidad de tener infección viable. Se ha reportado que en pacientes la dinámica de anticuerpos puede cambiar alrededor de los 40 años, lo cual es consistente con los resultados encontrados (128,130–132). En segundo lugar, ser del sexo masculino también se asoció e incremento la posibilidad de tener infección viable. Se ha observado que la presencia de infección viable es más frecuente en varones, probablemente debido a la dinámica de interacción entre el perfil hormonal y la respuesta inmune. Un estudio reportó que las mujeres tienen a desarrollar una respuesta de tipo TH2 frente a infecciones parasitarias (138). La edad y el sexo juegan un rol importante tanto en aspectos inmunológicos como en la interacción hospedero-parásito (113,128–132).

Sobre la distribución de bandas en LLGP-EITB, se observó que tener 3 bandas se asoció a tener infección viable que solo 2 bandas positivas en western blot. Un estudio informó que los patrones de anticuerpos con un mayor número de bandas positivas en LLGP-EITB y con reactividad a glicoproteínas de la familia 8 kDa presentan en su mayoría en los pacientes con cisticercos viables (93). Otro estudio reportó que los pacientes con múltiples quistes viables expresan frecuentemente anticuerpos contra las bandas GP 50 (89 %), GP42-39 (92 %) y GP24 (90 %) en LLGP EITB (81). Por otra parte, se ha descrito que las proteínas de la familia 8 kDa, además de estar en las bandas GP21, GP18, GP14 y GP13 de LLGP-EITB, también estarían en las bandas GP42-39 y GP24 (79,122), las cuales son positivas para la población de estudio. Esto es importante dado que los pacientes con presencia de cisticercos viables frecuentemente expresan anticuerpos contra las glicoproteínas de la familia 8 kDa (93).

En el Segundo estudio, la evaluación cuantitativa de anticuerpos contra 3 glicoproteínas específicas de *Taenia solium* mostró que dos de ellas (rT24H y sTs18) estuvieron en mayor intensidad y existió una asociación entre su detección y la presencia de infección viable parenquimal o extraparenquimal. No obstante, no se vio diferencias con respecto a la medición de anticuerpos contra rGP50 entre pacientes con infección viable o no viable.

Sobre rT24H, observamos que la detección de anticuerpos contra la glicoproteína recombinante rT24H se asoció a infección viable intra o extraparenquimal. La

glicoproteína T24, de donde deriva rT24H, tiene constitutivamente un bucle extracelular grande y bastante antigénico (83). Nuestros resultados mostraron que los pacientes con quistes viables expresan en mayor intensidad anticuerpos contra rT24H. Esto podría estar relacionado con la estructura y función aun desconocida de esta glicoproteína (84). Aunque se presume que, por ser una tetraspanina, podría estar involucrada en una variedad de procesos como la activación y proliferación celular, la adhesión, la motilidad y la diferenciación, asociación con otras proteínas o servir de andamiaje para el ensamblaje de diversos complejos de proteínas en la membrana celular (83).

Asimismo, la proteína recombinante rT24H ha sido utilizada anteriormente para estudios seroepidemiológicos (ELISA, inmunocromatografía) (134,143) para detectar infección por el estadio larval de *Taenia solium* (cisticercosis). También, ha sido evaluada cualitativamente, mediante western blot, en pacientes con NCC mostrando en esta plataforma un 80 % y 66.7 % de sensibilidad para detectar infecciones viables múltiples e infecciones viables únicas, respectivamente (101). Pero no se había evaluado aún, su potencial uso cuantitativo mediante MBA para ayudar en el diagnóstico diferencial entre infección viable y no viable en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB. Nuestros resultados mostraron que rT24H sería potencialmente útil para ayudar al diagnóstico de infección viable parenquimal o extraparenquimal.

Sobre sTs18, la población evaluada presentó anticuerpos frente a este antígeno de bajo peso molecular y ello se asoció a una mayor probabilidad de tener infección

viable. Estudios previos reportaron que la banda GP24 de LLGP-EITB, de donde deriva rT24H, contiene subunidades glicoproteicas de menores pesos moleculares, las cuales correspondería a glicoproteínas de la familia 8 kDa (por ejemplo sTs18) (79,122). Esto es relevante, porque la población evaluada no presenta bandas positivas a glicoproteínas de bajo peso molecular en western blot (LLGP-EITB)(93), pero se observó que si expresan anticuerpos contra sTs18 en MBA. Mas aun, nuestros hallazgos mostraron que los pacientes con infección viable tuvieron en mayor proporción anticuerpos contra la glicoproteína sTs18 mediante MBA, en comparación con los pacientes con infección no viable. En ese sentido, es posible que los pacientes evaluados presentan anticuerpos contra antígenos de 8 kDa que posiblemente no son detectados mediante la prueba de LLGP-EITB.

Por otro lado, es relevante señalar que en la población de estudio (tanto para el estudio 1 como para el estudio 2) la determinación de la presencia de quistes se centró en el sistema nervioso central, mediante TAC y RM, y a nivel ocular (examen de fondo de ojo). Por lo cual, dado que no se descartó la presencia de quistes en otras áreas del cuerpo, existe la posibilidad de que algunos pacientes presenten quistes que pudieron de alguna forma influir en la estimulación antigénica y con ellos en la producción de anticuerpos.

Sobre la reacción cruzada en las pruebas serológicas para cisticercosis, específicamente para neurocisticercosis, este representa un desafío significativo en el diagnóstico de la enfermedad. En general, existe la posibilidad de reacción cruzada con otros céstodos como *Echinococcus granulosus* y helmintos como

Schistosoma spp y *Fasciola hepática*; llevando a resultados falsos positivos. No obstante, la prueba LLGP-EITB es considerada más específica para diferenciar anticuerpos contra *Taenia solium* vs otros parásitos, dado que utiliza antígenos más específicos que reducen la posibilidad de reacciones cruzadas (especificidad de 94 % al 100 %) (12, 73). El desarrollo de antígenos recombinantes y sintéticos específicos para *Taenia solium* (99, 100, 115, 128, 136 y 138) muestran una mayor especificidad y menor probabilidad de reaccionar con anticuerpos de otros parásitos (77). En ese sentido, se espera que los avances en el uso de antígenos recombinantes o sintéticos y técnicas más específicas, como la MBA (127), mejorarían la precisión diagnóstica.

Por otra parte, sobre el uso de proteínas recombinantes/sintéticas, la utilización de este tipo de moléculas supone dos ventajas, la primera es que para su obtención no se requiere de tener material biológico (cisticercos de *Taenia solium*) como fuente de antígeno, siendo producidos obtenidos a partir de bibliotecas de cDNA(83,135) o sintetizados químicamente (79), con menor variabilidad entre lotes (136); y sensibilidad y especificidad comparables a las glicoproteínas nativas utilizadas en la metodología LLGP-EITB (77,123–126,134). La segunda, es que son adaptables a metodologías cuantitativas como MBA (109,118,137), utilizada en el presente estudio. La adaptabilidad de estos antígenos permite la implementación de estos test en plataformas de quimioluminiscencia de tipo *point of care*, útiles en sistemas de detección primaria. A través de estas plataformas económicas es esperable que el desarrollo e implementación de estas pruebas representen un costo beneficio favorable para el sistema de salud. No obstante, aun son necesarios mayores estudios para determinar los costos exactos.

Respecto al uso de la tecnología MBA, la generación de resultados cuantitativos permite el uso de un valor de corte, mejorando así la sensibilidad en comparación con la lectura visual en otros tipos de plataformas como el western blot. No obstante, aún son necesarios mejoras en el ajuste de la técnica que permitan identificar puntos de corte con mejores resultados de sensibilidad y especificidad. Por lo mencionado, los resultados de estos dos estudios mostraron que el uso de variables demográficas (edad y sexo), la distribución de bandas y la cuantificación de anticuerpos contra rT24H y sTs18 mediante MBA serían útiles para ayudar en la diferenciación entre infección viable y no viables en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2. De esta forma, se provee resultados que fortalecen la contribución de las pruebas serológicas para discernir entre los casos con o sin infección viable en un grupo de pacientes con NCC cuyo diagnóstico de infección viable, actualmente, es más complejo.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

- Los pacientes con NCC con un patrón clase 2 en LLGP-EITB son un grupo importante dentro de la población de pacientes con NCC (93) , lo cuales pueden tener resultados imagenológicos no definitivos de viabilidad; por lo que, tomando en cuenta que determinar infección viable es fundamental para establecer el mejor manejo terapéutico, se necesitan herramientas que apoyen su correcto diagnóstico.
- Evaluar la edad y el sexo en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 permite orientar el diagnóstico de infección viable ya que aquellos con pacientes con 40 años o menos y del sexo masculino tienen mayor probabilidad de tener infección viable.
- En pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2, tener 3 bandas en lugar de 2 bandas positivas aumenta la probabilidad de tener infección viable
- La evaluación de anticuerpos contra las glicoproteínas rT24H y sTs18 por MBA es potencialmente útil para el diagnóstico diferencial de NCC viable en pacientes con NCC con un patrón de anticuerpos clase 2 en LLGP-EITB.
- La evaluación cuantitativa de anticuerpos permitió identificar anticuerpos contra glicoproteínas que no fueron posibles de evidenciar en LLGP-EITB en pacientes con un patrón clase 2. Estas discrepancias pudieron deberse a las diferencias en la sensibilidad de cada método.
- Los resultados de estos estudios proveen elementos que fortalecen la contribución de las pruebas serológicas para discernir entre los casos con o sin infección viable en un grupo de pacientes con NCC cuyo diagnóstico de infección viable, actualmente, es más complejo.

Recomendaciones:

- En nuestra investigación hemos informado que se detectaron cuantitativamente anticuerpos contra glicoproteínas de la familia 8kDa mediante MBA que no son evidenciadas por la prueba cualitativa LLGP-EITB. En ese sentido, se recomienda evaluar otras glicoproteínas de la familia 8 kDa que posiblemente pudieran generar una respuesta de anticuerpos no detectas por LLGP-EITB en estos pacientes.
- Realizar estudios adicionales incluyendo una población más amplia y comparando la respuesta de anticuerpos frente a glicoproteínas en pacientes con distintos perfiles en LLGP-EITB, es decir entre aquellos con un patrón de respuesta clase 1, 2, 3 o 4.
- Tomar en cuenta la presencia de cisticercos en otras partes del cuerpo distintas al sistema nervioso central o a nivel ocular, sobre para estudios de tipo serológicos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orrego MA, Verastegui MR, Garcia HH. Cellular and molecular basis associated with metacestode proliferation in subarachnoid neurocysticercosis. *Front Immunol.* 10 de octubre de 2022;13:1025599.
2. García HH, Gonzalez AE, Evans CAW, Gilman RH, Cysticercosis Working Group in Peru. *Taenia solium* cysticercosis. *Lancet Lond Engl.* 16 de agosto de 2003;362(9383):547-56.
3. Dixon MA, Winskill P, Harrison WE, Basáñez MG. *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: From parasite biology and immunology to diagnosis and control. *Adv Parasitol.* 2021;112:133-217.
4. Garcia HH. Neurocysticercosis. *Neurol Clin.* 2018;36(4):851-64.
5. Wang Z, Garcia RM, Huff HV, Niquen-Jimenez M, Marcos LA, Lam SK. Neurocysticercosis control for primary epilepsy prevention: a systematic review. *Pathog Glob Health.* 20 de diciembre de 2021;1-15.
6. Garcia HH, Gonzalez AE, Gilman RH. *Taenia solium* Cysticercosis and Its Impact in Neurological Disease. *Clin Microbiol Rev.* 17 de junio de 2020;33(3):e00085-19.
7. Debaq G, Moyano LM, Garcia HH, Boumediene F, Marin B, Ngoungou EB, et al. Systematic review and meta-analysis estimating association of cysticercosis and neurocysticercosis with epilepsy. *PLoS Negl Trop Dis.* marzo de 2017;11(3):e0005153.
8. Garcia HH, Gonzalez AE, Tsang VCW, Gilman RH. Neurocysticercosis: some of the essentials. *Pract Neurol.* 1 de octubre de 2006;6(5):288.
9. Sanchez-Larsen A, Monteagudo M, Lozano-Setien E, Garcia-Garcia J. Neurocysticercosis racemosa subaracnoidea gigante y ventricular: a propósito de un caso. *Rev Argent Microbiol.* 1 de julio de 2015;47(3):201-5.
10. Welch RL, Bernardin B, Albayar A. A hidden infection: Racemose neurocysticercosis causing hydrocephalus; a case report. *Int J Surg Case Rep.* septiembre de 2022;98:107477.
11. Parra-Cárdenas DM, Vargas-Cuervo MT, Montejo-Coy JA, Calderon-Vargas CM, Severiche-Bueno DF. Subarachnoid racemose neurocysticercosis with cerebellar involvement: an old friend in an infrequent location? *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2021;63:e43.

12. Garcia HH, Nash TE, Brutto OHD. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *Lancet Neurol.* 1 de diciembre de 2014;13(12):1202-15.
13. Garcia HH, Gonzalez AE, Gilman RH. Neurocysticercosis as an Eradicable Cause of Epilepsy: A Plan and Actions Are Needed. *JAMA Neurol.* 1 de septiembre de 2021;78(9):1045-6.
14. Ngowi HA, Winkler AS, Braae UC, Mdegela RH, Mkupasi EM, Kabululu ML, et al. *Taenia solium* taeniosis and cysticercosis literature in Tanzania provides research evidence justification for control: A systematic scoping review. *PLoS ONE.* 5 de junio de 2019;14(6):e0217420.
15. Ta R, Blond BN. The prevalence of and contributors to neurocysticercosis in endemic regions. *J Neurol Sci.* 15 de octubre de 2022;441:120393.
16. García HH, Gonzalez AE, Evans CAW, Gilman RH. *Taenia solium* cysticercosis. En: *Lancet.* 2003. p. 362(9383) 547-556.
17. Ito A, Nakao M, Wandra T. Human Taeniasis and cysticercosis in Asia. *Lancet Lond Engl.* 6 de diciembre de 2003;362(9399):1918-20.
18. Li T, Chen X, Wang H, Openshaw JJ, Zhong B, Felt SA, et al. High prevalence of taeniasis and *Taenia solium* cysticercosis in children in western Sichuan, China. *Acta Trop.* noviembre de 2019;199:105133.
19. Ndimubanzi PC, Carabin H, Budke CM, Nguyen H, Qian YJ, Rainwater E, et al. A systematic review of the frequency of neurocyticercosis with a focus on people with epilepsy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2 de noviembre de 2010;4(11):e870.
20. Dumas M, Grunitzky E, Deniau M, Dabis F, Bouteille B, Belo M, et al. Epidemiological study of neuro-cysticercosis in northern Togo (West Africa). *Acta Leiden.* 1989;57(2):191-6.
21. Edia-Asuke AU, Inabo HI, Mukaratirwa S, Umoh VJ, Whong CMZ, Asuke S, et al. Seroprevalence of human cysticercosis and its associated risk factors among humans in areas of Kaduna metropolis, Nigeria. *J Infect Dev Ctries.* 29 de agosto de 2015;9(8):799-805.
22. Melki J, Koffi E, Boka M, Touré A, Soumahoro MK, Jambou R. *Taenia solium* cysticercosis in West Africa: status update. *Parasite Paris Fr.* 2018;25:49.
23. Mwape KE, Blocher J, Wiefek J, Schmidt K, Dorny P, Praet N, et al. Prevalence of Neurocysticercosis in People with Epilepsy in the Eastern Province of Zambia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(8):e0003972.

24. Winkler AS, Blocher J, Auer H, Gotwald T, Matuja W, Schmutzhard E. Epilepsy and neurocysticercosis in rural Tanzania-An imaging study. *Epilepsia*. mayo de 2009;50(5):987-93.
25. Coral-Almeida M, Gabriël S, Abatih EN, Praet N, Benitez W, Dorny P. *Taenia solium* Human Cysticercosis: A Systematic Review of Sero-epidemiological Data from Endemic Zones around the World. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(7):e0003919.
26. O'Neal SE, Flecker RH. Hospitalization frequency and charges for neurocysticercosis, United States (2003-2012). *Emerg Infect Dis*. junio de 2015;21(6):969-76.
27. Serpa JA, White AC. Neurocysticercosis in the United States. *Pathog Glob Health*. septiembre de 2012;106(5):256-60.
28. Fabiani S, Bruschi F. Neurocysticercosis in Europe: Still a public health concern not only for imported cases. *Acta Trop*. octubre de 2013;128(1):18-26.
29. Stelzle D, Abraham A, Kaminski M, Schmidt V, De Meijere R, Bustos J, et al. Clinical characteristics and management of neurocysticercosis patients: a retrospective assessment of case reports from Europe. *J Travel Med*. 12 de octubre de 2022;taac102.
30. Coyle CM, Mahanty S, Zunt JR, Wallin MT, Cantey PT, White AC, et al. Neurocysticercosis: Neglected but Not Forgotten. *PLoS Negl Trop Dis*. 29 de mayo de 2012;6(5):e1500.
31. Rodríguez-Rivas R, Flisser A, Norcia LF, Hamamoto Filho PT, Bonilla-Aldana DK, Rodríguez-Morales AJ, et al. Neurocysticercosis in Latin America: Current epidemiological situation based on official statistics from four countries. *PLoS Negl Trop Dis*. agosto de 2022;16(8):e0010652.
32. Alva-Díaz C, Navarro-Flores A, Rivera-Torrejon O, Huerta-Rosario A, Molina RA, Velásquez-Rimachi V, et al. Prevalence and incidence of epilepsy in Latin America and the Caribbean: A systematic review and meta-analysis of population-based studies. *Epilepsia*. abril de 2021;62(4):984-96.
33. Bruno E, Bartoloni A, Zammarchi L, Strohmeyer M, Bartalesi F, Bustos JA, et al. Epilepsy and neurocysticercosis in Latin America: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(10):e2480.
34. Del Brutto OH, Arroyo G, Del Brutto VJ, Zambrano M, García HH. On the relationship between calcified neurocysticercosis and epilepsy in an endemic village: A large-scale, computed tomography-based population study in rural Ecuador. *Epilepsia*. noviembre de 2017;58(11):1955-61.

35. 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.* 2018;
36. Moyano LM, Saito M, Montano SM, Gonzalez 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.
37. Diaz F, Garcia HH, Gilman RH, Gonzales AE, Castro M, Tsang VC, et al. Epidemiology of taeniasis and cysticercosis in a Peruvian village. The Cysticercosis Working Group in Peru. *Am J Epidemiol.* 15 de abril de 1992;135(8):875-82.
38. García HH, Gilman RH, Gonzalez AE, Verastegui M, Rodriguez S, Gavidia C, et al. Hyperendemic human and porcine *Taenia solium* infection in Perú. *Am J Trop Med Hyg.* marzo de 2003;68(3):268-75.
39. Moyano LM, O'Neal SE, Ayvar V, Gonzalez G, Gamboa R, Vilchez P, et al. High Prevalence of Asymptomatic Neurocysticercosis in an Endemic Rural Community in Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* diciembre de 2016;10(12):e0005130.
40. Moskowitz J, Mendelsohn G. Neurocysticercosis. *Arch Pathol Lab Med.* 1 de octubre de 2010;134(10):1560-3.
41. Garcia HH, Martinez M, Gilman R, Herrera G, Tsang VC, Pilcher JB, et al. Diagnosis of cysticercosis in endemic regions. The Cysticercosis Working Group in Peru. *Lancet Lond Engl.* 31 de agosto de 1991;338(8766):549-51.
42. Scharf D. Neurocysticercosis. Two hundred thirty-eight cases from a California hospital. *Arch Neurol.* julio de 1988;45(7):777-80.
43. del la Garza Y, Graviss EA, Daver NG, Gambarin KJ, Shandera WX, Schantz PM, et al. Epidemiology of neurocysticercosis in Houston, Texas. *Am J Trop Med Hyg.* octubre de 2005;73(4):766-70.
44. Carabin H, Ndimubanzi PC, Budke CM, Nguyen H, Qian Y, Cowan LD, et al. Clinical manifestations associated with neurocysticercosis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* mayo de 2011;5(5):e1152.
45. Garcia HH, Verastegui MR, Arroyo G, Bustos JA, Gilman RH. New animal models of neurocysticercosis can help understand epileptogenesis in neuroinfection. *Front Mol Neurosci.* 16 de noviembre de 2022;15:1039083.
46. Duque KR, Escalaya AL, Zapata W, Burneo JG, Bustos JA, Gonzales I, et al. Clinical topography relationship in patients with parenchymal neurocysticercosis and seizures. *Epilepsy Res.* septiembre de 2018;145:145-52.

47. Nash TE, Bustos JA, Garcia HH, Cysticercosis Working Group in Perú. Disease Centered Around Calcified Taenia solium Granuloma. *Trends Parasitol.* 2017;33(1):65-73.
48. Nash TE, Mahanty S, Loeb JA, Theodore WH, Friedman A, Sander JW, et al. Neurocysticercosis: A natural human model of epileptogenesis. *Epilepsia.* 2015;56(2):177-83.
49. Bustos JA, Arroyo G, Gilman RH, Soto-Becerra P, Gonzales I, Saavedra H, et al. Frequency and Determinant Factors for Calcification in Neurocysticercosis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2 de noviembre de 2021;73(9):e2592-600.
50. Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA, Porras MA, Vargas V, Cjuno RA, et al. [Neurocysticercosis diagnosis and management in Peru]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* diciembre de 2010;27(4):586-91.
51. Mahale RR, Mehta A, Rangasetty S. Extraparenchymal (Racemose) Neurocysticercosis and Its Multitude Manifestations: A Comprehensive Review. *J Clin Neurol Seoul Korea.* julio de 2015;11(3):203-11.
52. Toledo O, C M, Y ML, N RC, E S, G F, et al. Human Extraparenchymal Neurocysticercosis: The Control of Inflammation Favors the Host...but Also the Parasite. *Front Immunol [Internet].* 16 de noviembre de 2018 [citado 10 de enero de 2023];9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30505305/>
53. Gonzales I, Rivera JT, Garcia HH, Peru for TCWG in. Pathogenesis of Taenia solium taeniasis and cysticercosis. *Parasite Immunol.* 2016;38(3):136-46.
54. Khumbatta M, Firozgary B, Twardy DJ, Weinstock J, Firozgary G, Bhatena Z, et al. Somatostatin negatively regulates parasite burden and granulomatous responses in cysticercosis. *BioMed Res Int.* 2014;2014:247182.
55. Garcia HH, Rodriguez S, Friedland JS, Cysticercosis Working Group in Peru. Immunology of Taenia solium taeniasis and human cysticercosis. *Parasite Immunol.* agosto de 2014;36(8):388-96.
56. Tokushige SI, Nagashima Y, Maekawa R, Shiio Y. Sequential magnetic resonance imaging changes in neurocysticercosis. *ANZ J Surg.* mayo de 2018;88(5):512-4.
57. Nash TE, Mahanty S, Garcia HH, Cysticercosis Group in Peru. Corticosteroid use in neurocysticercosis. *Expert Rev Neurother.* agosto de 2011;11(8):1175-83.

58. Garcia HH, Pretell EJ, Gilman RH, Martinez SM, Moulton LH, Del Brutto OH, et al. A trial of antiparasitic treatment to reduce the rate of seizures due to cerebral cysticercosis. *N Engl J Med*. 15 de enero de 2004;350(3):249-58.
59. Garcia HH, Gonzales I, Lescano AG, Bustos JA, Zimic M, Escalante D, et al. Efficacy of combined antiparasitic therapy with praziquantel and albendazole for neurocysticercosis: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. agosto de 2014;14(8):687-95.
60. Nash T. Edema surrounding calcified intracranial cysticerci: clinical manifestations, natural history, and treatment. *Pathog Glob Health*. septiembre de 2012;106(5):275-9.
61. Fleury A, Dessein A, Preux PM, Dumas M, Tapia G, Larralde C, et al. Symptomatic human neurocysticercosis--age, sex and exposure factors relating with disease heterogeneity. *J Neurol*. julio de 2004;251(7):830-7.
62. Del Brutto OH, García E, Talámas O, Sotelo J. Sex-related severity of inflammation in parenchymal brain cysticercosis. *Arch Intern Med*. marzo de 1988;148(3):544-6.
63. Huerta L, Terrazas LI, Sciutto E, Larralde C. Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol*. junio de 1992;78(3):471-6.
64. Larralde C, Morales J, Terrazas I, Govezensky T, Romano MC. Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. junio de 1995;52(6):575-80.
65. Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltrán C, et al. Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Vet Parasitol*. 30 de agosto de 2002;108(1):41-8.
66. Butterworth AE, Curry AJ, Dunne DW, Fulford AJ, Kimani G, Kariuki HC, et al. Immunity and morbidity in human schistosomiasis mansoni. *Trop Geogr Med*. 1994;46(4 Spec No):197-208.
67. Rocha MO, Pedroso ER, Greco DB, Lambertucci JR, Katz N, Rocha RL, et al. Pathogenetic factors of acute schistosomiasis mansoni: correlation of worm burden, IgE, blood eosinophilia and intensity of clinical manifestations. *Trop Med Int Health TM IH*. abril de 1996;1(2):213-20.
68. Liu YJ, Li QZ, Hao YH. Morphological changes to early stage *Taenia solium* cysticerci following oxfendazole treatment. *Vet J Lond Engl* 1997. enero de 2003;165(1):73-7.
69. Willms K. Morphology and biochemistry of the pork tapeworm, *Taenia solium*. *Curr Top Med Chem*. 2008;8(5):375-82.

70. Ambrosio J, Landa A, Merchant MT, Laclette JP. Protein uptake by cysticerci of *Taenia crassiceps*. *Arch Med Res*. 1994;25(3):325-30.
71. Aldridge JR, Jennette MA, Kuhn RE. Uptake and secretion of host proteins by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol*. octubre de 2006;92(5):1101-2.
72. Landa A, Merchant MT, Willms K, Laclette JP. Purification and ultrastructural localization of surface glycoproteins of *Taenia solium* (Cestoda) cysticerci. *Int J Parasitol*. 1 de abril de 1994;24(2):265-9.
73. Tsang VC, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis*. enero de 1989;159(1):50-9.
74. White AC. Neurocysticercosis: updates on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and management. *Annu Rev Med*. 2000;51:187-206.
75. White AC, Garcia HH. Updates on the management of neurocysticercosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2018;31(5):377-82.
76. da Costa GCV, Peralta RHS, Kalume DE, Alves ALGM, Peralta JM. A gel-free proteomic analysis of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* cysticerci vesicular extracts. *Parasitol Res*. diciembre de 2018;117(12):3781-90.
77. 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*. mayo de 2014;52(5):1429-34.
78. Greene RM, Wilkins PP, Tsang VC. Diagnostic glycoproteins of *Taenia solium* cysts share homologous 14- and 18-kDa subunits. *Mol Biochem Parasitol*. 30 de abril de 1999;99(2):257-61.
79. Hancock K, Khan A, Williams FB, Yushak ML, Pattabhi S, Noh J, et al. Characterization of the 8-Kilodalton Antigens of *Taenia solium* Metacestodes and Evaluation of Their Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis. *J Clin Microbiol*. junio de 2003;41(6):2577-86.
80. Hancock K, Pattabhi S, Greene RM, Yushak ML, Williams F, Khan A, et al. Characterization and cloning of GP50, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol*. enero de 2004;133(1):115-24.
81. Proaño-Narvaez JV, Meza-Lucas A, Mata-Ruiz O, García-Jerónimo RC, Correa D. Laboratory Diagnosis of Human Neurocysticercosis: Double-Blind Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Electroimmunotransfer Blot Assay. *J Clin Microbiol*. junio de 2002;40(6):2115-8.

82. Aguilar-Rebolledo F, Meza-Lucas A, Torres J, Cedillo-Rivera R, Enciso A, Garcia RC, et al. Evaluation of the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay for diagnosis of neurocysticercosis in children. *J Child Neurol.* junio de 2002;17(6):416-20.
83. Hancock K, Pattabhi S, Whitfield FW, Yushak ML, Lane WS, Garcia HH, et al. Characterization and cloning of T24, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol.* mayo de 2006;147(1):109-17.
84. Lundström J, Salazar-Anton F, Sherwood E, Andersson B, Lindh J. Analyses of an Expressed Sequence Tag Library from *Taenia solium*, *Cysticercus*. *PLoS Negl Trop Dis.* 21 de diciembre de 2010;4(12):e919.
85. Greene RM, Hancock K, Wilkins PP, Tsang VC. *Taenia solium*: molecular cloning and serologic evaluation of 14- and 18-kDa related, diagnostic antigens. *J Parasitol.* octubre de 2000;86(5):1001-7.
86. Ferrer E, Bonay P, Foster-Cuevas M, González LM, Dávila I, Cortéz MM, et al. Molecular cloning and characterisation of Ts8B1, Ts8B2 and Ts8B3, three new members of the *Taenia solium* metacestode 8kDa diagnostic antigen family. *Mol Biochem Parasitol.* 1 de marzo de 2007;152(1):90-100.
87. Garcia HH, O'Neal SE, Noh J, Handali S. Laboratory Diagnosis of Neurocysticercosis (*Taenia solium*). *J Clin Microbiol.* 27 de agosto de 2018;56(9):e00424-18.
88. Brutto D, H O. Neurocysticercosis: A Review. *Sci World J.* 4 de enero de 2012;2012:e159821.
89. Garcia HH, Del Brutto O. Antiparasitic treatment of neurocysticercosis - the effect of cyst destruction in seizure evolution. *Epilepsy Behav EB.* noviembre de 2017;76:158-62.
90. Guzman C, Garcia HH, Cysticercosis Working Group in Peru. Current Diagnostic Criteria for Neurocysticercosis. *Res Rep Trop Med.* 2021;12:197-203.
91. García HH, Del Brutto OH. Imaging findings in neurocysticercosis. *Acta Trop.* junio de 2003;87(1):71-8.
92. Del Brutto OH, Nash TE, White AC, Rajshekhar V, Wilkins PP, Singh G, et al. Revised diagnostic criteria for neurocysticercosis. *J Neurol Sci.* 15 de enero de 2017;372:202-10.
93. Arroyo G, Rodriguez S, Lescano AG, Alroy KA, Bustos JA, Santivañez S, et al. Antibody Banding Patterns of the Enzyme-Linked Immunoelectrotransfer Blot and Brain Imaging Findings in Patients With Neurocysticercosis. *Clin Infect Dis.* 6 de enero de 2018;66(2):282-8.

94. Garcia HH, Herrera G, Gilman RH, Tsang VC, Pilcher JB, Diaz JF, et al. Discrepancies between cerebral computed tomography and western blot in the diagnosis of neurocysticercosis. The Cysticercosis Working Group in Peru (Clinical Studies Coordination Board). *Am J Trop Med Hyg.* febrero de 1994;50(2):152-7.
95. Garcia HH, Rodriguez S, Gilman RH, Gonzalez AE, Tsang VCW, Cysticercosis Working Group in Peru. Neurocysticercosis: is serology useful in the absence of brain imaging? *Trop Med Int Health TM IH.* agosto de 2012;17(8):1014-8.
96. CDC. Muestras de suero/plasma - Detección de anticuerpos - información general. DPDx -Identificación de laboratorio de parásito de interés para la salud pública [Internet]. 2019 [citado 19 de junio de 2024]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/serum/antibodydetection.html>
97. Rodriguez S, Wilkins P, Dorny P. Immunological and molecular diagnosis of cysticercosis. *Pathog Glob Health.* septiembre de 2012;106(5):286-98.
98. Wilson M, Bryan RT, Fried JA, Ware DA, Schantz PM, Pilcher JB, et al. Clinical evaluation of the cysticercosis enzyme-linked immunoelectrotransfer blot in patients with neurocysticercosis. *J Infect Dis.* noviembre de 1991;164(5):1007-9.
99. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud. Directrices de la OMS sobre el manejo clínico de la neurocisticercosis por *Taenia solium*. 2022;
100. Garcia HH, Castillo Y, Gonzales I, Bustos JA, Saavedra H, Jacob L, et al. Low sensitivity and frequent cross-reactions in commercially available antibody detection ELISA assays for *Taenia solium* cysticercosis. *Trop Med Int Health TM IH.* enero de 2018;23(1):101-5.
101. Dermauw V, Carabin H, Cissé A, Millogo A, Tarnagda Z, Ganaba R, et al. Evaluating the Recombinant T24H Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer 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.* febrero de 2018;98(2):565-9.
102. Hernández-González A, Noh J, Perteguer MJ, Gárate T, Handali S. Comparison of T24H-his, GST-T24H and GST-Ts8B2 recombinant antigens in western blot, ELISA and multiplex bead-based assay for diagnosis of neurocysticercosis. *Parasit Vectors.* 15 de mayo de 2017;10(1):237.
103. Harrison LJ, Joshua GW, Wright SH, Parkhouse RM. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunol.* julio de 1989;11(4):351-70.

104. Brandt JR, Geerts S, De Deken R, Kumar V, Ceulemans F, Brijs L, et al. A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. *Int J Parasitol.* julio de 1992;22(4):471-7.
105. Garcia HH, Parkhouse RM, Gilman RH, Montenegro T, Bernal T, Martinez SM, et al. Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000;94(6):673-6.
106. Elshal MF, McCoy JP. Multiplex Bead Array Assays: Performance Evaluation and Comparison of Sensitivity to ELISA. *Methods San Diego Calif.* abril de 2006;38(4):317-23.
107. Graham H, Chandler DJ, Dunbar SA. The genesis and evolution of bead-based multiplexing. *Methods.* 1 de abril de 2019;158:2-11.
108. Moss DM, Handali S, Chard AN, Trinies V, Bullard S, Wiegand RE, et al. Detection of Immunoglobulin G Antibodies to *Taenia solium* Cysticercosis Antigen Glutathione-S-Transferase-rT24H in Malian Children Using Multiplex Bead Assay. *Am J Trop Med Hyg.* mayo de 2018;98(5):1408-12.
109. Hernández-González A, González-Bertolín B, Urrea L, Fleury A, Ferrer E, Siles-Lucas M, et al. Multiple-bead assay for the differential serodiagnosis of neglected human cestodiasis: Neurocysticercosis and cystic echinococcosis. *PLoS Negl Trop Dis.* enero de 2022;16(1):e0010109.
110. Garcia HH. Neurocysticercosis. *Neurol Clin.* noviembre de 2018;36(4):851-64.
111. Hubert K, Andriantsimhavandy A, Michault A, Frosch M, Mühlischlegel FA. Serological Diagnosis of Human Cysticercosis by Use of Recombinant Antigens from *Taenia solium* Cysticerci. *Clin Diagn Lab Immunol.* julio de 1999;6(4):479-82.
112. Nash TE, Garcia HH. Diagnosis and treatment of neurocysticercosis. *Nat Rev Neurol.* 13 de septiembre de 2011;7(10):584-94.
113. Prodjinotho UF, Lema J, Lacorcía M, Schmidt V, Vejzagic N, Sikasunge C, et al. Host immune responses during *Taenia solium* Neurocysticercosis infection and treatment. *PLoS Negl Trop Dis.* abril de 2020;14(4):e0008005.
114. Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA, Porras MA, Vargas V, Cjuno RA, et al. Diagnóstico y manejo de la neurocisticercosis en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* diciembre de 2010;27:586-91.
115. World Health Organization. Taeniasis/Cysticercosis [Internet]. 2021 [citado 5 de enero de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>

116. Bustos J, Gonzales I, Saavedra H, Handali S, Garcia HH. Neurocysticercosis. A frequent cause of seizures, epilepsy, and other neurological morbidity in most of the world. *J Neurol Sci.* 15 de agosto de 2021;427:117527.
117. O'Neal SE, Pray IW, Vilchez P, Gamboa R, Muro C, Moyano LM, et al. Geographically Targeted Interventions versus Mass Drug Administration to Control *Taenia solium* Cysticercosis, Peru. *Emerg Infect Dis.* septiembre de 2021;27(9):2389-98.
118. Garcia HH, O'Neal SE, Noh J, Handali S. Laboratory Diagnosis of Neurocysticercosis (*Taenia solium*). *J Clin Microbiol* [Internet]. 27 de agosto de 2018 [citado 11 de diciembre de 2020];56(9). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6113464/>
119. Kelvin EA, Carpio A, Bagiella E, Leslie D, Leon P, Andrews H, et al. Seizure in people with newly diagnosed active or transitional neurocysticercosis. *Seizure.* marzo de 2011;20(2):119-25.
120. Zea-Vera A, Cordova EG, Rodriguez S, Gonzales I, Pretell EJ, Castillo Y, et al. Parasite antigen in serum predicts the presence of viable brain parasites in patients with apparently calcified cysticercosis only. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* octubre de 2013;57(7):e154-159.
121. Romo ML, Hernández M, Astudillo OG, Diego G, de-la-Rosa-Arana JL, Meza-Lucas A, et al. Diagnostic value of glycoprotein band patterns of three serologic enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assays for neurocysticercosis. *Parasitol Res.* agosto de 2020;119(8):2521-9.
122. Plancarte A, Hirota C, Martínez-Ocaña J, Mendoza-Hernández G, Zenteno E, Flisser A. Characterization of GP39-42 and GP24 antigens from *Taenia solium* cysticerci and of their antigenic GP10 subunit. *Parasitol Res.* agosto de 1999;85(8-9):680-4.
123. Lee YM, Handali S, Hancock K, Patabhi S, Kovalenko VA, Levin A, et al. Serologic diagnosis of human *Taenia solium* cysticercosis by using recombinant and synthetic antigens in QuickELISA™. *Am J Trop Med Hyg.* abril de 2011;84(4):587-93.
124. Scheel CM, Khan A, Hancock K, Garcia HH, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Serodiagnosis of neurocysticercosis using synthetic 8-kD proteins: comparison of assay formats. *Am J Trop Med Hyg.* octubre de 2005;73(4):771-6.
125. 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 CVI.* enero de 2010;17(1):68-72.

126. Handali S, Moss D, McAuliffe IT, Noh J, Lee YM, Rodriguez S, et al. Development of a Luminex based assay for detection of antibodies against *Taenia solium* cysts and adult worms, p 19. 60th Annu. Meet Am Soc Trop Med Hyg Am Soc Trop Med Hyg Phila PA. 2011;
127. Bueno EC, Scheel CM, Vaz AJ, Machado LR, Livramento JA, Takayanagui OM, et al. Application of synthetic 8-kD and recombinant GP50 antigens in the diagnosis of neurocysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg.* 1 de marzo de 2005;72(3):278-83.
128. Praet N, Speybroeck N, Rodriguez-Hidalgo R, Benitez-Ortiz W, Berkvens D, Brandt J, et al. Age-related infection and transmission patterns of human cysticercosis. *Int J Parasitol.* enero de 2010;40(1):85-90.
129. Escobedo G, Camacho-Arroyo I, Nava-Luna P, Olivos A, Pérez-Torres A, Leon-Cabrera S, et al. Progesterone induces mucosal immunity in a rodent model of human taeniosis by *Taenia solium*. *Int J Biol Sci.* 2011;7(9):1443-56.
130. Felizardo AA, Marques DVB, Caldas IS, Gonçalves RV, Novaes RD. Could age and aging change the host response to systemic parasitic infections? A systematic review of preclinical evidence. *Exp Gerontol.* 2018;104:17-27.
131. Djukic M, Nau R, Sieber C. [The ageing immune system]. *Dtsch Med Wochenschr* 1946. octubre de 2014;139(40):1987-90.
132. Cavellani CL, Faleiros ACG, Lino R de S, Dos Reis MA, Teixeira V de PA. Cysticercosis in the elderly. *Ann Diagn Pathol.* octubre de 2007;11(5):330-3.
133. Lardeux F, Torrico G, Aliaga C. Calculation of the ELISA's cut-off based on the change-point analysis method for detection of *Trypanosoma cruzi* infection in Bolivian dogs in the absence of controls. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* agosto de 2016;111(8):501-4.
134. Handali S, Klarman M, Gaspard AN, Dong XF, Laborde R, Noh J, et al. Development and evaluation of a magnetic immunochromatographic test to detect *Taenia solium*, which causes taeniasis and neurocysticercosis in humans. *Clin Vaccine Immunol CVI.* abril de 2010;17(4):631-7.
135. Handali S, Gonzalez AE, Hancock K, Garcia HH, Roberts JM, Gilman RH, et al. Porcine antibody responses to *taenia solium* antigens rGp50 and sTs18var1. *Am J Trop Med Hyg.* septiembre de 2004;71(3):322-6.
136. Plancarte A, Fexas M, Flisser A. Reactivity in ELISA and dot blot of purified GP24, an immunodominant antigen of *Taenia solium*, for the diagnosis of human neurocysticercosis. *Int J Parasitol.* agosto de 1994;24(5):733-8.
137. Hernández-González A, Noh J, Perteguer MJ, Gárate T, Handali S. Comparison of T24H-his, GST-T24H and GST-Ts8B2 recombinant antigens

in western blot, ELISA and multiplex bead-based assay for diagnosis of neurocysticercosis. *Parasit Vectors*. 15 de mayo de 2017;10(1):237.

138. Allen JE, Sutherland TE. Host protective roles of type 2 immunity: Parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin. *Semin Immunol*. agosto de 2014;26(4):329-40.
139. Garcia HH, Harrison LJ, Parkhouse RM, Montenegro T, Martinez SM, Tsang VC, et al. A specific antigen-detection ELISA for the diagnosis of human neurocysticercosis. The Cysticercosis Working Group in Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. agosto de 1998;92(4):411-4.
140. Butala C, Brook TM, Majekodunmi AO, Welburn SC. Neurocysticercosis: Current Perspectives on Diagnosis and Management. *Front Vet Sci* [Internet]. 2021 [citado 28 de marzo de 2022];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2021.615703>
141. Chung MY, Kim YW, Bae SM, Kwon EH, Chaturvedi PK, Battogtokh G, et al. Development of a Bead-Based Multiplex Genotyping Method for Diagnostic Characterization of HPV Infection. *PLoS ONE*. 29 de febrero de 2012;7(2):e32259.
142. Singh SK, Singh AK, Prasad KN, Singh A, Singh A, Rai RP, et al. Expression of adhesion molecules, chemokines and matrix metalloproteinases (MMPs) in viable and degenerating stage of *Taenia solium* metacestode in swine neurocysticercosis. *Vet Parasitol*. 30 de noviembre de 2015;214(1):59-66.
143. Salim L, Ang A, Handali S, Cysticercosis Working Group in Papua, Tsang VCW. Seroepidemiologic survey of cysticercosis-taeniasis in four central highland districts of Papua, Indonesia. *Am J Trop Med Hyg*. marzo de 2009;80(3):384-8.
144. Deckers N, Dorny P, Kanobana K, Vercruyssen J, Gonzalez AE, Ward B, et al. Use of ProteinChip technology for identifying biomarkers of parasitic diseases: the example of porcine cysticercosis (*Taenia solium*). *Exp Parasitol*. diciembre de 2008;120(4):320-9.
145. 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. *Pathog Basel Switz*. 6 de abril de 2023;12(4):566.
146. Arroyo G, Bustos JA, Lescano AG, Gonzales I, Saavedra H, Pretell EJ, et al. Improved Diagnosis of Viable Parenchymal Neurocysticercosis by Combining Antibody Banding Patterns on Enzyme-Linked Immunelectrotransfer Blot (EITB) with Antigen Enzyme-Linked

Immunosorbent Assay (ELISA). *J Clin Microbiol.* 16 de febrero de 2022;60(2):e0155021.

147. Sotelo J, Guerrero V, Rubio F. Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms. A study of 753 cases. *Arch Intern Med.* marzo de 1985;145(3):442-5.

ANEXOS

ANEXO 1. Carta de aprobación del comité de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA 554 - 48 - 22

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 **EXPEDITA**.

Título del Proyecto : "Serología para la detección de infección viable en pacientes con neurocisticercosis que expresan anticuerpos contra GP50, GP42-39, GP24 en LLGP-EITB (patrón de anticuerpos clase II)".

Código de inscripción : 208150

Investigadora principal : Andrea Mercedes, Rivera Santillan de Acosta

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Proyecto de investigación, versión recibida en fecha 30 de noviembre del 2022.

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. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el 06 de diciembre de 2023.

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

Lima, 07 de diciembre del 2022.



Dr. Luis Arturo Pedro Suana Ugarte
Presidente

Comité Institucional de Ética en Investigación