

ORIGINAL BREVE

USO DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN LA PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IgM CONTRA *Taenia solium*

L. Agueda Perez ^{1,a*}, Yesenia Castillo ^{1,a}, Cindy Espinoza ^{1,a}, Luz M. Toribio ^{1,4,a}, Yesica Santos ^{1,b}, Kevin S. Martel ^{1,c}, Patricia P. Wilkins ^{2,d}, Javier A. Bustos ^{3,4,e}, Hector H. García ^{1,3,4,f}, Yagahira E. Castro-Sesquen ^{5,g} por el Grupo de Trabajo en Cisticercosis en Perú*

¹ Laboratorio de Inmunología Parasitaria, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

² Parasitology Services, Big Pine Key, Florida, Estados Unidos.

³ Centro de Salud Global, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

⁴ Unidad de Cisticercosis, Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, Lima, Perú.

⁵ Department of International Health, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Estados Unidos.

^a Biólogo; ^b bachiller en Tecnología Médica; ^c bachiller en Biología; ^d PhD en Bioquímica y Biología Molecular; ^e médico, maestría en Salud Pública; ^f médico, PhD en Salud Pública; ^g microbióloga, PhD en Salud Pública.

* Grupo de Trabajo en Cisticercosis en Perú: otros miembros incluyen: Robert H. Gilman, MD, DTMH; Armando E. Gonzalez, DVM, PhD; y Victor C.W. Tsang, PhD (Coordination Board); Silvia Rodriguez, MSc; Isidro Gonzalez, MD; Herbert Saavedra, MD; Sofia Sanchez, MD; Manuel Martinez, MD (Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, Lima, Perú); Manuela Verastegui, PhD; Mirko Zimic, PhD; Saul Santivañez, MD, PhD; Holger Mayta, PhD; Monica Pajuelo, PhD; Gianfranco Arroyo, DVM, MSc (Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú); Maria T. Lopez, DVM, PhD; Luis Gomez, DVM; Ana Vargas, DVM; Cesar M. Gavidia, DVM, PhD (School of Veterinary Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú); Luz M. Moyano, MD; Ricardo Gamboa, MSc; Claudio Muro; Percy Vichez, MSc (Cysticercosis Elimination Program, Tumbes, Perú); Seth O'Neal, MD, MPH (Oregon Health and Sciences University, Portland, USA); Sukwan Handali, MD; John Noh (Centers for Disease Control, Atlanta, USA); Theodore E. Nash, médico; Siddhartha Mahanty, MD, PhD (NIAID, NIH, Bethesda, MD); Jon Friedland (Imperial College, London, UK).

RESUMEN

Se evaluó el uso de partículas magnéticas acopladas a proteína L para la concentración y purificación de anticuerpos monoclonales inmunoglobulina M (mIgM) contra *Taenia solium*. Se evaluaron tres métodos de concentración y diferentes tiempos de elución y se optimizó la proporción de partículas a la proporción de mIgM. Demostramos que: 1) con el uso partículas magnéticas no se requiere de una concentración previa de mIgM, lo que disminuye la manipulación de los anticuerpos y mejora la recuperación, 2) se puede omitir el uso de un tampón de unión, ya que el pH de la mayoría de los sobrenadantes de cultivo celular son neutros, y 3) se necesitan tiempos de elución más largos (~45 minutos) para aumentar la recuperación a un nivel mayor a 80%. El estudio demuestra que el uso de partículas magnéticas acopladas a proteína L es una herramienta simple y eficiente para la concentración y purificación de mIgM.

Palabras clave: Purificación; Concentración; *Taenia solium*; Cisticercosis; Anticuerpos Monoclonales; Perú (fuente: DeCS BIREME).

USE OF MAGNETIC PARTICLES IN THE PURIFICATION OF IgM ANTIBODIES AGAINST *Taenia solium*

ABSTRACT

The use of L protein coupled magnetic particles for the concentration and purification of immunoglobulin M (mIgM) monoclonal antibodies against *Taenia solium* was evaluated. Three concentration methods and different elution times were evaluated and the ratio of particles to the ratio of mIgM was optimized. It is demonstrated that: 1) with the use of magnetic particles, a previous concentration of mIgM is not required, which reduces the manipulation of the antibodies and improves the recovery, 2) the use of a binding buffer can be omitted, since the pH of most cell culture supernatants are neutral, and 3) longer elution times (~ 45 minutes) are needed to increase recovery to a level greater than 80%. The study demonstrates that the use of L protein-coupled magnetic particles is a simple and efficient tool for mIgM concentration and purification.

Keywords: Purification; Concentration; *Taenia solium*; Cysticercosis; Monoclonal Antibodies; Peru (source: MeSH NLM).

Citar como: Perez LA, Castillo Y, Espinoza C, Toribio LM, Santos Y, Martel KS, et al. Uso de partículas magnéticas en la purificación de anticuerpos IgM contra *Taenia solium*. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;37(1):104-9. Doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.371.4628>

Correspondencia: Yagahira Castro-Sesquen; 13229 Orsay St, Clarksburg, Maryland, Estados Unidos; yagahiraelizabeth@hotmail.com

El presente estudio forma parte de la tesis: Perez LA. Desarrollo de una prueba rápida basada en nanopartículas para el diagnóstico de neurocisticercosis humana [Tesis de Maestría]. Lima, Perú: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2020.

Recibido: 27/06/2019
Aprobado: 11/12/2019
En línea: 19/03/2020

INTRODUCCIÓN

La neurocisticercosis (NCC) es una infección del sistema nervioso causada por la invasión del estadio larval de *Taenia solium* ⁽¹⁾, y es considerada una de las principales causas infecciosas de epilepsia ⁽²⁾. La detección de antígenos circulantes es importante en el diagnóstico definitivo de la NCC pues permite detectar una infección activa ⁽²⁻⁴⁾. El uso de anticuerpos monoclonales (AcM) mejora la especificidad de las técnicas de detección de antígenos, pero pocos AcM existen para mejorar el diagnóstico ⁽⁵⁾.

El Grupo de Trabajo en Cisticercosis en Perú produjo y caracterizó 21 anticuerpos monoclonales (AcM) que reconocen antígenos de *T. solium* en suero y orina de pacientes infectados ⁽⁵⁻⁶⁾. Ocho de los AcM generados son anticuerpos del isotipo M (mIgM). Los mIgM generan una señal más intensa (densidad óptica >3,0) en pruebas de ELISA de captura de antígenos en comparación a los anticuerpos tipo Inmunoglobulina G (IgG). Se postula que esta diferencia se debe a la presencia de secuencias de aminoácidos repetidas en tándem en los antígenos del parásito ⁽⁶⁾, que son reconocidos de manera más eficiente por los anticuerpos inmunoglobulina (IgG) ⁽⁷⁾.

Los procedimientos de purificación y concentración de inmunoglobulinas se desarrollan principalmente para IgG ⁽⁸⁻¹⁰⁾. Sin embargo, estas metodologías pueden no tener la misma eficacia para la purificación de IgM. Debido a su gran tamaño, las IgM (~950 kDa) son más susceptibles que la IgG (~150 kDa) a la desnaturalización y precipitación por cambios de temperatura, pH y conductividad, incluso a bajas concentraciones ⁽¹¹⁾.

La proteína A y la proteína G se han utilizado durante mucho tiempo en la purificación de anticuerpos, principalmente tipo IgG, que tengan expuesta la fracción constante (Fc) dado que interactúan con dicha fracción ⁽¹²⁾. Sin embargo, ninguna de estas dos proteínas puede ser usada para la purificación de IgM debido a que en este anticuerpo la Fc se encuentra oculta ⁽¹²⁻¹³⁾. A diferencia de la proteína A/G, la proteína L (PL) se une al dominio variable de la cadena ligera kappa la cual está expuesta en todos los isotipos de anticuerpos sin interferir con el sitio de unión al antígeno y, ofrece la ventaja adicional de no reaccionar con la IgG bovina y caprina que generalmente están presentes en sobrenadantes de cultivos celulares enriquecidos con suero de estos animales ⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

El uso de partículas magnéticas (PM) puede reemplazar los pasos de pre-concentración, disminuyendo así la manipulación de los anticuerpos. Con el uso de las PM la unión del anticuerpo se produce en solución, y no en una superficie estática como en las columnas cromatográficas, proporcionando una interacción tridimensional de la IgM con la proteína L. El uso de las PM permite la separación de IgM purificada usando una fuerza magnética o un magneto sin

MENSAJES CLAVE

Motivación para realizar el estudio: El uso de anticuerpos monoclonales mejora la especificidad de las técnicas de detección de antígenos en neurocisticercosis, pero pocos anticuerpos monoclonales existen para mejorar el diagnóstico.

Principales hallazgos: El uso de partículas magnéticas acopladas a proteína L permite la purificación de anticuerpos monoclonales tipo IgM mediante el uso de fuerza magnética sin la necesidad de centrifugación o precipitación disminuyendo así los pasos de manipulación, lo que evita su pronta desnaturalización y precipitación.

Implicancias: La optimización de una plataforma sencilla basada en partículas magnéticas y proteína L permitió la concentración y purificación de anticuerpos IgM a partir de sobrenadante de hibridomas. Dicha plataforma puede ser adaptada a laboratorios que no cuenten con infraestructura especializada, ya que no requiere el uso de columnas o ultracentrifugas.

la necesidad de centrifugación o precipitación lo que hace que esta metodología sea aplicable tanto en la purificación a pequeña escala como a gran escala, en laboratorios que no cuenten con infraestructura especializada o utilizando plataformas automatizadas.

En este estudio, se evaluó el uso de las PM acopladas a PL (PM-PL) en la concentración y purificación de mIgM anti *Taenia solium*.

EL ESTUDIO

Se utilizaron dos clones de mIgM (TsW5 y TsW8) específicos para proteínas de quistes de *T. solium*. La generación y mantenimiento de hibridomas se realizaron según protocolos descritos anteriormente ⁽⁵⁾. Brevemente, los cultivos celulares de las hibridomas se mantuvieron en medio DMEM avanzado (Dulbecco's modified Eagle's médium, Thermo Fisher, USA) suplementado con suero fetal bovino *HyClone* al 10% (Thermo Fisher, USA), a 37 °C en CO₂ al 5%. Los sobrenadantes de las hibridomas (SH) se colectaron después de una a dos semanas de incubación, se filtraron con filtros de nitrocelulosa de 0,22 µm y se almacenaron a 4 °C durante máximo cuatro días.

Evaluación de métodos de concentración de SH

Se evaluaron tres métodos de concentración de SH: filtración por presión (Amicon® Stirred Cells), ultrafiltración pasiva (Minicon® Concentrator) y ultrafiltración por centrifugación (Amicon® Ultra Centrifugal Filters), todos los filtros con corte mínimo de 10 kDa (todas de Merck Millipore, USA). La concentración de proteínas de los sobrenadantes se determinó utilizando el método de Bradford (Bradford

Protein Assays, Thermo Scientific, USA), antes y después de la concentración; se calculó el factor de concentración dividiendo la concentración de proteínas del sobrenadante concentrado con la concentración de proteínas del sobrenadante inicial. En los tres métodos de concentración se evaluó un volumen igual de sobrenadante inicial. Dado que la concentración de proteínas reflejará principalmente la presencia de albúmina y otras proteínas, también se calculó el porcentaje de recuperación (PR) en términos de actividad del mIgM, la cual se midió por la prueba de ELISA utilizando un extracto crudo de quistes de *T. solium* como antígeno, y un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa contra IgM de ratón producido en cabra (Peroxidase-Labeled Antibody To Mouse IgM, Produced in Goat, KPL Laboratories, USA) ⁽⁵⁾. La densidad óptica (DO) se midió a 590 nm utilizando el Spectra-Max-340 (Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA). El PR de mIgM se calculó dividiendo la densidad óptica del sobrenadante concentrado sobre la densidad óptica del sobrenadante inicial multiplicado por 100.

Purificación de mIgM

Se utilizaron partículas superparamagnéticas (0,5 μm de radio medio) acopladas con proteína L recombinante (Pierce™ Protein L Magnetic Beads, Thermo Scientific, USA). Para determinar la concentración de PM-PL que recupere más del 90% de mIgM en SH, se incubaron cinco volúmenes

diferentes de SH (100 μl , 250 μl , 500 μl , 750 μl y 1500 μl) con 400 μg de PM-PL en un volumen total de 1500 μl de solución salina tamponada con Tris (TBS, Tris 25 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). El volumen de 100 μl de SH se usó como referencia, ya que en el ensayo de ELISA se observó que no queda mIgM en el SH después de la incubación con PM-PL, es decir, se capturó todo el mIgM presente en el medio. La incubación de SH y PM-PL se realizó por 45 minutos, a temperatura ambiente (TA) y en agitación constante (500 rpm, LabRoller). Después de la incubación, los complejos de mIgM + PM-PL se separaron del medio usando un soporte magnético (DynaMag™-2 Magnet, Thermo Scientific, USA) durante un minuto. Para la separación del mIgM de las PM-PL se utilizó glicina 2M, pH 2,0 a TA, con agitación constante durante 15, 45 y 60 minutos (Figura 1). La solución con el mIgM se neutralizó con Tris 1 M, pH 8,5, luego se realizó el intercambio de tampón a solución salina tamponada con fosfato. El mIgM purificado se concentró por ultrafiltración por centrifugación (corte de 10 kDa).

Evaluación de pureza de los eluidos

Para la evaluación de la pureza de los mIgM se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida con sulfato de sodio y dodecilo (sodium-dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) en condiciones reductoras utilizando gel de poliacrilamida al 10% y tinción con azul de Coomassie.

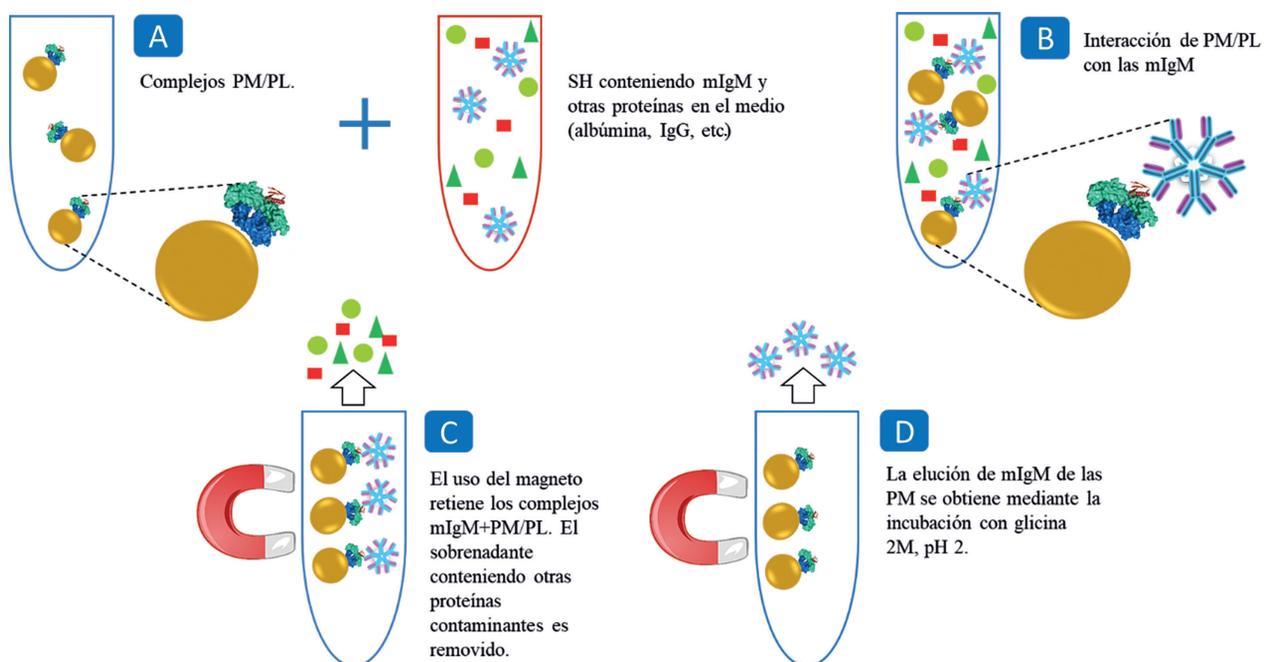


Figura 1. Representación esquemática de la purificación de anticuerpos monoclonales mIgM del sobrenadante de hibridoma utilizando partículas magnéticas acoplada con proteína L (figura elaborada por los autores). A y B) Los anticuerpos monoclonales IgM (mIgM) presentes en el sobrenadante de hibridoma (SH) se unirán en solución a la proteína L (PL) acopladas en las partículas magnéticas (PM-PL). C) Las partículas magnéticas (PM) se separan del SH con ayuda de un soporte magnético. D) Los mIgM purificados se eluyen de las PM-PL utilizando una solución ácida de glicina.

HALLAZGOS

En términos de concentración de proteínas, el más alto factor de concentración se obtuvo cuando los sobrenadantes se concentraron usando filtración por presión (4,4 veces), seguido de ultrafiltración pasiva (3,9 veces) y ultrafiltración por centrifugación (2,5 veces). En términos de actividad del mIgM medida por ELISA, las tres metodologías produjeron un PR superior al 80% (filtración por presión: 92,5%-95%, ultrafiltración pasiva: 84,2%-93,9% y ultrafiltración con centrifugación: 82,1%-84,3%). Sin embargo, se observó precipitación de proteínas en dos ocasiones usando filtración por presión, por esta razón, para minimizar la precipitación del mIgM y debido al menor costo y al menor tiempo necesario para la concentración (15 minutos), en comparación con los otros métodos (~12 horas para ultrafiltración pasiva o ~5 horas para filtración con presión), se decidió usar ultrafiltración por centrifugación para futuros análisis.

Se evaluó la proporción óptima de μg de PM-PL a μl de SH utilizando como referencia la proporción de 400 μg de PM-PL a 100 μl de SH. Se calculó el porcentaje de mIgM funcionalmente activos que no fueron capturados o eluidos por las PM-PL restando el valor de DO del SH después de la incubación con PM-PL menos el valor de DO del SH en la proporción de referencia, multiplicado por 100. Se encontró que el porcentaje de pérdida más bajo se obtuvo utilizando 400 μg de PM-PL con 250 μl de SH (0,6%) y el PR más alto se obtuvo utilizando 500 μl de SH (99,3%) (Tabla). Se concluye que la mejor forma de recuperar mIgM es cuando la proporción de μg de PM-PL a μl de SH es 0,8.

Para determinar si se necesita un paso de preconcentración antes de la incubación de SH con PM-PL, comparamos el PR obtenido con 50 μl de SH concentrado (volumen inicial 2500 μl , factor de concentración 50x) y 2500 μl de SH no concentrado, obteniéndose un PR de 95,46% (coeficiente de variación, CV 0,77%) y 96,93% (CV 0,43%) cuando se realizó una etapa de concentración y no concentración res-

pectivamente, lo que indica que no se requiere una etapa de pre-concentración.

En este estudio, para la separación del mIgM de las PM-PL se utilizó un tampón de glicina, pH 2,0. Según recomendaciones del fabricante, el tiempo de elución o separación con solución ácida no debería sobrepasar los 15 minutos para prevenir la degradación del anticuerpo. Considerando la actividad del anticuerpo, observamos que el tiempo de elución de 15 minutos tiene un PR de 78,5%. Sin embargo, cuando el tiempo aumenta a 45 minutos el PR se incrementa a 94,1%. Por el contrario, si el tiempo se incrementa a 60 minutos, el PR disminuye a 83%, probablemente debido a un cierto grado de desnaturalización causada por el pH.

En los resultados de electroforesis, se observó, antes de la purificación, diferentes proteínas, principalmente albúmina (67 kDa) (Figura 2). Después del proceso de purificación con PM-PL, se observaron solamente dos bandas de 73 kDa y 25 kDa, correspondientes a las cadenas pesada y ligera, respectivamente, de IgM, confirmando la pureza de los eluidos.

También se evaluó el número de veces que se pueden reutilizar las PM-PL para la purificación de anticuerpos utilizando el mismo clon de mIgM. Se observó un PR de 81,9% después de reutilizar el mismo lote de PM-PL 21 veces.

DISCUSIÓN

Se muestra que las partículas magnéticas se pueden usar para concentrar IgM en solución en un solo paso⁽¹⁶⁾, reduciendo la manipulación de los anticuerpos que puede conducir a su degradación y desnaturalización. Al evaluar los métodos de preconcentración, se observó precipitación de proteínas en dos ocasiones usando filtración con presión, posiblemente debido a que las fuerzas mecánicas y el aumento de la temperatura que llevaron a la desolubilización de IgM. Esto es una ventaja de las PM frente al uso de columnas cromatográficas, ya que con el uso de columnas, la preconcentración es necesaria, probablemente debido a que la atracción y la

Tabla 1. Optimización del protocolo de purificación de anticuerpos monoclonales IgM a partir de sobrenadantes de cultivos de hibridoma utilizando partículas magnéticas acopladas a proteína L.

Proporción de μg PM-PL a μl SH	SH Vol. Inicial (μl)	DO del SH después de la incubación con PM-PL (A)	Actividad del mIgM que no ha sido capturado o eluido de las PM-PL (%) (A-Referencia) *100)	Actividad inicial del mIgM en el volumen total (B)	Actividad del mIgM en el eluido (C)	Recuperación (%) (C/B*100)
4	100	0,088 \pm 0,005	Referencia	7,12	6,63	93,12
1,6	250	0,094 \pm 0,004	0,60	16,58	15,48	93,40
0,8	500	0,115 \pm 0,004	2,70	33,00	32,80	99,30
0,53	750	0,146 \pm 0,003	5,80	49,70	45,33	91,20
0,4	1000	0,182 \pm 0,010	9,40	66,30	57,41	86,60
0,26	1500	0,328 \pm 0,006	24,00	99,50	55,72	56,00

Se agregaron 400 μg de PM-PL al SH en un volumen final de 1500 μl de solución salina tamponada con Tris como un tampón de unión. La actividad del anticuerpo se midió mediante ELISA para determinar la capacidad del anticuerpo para reconocer quistes sonicados de *T. solium*. PM-PL: partículas magnéticas acopladas a proteína L; SH: sobrenadante de hibridomas; DO: densidad óptica medida a 590 nm

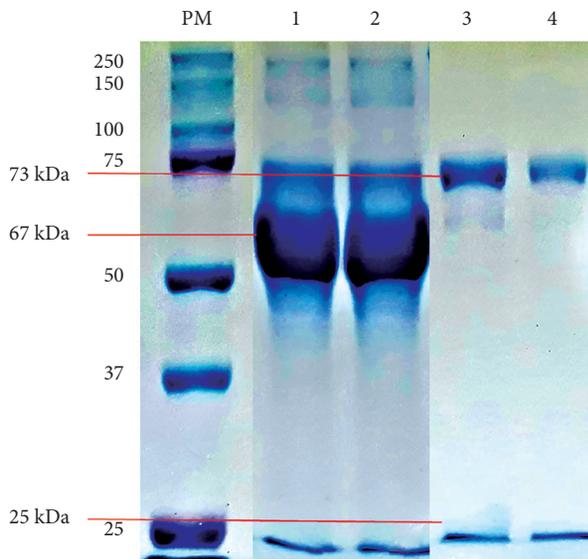


Figura 2. Tinción con azul de Coomassie después de electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio al 10% de los anticuerpos monoclonales IgM (TsW5 y TsW8) antes y después de la purificación con partículas magnéticas acopladas a proteína L.

PM: Marcador de peso molecular en kDa (Precision Plus Protein, Bio-Rad). Canal 1 y 2: Sobrenadante de hibridoma (TsW8 y TsW5, respectivamente) antes de la purificación con partículas magnéticas acopladas a proteína L, se observa la presencia de albúmina (67 kDa). Canal 3 y canal 4: Anticuerpo monoclonal IgM purificado (TsW8 y TsW5, respectivamente) después de la incubación con partículas magnéticas acopladas a proteína L, se observan las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo 25 kDa y 73 kDa, respectivamente, sin la presencia de albúmina.

frecuencia de oportunidades de interacción son menores en comparación a cuando se usan partículas⁽¹⁷⁻¹⁸⁾, y además para evitar pasar varias veces el cultivo en la columna sobre todo cuando se trata de volúmenes mayores a 1 ml, lo cual puede ser tedioso. El uso de partículas magnéticas favorece la interacción de mIgM y proteína L en solución en un solo paso, además previene la pérdida de la actividad inmunogénica de los mIgM, ya que esta puede ocurrir durante la unión de IgM a otras resinas⁽¹⁶⁾. Basado en los resultados de electroforesis en condiciones reductoras, se mostró que el uso de la proteína L, produce un eluido de IgM altamente purificada sin la contaminación de IgG presente en suero bovino que es usado como suplemento en medios de cultivo celular⁽¹⁴⁾.

Se necesitó un tiempo de elución de mIgM más largo que el recomendado por el fabricante (45 minutos frente a 15 min), probablemente debido a la alta afinidad entre la IgM y la proteína L ($K_a = 1010 \text{ M}^{-1}$)⁽¹⁹⁾. Otros estudios han reportado que la IgM es capaz de resistir exposición a pH ácido⁽²⁰⁾. En nuestro estudio, el corto tiempo de manipula-

ción (dos horas en total) en comparación con métodos de cromatografía de afinidad clásicos (diez horas a dos días) puede haber contribuido al menor riesgo de desnaturalización de las mIgM y aumentar su probabilidad de resistencia a la elución ácida⁽¹²⁾. Nuestro PR (> 90%) es más alto que el reportado previamente usando PM acopladas con anticuerpos anti-IgM (70%), probablemente debido a la mayor afinidad de la PL a la IgM⁽¹⁷⁾.

Presentamos los resultados de optimización de concentración y purificación de mIgM a partir de sobrenadante de hibridomas usando una plataforma sencilla basada en el uso de partículas magnéticas y proteína L. Esta metodología puede ser adaptada a laboratorios no especializados en concentración de proteínas ya que no requiere el uso de columnas o ultracentrifugas. Se demostró que el SH no necesita estar concentrado. Por lo que, si se desea implementar el uso de las PM-PL a mediana o gran escala, es necesario contar con soportes magnéticos para tubos de 50 ml, y el tiempo promedio para la separación de las PM-PL del medio deberá ser entre tres a cinco minutos, con el fin de asegurar la recuperación total de las PM. Se demuestra que la incubación del SH y las PM-PL puede llevarse a TA o a 4 °C. Sin embargo, se recomienda que la incubación sea a 4 °C, con el fin de evitar la degradación del analito en la muestra.

Agradecimientos: Agradecemos a la Dra. Cristina Guerra y al Dr. Miguel Orrego por facilitar el acceso a los sobrenadantes de hibridomas. Adriana Paredes, por su guía en los pasos iniciales del estudio. Helena Jahuir, y Giuliana Oyola Lozada por la coordinación de los procedimientos de purificación. Heydi Toro por la coordinación administrativa y financiera del proyecto. A los doctores, Patricia Sheen, Manuela Verastegui, y José Espinoza por proporcionarnos acceso a sus equipos de laboratorio. Al Dr. Theodore Nash Sukwan Handali por las correcciones y sugerencias en la escritura del artículo.

Contribuciones de autoría: LAP y YCS participaron en la concepción del artículo, diseño del manuscrito, su redacción, análisis e interpretación de datos, y aprobación final de la versión para su publicación. HHG, JAB, PPW, YC participaron en el diseño del manuscrito, revisión crítica del manuscrito, y aprobación final de la versión para su publicación. CE, LMT, YS, KSM participaron en la recolección de datos, revisión crítica del manuscrito, y aprobación final de la versión para su publicación. Todos los autores se hacen responsables de todos los aspectos del manuscrito, para garantizar que los asuntos relativos a la exactitud o integridad de cualquier parte del mismo serán adecuadamente investigados y resueltos.

Fuentes de financiamiento: Este estudio fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT-CIENCIA ACTIVA) [115-2015-FONDECYT-DE] y el NIH/Fogarty Training Grant [TW001140].

Conflictos de interés: Los autores del estudio declaran no tener conflictos de interés con el estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Del Brutto OH, Garcia HH. Neurocysticercosis. *Handb Clin Neurol.* 2013;114:313–25. doi: 10.1016/B978-0-444-53490-3.00025-X
2. Ndimubanzi PC, Carabin H, Budke CM, Nguyen H, Qian YJ, Rainwater E, *et al.* A systematic review of the frequency of neurocysticercosis with a focus on people with epilepsy. *PLoS Negl*

- Trop Dis. 2010;4(11):e870. doi: 10.1371/journal.pntd.0000870
3. Garcia HH, Nash TE, Del Brutto OH. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *Lancet Neurol.* 2014;13(12):1202-15. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70094-8
 4. Parija M, Biswas R, Harish BN, Parija SC. Detection of specific cysticercus antigen in the urine for diagnosis of neurocysticercosis. *Acta Trop.* 2004;92(3):253-60. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.08.007
 5. Paredes A, Sáenz P, Marzal MW, Orrego MA, Castillo Y, Rivera A, *et al.* Anti-Taenia solium monoclonal antibodies for the detection of parasite antigens in body fluids from patients with neurocysticercosis. *Exp Parasitol.* 2016;166:37-43. doi: 10.1016/j.exppara.2016.03.025
 6. Rodriguez S, Wilkins P, Dorny P. Immunological and molecular diagnosis of cysticercosis. *Pathog Glob Health.* 2012;106(5):286-98. doi: 10.1179/2047773212Y.0000000048
 7. Knutson VP, Buck RA, Moreno RM. Purification of a murine monoclonal antibody of the IgM class. *J Immunol Methods.* 1991;136(2):151-7. doi: 10.1016/0022-1759(91)90001-V
 8. Walker ID. Detection, Purification, and Utilization of Murine Monoclonal IgM Antibodies. In: *Monoclonal Antibody Protocols* [Internet]. Humana Press; 1995 [citado el 2 de junio del 2018]. Disponible en: <https://link.springer.com/protocol/10.1385/0-89603-308-2:183>.
 9. Rigi G, Ghaedmohammadi S, Ahmadian G. A comprehensive review on staphylococcal protein A (SpA): Its production and applications. *Biotechnol Appl Biochem.* 2019;66(3):454-464. doi: 10.1002/bab.1742
 10. Li Y. A brief introduction of IgG-like bispecific antibody purification: Methods for removing product-related impurities. *Protein Expr Purif.* 2019;155:112-9. doi: 10.1016/j.pep.2018.11.011
 11. Gagnon P, Hensel F, Andrews P, Richieri R. Recent advances in the purification of IgM monoclonal antibodies. En: *3rd Wilbio Conference on Purification of Biological Products* Waltham, Massachusetts; 2007.
 12. Hober S, Nord K, Linhult M. Protein A chromatography for antibody purification. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;848(1):40-7. doi: 10.1016/j.jchromb.2006.09.030
 13. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and Function of Immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(202):S41-52. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.046
 14. Nilson BH, Lögdberg L, Kastern W, Björck L, Åkerström B. Purification of antibodies using protein L-binding framework structures in the light chain variable domain. *J Immunol Methods.* 1993;164(1):33-40. doi: 10.1016/0022-1759(93)90273-A
 15. Paloni M, Cavallotti C. Molecular Modeling of the Interaction of Protein L with Antibodies. *ACS Omega.* 2017;2(10):6464-72. doi: 10.1021/acsomega.7b01123
 16. Castro-Sesquen YE, Kim C, Gilman RH, Sullivan DJ, Searson PC. Nanoparticle-Based Histidine-Rich Protein-2 Assay for the Detection of the Malaria Parasite Plasmodium falciparum. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;95(2):354-357. doi: 10.4269/ajtmh.15-0772
 17. Quitadamo IJ, Schelling ME. Efficient purification of mouse anti-FGF receptor IgM monoclonal antibody by magnetic beads. *Hybridoma.* 1998;17(2):199-207. doi: 10.1089/hyb.1998.17.199
 18. Karlsson GB, Platt FM. Analysis and isolation of human transferrin receptor using the OKT-9 monoclonal antibody covalently crosslinked to magnetic beads. *Anal Biochem.* 1991;199(2):219-22. doi: 10.1016/0003-2697(91)90093-9
 19. Gautam S, Loh K-C. Immunoglobulin-M purification--challenges and perspectives. *Biotechnol Adv.* 2011;29(6):840-9. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.07.001
 20. Mueller M, Wan C, Hoi KM, Kim DY, Gan HT, Bardor M, *et al.* Immunoglobulins M survive low-pH conditions used for virus inactivation and for elution from bioaffinity columns. *J Pharm Sci.* 2013;102(3):1125-32. doi: 10.1002/jps.23428