



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Evaluación de la técnica ELISA utilizando antígeno  
SAG1 y total para la detección de anticuerpos IgG  
frente a *Toxoplasma gondii* en sueros de población  
humana sana y de riesgo**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Bióloga Microbióloga  
Parasitóloga

**AUTOR**

Camila Alexandra GUTIERREZ COBOS

**ASESOR**

Dr. Juan Atilio JIMENEZ CHUNGA

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Gutierrez, C. (2023). *Evaluación de la técnica ELISA utilizando antígeno SAG1 y total para la detección de anticuerpos IgG frente a Toxoplasma gondii en sueros de población humana sana y de riesgo*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Camila Alexandra Gutierrez Cobos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71768978
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0002-8284-2839">https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0002-8284-2839</a>
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Juan Atilio Jimenez Chunga
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06281952
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-0128-3028">https://orcid.org/0000-0002-0128-3028</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Edward Valencia Ayala
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41609605
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Priscilla Rosse Mamani Zapana
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	43058540
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Julia Esther Castro Hidalgo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07816323
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública

Grupo de investigación	Inmunología parasitaria en humanos y animales de importancia en salud pública (UNPAFCB)
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Proyecto de investigación para grupos de investigación 2019. B19101211.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: (Facultad de Ciencias Biológicas laboratorio 305) País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Latitud: -12,056 Longitud: -77,0844
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Setiembre 2020- Noviembre 2023
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
(Universidad del Perú, Decana de América)

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA  
MICROBIÓLOGA PARASITÓLOGA**

**(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN PRESENCIAL DE TESIS)**

Siendo a las 14:13 horas del 06 de diciembre del 2023, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al **Título Profesional Bióloga Microbióloga Parasitóloga** de **CAMILA ALEXANDRA GUTIERREZ COBOS**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° UNMSM-20230092526, la titulando expuso su tesis: **EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ELISA UTILIZANDO ANTÍGENO SAG1 Y TOTAL PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE A *Toxoplasma gondii* EN SUEROS DE POBLACIÓN HUMANA SANA Y DE RIESGO**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 19... calificado: Aprobado con máximos honores

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional Bióloga Microbióloga Parasitóloga** de **CAMILA ALEXANDRA GUTIERREZ COBOS** y se eleva lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título conforme a ley.

Siendo las 15:20 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 06 de diciembre de 2023.

Dr. EDWARD VALENCIA AYALA  
(PRESIDENTE)

Dr. JUAN ATILIO JIMENEZ CHUNGA  
(ASESOR)

Mg. PRISCILA ROSSE MAMANI ZAPANA  
(MIEMBRO)

Mg. JULIA ESTHER CASTRO HIDALGO  
(MIEMBRO)



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América

**Vicerrectorado de Investigación y Posgrado**



## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo JUAN ATILIO JIMENEZ CHUNGA en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 000834-2023-D-FCB/UNMSM de la tesis, cuyo título es “Evaluación de la técnica ELISA utilizando antígeno SAG1 y total para la detección de anticuerpos IgG frente a Toxoplasma gondii en sueros de población humana sana y de riesgo”, presentado por el Bachiller Camila Alexandra Gutierrez Cobos para optar el título profesional de Bióloga Microbióloga Parasitóloga CERTIFICO: que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 13 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.



Firmado digitalmente por JIMENEZ  
CHUNGA Juan Atilio FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 24.11.2023 11:48:26 -05:00

Firma del Asesor \_\_\_\_\_

DNI: 06281952

Nombres y apellidos del asesor: JUAN ATILIO JIMENEZ CHUNGA



*A mi familia, quienes no dejaron de  
alentarme nunca*



## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Juan Jiménez Chunga por ser la definición verdadera de un asesor, por su apoyo, comprensión y contagiosa perseverancia en todo este camino.

A mis amigos del Laboratorio de Parasitología Humana y Animal por las risas que nunca faltaron ni faltarán.

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (VRIP) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por la subvención del proyecto con código: B19101211 y Resolución Rectoral N° 03556-R-19.

Al equipo del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Universidad Peruana Cayetana Heredia, por su apoyo en la ejecución de la presente tesis.

A mi familia, por haberme forjado como la persona que ahora soy.

## ÍNDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE GRÁFICOS.....	5
RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	7
I. INTRODUCCIÓN .....	8
1.1 Introducción .....	8
1.2 Descripción de la realidad problemática .....	10
1.3 Definición del problema .....	11
1.4 Justificación e importancia de la investigación .....	12
1.5 Limitaciones de la investigación.....	14
II. MARCO TEÓRICO .....	15
2.1 Generalidades de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	15
2.2 Ciclo de vida de <i>T. gondii</i> .....	15
2.3 Epidemiología .....	17
2.4 Toxoplasmosis en humanos en el Perú .....	19
2.5 Grupos de riesgo de <i>T. gondii</i> .....	20
2.5.1 Toxoplasmosis en personas inmunodeprimidos .....	20
2.5.2 Toxoplasmosis en mujeres gestantes .....	20
2.6 Diagnóstico de toxoplasmosis.....	21
2.6.1 Técnicas convencionales .....	21
2.6.2 Técnicas moleculares .....	21
2.6.3 Técnicas de imagen.....	22
2.6.4 Técnicas serológicas .....	23
III. HIPÓTESIS.....	25
IV. OBJETIVOS .....	25
4.1 Objetivo general .....	25
4.2 Objetivos específicos .....	25
V. MATERIAL Y MÉTODOS .....	27
5.1 Material.....	27
5.1.1 Tipo de estudio .....	27

5.1.2 Variables .....	27
5.1.3 Lugar de ejecución .....	27
5.1.4 Sujetos de estudio y obtención de muestras.....	27
5.1.5 Aprobación ética .....	28
5.1.6 Tamaño muestral.....	28
5.2.1 Obtención de los antígenos .....	29
5.2.2 Estandarización del ELISA.....	29
5.2.3 Análisis de datos.....	30
VI. RESULTADOS .....	31
6.1 Obtención del antígeno total de taquizoítos de <i>T. gondii</i> (TLA) a partir de cultivos in vitro en la línea celular LLC-MK2. 31	
6.2 Estandarización de la prueba inmunoenzimática ELISA para la detección de anticuerpos IgG anti <i>Toxoplasma gondii</i> con el antígeno lisado total (TLA) 31	
6.2.1 Determinación del punto de corte .....	33
VII. DISCUSIÓN.....	38
VIII. CONCLUSIONES .....	42
IX. RECOMENDACIONES.....	43
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla N°1.</b> Distribución de ensayos.....	35
<b>Tabla N°2.</b> Resultados de la aplicación de la prueba t de Student.....	36
<b>Tabla N°3.</b> Valores de DS y punto de corte.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Tabla N°4.</b> Resultados obtenidos mediante ELISA con antígenos SAG1 y TLA.....	38

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	17
<b>Figura 2.</b> Estado global de la prevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	18

## RESUMEN

*Toxoplasma gondii* fue identificado en el año 1908 por Nicolle y Manceaux cuando aislaron el protozooario a partir de células mononucleares del bazo y el hígado de un roedor africano. Para diagnosticar la toxoplasmosis, se emplea comúnmente la prueba de ELISA, que tiene la capacidad de identificar las inmunoglobulinas, esta prueba es relativamente sencilla de realizarse y se encuentra disponible en kits comerciales que incluyen su propio protocolo de ejecución, usualmente utilizando antígeno lisado total. Sin embargo, se ha considerado que el empleo de antígenos recombinantes podría ser altamente beneficioso en esta aplicación. El objetivo del presente estudio fue evaluar la técnica ELISA utilizando antígeno recombinante SAG 1 y total (TLA) de *T. gondii*, en sueros de población humana de riesgo y en población sana. Los resultados obtenidos con respecto a la frecuencia encontrada con el antígeno recombinante SAG 1 en población de riesgo fue de 96.96%, mientras que en población sana fue de 19.04%. Con el antígeno total de taquizoítos (TLA), la frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* fue de 96.96% en población de riesgo a diferencia de un 7.14% en población sana. El uso de proteínas recombinantes para el inmunodiagnóstico de *T. gondii*, constituye un aporte medular debido a que en el Perú no existen estudios realizados en población de riesgo.

Palabras claves: *Toxoplasma gondii*, proteína recombinante SAG 1, antígeno lisado Total TLA, ELISA

## ABSTRACT

*Toxoplasma gondii* was identified in 1908 by Nicolle and Manceaux when they isolated the protozoan from mononuclear cells of the spleen and liver of an African rodent. To diagnose toxoplasmosis, the ELISA test is commonly used, which has the ability to identify immunoglobulins. This test is relatively simple to perform and is available in commercial kits that include their own execution protocol, usually using total lysed antigen. However, it has been considered that the use of recombinant antigens could be highly beneficial in this application. The objective of the present study was to evaluate the ELISA technique using recombinant SAG 1 and total antigen (TLA) of *T. gondii*, in sera from human risk populations and healthy populations. The results obtained regarding the frequency found with the SAG 1 recombinant antigen in the risk population was 96.96%, while in the healthy population it was 19.04%. With the total tachyzoite antigen (TLA), the frequency of IgG antibodies against *T. gondii* was 96.96% in the risk population as opposed to 7.14% in the healthy population. The use of recombinant proteins for the immunodiagnosis of *T. gondii* constitutes a medullary contribution because in Peru there are no studies carried out in a risk population.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, SAG 1 recombinant protein, TLA total lysed antigen, ELISA

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Introducción

*Toxoplasma gondii* es un parásito protozoario intracelular obligado que infecta a humanos, animales domésticos y salvajes de sangre caliente. Los hospederos definitivos, de acuerdo con Jones y Dubey (2010), son alrededor de 33 especies de felinos. En el caso de los hospederos intermediarios se incluyen vertebrados, entre ellos primates, insectívoros, marsupiales, aves, felinos y humanos (Barriga, 2002). Su distribución es mundial, está presente en Latinoamérica detectándola en hasta 65% de la población. Se han determinado altas prevalencias en países latinoamericanos como Costa Rica (61,4%), Cuba (55,9%), Ecuador (36.0%), México (2.2%-32.2%) y Venezuela (31,8% - 61%) según Díaz *et al.* (2003) y López *et al.* (2005). Este parásito produce una infección primaria generalmente asintomática; sin embargo, puede ser sumamente peligrosa en hospederos con inmunosupresión y en casos de transmisión vertical (madre-feto) durante la gestación (Rorman *et al.* 2006).

*T. gondii* tiene capacidad de invasión y multiplicación en cualquier célula nucleada mediante la acción de organelas secretoras de diversas proteínas. Los seres humanos pueden ser infectados por diferentes estadios de *T. gondii*, por los ooquistes a través de las heces del felino, por la ingesta de quistes en carnes mal cocidas (Sánchez Artigas *et al.*, 2016).

Actualmente los métodos utilizados para el diagnóstico incluyen técnicas moleculares, serológicas y de imagen (Rostami *et al.*, 2018).

En el caso del diagnóstico con pruebas serológicas se basan en la detección de inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA e Ig E, en los sueros de pacientes infectados, el resultado obtenido es dependiente del antígeno utilizado y del método de detección (Holec-Gasior *et al.*, 2009).

La técnica de ELISA para la detección de las inmunoglobulinas IgG, resulta una prueba sencilla de realizar y está disponible en kits de venta comercial, utilizando su propio protocolo de fabricación (Sarfraz-ur-Rahman *et al.*, 2021). Sin embargo, el uso de antígenos recombinantes podría ser de gran utilidad, porque permite la estandarización del ensayo de ELISA, reduce costos de producción y podría diferenciar el estado agudo y crónico de la enfermedad (Pietkiewicz *et al.*, 2007).

La superficie del parásito *T. gondii* se encuentra recubierta con proteínas expresadas durante el desarrollo y relacionadas estructuralmente con el antígeno de superficie SAG 1, siendo esta superficie el objetivo principal de las respuestas inmunes del huésped (Lekutis *et al.*, 2001). Todos estos antígenos de superficie se conocen como la superfamilia de proteínas SRS (Jung *et al.*, 2004). La proteína SAG1 es un antígeno específico del taquizoíto, altamente conservado en las diferentes cepas del parásito, siendo considerado óptimo candidato para el diagnóstico de toxoplasmosis (Kotresha & Noordin, 2010), mantiene los 12 residuos de cisteína conservados que tienen una identidad global del 30%



aproximadamente ( Lekutis *et al.*, 2001 ).

## 1.2 Descripción de la realidad problemática

La toxoplasmosis es una de las infecciones zoonóticas más comunes en todo el mundo, y en Perú, la mayoría de la población ha estado expuesta a este parásito de acuerdo con el estudio de Cantello *et al* (1974) y Morales *et al* (1979), quienes obtienen prevalencia en la costa de 42%, sierra de 9% y selva de 47%. Las poblaciones con mayor riesgo de desarrollar complicaciones de esta infección son los pacientes inmunocomprometidos y los recién nacidos que adquieren la infección de sus madres con consecuencias como el aborto o resorción fetal (Cárdenas *et.al.*, 2015). En el Perú, estudios con proteínas recombinantes no se han realizado en población humana de riesgo, por lo que se desconoce la prevalencia de TE en pacientes VIH/SIDA y de madres gestantes con probable reactivación de toxoplasmosis y como consecuencia el riesgo de transmisión congénita. Con respecto a la detección, Chiappe (1964) utilizó la prueba de coloración de Sabin-Feldman obteniendo el 74.52% y 80% de positividad con la prueba de intradermorreacción en pacientes con manifestaciones oculares. Ñaquira Velarde (1970), mediante la prueba de hemaglutinación determino un 34.4% de positividad en pacientes con abortos habituales. Díaz-Ginéz & Silva-Díaz (2021) utilizaron la técnica de ELISA, para la detección de anticuerpos (IgM e IgG) en 92 donantes.

Existe la necesidad de desarrollar pruebas de diagnóstico más simples, factibles, precisas y rápidas, especialmente en poblaciones con serología positiva es decir que ha estado expuesta al parásito y por lo tanto puede darse una reactivación

sobre todo en pacientes con VIH y en gestantes (MINSA, 2007).

El uso de antígenos recombinantes tiene tres ventajas importantes: la composición del antígeno se conoce con precisión, puede utilizarse en conjunto con otros antígenos recombinantes y el método puede estandarizarse con facilidad (Holec-Gasier, 2013), permitiendo así una óptima detección de la toxoplasmosis. Esta investigación nos permitirá no solo mejorar las técnicas de diagnóstico para esta enfermedad, sino también calcular la frecuencia de anticuerpos IgG frente a *T. gondii* en población de riesgo y sana. Además de futuras investigaciones centradas en el desarrollo de pruebas de diagnóstico rápido, no invasivas, que se puedan usar en entornos con recursos limitados y de difícil acceso en todo el país. Los antígenos recombinantes podrían usarse el desarrollo de otras pruebas diagnósticas comerciales en diferentes enfermedades como el caso de la filarisis linfática (Pastor *et al.*, 2021).

### 1.3 Definición del problema

*Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular con la capacidad de invasión y multiplicación en cualquier célula nucleada. Dicho parásito tiene un ciclo de vida complejo que implica a los felinos como hospederos definitivos y como intermediarios incluyendo al ser humano (Cordero del Campillo & Rojo, 2001). Los hospederos intermediarios pueden ser infectados por los diferentes estadios de *T. gondii* y a través de diferentes mecanismos de transmisión como el ingerir los ooquistes de *T. gondii* en heces de felinos y/o la ingesta de bradizoítos en carnes mal cocidas (Sánchez Artigas *et al.* 2016). La infección primaria con *T. gondii* es generalmente asintomática, pero puede ser sumamente peligrosa en un hospedero inmunosuprimido y durante la gestación, debido a la probable transmisión congénita (madre-feto) durante la gestación (Rorman *et al.* 2006). El diagnóstico precoz de la enfermedad permitirá el inicio oportuno del tratamiento.

Actualmente los métodos utilizados para el diagnóstico incluyen técnicas moleculares, serológicas y de imagen (MINSA, 2007). Las pruebas serológicas diagnósticas existentes son limitadas al utilizar al antígeno lisado total, por lo que el uso de antígenos recombinantes, altamente sensibles y específicos para detección de anticuerpos, se muestran de gran utilidad, además porque no se generan reacciones cruzadas (Pietkiewicz *et al.* 2007). Dentro de las proteínas del *T. gondii*, se menciona a SAG1 (Antígeno de Superficie 1), anclada a GPI (glicosilfosfatidilinositol) y codificada por la superfamilia de genes SRS, la cual es altamente conservada e inmunogénica ((Kotresha & Noordin, 2010).

#### 1.4 Justificación e importancia de la investigación

Alrededor del 25 - 30% de la población está infectada por *T. gondii* (Montoya & Liesenfeld, 2004). Las prevalencias varían entre países, e incluso dentro de diferentes comunidades de la misma región. Por ejemplo, se han encontrado altas prevalencias en países latinoamericanos y en la zona de África tropical. Mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes indirectos Cantella *et al.* 1974 y Morales *et al.* 1979, realizaron una evaluación de la prevalencia en el escenario peruano tanto en la costa, sierra y selva encontrando respectivamente 42%, 9% y 47%. Existen dos grupos prioritarios por los cuales se debe promover investigaciones sobre el diagnóstico de la toxoplasmosis: mujeres gestantes y personas inmunocomprometidas (Negussie *et al.*, 2017). En el caso de las mujeres embarazadas con IgG/IgM positivo deben realizarse una prueba de avidez de IgG, si es alta la avidez durante los primeros tres meses se descarta una infección adquirida durante la gestación, si es baja la avidez resulta ambiguo por lo que existe una gran heterogeneidad entre los estudios, lo que dificulta saber sobre la precisión predictiva y diagnóstica de una prueba sobre otra. Los estudios sobre el momento de las pruebas son limitados y no concluyentes (Gilbert & Gras, 2003). Asimismo, en las personas inmunocomprometidas la infección primaria con *T. gondii* es muy probable que resulte en una infección generalizada, involucrando diversos órganos y tejidos (Daryani *et al.*, 2011 & Espinoza-Oliva *et al.*, 2011). Si se busca diagnosticar de forma definitiva se necesita de un síndrome clínico, el cual sea compatible; por ejemplo, un estudio de imagen del cerebro mostrando una lesión de una masa creciente además de la detección del parásito por medio de una biopsia al cerebro o amplificación del ADN en el caso de los

pacientes inmunocomprometidos (Luma *et al.*, 2016). Sin embargo, el diagnóstico serológico resulta complejo debido a que una infección reciente tiende a detectarse con títulos elevados; no obstante, no puede fungir de un criterio definitivo para el diagnóstico (Sierra, 2020).

Asimismo, en las gestantes y en los inmunocomprometidos graves, el valor de las IgG consiste en la distinción de individuos seronegativos; sin embargo, el no encontrar este anticuerpo no descarta, nuevamente, el diagnóstico (Sierra, 2020).

Debido a que no existen muchos trabajos al respecto, nuestro estudio determinará la frecuencia de anticuerpos IgG de la toxoplasmosis en fase crónica utilizando una prueba de ELISA estandarizada, lo que representa un paso importante para priorizar un acceso al diagnóstico, recepción del tratamiento y prevención de situaciones médicas de alto riesgo. Además, en la presente investigación se determinará la frecuencia de anticuerpos IgG en una población de riesgo y en una población sana, lo que resulta un importante estudio porque beneficiará a la población de nuestro país.

Por último, se incluye el uso de proteínas recombinantes para el inmunodiagnóstico lo que constituye un aporte medular debido a que no existen otros estudios así realizados en la población peruana. Además, se podrán comparar los resultados obtenidos con el antígeno recombinante versus el antígeno lisado total, el que comúnmente es el utilizado. La finalidad es que el diagnóstico de la toxoplasmosis sea factible, preciso y rápido.

## **1.5 Limitaciones de la investigación**

Ha sido considerada como una limitación de la investigación el no tener acceso a una mayor cantidad de antígeno recombinante SAG 1 obtenido de forma comercial.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Generalidades de *Toxoplasma gondii*

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias más frecuentes que afectan a los seres humanos y otros animales vertebrados (Luder, Bohne, & Soldati, 2001) y es causada por el parásito intracelular obligado *T. gondii*. Su mecanismo de infección es por medio de la ingesta de alimentos o agua que estén contaminados con ooquistes o por el consumo de quistes tisulares en carnes mal cocidas. Usualmente la infección primaria es asintomática, pero en cambio si es adquirida durante el embarazo o es latente en pacientes inmunocomprometidos puede causar daños graves e incluso la muerte (Montoya & Liesenfeld, 2004).

### 2.2 Ciclo de vida de *T. gondii*

El ciclo de vida del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo (todos los felinos) y los hospederos intermediarios (animales de sangre caliente). La replicación ya sea sexual o asexual dependerá del tipo de hospedero. En el caso del ciclo de replicación sexual comienza cuando el felino ingiere carne con quistes tisulares que contienen los bradizoítos, que es la forma infectiva. Las acciones de las enzimas digestivas en el intestino liberan las formas infectivas que invaden las células (enterocitos) del felino. En el intestino se realiza la gametogonia, el cual conduce a la formación de ooquistes.

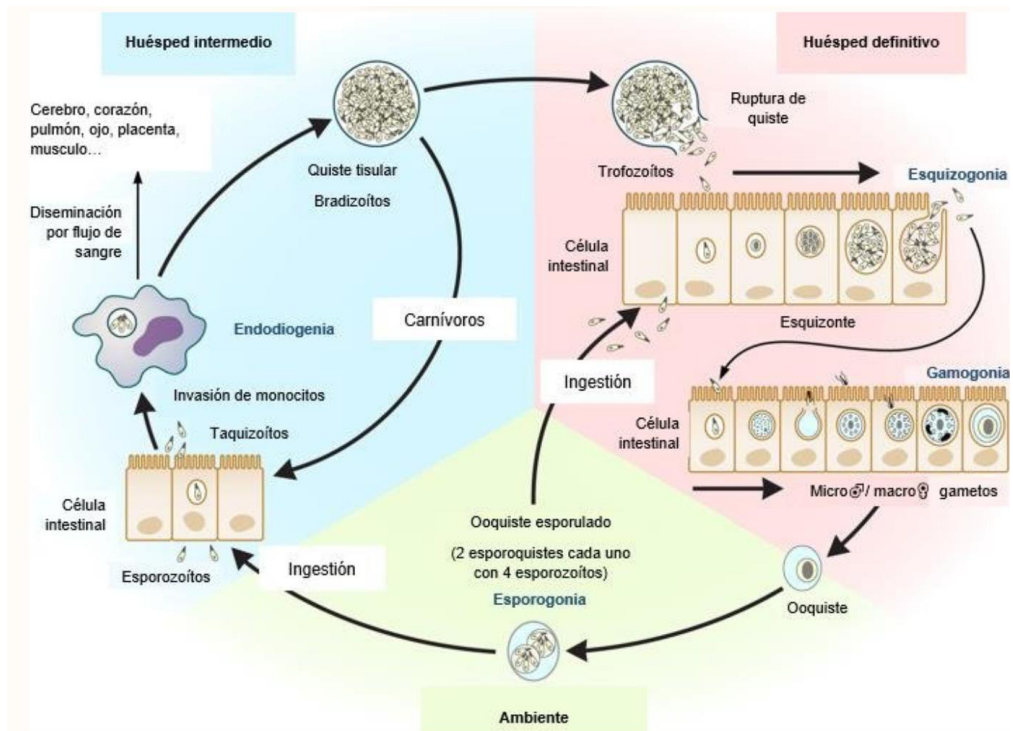
Los ooquistes son liberados en su forma no esporulada por medio de las heces de los felinos, estos expuestos al medio, esporula en 2 a 3 días en las condiciones ideales, produciendo en el interior 8 esporozoítos y convirtiéndose en la forma

infectante (Dubey, 2010).

El ciclo de replicación asexual se desarrolla en los hospederos intermediarios, los cuales se infectan a través de la ingesta de alimentos y/o agua con ooquistes esporulados o por la de quistes tisulares que están en los tejidos de otros hospederos intermediarios. En el caso del ser humano, la infección puede ser por la ingestión directa de los ooquistes o por de carne mal cocida, contaminada por quistes tisulares de *Toxoplasma gondii*. Una vez que se ingiere los ooquistes se liberan esporozoitos y si se ingieren quistes tisulares serán liberados los bradizoitos; los cuales se van a diferenciar con rapidez a taquizoitos (forma móvil, altamente dinámica e invasiva), los cuales atravesarán el epitelio intestinal, diseminándose en el organismo completo ilustrado por Robert-Gangneux & Darde, 2012 en la Figura 1.

Debido a la aparición del parásito se activa una respuesta inmune del huésped iniciando con la formación de anticuerpos y la activación de las células efectoras de la respuesta inmune de tipo celular como son los macrófagos, linfocitos T, etc.; liberando así citosinas (interleucinas e interferón, IFN-  $\gamma$ ). La presencia de IFN-  $\gamma$  induce la diferenciación de los taquizoitos intracelulares a la forma de bradizoito con la consecutiva modificación de la célula hospedera en un quiste tisular en el cual vive en forma latente durante muchos años o incluso durante toda la vida del individuo (Galván, 2001).





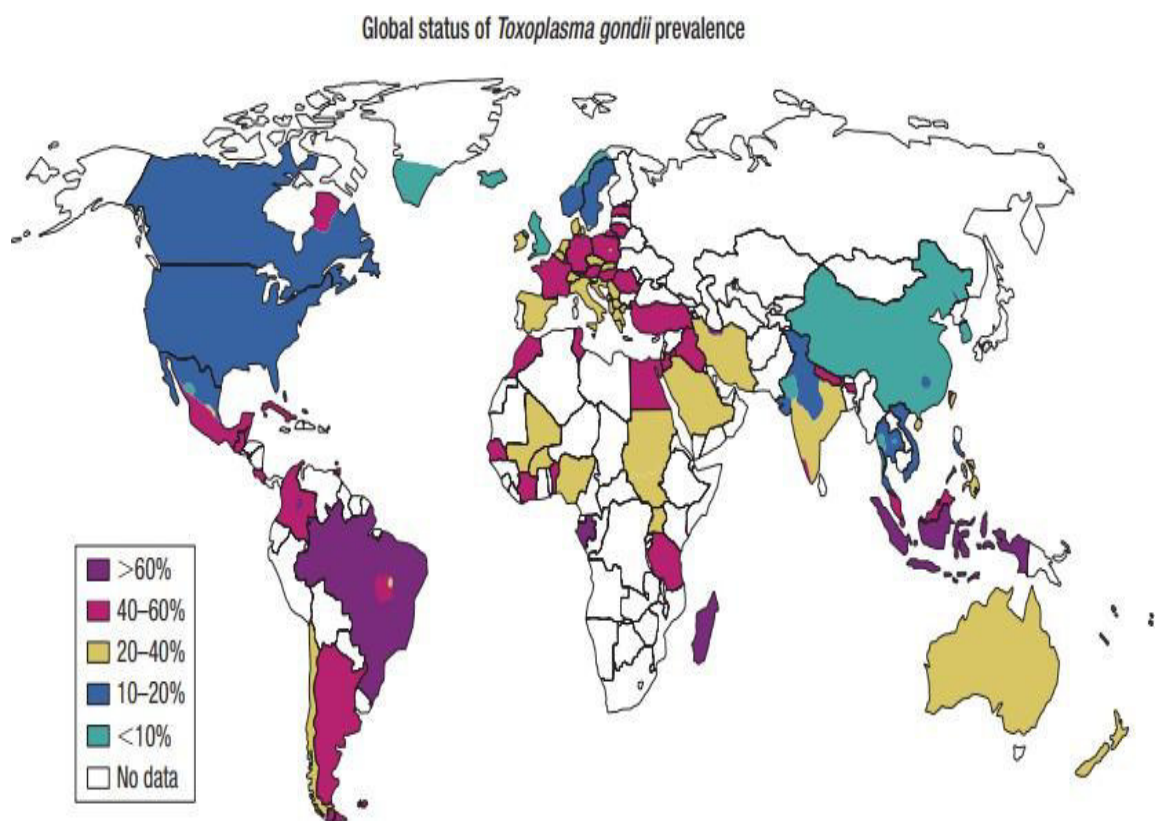
**Figura 1.** Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*  
 Modificado por Robert- Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012)

### 2.3 Epidemiología

Tomando en cuenta a los estudios seroepidemiológicos se estima que alrededor de un tercio de la población mundial ha estado expuesta al parásito. Los datos plasman que existe una considerable variación entre áreas geográficas, condiciones ambientales, prácticas culturales, grupos étnicos, y otros factores asociados al parásito tales como su genotipo (Sepúlveda-Arias *et al.*, 2014; Tenter *et al.*, 2000).

En la Figura 2, se puede observar que en el caso de Perú no se registra data, demostrando que los estudios locales no son actuales ni trascendentales. Sin embargo, la más alta prevalencia de la toxoplasmosis se ubica en Latinoamérica, con prevalencia mayor de un 60% en Brasil, en Colombia y Argentina en un 40-60%. Aunada a la prevalencia de la toxoplasmosis, se debe

tomar en cuenta los primeros estudios de genotipos donde se revelan tres linajes: tipo I, II y III. En América del Sur existe una relación entre la diversidad genética y la expresión clínica de la infección, prueba de esto son los casos detectados de toxoplasmosis grave en pacientes inmunocompetentes, revelando así la presencia de cepas recombinantes o atípicas. Dichas cepas no están bien adaptadas a los huéspedes humanos, lo que podría explicar la mayor gravedad de la infección, Paris (2020).



**Figura 2.** Estado global de la prevalencia de *Toxoplasma gondii*

Fuente: Pappas, G., Roussos, N., & Falagas, M. E. (2009)

## 2.4 Toxoplasmosis en humanos en el Perú

En el Perú existen pocos estudios publicados sobre la toxoplasmosis en humanos.

- Cornejo *et al.*, (1971) realizaron una investigación para detectar anticuerpos específicos para *T. gondii* en 32 pacientes del Hospital Obrero de Lima. Mediante la reacción de fijación del complemento y hemaglutinación, obteniendo 15 (46.78%) resultados positivos relacionados a lesiones oculares y abortos espontáneos.
- Ortiz & Ticona (2012) establece las características epidemiológicas y clínicas de la toxoplasmosis congénita en el Hospital Regional Honorio Delgado Espinoza de Arequipa de 1996 a 2011. Mediante pruebas serológicas con resultados IgM (+) en el recién nacido e IgG (+) en la madre se obtuvo como tasa de prevalencia fue de 1,7 por 10, 000 nacidos vivos, con tendencia descendente, predominó en el sexo femenino y con manifestaciones clínica de tipo neurológico.
- Mogollón M. (2016), reportó una frecuencia de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en población peruana de 39.8%, el cual él concluye que está dentro del promedio a nivel mundial y de la región latinoamericana para población sana.
- Pari, *et al.*, (2020) en su estudio buscaron conocer la seroprevalencia de toxoplasmosis en grupos poblacionales de riesgo a través de un estudio descriptivo, exploratorio en los 3 distritos de la provincia de Huancayo. Los 169 sueros se analizaron mediante el kit para toxoplasma IgG e IgM (NovaLisa

immunodiagnostic GmbH), encontrando una seroprevalencia en gestantes del 44,7% y en pacientes con cáncer del 26,2%. Asimismo, el único factor de riesgo asociado a serología positiva fue el lugar de procedencia, teniendo un mayor riesgo quienes vivían en Huancayo y Chilca, en comparación con El Tambo.

- Díaz-Giné & Silva-Díaz (2021), determinaron la frecuencia y los factores asociados de la infección por *T. gondii* en donantes de sangre de un hospital de la selva. En su metodología se describe el uso del ensayo de ELISA Kit, obteniendo que un 77.2% presentaron infección pasada o crónica por *T. gondii*. Esto indica una exposición importante de la población al parásito, lo que sugiere la presencia de múltiples factores de riesgo.
- Marquera-Afaray *et al.*, (2022), detallaron las particularidades epidemiológicas, clínicas y tratamientos de pacientes diagnosticados con toxoplasmosis congénita (TC) que presentaban afecciones neurológicas graves. En el Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja se estableció la identificación de pacientes con toxoplasmosis congénita como aquellos que mostraban la presencia de anticuerpos IgM para *T. gondii* utilizando la técnica de ELISA con el kit comercial Euroimmun. Después de evaluar a 21 pacientes, se llegó a la conclusión de que el 64% de los casos de toxoplasmosis congénita presentaron una o más manifestaciones de enfermedad neurológica grave.

## **2.5 Grupos de riesgo de *T.gondii***

### **2.5.1 Toxoplasmosis en personas inmunocomprometidos**

La toxoplasmosis en los individuos inmunocomprometidos suele ser el resultado de la reactivación de una infección latente, que presenta signos neurológicos como dolor de cabeza, desorientación, somnolencia, hemiparesia, cambios reflejos y convulsiones (Barratt *et al.*, 2010 ; Robert-Gangneux & Darde, 2012).

La infección aguda adquirida por *T. gondii* en pacientes inmunocomprometidos también puede ocurrir y afectar a múltiples órganos. Asimismo se pueden observar neumonía, retinocoroiditis y otras enfermedades sistémicas diseminadas, pero no son tan comunes como la encefalitis en pacientes inmunocomprometidos (Kodym *et al.*, 2015).

### **2.5.2 Toxoplasmosis en mujeres gestantes**

La infección de toxoplasmosis congénita es la segunda infección parasitaria intrauterina más frecuente (Bojar & Szymańska, 2010). Este tipo de toxoplasmosis puede tener diferentes manifestaciones clínicas y niveles de contagio según el trimestre de gestación. El riesgo usual es del 40%, siendo más probable al final del embarazo (segundo y tercer trimestre); sin embargo, las secuelas suelen ser menos graves cuando más avanzado está el embarazo. Si la infección y transmisión ocurre en el primer trimestre, hay una clásica triada que presentará el recién nacido: coriorretinitis, calcificaciones cerebrales e hidrocefalia. No obstante, algunos recién nacidos pueden no presentar síntomas al nacer sino luego en el desarrollo manifestar problemas

oculares y retraso. Las infecciones que ocurren en el último trimestre suelen presentarse como retinocoroiditis y pueden no manifestarse hasta la segunda década de vida (Lurder *et al.*, 2001).

## **2.5.2 Diagnóstico de toxoplasmosis**

### **2.5.2.1 Técnicas convencionales**

Por muchos años se utilizó la prueba de Sabin-Feldman, la cual se fundamenta en la capacidad de los anticuerpos específicos de bloquear la normal coloración con el azul de metileno de *Toxoplasma gondii obtenido* del exudado peritoneal de ratones. Fue la primera prueba de laboratorio desarrollada para el diagnóstico de dicha enfermedad y sigue siendo considerada, para algunos, como la prueba *gold standard* (Díaz *et al.*, 2010). Esta prueba fue sustituida por la inmunofluorescencia indirecta (IFI), que se caracteriza su alta sensibilidad y especificidad. Se incluyen dentro de estos grupos de técnicas convencionales la prueba ELISA, la hemaglutinación y la fijación de complemento.

### **2.5.2.2 Técnicas moleculares**

Las técnicas moleculares utilizadas son métodos indirectos que identifican el ADN del parásito en muestras de líquido amniótico o en el líquido cefalorraquídeo. La técnica más frecuente se basa en la reacción en cadena de la polimerasa obteniendo así mejor sensibilidad si se consigue de muestras de líquido cefalorraquídeo o líquido amniótico (Vidal *et al.*, 2004).

Las pruebas moleculares basadas en PCR han demostrado ser efectivas para diferenciar la fase aguda y muestran una alta especificidad al no generar reacciones cruzadas con otras enfermedades parasitarias (Gutierrez-Loli *et al.*, 2019). Sin embargo, su alto costo representa un desafío para países en vías de desarrollo. Asimismo, para mejorar la sensibilidad, se ven en la necesidad de requerir procedimientos invasivos como la punción lumbar y la amniocentesis, implicando riesgos, especialmente en casos que exista una presión intracraneal elevada (Vidal *et al.*, 2004) o durante la gestación antes de las 15 semanas (Seeds, 2004).

### **2.5.2.3 Técnicas de imagen**

Estos métodos indirectos tienen como objetivo encontrar signos de infección por toxoplasmosis en los pacientes. En el caso de los inmunocomprometidos se busca detectar daño cerebral. El “signo diana excéntrico” es el criterio más común que sugiere toxoplasmosis con sensibilidad de 25% y especificidad de 90% (Páez, 2001). En el caso de toxoplasmosis congénita, se esperaría observar hidrocefalia y calcificaciones cerebrales, puntualmente en las áreas periventriculares y en el plexo coroideo; estas lesiones son detectables mediante tomografía axial computarizada (Rostami, 2001). La baja sensibilidad y la capacidad de identificar lesiones hacen que estos diagnósticos por imagen necesiten de otras pruebas para confirmar la presencia de *T. gondii*.

#### **2.5.2.4 Técnicas serológicas**

Las técnicas serológicas se fundamentan en la capacidad de detectar anticuerpos específicos anti *T. gondii*. La técnica ELISA es la de mayor utilidad, sea por kit comercial o por ensayos *in house* en laboratorio. Las adaptaciones del ELISA a diferentes ensayos de avidéz permiten sugerir la fase de infección con la cual se está tratando (Dubey 2004).

#### **2.5.2.5 Antígenos recombinantes de *T. gondii* y su uso en el diagnóstico serológico de toxoplasmosis**

Los antígenos recombinantes constituyen actualmente una herramienta de gran utilidad, y dentro de su metodología no ocasionan reacciones cruzadas, disminuyendo los falsos positivos y negativos, además de proporcionar mayor reproducibilidad de los ensayos (Pietkiewicz *et al.*, 2007). Estos antígenos recombinantes han demostrado mayor especificidad y sensibilidad en comparación a los antígenos nativos empleados en las técnicas convencionales (Costa *et al.*, 2017). Una extensa cantidad de genes que codifican antígenos recombinantes de *T.gondii* han sido clonados en sistemas de expresión bacterianos y eucariotas (Holec-Gasier, 2013). Entre estos antígenos se destacan los de superficie como SAG1, SAG2, SAG3; de gránulos densos como GRA1, GRA2, GRA5, GRA6, GRA7 y GRA8; de roptrias como ROP1 y ROP2; y de micronemas como MIC1, MIC2 y MIC3; así como otros AR como B10, MAG1 y AMA1 (Holec-Gasier, 2013).

En 1980, Handman *et al.*, identificaron por primera vez al SAG1 a partir de antígenos de membrana de superficie de *T. gondii* , luego se clonó el gen SAG



1 completo determinando que tiene una longitud de 1,1 kb y codifica 336 aminoácidos. El antígeno de superficie SAG1 tiene un peso molecular de 30 kDa, es el más abundante y se expresa principalmente sobre la superficie intra y extracelular del estadio de taquizoíto. La proteína SAG1 está altamente conservada en la mayoría de cepas aisladas de *T. gondii* y es uno de los antígenos más inmunogénicos (Kotresha & Noordin, 2010; Costa, 2014). Por tanto, esta proteína puede estimular al huésped para que genere inmunidad humoral y celular relevante; siendo esta última el mecanismo principal por el cual el SAG1 induce al huésped a generar protección inmunitaria. Para este proceso se requieren diferentes tipos de linfocitos T coordinados por muchas citocinas, incluidos IFN- $\gamma$ , IL-2 y TNF- $\alpha$ , y desempeñan un papel crucial en la protección anti- *T. gondii* del huésped (Gazzinelli *et al.*, 1991).

Para la obtención del antígeno SAG 1, Aly *et al.* (2023) se cultivaron y mantuvieron taquizoitos de la cepa RH de *T. gondii* en ratones macho albinos suizos mediante inoculación intraperitoneal. Los fluidos peritoneales de los ratones infectados se reunieron, se centrifugaron y luego se limpiaron tres veces con solución salina tamponada con fosfato cada cuatro días después de la infección, se rompieron mediante sonicación y luego se centrifugaron a 12.000 rpm durante 1 hora, y se recogió el sobrenadante y se obtuvo el antígeno diana purificado mediante Cromatografía de intercambio iónico DEAE-Sephadex A-50 como antígeno soluble. La evaluación de la reactividad y especificidad del antígeno SAG1 se realiza, usualmente, mediante ELISA indirecto.

### **III. HIPÓTESIS**

H1: El uso de la técnica de ELISA permitirá la detección de toxoplasmosis con el antígeno recombinante SAG 1 y total en sueros de población humana y de riesgo.

H0: El uso de la técnica de ELISA no permitirá la detección de toxoplasmosis con el antígeno recombinante SAG 1 y total en sueros de población humana y de riesgo.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general:

Evaluar la técnica ELISA utilizando antígeno recombinante SAG 1 y total (TLA) de *T. gondii*, en sueros de población humana de riesgo y en población sana.

### 4.2 Objetivos específicos:

- Obtener antígeno lisado total de taquizoítos de *T. gondii* a partir de cultivos *in vitro* en la línea celular LLC-MK2.
- Evaluar un ELISA para la detección de anticuerpos IgG anti *T. gondii* con antígeno recombinante SAG 1 y Antígeno lisado total (TLA).
- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en sueros de población humana de riesgo y población sana.

## **V. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **5.1 Material**

#### **5.1.1 Tipo de estudio**

- Estudio prospectivo, transversal analítico y observacional.

#### **5.1.2 Variables**

- Variable independiente: Uso del antígeno SAG 1 y TLA
- Variable dependiente: Prueba de ELISA

#### **5.1.3 Lugar de ejecución**

Este estudio fue llevado a cabo en el Laboratorio de Parasitología Humana y Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La parte experimental tuvo lugar en el Laboratorio de Investigación de Enfermedades Infecciosas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### **5.1.4 Sujetos de estudio y obtención de muestras**

Para el estudio las muestras fueron obtenidas de una seroteca de proyectos previos y fueron divididas en dos grupos:

- Grupo 1: 42 sueros humanos de población sana, codificadas bajo la denominación SH-XX.
- Grupo 2: 33 sueros humanos de población de riesgo, codificadas bajo la denominación HIV/COI-XX.

Los 75 sueros se almacenaron a -20°C, hasta el momento de uso.

### 5.1.5 Aprobación bioética

- La obtención de los sueros de la población sana obtuvo la aprobación del Comité de Bioética de la FCB, con código: N° 007-2021-CBE-FCB-UNMSM.
- La obtención de los sueros de la población de riesgo obtuvo la aprobación del Comité de Bioética de la UPCH-SIDISI, con código: N°62495.

### 5.1.6 Tamaño de muestra

Para el cálculo de la muestra en poblaciones finitas, se aplicó el siguiente estadígrafo descrito por Hernández *et al.*, 2003; obteniéndose como tamaño de la muestra a 69 sueros.

$$n = \frac{z^2 \cdot p \cdot q \cdot N}{e^2 \cdot (N - 1) + z^2 \cdot p \cdot q}$$

$n$  = *Tamaño de muestra buscado*

$N$  = *Tamaño de la población* → 94

$Z^2$  = *Parámetro estadístico que depende el Nivel de Confianza* → 1.96

$e$  = *Error de estimación máximo aceptado* → 0.05

$p$  = *Probabilidad de que ocurra el evento estudiado (éxito)* → 0.5

$q = (1 - p)$  = *Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado* → 0.5

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot (0.5) \cdot (0.5) \cdot 84}{(0.05)^2 \cdot (83) + (1.96)^2 \cdot (0.5) \cdot (0.5)} = 69.07$$

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1 Obtención de los antígenos

El antígeno recombinante P30 SAG1 (aa45-198) comercial fue obtenido del laboratorio BIORAD. Es producida en *Escherichia coli* según protocolo del fabricante correspondiente a los aminoácidos 45 al 198 de *Toxoplasma gondii* p30 (SAG1). Se almacenó a -20°C sin diluir. La concentración de la proteína fue de 1.0 mg/ml.

El Antígeno Lisado Total de *T. gondii* (TLA) se obtuvo siguiendo los protocolos de Hughes *et al.*, (1986) y Dubey (1998). A partir de la cepa RH de *T.gondii*, los taquizoítos se cultivaron en la línea celular LLC- MK2 (células epiteliales de riñón de mono Rhesus) en un medio compuesto por RPMI 1640 (Sigma) suplementado con 10% de suero bovino fetal inactivado por calor, piruvato de sodio 1mM, mezcla aminoácidos no esenciales (1:100), y gentamicina, todo incubado a 37°C con 5% CO<sub>2</sub>. Se observó la formación de una monocapa y luego se procedió a inocular con 5x10<sup>5</sup> taquizoítos de *T. gondii*, finalmente se dio la propagación a partir de varios sub cultivos. Posterior sonicación en frío en intervalos de un minuto con pausas de tres minutos entre cada ciclo. El producto resultante fue centrifugado y el sobrenadante se alicuotó y se almacenó a -20°C hasta uso. La concentración de las proteínas se determinó mediante el método Bradford.

### 5.2.2 Evaluación de la técnica ELISA

Se utilizaron placas de fondo plano Nunc Maxisorp (Thermo Scientific, USA).

Las placas se sensibilizaron agregando 100 µl/pozo a concentración de 1µg/ml de TLA y otra placa con 1.5 µg/ml del recombinante SAG 1 de *Toxoplasma gondii*, diluido en buffer Bicarbonato-Carbonato (0.05M). Se dejó incubando toda la noche a 4°C. Se lavó 5 veces con 180 µl/pozo de PBS- Tween 0.05%. Se inició el bloqueo con 180 µl/pozo de PBS-Tween 0.05% y leche 5%, dejando incubar 2 horas a temperatura ambiente en movimiento constante. Se procedió a lavar la placa 5 veces con 180 µl/pozo de PBS- Tween 0.05%. Se agregó 100 µl del primero anticuerpo (1:500 / 1:200) diluido en PBS-Tween 0.05% y leche 1%, se dejó incubar 1h a 37°C. Se agregó 100 µl del segundo anticuerpo (1:10000 / 1:5000) preparado en PBS-Tween 0.05% y leche 1%, se dejó incubar 1h a 37°C. Se lavaron las placas 5 veces con 180 µl de PBS-Tween 0.05% y 5 veces con 180 µl de PBS 1x. Se agregó 100 ul del substrato TMB (solución A y solución B, 1:1), dejándose incubar por 5 minutos aproximadamente. La reacción se detuvo con 50 µl de Ácido Sulfúrico (2M). Por último, se realizó la lectura a 450 nm de longitud en el lector *ChroMate*.

### 5.2.3 Análisis de datos

Utilizando el Software Excel de Microsoft 365 se obtuvieron los resultados de frecuencia mediante la fórmula de conteo. Se utilizó SPSS para calcular la prueba de T de student así hallar diferencia significativa y la prueba de Chi-Cuadrado.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Obtención del antígeno total de taquizoítos de *T. gondii* (TLA) a partir de cultivos in vitro en la línea celular LLC-MK2.

- A partir del cultivo celular del antígeno lisado total (TLA) se aplicó la siguiente fórmula:  $C1 \times V1 = C2 \times V2$ ; siendo  $C1 = 480 \mu\text{g/ml}$ ,  $C2 = 1.0 \mu\text{g/ml}$  y  $V2 = 20\text{ml}$ ; el valor obtenido ( $V1$ ) fue de 41.6 ul. Finalmente, en 20ml de buffer bicarbonato se verterán 42  $\mu\text{l}$  de TLA.
- Se tuvo una cantidad de 0.1 mg del antígeno recombinante SAG 1. Se utilizó la siguiente fórmula:  $C1 \times V1 = C2 \times V2$ ; siendo  $C1 = 1000 \mu\text{g/ml}$ ,  $C2 = 1.5 \mu\text{g/ml}$  y  $V2 = 5\text{ml}$ ; el valor obtenido ( $V1$ ) fue de 7,5  $\mu\text{l}$ . Finalmente, en 5ml de buffer bicarbonato se verterán 7.5  $\mu\text{l}$  de SAG 1.
- En ambos casos, se agregan inicialmente 100 ul/pocillo.

### 6.2 Evaluación del ELISA para la detección de anticuerpos IgG anti

#### *Toxoplasma gondii* con el antígeno lisado total (TLA)

Con el antígeno TLA, se procedió a realizar el primer ensayo, con el suero humano (anticuerpo primario) dilución de 1:500 y para el conjugado el anticuerpo anti IgG humano (anticuerpo secundario) dilución de 1:1000 y 1:10 000. En el segundo ensayo se utilizó el suero humano dilución de 1:250 con las mismas dos opciones de dilución para el segundo anticuerpo anti IgG humano (1:1000 y 1:10 000), como se detalla en la Tabla 1.



**Tabla 1.** Distribución de ensayos

	<b>Dilución de anticuerpo primario</b>	<b>Dilución de anticuerpo secundario</b>
<b>Caso 1</b>	1:500	1:1000
<b>Caso 2</b>	1:500	1:10 000
<b>Caso 3</b>	1:250	1:1000
<b>Caso 4</b>	1:250	1:10 000

Se evaluaron 4 sueros positivos a *T. gondii* (P1, P2, P3 y P4) y 4 sueros negativos a *T. gondii* (N1, N2, N3 y N4). Los valores de p son indicadores de la significancia estadística de un análisis. En la Tabla 2, este valor es representado en la columna Sig. (bilateral), como se puede observar el único valor menor a 0.005, demostrando diferencia significativa, es el que se encuentra en el Caso 2; por lo tanto, el anticuerpo primario utilizado tuvo una dilución de 1:500 y el anticuerpo secundario una dilución de 1:10 000.

**Tabla 2.** Resultados de la aplicación de la prueba *t de Student* mediante SPSS

<b>Prueba de muestra única</b>						
	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Caso 1	3,669	7	,008	.630500	.22416	1.03684
<b>Caso 2</b>	<b>4,210</b>	<b>7</b>	<b>,004</b>	<b>.713000</b>	<b>.31257</b>	<b>1.11343</b>
Caso 3	3,511	7	,010	.642125	.20967	1.07458
Caso 4	3,578	7	,009	.644875	.21875	1.07100

### 6.2.1 Determinación del punto de corte

Utilizando Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO (versión 2304 compilación 16.0.16327.20200) de 64 bits se ingresaron los datos obtenidos de la lectora Chromate *awareness technology inc*, dividiéndose en: SAG1 y TLA;

siendo 1a (SAG1), 1b (TLA-población sana) y 1c (TLA-población de riesgo), (ver Anexo 1).

Para el cálculo del punto de corte, primero se halló la desviación estándar aplicando la fórmula *DESVEST*, luego se promedió los OD negativos (3) con la fórmula *PROM* y se sumó dos veces la desviación estándar, ver Tabla 3. Se obtuvieron los siguientes puntos de corte 0.47 y 0.29, respectivamente. Los valores superiores a estos serán considerados **POSITIVOS**, por debajo de este serán **NEGATIVOS** (ver Anexo 2).

**Tabla 3.** Valores de DS y punto de corte

	<b>SAG 1</b>	<b>TLA</b>
<b>Desviación</b>		
<b>Estándar</b>	0.06	0.07
<b>Punto de corte</b>	0.47	0.29

## 6.2.2 Resultados obtenidos mediante ELISA

El antígeno recombinante SAG1 en población sana muestra que el 19.04% (8/42) presenta anticuerpos IgG anti *T. gondii*, mientras que en la población de riesgo (HIV) un 96.96% (32/33). El antígeno TLA en población sana muestra que el 7.14% (3/42) presenta anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii*, mientras que la población de riesgo un 96.96% (32/33), de acuerdo con la Tabla 4.

**Tabla 4.** Resultados obtenidos mediante ELISA con antígenos SAG1 y TLA

	SAG 1		TLA	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
Sueros humanos de población sana Grupo 1	8 (19.04%)	34(80.95%)	3(7.14%)	39 (92.86%)
Sueros humanos de población de riesgo: Grupo 2	32 (96.96%)	1(3.03%)	32(96.96%)	1(3.03%)

Se calcularon los valores de sensibilidad diagnóstica y especificidad diagnóstica; considerando como prueba referencia a la prueba ELISA utilizando TLA.

**Tabla 5.** Tabla de contingencia. Se muestran los resultados para las 75 muestras evaluadas por el ELISA referencial (TLA) y ELISA SAG1

		ELISA referencial (TLA)		TOTAL
		Presencia	Ausencia	
ELISA SAG 1	Presencia	34	6	40
	Ausencia	1	34	35
TOTAL		35	40	75

**Tabla 6.** Parámetros diagnósticos del ELISA utilizando SAG 1

Sensibilidad diagnóstica (SD)	97%
Especificidad diagnóstica (ED)	85%
Chi – cuadrado de Pearson	127,281
Razón de verosimilitud	71,388

Utilizando el antígeno recombinante SAG 1 en la prueba de ELISA se obtuvo una sensibilidad del 97% y especificidad del 85%.

## VII. DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una parasitosis frecuente en población humana en zonas endémicas y en población de riesgo como las personas con HIV, y mujeres gestantes. El presente trabajo permite presentar resultados de toxoplasmosis en población humana sana y de riesgo, utilizando dos antígenos: un antígeno recombinante comercial (SAG1) y un antígeno total (TLA) a partir de cultivo del parásito. Con el SAG 1 la frecuencia encontrada en población de riesgo fue de 96.96%, mientras que en población sana fue de 19.04%. Con el antígeno total de taquizoítos (TLA), la frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* fue de 7.14% en población sana a diferencia de un 96.96% en población de riesgo.

De acuerdo con Ashburn *et al.* (2001) la propagación de taquizoítos de *T. gondii* en sistemas de cultivo celular incluye múltiples ventajas en comparación con modelos animales. Estas ventajas incluyen: valor ético, bajo costo y fácil gestión. El empleo de la línea celular LLC-MK2 para la obtención del antígeno total de taquizoítos de *T. gondii* resultó competente, concordando con el estudio de Paredes-Santos *et al.* (2013) que demuestra la capacidad de multiplicación de la línea celular LLC-MK2, la cual favorece el crecimiento del parásito y la formación de quistes de alta viabilidad.

En el proceso de evaluación de la técnica ELISA para la detección de anticuerpos anti IgG *Toxoplasma gondii* con antígeno recombinante SAG 1 y Antígeno total (TLA), se evaluaron con diferentes diluciones, del primer anticuerpo y del conjugado anti IgG humano para mejorar el rendimiento de la prueba inmunoenzimática y la capacidad de discernir entre sueros positivos y negativos.

De acuerdo a Mogollón, M. (2016) la estandarización y validación de ELISA para la detección de anticuerpos IgG anti *T. gondii*, utiliza parámetros diferentes como una

concentración inicial mayor de 5µg/ml, dilución del primer anticuerpo de 1:1000 y del segundo anticuerpo 1:10 000. La similitud encontrada con el trabajo de Mogollón, es que la cantidad de suero utilizada para la prueba de ELISA es mínima, lo que resulta conveniente al momento de realizar la toma de muestra.

De acuerdo con el trabajo de Auber *et al.* (2000), que utilizando ELISA con el antígeno SAG1, reportó un 7.86% (7/89) de positividad en sueros de una población que tenía un espectro amplio de la enfermedad. En el presente estudio, la población de riesgo presento 96.96% (32/33) anticuerpos IgG anti *T. gondii*, demostrando una mayor capacidad de detección.

La toxoplasmosis en pacientes con VIH se manifiesta principalmente como encefalitis, siendo la tasa de mortalidad intrahospitalaria elevada, entre 30%-50% (Luma *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2017; Mayor AM *et al.*, 2011). En el presente estudio, la prevalencia de toxoplasmosis en pacientes con VIH fue de 96.96% tanto con el TLA y SAG 1. Asimismo, al no reportarse data actualizada con las variables utilizadas, no se puede realizar una comparación; sin embargo, sí se puede afirmar que nuestra prevalencia es más alta.

Según Díaz-Giné & Silva-Díaz (2021), en un estudio realizado en un banco de sangre de un hospital de la selva peruana, encontró una prevalencia de toxoplasmosis del 77%. En nuestro estudio la prevalencia en población sana fue de 19.04% (8/42) con el SAG1 y del 7.14% (3/42) con el TLA. Con respecto a nuestros resultados que distan de los consignados en la referencia, podemos inferir que los porcentajes de detección de toxoplasmosis dependerían de las condiciones ambientales, culturales y socio-económicas, por lo que observamos valores altos en población selvática mientras que en Lima son relativamente bajos. Sin embargo, en el 2016, Mogollón,

M. reportó en una población de Lima y Cusco una frecuencia de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* 39.8%.

Con respecto a los puntos de cortes obtenidos en las pruebas de ELISA, en nuestro caso utilizando SAG 1 se obtuvo 0.47, coincidiendo con Jalallou *et al.* (2012) quienes evalúan el antígeno recombinante en cuestión para la detección de IgM mediante el ensayo de ELISA; demostrando en ambos estudios la importancia del SAG1 como valiosa herramienta de diagnóstico. Al utilizar el TLA el punto de corte fue de 0.29, el valor más similar en la bibliografía consultada fue el del obtenido por Suárez *et al.* (1999) de 0.27 quienes practican una evaluación serológica del *T. gondii* en suinos mediante la prueba de ELISA.

Al calcular los parámetros de sensibilidad diagnóstica y especificidad diagnóstica se consideró como prueba referencia a la prueba ELISA utilizando TLA. En el caso del uso del antígeno recombinante SAG 1, la sensibilidad fue del 97% y especificidad del 85% en comparación al ELISA referencial (TLA) seleccionado. La sensibilidad de la prueba de ELISA implica que el resultado de la prueba de una enfermedad sea positivo si realmente tiene la enfermedad; Jalallou *et al.* (2012) obtiene una sensibilidad menor, al 80%. La especificidad de la prueba de ELISA representa a los verdaderos negativos, Jalallou *et al.* (2012) obtiene una especificidad mayor, al 90%, es más específica y eso le da menor probabilidad de obtener un falso negativo. El valor de chi-cuadrado de Pearson de 127.281 con 4 grados de libertad indica que hay una asociación significativa entre las dos pruebas de ELISA que estás comparando. Esto sugiere que las pruebas no son independientes entre sí y que hay una relación estadísticamente significativa entre ellas. La razón de verosimilitud de 71.388 es una medida que se utiliza para evaluar la utilidad de una prueba diagnóstica. En este caso, una razón de verosimilitud positiva alta sugiere que la prueba es útil para confirmar la



presencia de la enfermedad.

En Chile, Covarrubias *et al.*, (2020), analizaron un total de 1.666 muestras de suero, en un periodo de tiempo, donde 386 (23.2%) fueron positivas a anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii*; aumentando la seroprevalencia toxoplasmosis con la edad. También hubo una tendencia a disminuir la seroprevalencia en el intervalo de tiempo, entre 2013 y 2018, aunque no fue estadísticamente significativa. En nuestro estudio, los valores positivos son menores, indicando que la ubicación geográfica también podría influir en la seroprevalencia de la toxoplasmosis. Por ello, realizar estudios similares servirá para saber en qué lugares de nuestro país, la prevalencia es alta y tener la posibilidad de encontrar factores asociados de forma significativa.

Por último, para el presente trabajo la utilidad de la prueba de ELISA queda ampliamente demostrada; sin embargo, resaltar que lo óptimo serían pruebas alternativas al alcance de la población para priorizar el diagnóstico y el tratamiento oportuno. De acuerdo con Da Silva *et al.*, (2023) se realizó una revisión para analizar las diferentes técnicas diagnósticas en función de los resultados de sensibilidad y especificidad. En primer lugar, se enfatiza en el uso de diferentes muestras como suero, sangre total, calostros, y líquido amniótico; variedad necesaria según las características de la población. Las técnicas de citometría de flujo, inmunoensayo de flujo lateral y qPCR mostraron una sensibilidad del 100%, mientras que la transferencia Western, qPCR y RE-LAMP lograron una especificidad del 100%. Al evaluar el índice de probabilidad las técnicas qPCR y LAMP fueron más precisas. En segundo lugar, queda demostrado que la elección del método se basará en las condiciones del laboratorio donde se trabaje, la finalidad y la viabilidad financiera.

## VIII. CONCLUSIONES

- La frecuencia encontrada en la población sana utilizando el SAG 1 fue de 19.04% mientras que con el TLA fue de 7.14%, ambos valores siendo menores al promedio reportado a nivel mundial; sin embargo, con el TLA se detectó más del doble comparándolo con el SAG 1 en población sana.
- La frecuencia de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* encontrada en la en ambas poblaciones tanto con el TLA y SAG 1 fue de 96.96%, no existiendo diferencia resaltante entre los antígenos.

## IX. RECOMENDACIONES

- Estandarizar y evaluar otras técnicas serológicas para ampliar la posibilidad de detección temprana de la toxoplasmosis en nuestro país.
- Realizar estudios de seroprevalencia con corte epidemiológico para detectar tendencias y así implementar medidas preventivas.
- Utilizar otros antígenos recombinantes obtenidos de las organelas del *T. gondii* para la detección de casos agudos y crónicos de la enfermedad.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aly NSM, Kim HS, Marei YM, Elhamshary AS, Bayoumi IR, Omar RE, Mohammed DA, Miyoshi SI, Rashed GA. Diagnosis of Toxoplasmosis Using Surface Antigen Grade 1 Detection by ELISA, Nano-Gold ELISA, and PCR in Pregnant Women. *Int J Nanomedicine*. 2023 Mar 21;18:1335-1345. doi: 10.2147/IJN.S401876. PMID: 36974071; PMCID: PMC10039636.
- Ashburn, D. A., Chatterton, J. M. W., Evans, R., Joss, A. W. L., & Ho-Yen, D. O. (2001). Success in the toxoplasma dye test. *Journal of Infection*, 42(1), 16-19. <https://doi.org/10.1053/jinf.2000.0764>
- Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Santiago de Chile: Ed. Germinal. 247 p
- Bojar, I., & Szymańska, J. (2010). Environmental exposure of pregnant women to infection with *Toxoplasma gondii*--state of the art. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*, 17(2), 209–214.
- Cantella R, Colichon A, Lopez L, Wu C, Goldfarb A, Cuadra E et al. Toxoplasmosis in Peru. Geographic prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in Peru studied by indirect fluorescent antibody technique. *Trop Geogr Med*. 1974 Jun;26(2):204-9.
- Cárdenas, Denny, Lozano, Claudia, Castillo, Zaida, Cedeño, Jessenia, Galvis, Viannis, Rios, Jessica, & Tórres, Madalhene. (2015). Frecuencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en gestantes de Cúcuta, Colombia. *Revista Medica Herediana*, 26(4), 230-237. Recuperado en 15 de octubre de 2023, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2015000400005&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2015000400005&lng=es&tlng=es)
- Chiappe, K. y C. Gonzáles. Toxoplasmosis, valor de la prueba cutánea (toxoplasmina) en la toxoplasmosis humana. 1 Congreso Nacional de Microbiología

y Parasitología. Arequipa, Perú. Octubre de 1964.

- Cordero del Campillo M, Rojo A. 2001. Parasitología veterinaria. 1era ed, Madrid: McGraw-Hill. 987p.
- Cornejo Donayre A, Cubas Núñez E, González JE, Pilares E. R, Náquira V. F. Toxoplasmosis en pacientes del Hospital Obrero de Lima. An Fac med [Internet]. 15 de marzo de 1971 [citado 6 de agosto de 2023];54(1):58-71. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/5>
- Costa, J. G., Peretti, L. E., García, V. S., Peverengo, L., González, V. D., Gugliotta, L. M., Dalla Fontana, M. L., Lagier, C. M., & Marcipar, I. S. (2017). P35 and P22 *Toxoplasma gondii* antigens abbreviate regions to diagnose acquired toxoplasmosis during pregnancy: toward single-sample assays. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 55(4), 595–604. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0331>
- Costa, J.G., 2014. Estudio de la utilidad de las proteínas P22 , P30 y P35 de *Toxoplasma gondii* para el diagnóstico de fase aguda de la toxoplasmosis [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Litoral] <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/595/tesis.p>
- Covarrubias, Natalia, Vera, Daniela B., & Hurtado, Carmen. (2020). Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en un hospital universitario en Chile. *Revista chilena de infectología*, 37(6), 784-787. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182020000600784>
- Daryani A, Sharif M, Meigouni M. Seroprevalence of IgG and IgM anti-Toxoplasma antibodies in HIV/AIDS patients, northern Iran. *Asian Pac J Trop Med*. 2011; (4): 271-274.
- Díaz, Linder, Zambrano, Belkys, Chacón, Germán, Rocha, Ana, & Díaz, Santiago. (2010). Toxoplasmosis y embarazo. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 70(3), 190

205. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S004877322010000300006&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S004877322010000300006&lng=es&tlng=es).

- Díaz-Giné, Adolfo, & Silva-Díaz, Heber. (2021). Infección por *Toxoplasma Gondii* y factores asociados en donantes de sangre de un hospital de la selva peruana.. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 21(3), 510-516. <https://dx.doi.org/10.25176/rfmh.v21i3.3774>
- Dubey JP (2008). La historia del *Toxoplasma gondii*: los primeros 100 años . *J. Microbiol eucariota*. 55 ( 6 ), 467–475. 10.1111/j.1550-7408.2008.00345.x
- Dubey JP. 2010. *Toxoplasmosis of animals and humans*. 2nd ed. Maryland: CRC Press. 319 p.
- Dubey, J. P. (1998). *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *The Journal of Parasitology*, 84(4), 862–865. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9714227/>
- Dubey, J. P. (2004). *Toxoplasmosis - A waterborne zoonosis*. *Veterinary Parasitology*, 126, 57-72.
- Espinoza-Oliva M, Peregrino-Bejarano L, Rodríguez-Melo F, Vázquez-Rosales JG, Palacios-Saucedo GC, Barrera-Cruz A. Tratamiento Antirretroviral del paciente pediátrico con Infección por el VIH. *Guía de Práctica clínica*. IMSS. 196-10: 1-13
- Galván ML, Mondragón FR (2001) *Toxoplasmosis humana*. Ediciones Cuéllar, Guadalajara, Jal, Mex, p 196.
- Gazzinelli RT, Hakim FT, Hieny S, Shearer GM, Sher A. Papel sinérgico de los linfocitos T CD4+ y CD8+ en la producción de IFN-gamma y la inmunidad protectora inducida por un *Toxoplasma gondii* atenuado. *Vacuna*. 1991; **146** : 286–292.
- Gilbert R & Gras L (2003) Efecto del momento y el tipo de tratamiento sobre el riesgo de transmisión maternoinfantil de *Toxoplasma gondii*. *BJOG* 110 (2): 112–20.

- Gutierrez-Loli, R., Ferradas, C., Diestra, A., Traianou, A., Bowman, N., Bok, J., Reimer-McAtee, M., Ramal, C., Ticona, E., Steinberg, H., Mayta, H., Calderon, M., Calla-Choque, J. S., Sterling, C., Gilman, R. H., & For The Toxoplasmosis Working Group In Peru And Bolivia (2019). Development of a Novel Protocol Based on Blood Clot to Improve the Sensitivity of qPCR Detection of *Toxoplasma gondii* in Peripheral Blood Specimens. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 100(1), 83–89. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0920>
- Handman E, Goding JW, Remington JS. Detección y caracterización de antígeno de membrana de *Toxoplasma gondii*. *Inmunol.* 1980; 124 : 2578–2583
- Hernández, R, Fernández, C & Baptista, P. 2003. Metodología de la Investigación. 3°ed. Mc Graw - Hill Interamericana. México. 706 p.
- Holec-Gasior L. (2013). *Toxoplasma gondii* recombinant antigens as tools for serodiagnosis of human toxoplasmosis: current status of studies. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 20(9), 1343–1351. <https://doi.org/10.1128/CVI.00117-13>
- Hughes, H. P. A., hudson, L., y Fleck, D. G. (1986). In vitro culture of *Toxoplasma gondii* in primary and established cell lines. *International Journal for Parasitology*, 16(4), 317– 322. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(86\)90109-8](https://doi.org/10.1016/0020-7519(86)90109-8)
- Jalallou N, Bandehpour M, Khazan H, Haghighi A, Kazemi B. Evaluation of Recombinant SAG1 Protein for Detection of *Toxoplasma gondii* Specific Immunoglobulin M by ELISA Test. *Iran J Parasitol.* 2012;7(4):17-21. PMID: 23323087; PMCID: PMC3537471.
- J. T., & Stark, D. (2010). Importance of nonenteric protozoan infections in immunocompromised people. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), 795– 83. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-10>
- Jones, J. L., & Dubey, J. P. (2010). Waterborne toxoplasmosis--recent developments. *Experimental parasitology*, 124(1), 10–25.

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.013>

- Kodym, P., Malý, M., Beran, O., Jilich, D., Rozsypal, H., Machala, L., & Holub, M. (2015). Incidence, immunological and clinical characteristics of reactivation of latent *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected patients. *Epidemiology and Infection*, 143(3), 600–607. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001253>
- Kotresha, D., & Noordin, R. (2010). Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 118(8), 529–542. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02629.x>
- Jung C, Lee CY, Grigg ME. The SRS superfamily of *Toxoplasma* surface proteins. *Int J Parasitol*. 2004 Mar 9;34(3):285-96. doi: 10.1016/j.ijpara.2003.12.004. PMID: 15003490.
- Landis J, Koch G: The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-74.
- Lekutis C, Ferguson DJ, Grigg ME, Camps M, Boothroyd JC. Surface antigens of *Toxoplasma gondii*: variations on a theme. *Int J Parasitol*. 2001 Oct;31(12):1285-92. doi: 10.1016/s0020-7519(01)00261-2. PMID: 11566296.
- Lüder, C. G., Bohne, W., & Soldati, D. (2001). Toxoplasmosis: a persisting challenge. *Trends in parasitology*, 17(10), 460–463. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(01\)02093-1](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(01)02093-1)
- Luma N, Nguenkam BC, Njankouo Y, Temfack E, Doualla MS, Halle MP et al. Encefalitis por toxoplasma en pacientes con VIH / SIDA ingresados en el hospital General de Douala entre 2004 y 2009: un estudio transversal. *BMC Research Notes*. 2013; 6: 146.
- Manrique, P.O., & Vildoso, M.T. (2012). TOXOPLASMOSIS CONGENITA EN EL HOSPITAL REGIONAL HONORIO DELGADO ESPINOZA DE AREQUIPA 1996 A



2011.

- Maquera-Afaray, Julio, Luna-Vilchez, Medalit, Salazar-Mesones, Blanca, Chiara-Chilet, Christian, Cordero-Campos, Alexander, & López, José W.. (2022). Toxoplasmosis congénita con enfermedad neurológica severa en un hospital de referencia del Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 39(2), 208-213. Epub 30 de junio de 2022. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2022.392.10897>
- Mayor, A. M., Fernández Santos, D. M., Dworkin, M. S., Ríos-Olivares, E., & Hunter-Mellado, R. F. (2011). Toxoplasmic encephalitis in an AIDS cohort at Puerto Rico before and after highly active antiretroviral therapy (HAART). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 84(5), 838–841. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0718>
- MINSA (2007) *Guía de Práctica Clínica para el diagnóstico y tratamiento de toxoplasmosis congénita*. Disponible: [https://www.inmp.gob.pe/uploads/file/Revistas/Neo2023/23\\_GU%C3%8DA%20DE%20PR%C3%81CTICA%20CL%C3%8DNICA%20PARA%20EL%20DIAGN%C3%93STICO%20Y%20TRATAMIENTO%20DE%20TOXOPLASMOSIS%20CONG%C3%89NITA.pdf](https://www.inmp.gob.pe/uploads/file/Revistas/Neo2023/23_GU%C3%8DA%20DE%20PR%C3%81CTICA%20CL%C3%8DNICA%20PARA%20EL%20DIAGN%C3%93STICO%20Y%20TRATAMIENTO%20DE%20TOXOPLASMOSIS%20CONG%C3%89NITA.pdf) (Acceso: 11 Octubre 2023).
- Mogollón, M. (2016). Estandarización y evaluación de un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en población peruana. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5378>
- Montoya, J.G. & Liesenfeld, O. (2004) Toxoplasmosis. *The Lancet*, 363, 1965-1976. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)
- Morales F, Gil A, Villanueva V, Gómez F. Prevalencia de infección por toxoplasma en escolares. *Bol Of Sanit Panam* [Internet]. 1979 [Consultado 15 Dic

2018];86(4). Disponible en:

<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/17369/v86n4p306.pdf?sequence=1>

- Negussie A., Beyene E., Palani S. Toxoplasmosis y factores de riesgo asociados en el seguimiento clínico prenatal de mujeres embarazadas en institutos de salud seleccionados de Jigjiga, este de Etiopía. *Revista internacional de salud y enfermedades tropicales* . 2017; 21 (3): 1–7. doi: 10.9734/ijtdh/2017/31177.
- Niquira Velarde, F. et al. Toxoplasmosis, investigación de su presencia en el Perú. Presentado en el III Congreso Peruano de Microbiología y Parasitología, Trujillo, Perú, 1970.
- Páez LA, Araque JM, Lozano AJ. Neuroimagen de la toxoplasmosis en el paciente con Sida. *Revist Facult Med Univ Nacion Colomb*. 2001;49(1):270–5.
- Paredes-Santos, T. C., Martins-Duarte, E. S., Vitor, R. W., de Souza, W., Attias, M., & Vommaro, R. C. (2013). Spontaneous cystogenesis in vitro of a Brazilian strain of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology international*, 62(2), 181–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.parint.2012.12.003>
- Pari, J. , Yauyo, R. , Aquino, A. , Adauto, M. , Ochoa, S. , Rojas, A. y Montalvo, R. (2020) Infección por *Toxoplasma gondii* en grupos de población de riesgo de los Andes peruanos. *Revista Abierta de Microbiología Médica* , 10 , 26-32. doi: [10.4236/ojmm.2020.101003](https://doi.org/10.4236/ojmm.2020.101003) .
- Paris, L. (2020). *Toxoplasmosis Medicina Tropical de Hunter y Enfermedades Infecciosas Emergentes.*, 803–813. DOI:10.1016/b978-0-323-55512-8.00106-x
- Pastor AF, Silva MR, Dos Santos WJT, Rego T, Brandão E, de-Melo-Neto OP, Rocha A. Recombinant antigens used as diagnostic tools for lymphatic filariasis. *Parasit Vectors*. 2021 Sep 15;14(1):474. doi: 10.1186/s13071-021-04980-3. PMID: 34526120; PMCID: PMC8442287.

- Peña Pérez, J. M. (2021). TOXOPLASMOSIS CEREBRAL EN PACIENTE CON VIH. *SITUA*, 24(1), 10-19. <https://doi.org/10.51343/si.v24i1.253>
- Pietkiewicz H, Hiszczyńska-Sawicka E, Kur J, Petersen E, Nielsen HV, Stankiewicz M, Andrzejewska I, Myjak P. Usefulness of *Toxoplasma gondii*-specific recombinant antigens in serodiagnosis of human toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004 Apr;42(4):1779-81. doi: 10.1128/JCM.42.4.1779-1781.2004. PMID: 15071048; PMCID: PMC387576.
- Reátegui B. C. & Vela, G. L. 2011. Factores socioeconómicos - epidemiológicos y su relación con la seroprevalencia de toxoplasmosis en gestantes atendidas en los hospitales “Felipe Arriola” y “Cesar Garayar”, Iquitos, Perú, 2009. *Neotropical Helminthology*, vol. 5, n° 1, pp. 31-40.
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, 25(2), 264–296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
- Rorman, E., Zamir, C. S., Rilgis, I., & Ben-David, H. (2006). Congenital toxoplasmosis--prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), 21(4), 458–472. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.10.006>
- Rostami, A., Karanis, P., & Fallahi, S. (2018). Advances in serological, imaging techniques and molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. *Infection*, 46(3), 303–315. <https://doi.org/10.1007/s15010-017-1111-3>
- Sánchez Artigas, Rolando, Cobos Valdés, Dailin, Sánchez Cruz, Liana, Miranda Cruz, Antonio, Camejo Roviralta, Leonardo, & Araujo Baptista, Liliana. (2016). La Toxoplasmosis observada como un problema no resuelto. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 272-283. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-)

[03002016000300006&lng=es&tlng=es.](https://doi.org/10.3390/pathogens10091111)

- Sarfraz-ur-Rahman, Akbar H, Shabbir MZ, Ullah U, Rashid MI. Development of Human Toxo IgG ELISA Kit, and False-Positivity of Latex Agglutination Test for the Diagnosis of Toxoplasmosis. *Pathogens*. 2021; 10(9):1111. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091111>
- Seeds J. W. (2004). Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe?. *American journal of obstetrics and gynecology*, 191(2), 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.05.078>
- Sepúlveda-Arias, J. C., Gómez-Marin, J. E., Bobić, B., Naranjo-Galvis, C. A., & Djurković-Djaković, O. (2014). Toxoplasmosis as a travel risk. *Travel medicine and infectious disease*, 12(6 Pt A), 592–601. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2014.05.007>
- Sierra M, Bosch J., Juncosa T., Matas I., Muñoz c., Andreu A., Barranco M., Dopico E., Guardià C., Lite J., Sanfeliu I., Viñas L. Diagnóstico serológico de las infecciones por *Toxoplasma gondii* [Internet]. Control Calidad SEIMC; [Consultado 28 Feb 2020].  
Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/toxo.pdf>
- Sivrikaya, G., & Bağrıaçık, E. Ü. (2011). Vero Hücre Kültüründe *Toxoplasma gondii* Üretimi [Production of *Toxoplasma gondii* in Vero cell culture]. *Turkiye parazitolojii dergisi*, 35(2), 61–64. <https://doi.org/10.5152/tpd.2011.16>
- Souza, I. M. F. N. B., Siqueira, V. D. S., Ribeiro, I. D. C., Moraes, L. S. P., Prado, D. P. G. D., Rezende, S. R., Costa, W. L. G. D., & Rezende, H. H. A. (2023). Molecular and serological diagnosis of toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 65, e19. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202365019>
- Suárez F., Andrade H. & Galisteo, A. (1999). Evaluación serológica del *Toxoplasma*

gondii en suinos mediante la prueba de elisa. *Rev. Inv. Vet. Perú*; 10 (1): 11-17.

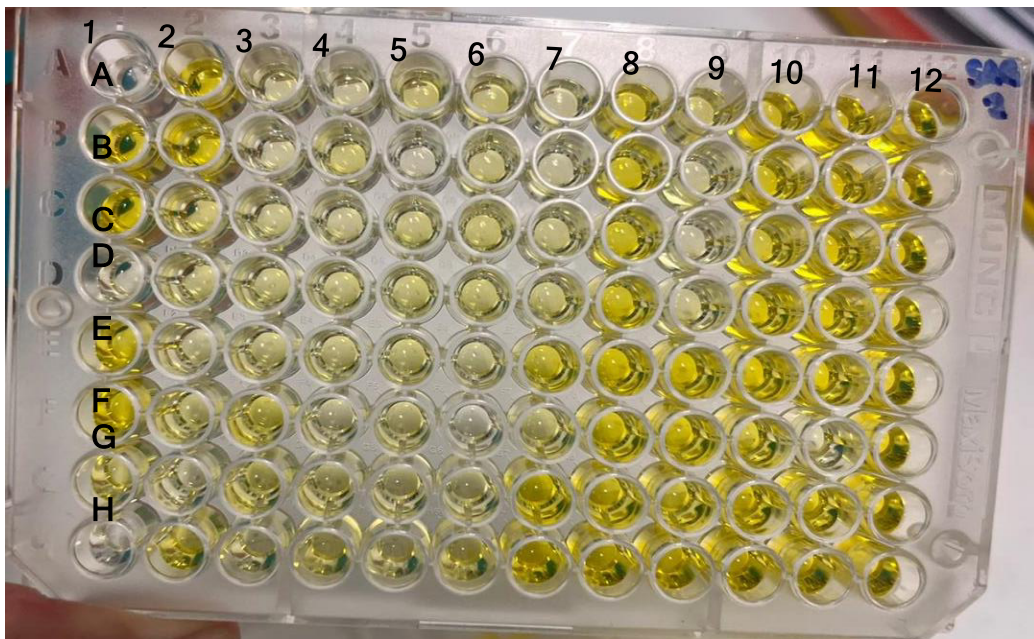
- Vidal, J. E., Colombo, F. A., de Oliveira, A. C., Focaccia, R., & Pereira- Chioccola, V. L. (2004). PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. *Journal of clinical microbiology*, 42(10), 4765–4768. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4765-4768.2004>
- Yang, R., Zhang, H., Xiong, Y., Gui, X., Zhang, Y., Deng, L., Gao, S., Luo, M., Hou, W., & Guo, D. (2017). Molecular diagnosis of central nervous system opportunistic infections and mortality in HIV-infected adults in Central China. *AIDS research and therapy*, 14, 24.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Absorbancias obtenidas de los ensayos e imagen de la placa con su respectiva leyenda para identificar resultados.

### a. Antígeno recombinante SAG 1

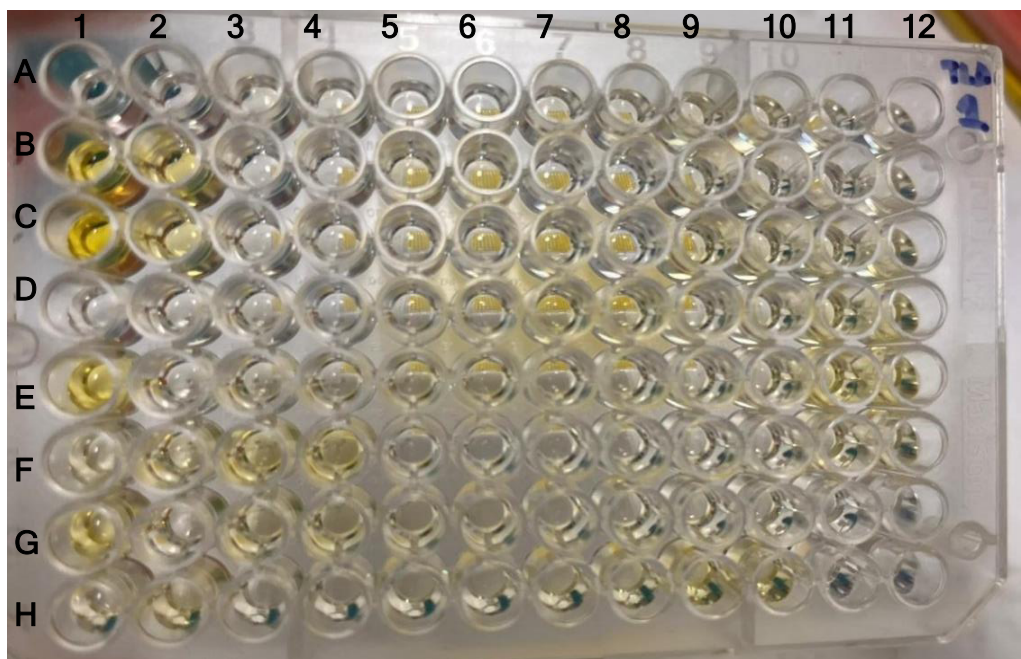
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.1	1.575	0.289	0.259	0.459	0.475	0.278	1.359	0.476	1.43	1.43	1.351
B	1.304	1.269	0.256	0.436	0.155	0.382	0.247	1.334	0.277	1.268	1.465	1.269
C	1.479	0.489	0.318	0.279	0.405	0.497	0.344	1.21	0.211	0.917	1.437	1.504
D	0.168	0.36	0.379	0.365	0.417	0.474	0.397	1.282	0.329	1.363	1.49	1.268
E	1.179	0.282	0.39	0.357	0.418	0.337	0.977	1.492	1.462	1.343	1.297	1.356
F	1.372	0.41	0.69	0.251	0.347	0.153	0.411	1.286	1.284	0.895	0.23	1.471
G	0.485	0.229	0.55	0.398	0.316	0.3	1.27	1.157	0.924	1.389	1.323	1.616
H	0.078	0.629	0.267	0.43	0.297	0.433	1.184	1.249	1.217	1.482	1.133	1.347



Pozo A1: blanco. Pozo B1, B2: control positivo. Pozo D1, E2 y F2: control negativo. Color amarillo: positivo. Color blanco: negativo

b. TLA – población sana

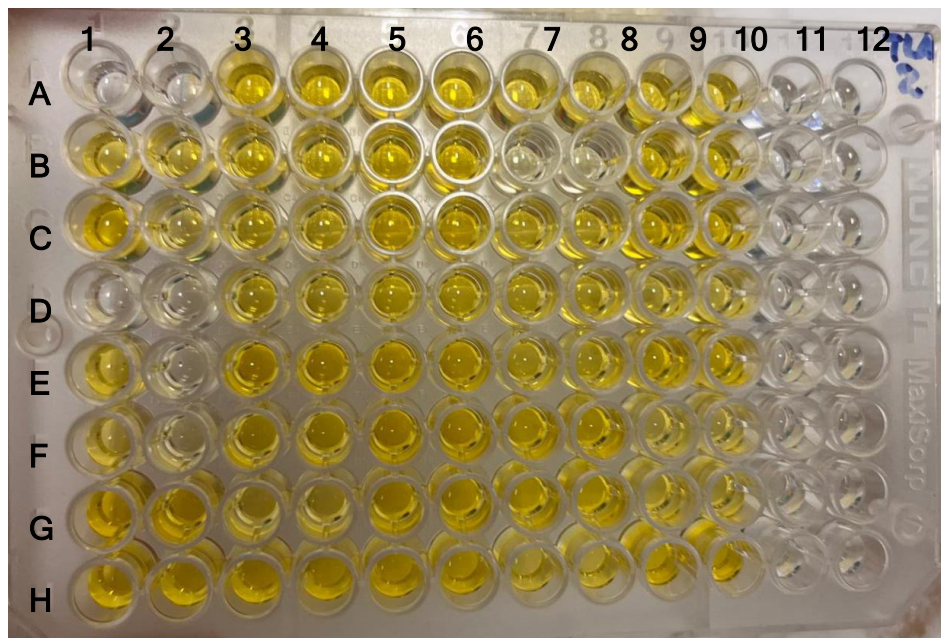
TLA 1 - población sana												
Archivo	Editar		Ver									
<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.053	0.051	0.116	0.096	0.062	0.071	0.114	0.119	0.199	0.186	0.102	0.101
B	0.776	0.534	0.081	0.078	0.201	0.176	0.061	0.065	0.148	0.146	0.121	0.119
C	1.44	0.37	0.109	0.096	0.091	0.097	0.145	0.052	0.225	0.207	0.178	0.186
D	0.077	0.094	0.112	0.058	0.1	0.122	0.218	0.216	0.145	0.149	0.257	0.272
E	0.649	0.1	0.143	0.138	0.179	0.19	0.141	0.138	0.147	0.15	0.335	0.335
F	0.166	0.227	0.322	0.309	0.067	0.082	0.103	0.102	0.102	0.105	0.177	0.184
G	0.396	0.105	0.204	0.192	0.135	0.146	0.12	0.124	0.11	0.115	0.06	0.058
H	0.16	0.24	0.103	0.106	0.121	0.123	0.162	0.167	0.291	0.284	0.066	0.061



Pozo A1: blanco. Pozo B1, B2: control positivo. Pozo D1, E2 y F2: control negativo. Color amarillo: positivo. Color blanco: negativo

c. TLA – población de riesgo

TLA 2 - población de riesgo												
Archivo	Editar		Ver									
<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.049	0.072	1.395	1.354	1.218	1.26	0.788	0.874	1.021	1.151		
B	0.828	0.721	0.973	0.9	1.414	1.433	0.14	0.142	1.368	1.499		
C	1.741	0.501	0.819	0.786	1.706	1.779	0.792	0.813	1.589	1.887		
D	0.074	0.098	0.758	0.731	0.949	0.907	0.834	0.851	0.69	0.744		
E	0.838	0.099	1.812	1.806	1.986	1.856	0.831	0.837	1.479	1.603		
F	0.614	0.25	0.967	0.943	1.885	2.088	1.437	1.571	0.575	0.598		
G	1.649	1.58	0.641	0.632	1.48	1.567	1.216	1.358	0.734	0.792		
H	1.019	1.011	1.155	1.102	1.304	1.391	0.69	0.726	1.461	1.46		



Pozo A1: blanco. Pozo B1, B2: control positivo. Pozo D1, E2 y F2: control negativo. Color amarillo: positivo. Color blanco: negativo



**Anexo 2.** Resultados obtenidos en el ensayo de ELISA.

- En población sana

	<b>SAG 1</b>	<b>TLA 1</b>
<b>1</b>	0	1
<b>2</b>	1	1
<b>3</b>	1	1
<b>4</b>	0	1
<b>5</b>	1	1
<b>6</b>	1	1
<b>7</b>	1	1
<b>8</b>	1	1
<b>9</b>	1	1
<b>10</b>	0	0
<b>11</b>	0	1
<b>12</b>	1	1
<b>13</b>	1	1
<b>14</b>	1	1
<b>15</b>	1	1
<b>16</b>	1	1
<b>17</b>	1	1
<b>18</b>	1	1
<b>19</b>	1	1
<b>20</b>	1	1
<b>21</b>	1	1
<b>22</b>	1	1
<b>23</b>	1	1
<b>24</b>	1	1
<b>25</b>	1	1
<b>26</b>	1	1
<b>27</b>	1	1
<b>28</b>	1	1
<b>29</b>	0	1
<b>30</b>	1	1
<b>31</b>	0	1
<b>32</b>	0	1
<b>33</b>	1	1
<b>34</b>	1	1
<b>35</b>	1	1
<b>36</b>	1	0
<b>37</b>	1	1
<b>38</b>	1	1
<b>39</b>	1	1
<b>40</b>	1	1

<b>41</b>	0	0
<b>42</b>	1	1

Siendo 0 = positivo y 1 = negativo. Con un total de 42 muestras.

- En población de riesgo

	<b>SAG 1</b>	<b>TLA 1</b>
<b>1</b>	0	0
<b>2</b>	0	0
<b>3</b>	0	0
<b>4</b>	0	0
<b>5</b>	0	0
<b>6</b>	0	0
<b>7</b>	0	0
<b>8</b>	0	0
<b>9</b>	0	0
<b>10</b>	0	0
<b>11</b>	0	0
<b>12</b>	0	0
<b>13</b>	0	0
<b>14</b>	0	0
<b>15</b>	0	0
<b>16</b>	0	0
<b>17</b>	0	0
<b>18</b>	0	0
<b>19</b>	0	0
<b>20</b>	1	1
<b>21</b>	0	0
<b>22</b>	0	0
<b>23</b>	0	0
<b>24</b>	0	0
<b>25</b>	0	0
<b>26</b>	0	0
<b>27</b>	0	0
<b>28</b>	0	0
<b>29</b>	0	0
<b>30</b>	0	0
<b>31</b>	0	0
<b>32</b>	0	0
<b>33</b>	0	0

Siendo 0 = positivo y 1 = negativo. Con un total de 33 muestras.