



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Ciencias Biológicas**

**Escuela Profesional de Ciencias Biológicas**

**Estandarización y evaluación de la técnica de Western  
blot para la detección de IgM E IgG  
*ANTI-Toxoplasma gondii* utilizando un modelo murino**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Bióloga con mención en  
Zoología

**AUTOR**

Yomara Koraly ROMERO LÁZARO

**ASESOR**

Juan Atilio JIMÉNEZ CHUNGA

Lima, Perú

2017

## I. RESUMEN

La toxoplasmosis es causada por el protozoo parásito intracelular obligado *Toxoplasma gondii*. Este agente infeccioso es generalmente transmitido por los alimentos e ingresa al hospedero a través de la ingestión de carne cruda o poco cocida derivada de animales infectados. Por lo general, la toxoplasmosis aguda ocurre en pacientes inmunosuprimidos, mientras que la mayoría de las personas permanecen en la fase crónica sin síntomas. Las pruebas diagnósticas actuales no pueden diferenciar entre infección aguda y crónica. En este estudio hemos validado la respuesta contra antígenos de *T. gondii* en un modelo experimental de ratón de Toxoplasmosis en dos etapas de la infección. Veinticuatro ratones hembras Swiss Webster fueron infectados por vía oral con quistes de *T. gondii* cepa Me49 y cuatro ratones fueron inoculados con solución salina (grupo control). La sangre se recogió a los 1, 3, 7 días y 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 semanas después. Las infecciones cerebrales con quistes del parásito de ratón se confirmaron mediante microscopía óptica. La técnica de Western blot se realizó utilizando las proteínas de lisado del taquizoíto de la cepa RH como antígeno, e IgM e IgG como anticuerpos de detección. Para la detección de anticuerpos IgM anti-*T. gondii* se identificaron 18 proteínas inmunogénicas, de las cuales cinco (25,28, 35.5, 58 y 83 kDa) aparecieron dentro de 8 y 16 días después de la infección y mantuvieron una alta sensibilidad hasta 64 días. Para la detección de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* se observaron un total de 30 proteínas, las mismas observadas para IgM, además de otras proteínas inmunogénicas y también el reconocimiento específico de proteínas en fase crónica con peso molecular de 15, 18, 19, 21, 22,22.5,23, 50 y 145 kDa, estos dos últimos con alta sensibilidad. Las bandas correspondientes a estas proteínas se observaron a los

36 días después de la infección (fase crónica), posteriormente sus intensidades aumentaron progresivamente. La detección de estas proteínas por la técnica de Western blot podría ser útil para estimar la etapa y el desarrollo de la infección en el diagnóstico de la enfermedad de toxoplasmosis.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, quiste tisular, Cepa Me49, Cepa RH, Western blot.

## II. ABSTRACT

Toxoplasmosis is caused by the obligate intracellular parasite protozoan *Toxoplasma gondii*. This infectious agent is generally transmitted by food and enters the host through ingestion of raw or undercooked meat derived from infected animals. Usually the acute toxoplasmosis occurs in immunosuppressed patients, while most people remain in the chronic phase without symptoms. Current diagnostic tests are not able to differentiate between acute and chronic infection. In this study, we have validated the response against *T. gondii* antigens in an experimental mouse model of Toxoplasmosis at two stages of infection. Twenty-four female Swiss Webster mice were infected by oral cyst with *T. gondii* Me49 strain and four mice were inoculated with saline solution (control group). Blood was collected at 1, 3, 7 days and 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 weeks later. The mouse brain infections with cyst of parasite were confirmed by optical microscopy. The Western blot technique was performed using the tachyzoite lysate proteins of the RH strain as antigen, and IgM and IgG as detection antibodies. For detection of IgM ant-*T. gondii*, eighteen immunogenic proteins were identified, of which five (25,28, 35.5, 58 and 83 kDa) appeared within 8 and 16 days' post infection and maintained a high sensitivity up to 64 days. For detection of IgG ant-*T. gondii*, a total of 30 IgM proteins were observed, as well as other immunogenic proteins and also the specific recognition of proteins in chronic state with molecular weight of 15, 18, 19, 21, 22,22.5,23, 50 and 145 kDa, the latter two with high sensitivity. The bands corresponding to these proteins were observed at 36 days post infection (chronic stage), and afterwards their intensity increased progressively. The detection of these proteins by Western blot

technique might be useful to estimate the stage and development of infection in the diagnosis of toxoplasmosis disease.

*Key words:* *Toxoplasma gondii*, tissue cyst, Me49 strain, RH strain, Western blot.