

Artículo Original / Original Article

[10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122604](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122604)

Desempeño del ELISA *in-house* con antígenos RH y NTE para el diagnóstico serológico de *Toxoplasma gondii* en caninos

Ingrid Gayoso¹, Cecilia González Vatteone², María Fátima Rodríguez³, Yvalena Arévalos de Guillen¹, Cynthia Bernal¹, Alejandra Rojas¹, Sady Brites¹, Emilia Delvalle¹, *María Eugenia Acosta de Hetter¹

¹Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. San Lorenzo, Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas. San Lorenzo, Paraguay

³Laboratorio CEDIVEP. San Lorenzo, Paraguay

Editor Responsable: Ramona Florencia del Puerto Rodas¹. Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay. Email: colepuerto@hotmail.com

Cómo referenciar este artículo / How to reference this article:

Gayoso I, Gonzalez Vatteone C, Rodriguez MF, Arévalos de Guillen Y, Bernal C, Rojas A, et al. Desempeño del ELISA *in-house* con antígenos RH y NTE para el diagnóstico serológico de *Toxoplasma gondii* en caninos. Mem Inst Investig Cienc Salud. 2026; 24(1): e24122604.
[10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122604](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122604)

RESUMEN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica causada por *Toxoplasma gondii* que generalmente no produce signos clínicos en caninos, aunque puede afectar a animales inmunodeprimidos o con comorbilidades. El objetivo de este estudio fue evaluar la concordancia y desempeño diagnóstico del ELISA indirecto *in-house* con antígenos soluble de las cepas RH y NTE de taquizoito de *T.gondii* frente a un ELISA comercial multiespecie con la proteína recombinante p30 anti *T.gondii*. Se realizó un estudio de pruebas diagnósticas de corte transversal con 96 sueros caninos, registrando sexo, edad y raza. Los sueros se procesaron mediante ELISA indirecto *in-house* con antígenos soluble de las cepas RH y NTE y se compararon con el test comercial multiespecie. Se calcularon frecuencias demográficas, concordancia (Kappa de Cohen), correlación de densidades ópticas y desempeño diagnóstico: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN). La frecuencia de reacción positiva fue de 40,62% para RH y 21,88% para NTE. La concordancia entre ambas cepas fue moderada (Kappa = 0,4876) con correlación alta ($r = 0,692$; $p = 0,001$). Frente a la proteína p30, la concordancia fue moderada para RH (Kappa = 0,5089) y débil para NTE (Kappa = 0,2082). Los indicadores de desempeño fueron: RH sensibilidad 71,79%, especificidad 80,70%; NTE sensibilidad 33,33%, especificidad 85,96%. El ELISA indirecto *in-house* permitió evaluar anticuerpos anti-*T. gondii* en sueros caninos, mostrando mayor concordancia y desempeño diagnóstico para la cepa RH, aportando información relevante sobre la utilidad de estos antígenos en estudios serológicos.

Palabras clave: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, caninos, tipificación de cepas, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.

Recepción: 05/09/2025. **Revisión:** 14/10/2025. **Aceptación:** 24/06/2026.

Autor correspondiente: María Eugenia Acosta de Hetter. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay.
Email: meacosta@iics.una.py



This is an open access article published under a [Creative Commons License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Performance of the in-house ELISA using RH and NTE antigens for serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* in canines

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by *Toxoplasma gondii* that generally does not produce clinical signs in dogs, although it can affect immunocompromised animals or those with comorbidities. The objective of this study was to evaluate the concordance and diagnostic performance of the in-house indirect ELISA with soluble antigens from the RH and NTE strains of *T. gondii* tachyzoites compared to a commercial multispecies ELISA with the recombinant p30 anti-*T. gondii* protein. A cross-sectional diagnostic test study was conducted with 96 canine sera, recording sex, age, and breed. The sera were processed using an in-house indirect ELISA with soluble antigens from the RH and NTE strains and compared with the commercial multispecies test. Demographic frequencies, concordance (Cohen's Kappa), optical density correlation, and diagnostic performance (sensitivity, specificity, positive predictive value [PPV], and negative predictive value [NPV]) were calculated. The positive reaction frequency was 40.62% for RH and 21.88% for NTE. The agreement between the two strains was moderate (Kappa = 0.4876) with high correlation ($r = 0.692$; $p = 0.001$). Compared to the p30 protein, the agreement was moderate for RH (Kappa = 0.5089) and weak for NTE (Kappa = 0.2082). The performance indicators were: RH sensitivity 71.79%, specificity 80.70%; NTE sensitivity 33.33%, specificity 85.96%. The in-house indirect ELISA enabled the evaluation of anti-*T. gondii* antibodies in canine sera, demonstrating greater concordance and diagnostic performance for the RH strain, providing relevant information on the usefulness of these antigens in serological studies.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, canines, strain typing, enzyme-linked immunosorbent assay.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica^(1,2) que tiene como agente causal al *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), cuyo huésped definitivo son los felinos. *T. gondii* es un parásito intracelular obligado capaz de infectar a una gran variedad de hospedadores vertebrados. Se transmite por la ingestión de ooquistes presentes en las heces de felinos, la ingestión de quistes tisulares de *T. gondii* contenidos en tejidos de animales con infección crónica y por vía transplacentaria⁽²⁻⁴⁾.

La infección por *T. gondii* en perros no solo tiene relevancia desde el punto de vista epidemiológico, sino también desde el clínico. El perro doméstico al ser un huésped intermediario del parásito, puede adquirir la forma infectante al entrar en contacto con heces de gatos o con comportamientos de coprofagia. Las personas entran en contacto con sus mascotas a través de caricias, exponiéndose al parásito que puede estar presente en la superficie corporal, la boca y las patas del canino⁽⁵⁾. Esta patología generalmente no presenta signos asociados en perros, sin embargo, pueden observarse manifestaciones clínicas en animales inmunodeprimidos o que presentan comorbilidades^(6,7).

Comprender la dinámica de la infección en los perros también implica tener en cuenta las características del parásito involucrado. El *Toxoplasma gondii* presenta una diversidad genética variable, ya que existen factores que podrían contribuir a la modificación genética⁽⁸⁾. Se clasificó inicialmente en los tipos I, II y III, donde el tipo I (cepa RH) se reconoce como virulento en ratones, mientras que los tipos II (NTE) y III se consideran avirulentos, pero esta tipificación evolucionó con el hallazgo de cepas atípicas, especialmente en América del Sur. En Brasil se identificaron cepas como BrI, BrII, BrIII, BrIV, además de otras exóticas como Tipo 12, África 1 y China 1. Las cepas atípicas se relacionan con la manifestación severa de la patología, la toxoplasmosis multivisceral y una alta tasa de mortalidad en pacientes inmunocompetentes⁽⁸⁻¹¹⁾.

Esta variabilidad genética no solo determina la virulencia del parásito, sino también su distribución geográfica. En América del Sur *T. gondii* adquiere especial relevancia debido a su marcada diversidad genética, reflejada en las altas tasas de seroprevalencia reportadas en países como Chile (55,9%), Brasil (70-81%), Argentina (21,2%) y Paraguay (63-84%) (1,9,12-14). En Brasil se tiene evidencia sobre cepas atípicas que son las que principalmente causan la infección a sus hospedadores. Sin embargo, en Paraguay aún no se han reportado sobre las cepas circulantes en la región y su prevalencia.

La toxoplasmosis presenta una alta prevalencia en Paraguay, y la severidad clínica en humanos y las estrategias terapéuticas dependen de la cepa infectante, por lo que resulta fundamental conocer las variantes circulantes en la región. Dado que los caninos están en constante contacto con el ambiente, constituyen posibles reservorios y portadores de distintas cepas del parásito. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la concordancia y el desempeño diagnóstico del ELISA in-house con antígenos de las cepas RH y NTE frente a un ELISA comercial con la proteína p30 (SAG1) de antígeno, constituyendo un primer acercamiento para determinar si la respuesta serológica de los caninos difiere entre cepas locales y el antígeno recombinante, y proporcionar evidencia preliminar sobre la utilidad de estos antígenos en estudios de vigilancia serológica de la toxoplasmosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio y selección de muestras

Se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal. Los 96 sueros caninos empleados en este estudio pertenecen a la seroteca del Departamento de Producción del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS-UNA). Estas muestras fueron sometidas previamente a un análisis de toxoplasmosis mediante un test comercial multiespecie IDVET (ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species) en el Laboratorio CEVIDEP-San Lorenzo y posteriormente donadas al Dpto. de Producción-IICS-UNA. El muestreo aplicado fue de tipo probabilístico por conveniencia. Se incluyeron los sueros de pacientes caninos positivos y negativos para toxoplasmosis, diagnosticado por el ELISA comercial multiespecie.

Las muestras procedían de perros domésticos atendidos en clínicas veterinarias del área metropolitana de Asunción y ciudades aledañas. Se incluyeron animales con diagnóstico previo positivo y negativo por el test comercial, sin distinción de sexo ni edad. Se excluyeron muestras hemolizadas o con volúmenes insuficientes.

ELISA indirecto *in house*

Se utilizaron ratones albinos suizos para la producción de antígeno a partir de taquizoítos criopreservados de dos cepas de *Toxoplasma gondii* (RH y NTE). Los taquizoítos fueron homogeneizados mediante sonicación para obtener un antígeno soluble. Para los ensayos serológicos, las placas de ELISA fueron sensibilizadas con 1 µg de antígeno soluble por pocillo para la cepa RH y 2 µg por pocillo para la cepa NTE, empleando una solución tampón carbonato con antígeno a partir de 1 mg/mL para la cepa RH y 36,8 mg/mL para la cepa NTE. Este antígeno se utilizó posteriormente en el ensayo ELISA *in-house* para evaluar la respuesta serológica en muestras caninas.

Los 96 sueros caninos fueron analizados en una dilución de 1:40, empleando 50 µL por pocillo. Se incorporó un pool de sueros positivos y negativos como controles internos. Tras incubación a 37 °C durante 1 h y tres lavados consecutivos con tampón de lavado, se adicionó conjugado anti-IgG canino marcado con peroxidasa, en diluciones de 1:10.000 para la cepa RH y 1:1.000 para la cepa NTE. Posteriormente, se realizó una segunda incubación seguida de lavado, y se agregaron 100 µL de sustrato cromogénico por pocillo. La lectura de absorbancia se efectuó a 405 nm a los 20, 30 y 40 minutos, ajustando el tiempo según la intensidad del desarrollo cromogénico.

El ELISA comercial IDVET (ID Screen® *Toxoplasmosis Indirect Multi-species*) es un ensayo inmunoenzimático indirecto diseñado para detectar anticuerpos IgG específicos contra *Toxoplasma gondii* en diferentes especies animales (rumiantes, cerdos, perros,

gatos), utilizando un solo kit comercial. Su fundamento se basa en el principio clásico del ELISA indirecto: los pocillos de la microplaca están sensibilizados con la proteína P30 (antígeno SAG1) del parásito, una de las proteínas de superficie más inmunogénicas y conservadas de *T. gondii*, que induce una respuesta humoral robusta en huéspedes infectados.

Asuntos estadísticos

Se calcularon las frecuencias de las variables demográficas de los caninos, incluyendo sexo, edad y raza. El nivel de concordancia entre los métodos se determinó mediante la índice kappa de Cohen ⁽¹⁵⁾, considerando un nivel de confianza del 95% y significancia estadística de $p < 0,05$, tanto para la cepa RH como para la cepa NTE. Además, se calcularon los indicadores de desempeño diagnóstico del ELISA *in-house* con antígenos de las cepas RH y NTE en comparación con el ELISA comercial de proteína p30, incluyendo sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). El procesamiento estadístico de los datos se realizó utilizando el programa EPIDAT 4.2. y 3.1.

Asuntos éticos

Este estudio fue aprobado por los comités de ética de la FCQ-UNA (código 1107/2024) y del IICS-UNA (código P19/2023). Los sueros codificados, almacenados en la seroteca del IICS-UNA, forman parte de un proyecto previamente aprobado (código P12/2023) para el desarrollo del ELISA para caninos. Todos los análisis fueron realizados únicamente por los investigadores, sin generar impacto negativo sobre los animales, que ya contaban con diagnóstico previo.

RESULTADOS

Se analizaron 96 sueros caninos, de los cuales 42 (43,75%) corresponden a hembras y 54 (56,25%) a machos. Respecto a la raza, 35 (36,46%) eran mestizos y 61 (63,54%) pertenecían a otras razas. En cuanto a la edad, 69 (71,88%) eran adultos, 4 (4,16%) cachorros y 23 (23,96%) carecían de información.

La frecuencia de reacción positiva ante *Toxoplasma gondii* fue de 39 (40,62%) para la cepa RH y de 21 (21,88%) para la cepa NTE. Las absorbancias promedio (DO $\pm$ DS) a los 30 minutos fueron: 0,535 $\pm$ 0,594 para RH (DO control positivo=1,462 $\pm$ 0,276; DO control negativo=0,261 $\pm$ 0,118) y 0,365 $\pm$ 0,276, para NTE (DO control positivo=0,589 $\pm$ 0,107; DO control negativo=0,264 $\pm$ 0,107).

Se evaluó la concordancia y correlación entre ambas cepas (Tabla 1), observándose una concordancia moderada (Kappa=0,4876) con significancia estadística ($p=0,00001$). De las 96 muestras, 22 presentaron resultados discordantes: 20 fueron positivas para RH y negativas para NTE, mientras que 2 fueron positivas para NTE y negativas para RH.

Tabla 1. Concordancia de reacción serológica entre cepas RH y NTE por el método de ELISA *in house* indirecto.

		Cepa NTE		
		Positivos n(%)	Negativos n(%)	Total n(%)
Cepa RH	Positivos	19(19,79)	20(20,83)	39(40,62)
	Negativos	2(2,08)	55(57,29)	57(59,38)
	Total	21(21,88)	75(78,12)	96(100)

Kappa=0,4876; IC95% (0,3182-0,6571); $p=0,00001$

Se observó una correlación alta entre las densidades ópticas de las cepas evaluadas, con un coeficiente de correlación de 0,692 con una $p=0,001$ (Figura 1).

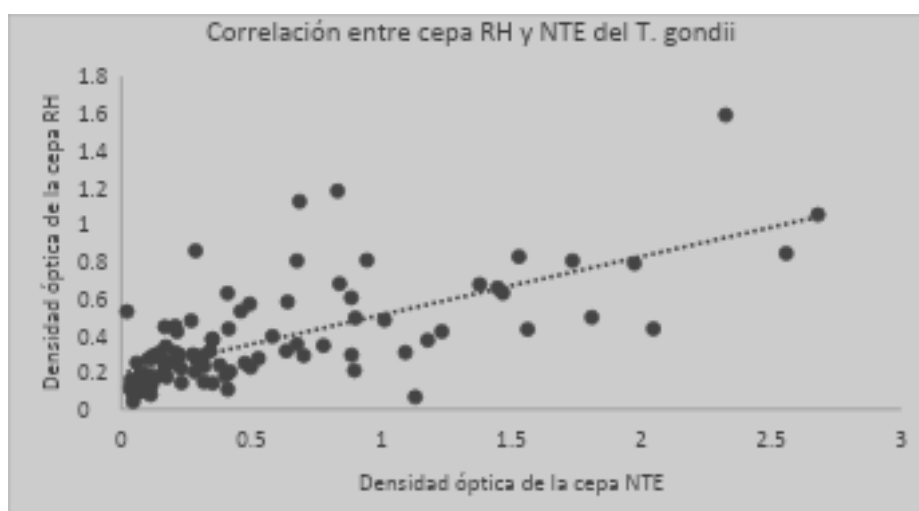


Figura 1. Gráfico de dispersión. Densidades ópticas obtenidas en sueros frente a las cepas RH y NTE del *T. gondii*, medidas en el ELISA *in house* indirecto.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la comparación entre la cepa RH y la proteína p30. La concordancia entre la proteína p30 recombinante del ELISA comercial IDVET (ID Screen® *Toxoplasmosis Indirect Multi-species*) y el antígeno de la cepa RH del ELISA *in-house* desarrollado en este estudio fue moderada ($Kappa = 0,5089$) y estadísticamente significativa ($p=0.00001$). De las 96 muestras incluidas, 11 sueros resultaron positivos para la cepa RH pero negativos para la proteína p30. En cuanto a los indicadores de desempeño diagnóstico del ELISA *in-house* con antígeno de la cepa RH en comparación con el ELISA comercial de proteína p30, la sensibilidad fue de 71,79%, la especificidad de 80,70%, el valor predictivo positivo (VPP) de 71,79% y el valor predictivo negativo (VPN) de 80,70%.

Tabla 2. Concordancia y desempeño diagnóstico del ELISA *in-house* (cepa RH) frente al ELISA comercial multiespecie con proteína p30.

		Multiespecie (p30)		
		Positivos n (%)	Negativos n (%)	Total n (%)
Cepa RH	Positivos	28(29,17)	11(11,46)	39(40,62)
	Negativos	11(11,46)	46(47,92)	57(59,38)
	Total	39(40,62)	57(59,38)	96(100)

$K=0.5250$	$IC_{95\%} (0,3516-0,6983)$
Sensibilidad:71,79%	$IC_{95\%} (56,39\%-87,20\%)$
Especificidad:80,70%	$IC_{95\%} (69,58\%-91,82\%)$
VPP:71,79%	$IC_{95\%} (56,39\%-87,20\%)$
VPN:80,70%	$IC_{95\%} (69,58\%-91,82\%)$

La comparación entre la respuesta ante la proteína p30 y el antígeno de la cepa NTE mostró una concordancia débil ($Kappa = 0,2082$), aunque estadísticamente significativa ($p = 0,0247$). Se analizaron 96 muestras, 8 sueros resultaron positivos para la cepa NTE y negativos para la proteína p30 (Tabla 3). El análisis de desempeño diagnóstico del ELISA *in-house* con antígeno de la cepa NTE frente al ELISA comercial reveló una sensibilidad del 33,33%, especificidad del 85,96%, valor predictivo positivo (VPP) del 61,90% y valor predictivo negativo (VPN) del 65,33%.

Tabla 3. Concordancia y desempeño diagnóstico del ELISA *in-house* (cepa NTE) frente al ELISA comercial multiespecie con proteína p30.

		Multiespecie (p30)		
		Positivos n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Cepa NTE	Positivo	13(13,54)	8(8,33)	21(21,88)
	Negativo	26(27,08)	49(51,04)	75(78,12)
	Total	39(40,62)	57(59,38)	96(100)

$K=0,2082$	$IC_{95\%} (0,0228-0,3935)$
Sensibilidad: 33,33%	$IC_{95\%} (17,26\%-49,41\%)$
Especificidad: 85,96%	$IC_{95\%} (76,07\%-95,86\%)$
VPP: 61,90%	$IC_{95\%} (38,75\%-85,06\%)$
VPN: 65,33%	$IC_{95\%} (53,9\%-76,77\%)$

DISCUSIÓN

Este estudio aporta datos sobre la frecuencia de IgG positivos para *T. gondii* en 96 caninos, fue de 39 (40,62%) para la cepa RH (linaje tipo I) y de 21(21,88%) para la cepa NTE (linaje tipo II). Las cepas del linaje tipo I, como RH, se caracterizan por su alta virulencia y una dosis letal de 100 con un solo parásito viable en modelos murinos, asociándose principalmente a casos graves de toxoplasmosis congénita ⁽¹⁶⁾.

Diversos estudios moleculares han demostrado que en América del Sur y Centroamérica predomina el linaje tipo III ⁽¹⁰⁾, aunque existe marcada diversidad genética regional: en Brasil circulan linajes atípicos BrI–BrIV ⁽¹⁷⁾; en Argentina predomina el tipo III; en Uruguay, el tipo I; en Perú y Colombia, el BrIV; y en Chile, una variante del tipo II ⁽¹⁰⁾. En este contexto, las diferencias de reactividad observadas entre RH y NTE en una misma muestra podrían atribuirse a variaciones genéticas que afectan la expresión de proteínas asociadas a virulencia y evasión inmune, modificando la presentación antigénica y la detección de anticuerpos por ELISA ⁽¹⁸⁾.

Se observó concordancia moderada y significativa entre la cepa RH del ELISA *in house* y la proteína p30 recombinante del ELISA comercial multiespecie, mientras que la comparación con la cepa NTE mostró concordancia débil pero significativa. Estas diferencias reflejan que ambos métodos detectan anticuerpos relacionados, pero con distinta intensidad, lo cual podría deberse a la variabilidad antigénica entre cepas virulentas y avirulentas, y a que p30 representa un único antígeno recombinante.

De las 96 muestras analizadas, algunas resultaron positivas para RH o NTE y negativas para p30, lo que indica que la sensibilidad del ELISA *in house* puede diferir de la obtenida con antígenos recombinantes simples, y que los métodos basados en antígenos del parásito completo pueden generar reacciones cruzadas ⁽¹⁹⁻²¹⁾. Estudios recientes con antígenos quiméricos que combinan fragmentos inmunodominantes de SAG1 (p30) y SAG2 han demostrado un mejor desempeño diagnóstico. SAG1 es la principal proteína de superficie del taquizoíto, altamente conservada e inmunodominante, mientras que SAG2 también

participa en la interacción parásito–hospedador y presenta variaciones antigénicas entre linajes. La combinación de epítomos de ambas proteínas amplía el reconocimiento serológico, aumentando la sensibilidad y especificidad en comparación con antígenos individuales o lisados totales. Según Liyanage et al. ⁽²⁰⁾, los ensayos que emplean antígenos recombinantes múltiples o quiméricos muestran mayor concordancia y menor reactividad cruzada que los basados en parásito completo.

La alta variabilidad genética de *T. gondii* en América del Sur puede explicarse por reinfección derivada de la caza de hospedadores definitivos y recombinación genética subsiguiente, lo que sugiere que algunas muestras podrían corresponder a individuos infectados con cepas no clonales producto de la combinación de linajes principales ⁽⁸⁾. En este estudio, de las 96 muestras analizadas, 20 fueron positivas para RH, pero negativas para NTE, mientras que 2 fueron positivas para NTE y negativas para RH, indicando la posible circulación de linajes tipo I y tipo II en el territorio nacional.

Estos hallazgos destacan la importancia de considerar la variabilidad antigénica de *T. gondii* en la interpretación de resultados serológicos. La diferencia en la reactividad entre las cepas RH y NTE, así como frente a la proteína p30 recombinante, evidencia que la selección de antígenos influye en la sensibilidad y especificidad del ELISA. En el contexto nacional, estos datos preliminares proporcionan información valiosa para guiar investigaciones futuras y optimizar el diagnóstico de toxoplasmosis en animales y humanos, adaptando estrategias que ya se aplican internacionalmente a la realidad local.

Contribución de cada autor

Ingrid Gayoso: conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, y redacción, revisión y edición.

María Eugenia Acosta de Hetter: conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto, recursos, y redacción, revisión y edición.

Emilia Delvalle: curación de datos, investigación, y redacción, revisión y edición.

María Fátima Rodríguez: curación de datos.

Cecilia González Vatteone: análisis formal, y redacción, revisión y edición.

Yvalena Arévalos de Guillen: recursos, y redacción, revisión y edición.

Sady Britez, Alejandra Rojas y Cynthia Bernal: redacción, revisión y edición.

Todos los autores aprobaron la versión final del manuscrito.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Financiamiento: Ninguno.

Disponibilidad de datos previa solicitud: Los conjuntos de datos analizados durante el estudio están disponibles previa solicitud al autor correspondiente: María Eugenia Acosta de Hetter, correo electrónico: meacosta@iics.una.py

Revisión por pares: Este artículo fue evaluado mediante un proceso de revisión por pares doble ciego, conforme a la política de transparencia editorial de la revista. Los comentarios de los evaluadores y su identidad no están disponibles para esta publicación. Las observaciones y sugerencias fueron consideradas por los autores, quienes realizaron las modificaciones necesarias hasta llegar a la versión final publicada. Este procedimiento tiene como objetivo garantizar la integridad científica del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González-Achar I, González-Vatteone C, Arévalo-de Guillén I, Carpinelli MM, Meza T, Aria L, Rojas A, Infazón B, Acosta ME. Perfil antigénico en fase aguda y crónica de toxoplasmosis en embarazadas por la técnica de Western Blot. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2018;16(3):35-43. 10.18004/mem.iics/1812-9528/2018.016(03)35-043
2. Ortiz Patricio Á. Prevalencia de toxoplasmosis en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en el Barrio La Laguna [tesis]. Latacunga (Ecuador): Universidad Técnica de Cotopaxi; 2018. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5243>
3. Morán DLT, Morán SSS, Gómez JJA. Seroprevalencia de *Toxoplasma* spp. en

- perros que conviven con gatos. *Rev Pertin Académica*. 2020; 4(3): 27-39. 10.5281/zenodo.4552885
4. Goicoechea ML. Presencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en caninos de dos zonas de la ciudad de Mar del Plata [tesis]. La Plata (Argentina): Universidad Nacional de La Plata; 2021.
<https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/129914>
 5. Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OCH, Yang Y, Su C. *Toxoplasma gondii* infections in dogs: 2009-2020. *Vet Parasitol*. 2020; 287: 109223. 10.1016/j.vetpar.2020.109223
 6. Lizbeth Cahueñas R. Detección de toxoplasma en perros en una clínica veterinaria al sur de Quito con el test *Toxoplasma* IgG/IgM durante marzo y abril 2020 [tesis]. Quito: Universidad de las Américas; 2020.
<http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12507>
 7. Pepper A, Mansfield C, Stent A, Johnstone T. Toxoplasmosis as a cause of life-threatening respiratory distress in a dog receiving immunosuppressive therapy. *Clin Case Rep*. 2019; 7(5): 942-8. 10.1002/ccr3.2121
 8. Lima Bessa G, de Almeida Vitor RW, dos Santos Martins-Duarte E. *Toxoplasma gondii* in South America: a differentiated pattern of spread, population structure and clinical manifestations. *Parasitol Res*. 2021; 120(9): 3065-76. 10.1007/s00436-021-07282-w
 9. Sousa S, Fernandes M, Correia da Costa JM. Serotyping, a challenging approach for *Toxoplasma gondii* typing. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10. 10.3389/fmed.2023.1111509
 10. Shwab EK, Zhu XQ, Majumdar D, Pena HFJ, Gennari SM, Dubey JP, et al. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. *Parasitology*. 2014; 141(4): 453-61. 10.1017/S0031182013001844
 11. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis*. 1995; 172(6):1561-6. 10.1093/infdis/172.6.1561
 12. Rouatbi M, Amairia S, Amdouni Y, Boussaadoun MA, Ayadi O, Al-Hosary AAT, et al. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in North Africa: a review. *Parasite*. 2019; 26: 6. 10.1051/parasite/2019006
 13. Omonijo AO, Kalinda C, Mukaratirwa S. *Toxoplasma gondii* infections in animals and humans in southern Africa: a systematic review and meta-analysis. *Pathogens*. 2022; 11(2): 183. 10.3390/pathogens11020183
 14. Hosseini SA, Amouei A, Sharif M, Sarvi S, Galal L, Javidnia J, et al. Human toxoplasmosis: a systematic review for genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in clinical samples. *Epidemiol Infect*. 2019; 147: e36. 10.1017/S0950268818002947
 15. Lluís Carrasco J, Jover L. Métodos estadísticos para evaluar la concordancia. *Med Clin (Barc)*. 2004; 122(Supl 1): 28-34.
<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-metodos-estadisticos-evaluar-concordancia-13057543>
 16. Gallego C, Castaño JC, Giraldo A, Ajzenberg D, Dardé ML, Gómez JE. Caracterización biológica y molecular del aislamiento CIBMUQ/HDC, una cepa colombiana de referencia para *Toxoplasma gondii*. *Biomedica*. 2004; 24(3): 282. 10.7705/biomedica.v24i3.1274
 17. Vieira GCD, Duarte É dos SM. Cepas atípicas de *Toxoplasma gondii* e seu impacto no desenvolvimento da toxoplasmose. *Res Soc Dev*. 2023; 12(2): e341223988. 10.33448/rsd-v12i2.39884
 18. Lau YL, Lee WC, Gudimella R, Zhang G, Ching XT, Razali R, et al. Deciphering the draft genome of *Toxoplasma gondii* RH strain. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0157901. 10.1371/journal.pone.0157901
 19. Ferra BT, Chyb M, Sołowińska K, Holec-Gąsior L, Skwarecka M, Baranowicz K, Gatkowska J. The development of *Toxoplasma gondii* recombinant trivalent chimeric proteins as an alternative to *Toxoplasma* lysate antigen (TLA) in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of immunoglobulin G (IgG) in small ruminants. *Int J Mol Sci*. 2024; 25: 4384. 10.3390/ijms25084384
 20. Liyanage KLDTD, Wiethhoelter A, Hufschmid J, Jabbar A. Comparación descriptiva de ELISA para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en animales: una revisión sistemática. *Patógenos*. 2021; 10(5): 605. 10.3390/pathogens10050605
 21. Dong H, Zhang J, Wang Q, Shen Y, Zhou B, Dai L, et al. Development of an indirect ELISA for detecting *Toxoplasma gondii* IgG antibodies based on a recombinant TgIMP1 protein. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024; 18(8): e0012421. 10.1371/journal.pntd.0012421