

Resumen

La Tripanosomosis bovina, también conocida como Nagana en África y Cacho hueco, Huequera o Secadera en América del Sur, es una patología provocada por el hemoparásito *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax* que afecta económicamente a países de América Central, Sudamérica y África subsahariana. Se manifiesta clínicamente con anemia, fiebre, pérdida de peso, desarrollo de edemas submandibulares, reducción en la producción de leche y la disminución o pérdida de la capacidad reproductiva del animal. Se identifica analizando estas manifestaciones, juntamente con técnicas parasitológicas y/o moleculares, estas últimas son altamente específicas y sensibles, pero resultan costosas y no aplicables a gran escala. Por otra parte, el diagnóstico serológico, pese a la dificultad que supone la reactividad cruzada, la purificación de antígenos y los pocos estudios relacionados a estos, es una alternativa escalable que preserva una alta especificidad y sensibilidad. La proteína recombinante Paraflagelar65KDa presenta epítomos exclusivos para *Trypanosoma vivax*, lo que minimiza la reactividad cruzada. En este contexto, el propósito del presente estudio fue estandarizar un ELISA indirecto para el diagnóstico de la Tripanosomosis bovina causada por *Trypanosoma vivax* usando la proteína recombinante "Paraflagelar65KDa" como antígeno y analizar distintos sueros de animales infectados experimental y naturalmente para evidenciar la precisión de la prueba. En este ensayo, se determinó que la concentración óptima de antígeno fue 2 µg/mL, mientras que las diluciones de suero y conjugado fueron 1/200 y 1/4000, respectivamente. Con estas condiciones se estableció un punto de corte en una Densidad Óptica de 0.575 a 405 nm, permitiendo así la diferenciación entre sueros negativos y positivos durante la cinética de anticuerpos de animales infectados experimentalmente, así como en distintas poblaciones, en consecuencia, el ELISA estandarizado logró determinar la presencia de anticuerpos generados como respuesta inmunológica a la infección por *Trypanosoma vivax*.

Palabras clave: *Trypanosoma vivax*, Estandarización, ELISA indirecto, Paraflagelar65KDa.

Abstract

Bovine Trypanosomosis, also known as Nagana in Africa and as "Cacho hueco," "Huequera," or "Secadera" in South America, is a pathology caused by the hemoparasite *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax*. It economically affects countries in Central America, South America, and Sub-Saharan Africa. Clinically, it presents with anemia, fever, weight loss, submandibular edema development, reduced milk production, and diminished or lost reproductive capacity in animals. It is identified by analyzing these manifestations, along with parasitological and/or molecular techniques, with the latter being highly specific and sensitive but expensive and impractical for large-scale use. Conversely, serological diagnosis, despite challenges such as cross-reactivity, antigen purification, and limited related studies, represents a scalable alternative that maintains high specificity and sensitivity. The recombinant protein Paraflagellar65KDa offers exclusive epitopes for *Trypanosoma vivax*, minimizing cross-reactivity. In this context, the purpose of this study was to standardize an indirect ELISA for the diagnosis of bovine Trypanosomosis caused by *Trypanosoma vivax*, using the recombinant protein "Paraflagellar65KDa" as an antigen, and to analyze different sera from experimentally and naturally infected animals to demonstrate the test's accuracy. The optimal antigen concentration was determined to be 2 µg/mL, with serum and conjugate dilutions of 1/200 and 1/4000, respectively. Under these conditions, a cutoff point was established at an Optical Density of 0.575 at 405 nm, enabling differentiation between negative and positive sera during the antibody kinetics of experimentally infected animals and across different populations. Consequently, the standardized ELISA successfully determined the presence of antibodies generated as an immune response to *Trypanosoma vivax* infection.

Keywords: *Trypanosoma vivax*, Standardization, Indirect ELISA, Paraflagellar65KDa.