Evaluación de dos pruebas inmunocromatográficas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas

Evaluation of two immunochromatographic tests for the diagnosis of Chagas disease

William Cornejo^{1,2,a}, Pilar Alva^{1,2,b}, William Roldán^{1,c}, Irma Espinoza^{1,2,d}, Nancy Ruelas^{3,e}

¹ Departamento Académico de Microbiología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

² Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión", Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

³ Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa. Arequipa, Perú.

^a Biólogo microbiólogo, magister en docencia en educación superior. ORCID: 0000-0003-2371-7533

^b Tecnóloga médica en laboratorio clínico. ORCID: 0000-0002-2271-9345

^c Tecnólogo médico en laboratorio clínico, magister en enfermedades infecciosas y parasitarias. ORCID: 0000-0002-4450-5372

^d Bióloga parasitóloga. ORCID: 0000-0002-2858-7101

^e Bióloga parasitóloga. ORCID: 0000-0003-0698-5421

An Fac med. 2024;85(4):407-413./ DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i4.29405>.

Correspondencia:

William Cornejo Medina
wcomejom@unmsm.edu.pe

Recibido: 9 de noviembre 2024

Aprobado: 30 de diciembre 2024

Publicación en línea: 31 de diciembre 2024

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuentes de financiamiento: Consejo Superior de Investigaciones, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, código: A17011211

Contribuciones de autoría: WCM y PA conceptualizaron, diseñaron la metodología y condujeron el estudio, analizaron los datos. IE y NR recolectaron las muestras. WR participó en la ejecución e interpretación de la investigación. Todos los autores redactaron y aprobaron la versión final del manuscrito

Citar como: Cornejo W, Alva P, Roldán W, Espinoza I, Ruelas N. Evaluación de dos pruebas inmunocromatográficas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. An Fac med. 2024;85(4):407-413. DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i4.29405>.

Resumen

Introducción. La tripanosomiasis americana es una enfermedad parasitaria desatendida que afectaría entre siete y ocho millones de personas principalmente en 21 países de las Américas, incluido el Perú. Es necesario contar con pruebas diagnósticas confiables, rápidas y fáciles de usar en las áreas endémicas de la enfermedad de Chagas como parte de la estrategia para controlar la enfermedad. **Objetivo.** Comparar el desempeño de la prueba rápida inmunocromatográfica OnSite Chagas Ab Rapid test con la prueba rápida inmunocromatográfica SD Bioline Chagas Ab Rapid en muestras de suero de participantes peruanos, utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) como referencia para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. **Métodos.** Estudio transversal realizado con 114 muestras de suero, de las cuales 36 y 38 fueron positivas y negativas, respectivamente, por métodos serológicos convencionales (IFI y ELISA), y 40 correspondieron a muestras de pacientes con otras infecciones parasitarias (IFI y ELISA negativas). **Resultados:** La especificidad fue de 97,4% [intervalo de confianza (IC) del 95% IC = 90,0 - 99,8] y 98,7% [IC_{95%} = 92,3 - 100], y la sensibilidad fue de 83,3% [IC_{95%} = 67,6 - 92,4] y 72,2% [IC_{95%} = 55,8 - 84,2], para OnSite Chagas Ab Rapid test y SD Bioline Chagas Ab Rapid, respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 93,8 [IC_{95%} = 85,4 - 100] y 92,3 [IC_{95%} = 86,4 - 98,2], respectivamente para OnSite Chagas Ab Rapid test y 96,3 [IC_{95%} = 89,2 - 100] y 88,5 [81,8 - 95,2], respectivamente para SD Bioline Chagas Ab Rapid. La eficiencia diagnóstica de las pruebas varió entre 90,4% y 92,9%. **Conclusiones.** Las sensibilidades de ambas pruebas rápidas inmunocromatográficas fueron bajas en la muestra estudiada, por lo tanto, son inadecuadas para ser incorporadas como herramientas para el diagnóstico o tamizaje de la enfermedad.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Diagnóstico; Prueba de Diagnóstico Rápido; Inmunocromatografía; Sensibilidad y Especificidad (Fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Introduction. American trypanosomiasis is a neglected parasitic disease that affects between seven and eight million people, mainly in 21 countries in the Americas, including Peru. It is necessary to have reliable, rapid and easy-to-use diagnostic tests in Chagas disease endemic areas as part of the strategy to control the disease. **Objectives.** To compare the performance of the OnSite Chagas Ab Rapid Immunochromatographic Rapid Test with the SD Bioline Chagas Ab Rapid Immunochromatographic Rapid Test in serum samples from Peruvian participants, using the indirect immunofluorescence test (IIF) and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as reference for the diagnosis of Chagas disease. **Methods.** A Cross-sectional study carried out with 114 serum samples, of which 36 and 38 were positive and negative, respectively, by conventional serological methods (IIF and ELISA), and 40 corresponded to samples from patients with other parasitic infections (IIF and ELISA negative). **Results.** The specificity was 97,4% [95% confidence interval (CI) 95% CI = 90,0-99,8] and 98,7% [95% CI = 92,3-100], and the sensitivity was 83,3% [95% CI = 67,6-92,4] and 72,2% [95% CI = 55,8-84,2], for OnSite Chagas Ab Rapid test and SD Bioline Chagas Ab Rapid, respectively. The positive and negative predictive values were 93,8 [95% CI = 85,4-100] and 92,3 [95% CI = 86,4-98,2], respectively for OnSite Chagas Ab Rapid test and 96,3 [95% CI = 89,2-100] and 88,5 [81,8-95,2], respectively for SD Bioline Chagas Ab Rapid. The diagnostic efficiency of the tests varied between 90,4% and 92,9%. **Conclusions.** The sensitivities of both rapid immunochromatographic tests were low in the sample studied, therefore, they are inadequate to be incorporated as tools for the diagnosis or screening of the disease.

Keywords: Chagas Diseases; *Trypanosoma cruzi*; Diagnosis; Rapid Diagnostic Test; Immunochromatography; Sensitivity and Specificity (Source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana es uno de los principales problemas de salud pública en América Latina ⁽¹⁾ y, últimamente en países industrializados, en los que se han visto incremento de casos por la inmigración ⁽²⁾. La enfermedad, también conocida como enfermedad de Chagas, es ocasionada por *Trypanosoma cruzi*, un protozoo hemoparásito. La principal vía de transmisión del parásito al humano es la vectorial, pero se reconocen otras vías ^(1,3).

La implementación de programas de control de la enfermedad en la mayoría de los países del cono sur, hace casi 30 años, logró que el número de infectados disminuyera significativamente. Así, en el Perú, para el 2022 se reportaron 0,05 casos por cada 100 000 habitantes ⁽⁴⁾; y, para el Ministerio de Salud sigue siendo prioritario el diagnóstico de la enfermedad en la etapa crónica, sobre todo en aquellos departamentos en que persiste y genera casos en áreas urbanas ⁽⁵⁾.

La presentación clínica de la enfermedad de Chagas varía según la etapa de evolución. La fase crónica causa alteraciones y daño al corazón, sistema digestivo, y en menor medida afecta al sistema nervioso, pudiendo ocasionar el deceso del individuo. La mayoría de los casos de enfermedad de Chagas se detectan en la fase crónica, cuando ya se ha producido daño a los órganos del infectado ⁽¹⁾.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas requiere la identificación al microscopio del parásito en muestras de sangre o la detección de su ADN, en la fase aguda de enfermedad; y la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* por pruebas serológicas, en la fase crónica ⁽⁶⁾. La detección de anticuerpos es realizada con pruebas convencionales y no convencionales. Entre las primeras, las más comúnmente utilizadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el inmunoensayo enzimático (ELISA) y la hemaglutinación pasiva. La confirmación serológica de la infección por *T. cruzi* es realizada mediante dos de estas pruebas ⁽⁷⁾.

Como parte del control o eliminación de la enfermedad de Chagas se requieren de pruebas eficaces, fáciles de ejecutar

e interpretar, tener acceso a ellas en los centros de salud urbanos, periurbanos y rurales, y que no requieran instalaciones especializadas para su conservación. Para cumplir con estas exigencias, se han desarrollado pruebas rápidas basadas en el uso de antígenos recombinantes que detectan anticuerpos específicos contra *T. cruzi*, de las cuales la prueba de flujo lateral o inmunocromatográfica es la más usada ⁽⁸⁾.

Actualmente se dispone de varias pruebas inmunocromatográficas comerciales para detectar la enfermedad de Chagas. Estas pruebas utilizan proteínas recombinantes o péptidos sintéticos como antígenos, solos o combinados, y en pocos años su número ha ido aumentando a la par que su uso en muchas partes del mundo, especialmente en los países endémicos. Varios estudios han revelado que las pruebas inmunocromatográficas son muy sensibles y específicas como pruebas de tamizaje para la enfermedad de Chagas ⁽⁹⁻¹¹⁾.

Las pruebas inmunocromatográficas son sencillas (un solo paso), tienen presentación individual, y su procesamiento y obtención de resultados es rápido. Además, no requieren habilidades técnicas especializadas o equipo de laboratorio especial, y tienen un precio accesible. Por estas características, estas pruebas han sido incluidas en el algoritmo o en los protocolos de diagnóstico de la enfermedad. Sin embargo, se han reportado estudios de pruebas inmunocromatográficas que revelan diferencias en sus valores de sensibilidad, atribuidas a factores como la edad de los participantes, el área geográfica (país) y la diversidad genética y antigénica intraespecífica de *T. cruzi* ⁽¹²⁻¹⁴⁾.

En un estudio colaborativo entre laboratorios de referencia nacionales de varios países endémicos y no endémicos, se evaluaron 11 pruebas de diagnóstico rápidas comerciales para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*. De las 11 pruebas evaluadas, solo 6 pueden ser consideradas útiles debido a que sus sensibilidades y especificidades fueron mayores al 90%. Estos valores estuvieron por debajo de lo indicado por los fabricantes ⁽¹⁵⁾. Un estudio comparativo que evaluó dos poblaciones endémicas para la enfermedad de Chagas, Bolivia y Perú, con dos

pruebas inmunocromatográficas reveló variación geográfica en la sensibilidad de las pruebas y, una sensibilidad muy baja (26,6 - 55,2%) para población peruana con ambas pruebas ⁽¹²⁾.

En los últimos años se ha incrementado el uso de las pruebas inmunocromatográficas para detectar anticuerpos específicos contra la enfermedad de Chagas en nuestro país, pero han sido escasamente evaluadas y dadas a conocer a través de publicaciones científicas. El objetivo del estudio fue evaluar y comparar el desempeño de dos pruebas inmunocromatográficas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en muestras de suero de residentes peruanos en su mayoría provenientes de Arequipa.

MÉTODOS

Diseño y ámbito del estudio

Se realizó un estudio de evaluación de pruebas diagnósticas ⁽¹⁶⁾. El estudio se llevó a cabo con muestras de suero de participantes provenientes en su mayoría de la ciudad de Arequipa que revelaron un diagnóstico serológico positivo a la enfermedad de Chagas. Se eligieron estas muestras por ser positivas, provenir de una zona endémica, por encontrarse en nuestro repositorio de sueros y haber sido empleadas con anterioridad con adecuados resultados ⁽¹⁷⁾.

La incidencia de la enfermedad de Chagas en el Perú varió entre 0,06 y 0,11 entre los años 2000- 2022, concentrados el 52,8% de los casos en los Departamentos de Arequipa y Moquegua ⁽¹⁸⁾. El diseño muestral fue por conveniencia, se seleccionaron además de los sueros de pacientes con diagnóstico clínico y de laboratorio de enfermedad de Chagas, los sueros de personas con otras infecciones y de personas sanas que se encontraban en el repositorio de sueros de los laboratorios de las secciones de Parasitología e Inmunología del Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión" (IMT/DAC), de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). El estudio fue realizado entre agosto del 2019 y febrero del 2020.

Sueros problema

Un total de 114 muestras de suero fueron consideradas para el estudio, to-

das provenientes de personas mayores de edad, de ambos sexos. Las muestras de sueros de personas con diagnóstico serológico de enfermedad de Chagas provinieron de residentes en su mayoría en el departamento de Arequipa. Asimismo, los sueros de personas con otras infecciones y los sueros de personas sanas fueron obtenidos por estudios previos realizados por los autores (entre los años 2008 y 2016) y se evaluaron como muestras anónimas.

El total de las muestras de estudio permanecieron almacenadas en los laboratorios de las secciones científicas de parasitología e inmunología del Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (IMT/DAC, Lima, Perú) a -20°C hasta su uso.

Las muestras fueron divididas en tres grupos: un primer grupo de sueros de 36 participantes con diagnóstico de enfermedad de Chagas, un segundo grupo de sueros de participantes seronegativos a *T. cruzi* pero diagnosticados con otras parasitosis (10 pacientes con leishmaniasis, 18 pacientes con fasciolosis, 6 pacientes con hidatidosis y 6 pacientes con malaria), y el tercer grupo de 38 sueros de personas sanas y seronegativas a *T. cruzi*.

Los sueros de los pacientes con enfermedad de Chagas y los sueros de las personas sin esta infección fueron considerados reactivos (positivos) o no reactivos (negativos) al ser evaluados serológicamente para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* usando una prueba de IFI casera («in-house») (19) y una prueba de ELISA comercial (Chagatest ELISA recombinante v. 4.0-Wiener Laboratories, Rosario, Argentina). El valor de corte para la prueba de IFI fue mayor o igual

a una dilución de 1:32, y para la prueba de ELISA fue un valor igual o mayor a una absorbancia de 0,25. De acuerdo con el fabricante, la prueba de ELISA comercial tuvo una sensibilidad de 99,13-100% y una especificidad de 98,30-99,66% (20), y la IFI tuvo una sensibilidad y especificidad de 96,6 y 86,8 (21), respectivamente. Las muestras fueron consideradas positivas, si ambas pruebas dieron resultados positivos; y negativas, si ambas pruebas tuvieron resultados negativos o indeterminadas, si solo fueron positivas a una de las pruebas (7). En el estudio no se usaron muestras de suero con resultado indeterminado.

Los sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas fueron incluidos para evaluar las reacciones cruzadas potenciales, y los pacientes fueron diagnosticados por métodos parasitológicos y/o serológicos empleando técnicas como el examen de heces, prueba de ELISA, frotis de lesión cutánea, prueba de doble inmunodifusión o examen de gota gruesa.

Pruebas rápidas

Las pruebas rápidas inmunocromatográficas evaluadas fueron: OnSite Chagas Ab Rapid test (CTK Biotech; Estados Unidos) y SD Bioline Chagas Ab Rapid (Standard Diagnostics, Corea) (Tabla 1), y los procedimientos de las pruebas se realizaron de acuerdo con las instrucciones de cada fabricante.

Las pruebas inmunocromatográficas fueron realizadas simultáneamente por dos operadores distintos, uno por prueba, en espacios físicos separados, de modo que no tuvieran conocimiento de los resultados obtenidos durante el desarrollo de las pruebas. Asimismo, los operadores desconocían el diagnóstico serológico previo de las muestras procesadas.

El OnSite Chagas Ab Rapid test es una prueba basada en antígenos recombinantes de *T. cruzi*, y diseñada para la determinación cualitativa de anticuerpos contra el parásito en suero. La SD Bioline Chagas Ab Rapid detecta anticuerpos contra *T. cruzi* en muestras de suero, plasma o sangre total humana. En ambos casos, los resultados fueron leídos a simple vista luego de 15 minutos. Asimismo, las pruebas fueron consideradas positivas cuando se detectaron líneas rojas en la línea de prueba y en la línea control, mientras que el resultado fue negativo cuando se detectó solo una banda de color púrpura en el área control. La prueba fue inválida cuando la línea roja en el área control estuvo ausente. Según el fabricante, OnSite Chagas Ab Rapid test tiene una sensibilidad de 92,9% y una especificidad de 100% (20); y la SD Bioline Chagas Ab Rapid tiene una sensibilidad de 99,2% y una especificidad de 100% (22).

Análisis estadístico

La sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos y la eficiencia diagnóstica (exactitud) fueron calculados de acuerdo como se describió previamente (23), con intervalos de confianza al 95%. La concordancia entre las pruebas evaluadas se estableció mediante el análisis del índice kappa (κ), que compara la conformidad entre los valores reales y los valores esperados. Para su interpretación cualitativa se usó la escala de Landis y Koch (24). El nivel de significancia en cada caso fue $p < 0,05$. Los datos obtenidos de cada muestra de suero fueron incorporados en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft*), se elaboraron tablas de contingencia 2 x 2 y el análisis estadístico se llevó a cabo mediante el uso del software XLSTAT (versión 1.3, 2020).

Tabla 1. Características de dos pruebas rápidas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos anti-Trypanosoma cruzi.

Característica	Método	
	OnSite Chagas Ab Rapid Test	SD Bioline Chagas Ab Rapid
Presentación	Casete	Casete
Muestra	Plasma, suero	Sangre total, plasma, suero
Volumen de muestra	20 μ L	100 μ L
Volumen de diluyente	2 gotas (20-100 μ L)	No utiliza
Tiempo de reacción	15 minutos	15 minutos

Aspectos éticos

El estudio siguió los principios de buenas prácticas. Al tratarse de sueros de estudios previos almacenados en condiciones de bioseguridad y temperatura adecuada, se incluyeron solo aquellos provenientes de las personas que consintieron la utilización de sus muestras en futuros estudios realizado a través de la firma del consentimiento informado. Los datos se mantuvieron anónimos.

RESULTADOS

De las 36 muestras con resultado positivo en las pruebas de IFI y ELISA comercial, 30 tuvieron el mismo resultado en la prueba OnSite Chagas Ab Rapid test y 26 en la prueba SD Bioline Chagas Ab Rapid, mostrando una sensibilidad de 83,3% ($IC_{95\%} = 67,6 - 92,4$) y 72,2% ($IC_{95\%} = 55,8 - 84,2$), respectivamente.

Por otro lado, de las 78 muestras con resultado negativo en las pruebas de IFI y ELISA comercial, que correspondieron a los sueros de personas con otras parasitosis y personas aparentemente sanas, 76 también revelaron un resultado negativo en las pruebas rápidas inmunocromatográficas. La especificidad de la prueba OnSite Chagas Ab Rapid test fue de 97,3% ($IC_{95\%} = 90,0 - 99,8$), mientras que para SD Bioline Chagas Ab Rapid fue de 98,7% ($IC_{95\%} = 92,3 - 100$).

El cálculo de los valores predictivos positivos (VPP) permitió detectar valores superiores al 93% para ambas pruebas rápidas inmunocromatográficas, lo cual sugiere que las pruebas tienen estadísticamente alta probabilidad de detectar las muestras verdaderamente seropositivas; sin embargo, los valores predictivos negativos (VPN) variaron entre 88% y 92%, siendo la prueba rápida menos confiable la SD Bioline Chagas Ab Rapid que reveló un VPN de 88,5%. En la tabla 2 se muestra un resumen de los resultados de las pruebas evaluadas.

La comparación entre las dos pruebas inmunocromatográficas reveló un porcentaje de acuerdo o concordancia (percent agreement) de 95,6% y un porcentaje de acuerdo positivo (percent positive agreement) de Chamberlain de 84,4% (Tabla 3).

Tabla 2. Resultados diagnósticos y rendimiento de dos pruebas rápidas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*.

Serología convencional	OnSite Chagas Ab Rapid Test		SD Bioline Chagas Ab Rapid	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	30	6	26	10
Negativo	2	76	1	77
Sensibilidad % (IC 95%)	83,3 (67,6 – 92,4)		72,2 (55,8 – 84,2)	
Especificidad % (IC 95%)	97,3 (90 – 99,8)		98,7 (92,3- 100)	
Valor predictivo positivo % (IC 95%)	93,8 (85,4- 100)		96,3 (89,2- 100)	
Valor predictivo negativo % (IC 95%)	92,3 (86,4 – 98,2)		88,5 (81,8 – 95,2)	
Eficiencia diagnóstica	92,9 (86,6 – 96,9)		90,4 (83,4 – 95,1)	
Índice kappa	0,833 (0,721 – 0,944)		0,761 (0,629 – 0,892)	

La sensibilidad, especificidad, valores predictivos o eficiencia diagnóstica son expresadas como porcentaje y los IC 95% (intervalo de confianza al 95%)

Del total de sueros que no fueron chagásicos, provenientes de personas sanas o con otras parasitosis, dos fueron positivos por OnSite Chagas Ab Rapid test y uno fue positivo por SD Bioline Chagas Ab Rapid, pero ninguno de ellos correspondió a los sueros de pacientes con leishmaniasis.

La concordancia entre las pruebas convencionales, ELISA e IFI, con las pruebas rápidas fue elevada cuando se incluyó en los resultados el total de sueros: con enfermedad de Chagas, sanos y con otras enfermedades parasitarias. El índice K fue 0,83 para OnSite Chagas y 0,76 para SD Bioline Chagas, considerados una concordancia muy buena y buena, respectivamente (Tabla 2).

Aunque los fabricantes de ambas pruebas inmunocromatográficas indican que las pruebas deben leerse como positivas, negativas o inválidas, se tuvo dificultad en la lectura de seis pruebas positivas en total, seis en el caso de OnSite Chagas Ab Rapid test y tres en el caso

de SD Bioline Chagas Ab Rapid. En estos casos las lecturas positivas revelaron una débil o muy débil línea de color en el área de la línea T. En dos de los casos en que el resultado positivo débil o muy débil fue obtenido por OnSite Chagas Ab Rapid test, el resultado fue negativo por SD Bioline Chagas Ab Rapid (Tabla 4).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, las dos pruebas evaluadas revelaron buen desempeño en términos de especificidad, pero tuvieron una baja sensibilidad. Las pruebas OnSite Chagas Ab Rapid test (Estados Unidos) y SD Bioline Chagas Ab Rapid (Corea) mostraron alta especificidad, con valores dentro del rango a los reportados previamente para estas pruebas^(25, 26). Sin embargo, la sensibilidad de ambas pruebas fue baja, 72% a 83%, muy diferentes a estudios realizados previamente con las mismas pruebas^(25,26), pero mejor que

Tabla 3. Comparación entre dos pruebas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*.

	SD Bioline Chagas Ab Rapid		
	Positivo	Negativo	Total
OnSite Chagas Ab Rapid test			
Positivo	27	5	32
Negativo	0	82	82
Total	27	87	114

Índice de kappa= 0,84

Tabla 4. Resultados de seis casos con lecturas positivas tenues obtenidas con dos pruebas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi*.

Muestra	OnSite Chagas Ab Rapid Test	SD Bioline Chagas Ab Rapid
1	+	+
2	+ ^a	-
3	+ ^b	-
4	+	+
5	+	+
6	+	+

^a Línea coloreada débil en el área de prueba T

^b Línea coloreada muy débil en el área de prueba T

otras pruebas que revelaron una sensibilidad muy baja, entre 33% y 55%⁽¹²⁾.

En los individuos infectados con *T. cruzi*, la respuesta inmunitaria humoral dirigida contra el parásito varía considerando su procedencia geográfica⁽²⁷⁾, reflejado en la heterogeneidad de la sensibilidad de las pruebas serológicas aplicadas⁽²⁸⁾. Estos hallazgos pueden deberse a factores del hospedero como la variación genética de los grupos humanos⁽²⁹⁾, o la distribución desigual de los genotipos o unidades discretas de tipificación (DTUs) de *T. cruzi*, con muchas cepas dentro de cada una de ellas, en los países endémicos⁽⁸⁾. Se ha reportado una mejora en la sensibilidad de las pruebas serológicas cuando se utilizan antígenos obtenidos de cepas de *T. cruzi* autóctonas de un área geográfica, que correlaciona con el predominio de un tipo de DTU⁽³⁰⁾.

La búsqueda de una prueba de referencia ha permitido desarrollar nuevos formatos de pruebas serológicas y obtener mejores antígenos, pero aún no se obtiene una prueba con valores cercanos al 100% de sensibilidad y especificidad⁽⁸⁾. Por esa razón, el diagnóstico de laboratorio concluyente de la enfermedad de Chagas está basado en obtener resultados concordantes al usar dos pruebas serológicas que tengan principios diferentes⁽⁷⁾. Dentro de este contexto la incorporación de pruebas rápidas inmunocromatográficas tiene el propósito de superar las barreras de acceso, de costos y tecnológicas para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*. Estas pruebas inmunocromatográficas utilizan una combinación de antígenos recombinantes⁽⁸⁾ y aunque algunas de ellas han sido evaluadas en áreas en-

démicas y no endémicas^(14,15), hay escasa información de su eficacia en nuestro país.

A diferencia de otros estudios^(12,15), que presentaron como uno de los inconvenientes técnicos la dificultad de interpretar las pruebas debido a la presencia de una línea coloreada tenue, en nuestro estudio se presentaron pocos casos, pudiéndose detectar con nitidez las dos líneas de color en la zona o “ventana” de lectura, en los casos positivos. Por otro lado, entre las dos pruebas rápidas SD Bioline Chagas Ab y OnSite Chagas Ab, la primera fue más sencilla de ejecutar porque es una prueba de un solo paso, pero fue la que necesitó más volumen (100 µL)⁽¹⁵⁾, lo cual representa una desventaja sobre las pruebas que requieren volúmenes pequeños o tiene el riesgo de disminuir su sensibilidad al emplear el mismo volumen de sangre como muestra biológica.

Hasta la fecha se han reportado dos estudios que comparan las pruebas OnSite Chagas Ab y SD Bioline Chagas Ab en el mismo lote de muestras, reportándose una sensibilidad de 97,9% y 99,3%, respectivamente, en sueros de infectados provenientes de Honduras⁽²⁵⁾, mientras que la sensibilidad de OnSite Chagas Ab y SD Bioline Chagas Ab en serotecas provenientes de diferentes áreas geográficas fue mucha más baja, 90,1% y 90,7%, respectivamente⁽¹⁵⁾. En ambos estudios, la especificidad fue mayor para SD Bioline Chagas Ab, varió entre 94% y 100%, con relación a OnSite Chagas Ab (91% - 98,8%). En nuestro caso, los resultados del estudio revelaron que ambas pruebas inmunocromatográficas tuvieron sensibilidades menores al 84%, lo que las hace poco fiables como pruebas habituales

de diagnóstico o de tamizaje en nuestro país, en su presentación actual.

Las especificidades de ambas pruebas rápidas fueron relativamente elevadas (>97%), similares a las reportadas con anterioridad^(15, 25), no revelándose reacción cruzada con los sueros de pacientes con leishmaniasis, lo cual contrasta con otras pruebas inmunocromatográficas que mostraron este inconveniente⁽³¹⁾. Sin embargo, en un estudio previo la prueba OnSite Chagas Ab reveló una importante reacción cruzada con sueros de pacientes con leishmaniasis y malaria⁽³¹⁾. Dada la elevada especificidad de ambas pruebas rápidas, podrían ser utilizadas como pruebas confirmatorias para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, la prueba SD Bioline Chagas Ab reveló un VPN de 88,5%, lo cual indica que no se puede excluir el diagnóstico de la enfermedad de Chagas a pesar de que se haya obtenido un resultado negativo.

Otros estudios que evaluaron la prueba OnSite Chagas Ab revelaron sensibilidades mayores (94,4%- 95,5%) comparadas con la reportada en nuestro estudio, pero las especificidades fueron menores (93% - 93,9%)^(26,31). Por el contrario, la prueba SD Bioline Chagas Ab reveló una baja sensibilidad (88%) y una elevada sensibilidad (100%) al ser evaluada en pacientes colombianos⁽³²⁾.

La baja sensibilidad de las pruebas OnSite Chagas Ab y SD Bioline Chagas Ab observada en este estudio podría deberse a una menor respuesta de anticuerpos frente a la infección por *T. cruzi* en la población estudiada⁽¹²⁾, que coincide con la hipótesis-no demostrada- de una respuesta inmune humoral frente al parásito que depende del origen geográfico de los pacientes⁽⁸⁾, como ha sido evidenciado en algunos estudios^(15, 32). Asimismo, estos resultados obtenidos pueden haberlos ocasionado muestras de suero con bajos o medianos niveles de anticuerpos, desde el momento de la colección o por efecto del periodo de su almacenamiento⁽¹⁵⁾. Otra posible explicación para los valores de sensibilidad de estas dos pruebas inmunocromatográficas puede ser las diferencias en la constitución antigénica de los genotipos de *T. cruzi* que prevalecen en diferentes ámbitos geográficos⁽⁸⁾. Las diferencias en las

características antigénicas de las cepas circulantes pueden originar el surgimiento de poblaciones de anticuerpos incapaces de ser detectadas con la misma intensidad por todas las marcas comerciales de pruebas rápidas inmunocromatográficas para la enfermedad de Chagas^(12,15,27,30,33).

Nuestro estudio presentó limitaciones. Las muestras evaluadas provenían principalmente de un área geográfica de Perú que, aunque es endémica para la enfermedad de Chagas, no es representativa de todo el país, razón por la cual nuestros resultados no pueden ser aplicados a otros lugares. Además, el número de muestras usadas para evaluar las pruebas fue pequeño. Asimismo, debido a que las muestras de suero no fueron obtenidas todas al mismo tiempo antes de ser almacenadas a -20 °C, no descartamos la posibilidad de que la relativa baja sensibilidad de las pruebas dependa del tiempo de almacenamiento de las muestras.

De los resultados obtenidos, se concluye que la sensibilidad de las pruebas inmunocromatográficas OnSite Chagas Ab y SD Bioline Chagas Ab para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* fue baja en la muestra estudiada, lo que desaconseja su uso como única prueba de tamizaje para detectar la infección. Por tanto, debería continuarse con el uso de pruebas serológicas convencionales hasta contar con pruebas rápidas más sensibles que se hayan evaluado en el país o en la región de estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Farani PSG, Jones KM, Poveda C. Treatments and the perspectives of developing a vaccine for Chagas disease. *Vaccines* (Basel). 2024 Aug 1;12(8):870. DOI: 10.3390/vaccines12080870
- Agudelo Higuaita NI, Bronze MS, Smith JW, Montgomery SP. Chagas disease in Oklahoma. *Am J Med Sci*. 2022 Nov;364(5):521-528. DOI: 10.1016/j.amjms.2022.03.018
- Hochberg NS, Montgomery SP. Chagas Disease. *Ann Intern Med*. 2023 Feb;176(2):ITC17-ITC32. DOI: 10.7326/AITC202302210
- Ministerio de Salud. Sala de situación de salud, Perú SE 52, 2022 [Internet]. Lima: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de enfermedades, MINSA; [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2023/SE20/chagas.pdf>
- Náquira C. Urbanización de la enfermedad de Chagas en el Perú: experiencias en su prevención y control. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2014;31(2):343-347. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000200023&lng=es
- Pascual-Vázquez G, Alonso-Sardón M, Rodríguez-Alonso B, Pardo-Ledías J, Romero Alegría A, Fernández-Soto P, Muñoz Bellido JL, Muro A, Belhassen-García M. Molecular diagnosis of Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty*. 2023 Oct 16;12(1):95. DOI: 10.1186/s40249-023-01143-7
- Pan American Health Organization (PAHO). Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease. [Internet]. Washington: PAHO; 2019 [citado el 16 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275120439_eng.pdf
- Perez F, Vermeij D, Salvatella R, Castellanos LG, de Sousa AS. The use of rapid diagnostic tests for chronic Chagas disease: An expert meeting report. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024 Aug 8;18(8):e0012340. DOI: 10.1371/journal.pntd.0012340
- Eguez KE, Alonso-Padilla J, Terán C, Chipana Z, García W, Torrico F, et al. Rapid diagnostic tests duo as alternative to conventional serological assays for conclusive Chagas disease diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(4):e0005501. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005501
- Lozano D, Rojas L, Méndez S, Casellas A, Sanz S, Ortiz L, et al. Use of rapid diagnostic tests (RDTs) for conclusive diagnosis of chronic Chagas disease—field implementation in the Bolivian Chaco region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019. Dec 19;13(12):e0007877. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007877
- Marchiol A, Sanchez ACF, Caicedo A, Segura M, Bautista J, Sotelo MSA, et al. Laboratory evaluation of eleven rapid diagnostic tests for serological diagnosis of Chagas disease in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023. Aug 1;17(8):e0011547. DOI: 10.1371/journal.pntd.0011547
- Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cardenas G, Kawai V, et al. Geographic variation in the sensitivity of recombinant antigen-based rapid tests for chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80(3):410-415. DOI: 10.4269/ajtmh.2009.80.410
- Dumonteil E, Herrera C. Ten years of Chagas disease research: looking back to achievements, looking ahead to challenges. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(4):e0005422. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005422
- Angheben A, Buonfrate D, Cruciani M, Jackson Y, Alonso-Padilla J, Gascon J, et al. Rapid immunochromatography tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in at-risk populations: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(5):e0007271. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007271
- Sánchez-Camargo CL, Albajar-Viñas P, Wilkins PP, Nieto J, Leiby DA, Paris L, et al. Comparative evaluation of 11 commercialized rapid diagnostic tests for detecting *Trypanosoma cruzi* antibodies in serum banks in areas of endemicity and nonendemicity. *J Clin Microbiol*. 2014;52(7):2506-2512. DOI: 10.1128/JCM.00144-14
- Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. 4th. ed. *Designing Clinical Research*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- Pastor I. Utilidad de epimastigotes formolados de *Trypanosoma cruzi* en la técnica dot-ELISA para el serodiagnóstico de la enfermedad de Chagas [Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017. 75 p. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/6881>.
- Ministerio de Salud [Internet]. Centro Nacional de Epidemiología, prevención y control de enfermedades. Número de casos de Enfermedad de Chagas, Perú 2000-2022 [citado el 16 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2022/SE46/chagas.pdf>
- Vega S, Náquira C. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). 2ª. Ed. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2006. p. 106. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual_Enfermedades_Chagas.pdf
- CTK Biotech [Internet]. Prueba Rápida en Casete OnSite Chagas Ab Combo (Suero/Plasma/Sangre Total); [citado el 27 de diciembre 2024]. Disponible en: <https://biolore.com.co/wp-content/uploads/2019/08/Inserto-R0171C-Chagas.pdf>
- Vasquez L, Ruelas N, Córdova E. Patrones de coloración en la inmunofluorescencia indirecta y su utilidad en el diagnóstico de leishmaniasis tegumentaria y enfermedad de Chagas. *Acta Med Per*. 2011; 28(1): 19-22.
- SD Bioline Chagas Ab rapid. Prueba rápida de un paso de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*; [citado el 27 de diciembre 2024]. Disponible en: <https://www.biodiagnosticos.com/fichas-tecnicas/pruebas-infecciosas/sd/chagas-ab.pdf>
- Trevethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: foundations, pliabilitys, and pitfalls in research and practice. *Front Public Health*. 2017 Nov 20;5:307. DOI: 10.3389/fpubh.2017.00307
- Cortés-Reyes É, Rubio-Romero JA, Gaitán-Duarte H. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2010 Sep [citado el 29 de diciembre 2024]; 61(3): 247-255. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342010000300009&lng=en
- Ji MM, Noh JS, Cho BK, Cho YS, Kim SJ, Yoon BS. Evaluation of SD Bioline Chagas Ab rapid kit. *Korean J Lab Med*. 2009; 29:48-52. DOI: 10.3343/kjlm.2009.29.1.48
- Iborra MA. Enfermedad de Chagas en fase crónica. Evaluación de diferentes métodos diagnósticos en una zona no endémica [Tesis doctoral]. Murcia: Universidad de Murcia; 2013. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/119321?page=1>
- Truyens C, Dumonteil E, Alger J, Cafferata ML, Ciganda A, Gibbons L, Herrera C, Sosa-Estani S, Buekens P. Geographic Variations in Test Reactivity for the Serological Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection. *J Clin Microbiol*. 2021 Nov 18;59(12):e0106221. DOI: 10.1128/JCM.01062-21
- Ascanio LC, Carroll S, Paniz-Mondolfi A, Ramirez JD. In vitro diagnostic methods of Chagas disease in the clinical laboratory: a scoping review. *Front Microbiol*. 2024 Apr 30;15:1393992. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1393992
- Zingales B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas

- disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Trop.* 2018 Aug;184:38-52. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.09.017
30. Majeau A, Dumonteil E, Herrera C. Identification of highly conserved *Trypanosoma cruzi* antigens for the development of a universal serological diagnostic assay. *Emerg Microbes Infect.* 2024 Dec;13(1):2315964. DOI: 10.1080/22221751.2024.2315964
31. Florez-Chávez M, Cruz I, Rodríguez M, Nieto J, Franco E, Gárate T, *et al.* Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28(5):284-293. DOI: 10.1016/j.eimc.2009.07.005
32. Duarte LF, Flórez O, Rincón G, González CI. Comparación de siete pruebas diagnósticas para detectar infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes en fase crónica de la enfermedad de Chagas. *Colomb Med (Cali).* 2014;45(2):61-66. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342014000200003&lng=en.
33. Eguez KE, Alonso-Padilla J, Terán C, Chipana Z, García W, Torrico F, *et al.* Rapid diagnostic tests duo as alternative to conventional serological assays for conclusive Chagas disease diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(4):e0005501. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005501